

**KARYA AKHIR**

**HUBUNGAN EKSPRESI NF- $\kappa$ B (*NUCLEAR FACTOR KAPPA LIGHT CHAIN BETA*) TERHADAP STATUS HORMONAL, HER-2 DAN DERAJAT HISTOPATOLOGI PADA KASUS KANKER PAYUDARA STADIUM LANJUT BAIK LOKAL MAUPUN METASTASIS JAUH**

*RELATIONSHIP OF NF- $\kappa$ B (NUCLEAR FACTOR KAPPA LIGHT CHAIN BETA) EXPRESSION ON HORMONAL STATUS, HER-2 AND HISTOPATHOLOGICAL DEGREE OF BREAST CANCER IN LOCAL AND ADVANCED STAGE*

**MARTUA ARPOLLOS**

**C045181007**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS – 1 (Sp-1)  
DEPARTEMEN ILMU BEDAH  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2022**

**HALAMAN JUDUL**

**HUBUNGAN EKSPRESI NF-kB (*NUCLEAR FACTOR KAPPA LIGHT CHAIN BETA*) TERHADAP STATUS HORMONAL, HER-2 DAN DERAJAT HISTOPATOLOGI PADA KASUS KANKER PAYUDARA STADIUM LANJUT BAIK LOKAL MAUPUN METASTASIS JAUH**

*RELATIONSHIP OF NF-kB (NUCLEAR FACTOR KAPPA LIGHT CHAIN BETA) EXPRESSION ON HORMONAL STATUS, HER-2 AND HISTOPATHOLOGICAL DEGREE OF BREAST CANCER IN LOCAL AND ADVANCED STAGE*

**TESIS**

Sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis dan mencapai sebutan dokter Spesialis Bedah

**DISUSUN OLEH :**

**dr. Martua Arpollos**

**C045181007**

**PEMBIMBING:**

- 1. Dr.dr.Indra, Sp.B(K)Onk**
- 2. Dr. dr. Berty Nelwan, Sp.PA**
- 3. dr. Firdaus Hamid, Sp.MK, Ph.D**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS – 1 (Sp-1)  
DEPARTEMEN ILMU BEDAH  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**LEMBAR PENGESAHAN KARYA TESIS**

**HUBUNGAN EKSPRESI *NF- $\kappa$ B* (NUCLEAR FACTOR KAPPA LIGHT CHAIN BETA) TERHADAP STATUS HORMONAL, HER-2 DAN DERAJAT HISTOPATOLOGI PADA KASUS KANKER PAYUDARA STADIUM LANJUT BAIK LOKAL MAUPUN METASTASIS JAUH**

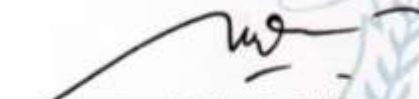
Disusun dan diajukan oleh

**Martua Arpollos**  
C045181007


Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 31 Oktober 2022 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui


Pembimbing Utama

  
Dr. dr. Indra, SpB(K)Onk  
NIP. 197005052000121001

Pembimbing Pendamping

  
dr. Firdaus Hamid, SpMK, Ph.D  
NIP. 197712312002121002

Ketua Program Studi

  
Dr. dr. Sachraswaty R. Laidding, Sp.B, Sp.BP-RE(K)  
NIP. 19760112 200604 2 001

Dekan Fakultas Kedokteran

  
Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK  
NIP. 19680530 199603 2 001

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : dr. Martua Arpollos

NIM : C045181007

Program Studi : Ilmu Bedah

Judul :

### **HUBUNGAN EKSPRESI NF-kB (*NUCLEAR FACTOR KAPPA LIGHT CHAIN BETA*) TERHADAP STATUS HORMONAL, HER-2 DAN DERAJAT HISTOPATOLOGI PADA KASUS KANKER PAYUDARA STADIUM LANJUT BAIK LOKAL MAUPUN METASTASIS JAUH**

Dengan ini menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya ilmiah yang saya tulis ini benar- benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil-alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa makalah ini adalah hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

**Makassar, 31 Oktober 2022**

Yang menyatakan,



**dr. Martua Arpollos**

## **KATA PENGANTAR**

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.

Penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada dosen pembimbing yaitu Dr. dr Indra ,SpB(K)Onk, Dr. dr. Berty Nelwan, Sp.PA dan dr. Firdaus Hamid, Sp.MK,Ph.D atas segala kesabaran, waktu, bantuan, bimbingan, nasihat, dan arahan yang diberikan selama ini kepada penulis.

Rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan pula kepada dosen-dosen penguji yang telah memberikan arahan, saran dan masukan demi perbaikan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Rektor Universitas Hasanuddin, Dekan Fakultas Kedokteran, Ketua Departemen Ilmu Bedah, Ketua Program Studi Ilmu Bedah, Sekertaris Program Studi Ilmu Bedah, Ketua Program Pendidikan Dokter Spesialis Fakultas Kedokteran atas kesempatan yang telah diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan PPDS Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Terima kasih yang tak terhingga penulis ucapkan kepada ayahanda Busmin Sibuea dan Ibunda Basaria Sitorus, istri tercinta Frida Megawati Sihombing, kedua anak tersayang Karel dan Levana, serta keluarga besar lainnya yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, yang telah mendoakan, mendukung dan mencurahkan perhatian yang besar selama penulis menjalani pendidikan.

Terima kasih penulis ucapkan keppada para Guru Besar dan seluruh staf pengajar Departemen Ilmu Bedah atas segala bimbingan dan arahnya selama penulis mengikuti program pendidikan dokter spesialis bedah. Semoga ilmu yang penulis dapatkan selama pendidikan ini dapat diamankan dan dimanfaatkan sebaik-baiknya untuk kepentingan masyarakat luas.

Terima kasih penulis ucapkan untuk rekan angkatan “Kotono” Juli 2018 atas segala saran, dukungan dan bantuannya selama pendidikan. Terima kasih juga kepada seluruh staf pegawai bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin terutama kak Andi Esse Tenri Ulang, kak Marlina Rajab, kak Nunung Mujiwiyanti, rekan—rekan sejawat dan perawat serta staf kamar operasi bedah yang telah banyak membantu selama penulis menjalani proses pendidikan.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan karya akhir ini dan tidak menutup kemungkinan penulis mempunyai khilaf dan salah terhadap saudara-saudara yang turut serta dalam penyusunan karya akhir ini, untuk itu penulis mengucapkan permohonan maaf yang sebesar-besarnya.

Akhir kata, penulis mengucapkan terima kasih sebanyak-banyaknya kepada semua pihak yang turut berperan serta dalam penyelesaian karya akhir ini yang tidak bisa penulis sebutkan namanya satu persatu. Semoga Tuhan Yang Maha Esa memberikan rahmat, kesehatan, dan berkat yang melimpah serta semoga karya ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

**Makassar, 31 Oktober 2022**

Penulis,

**dr. Martua Arpollos**

## ABSTRAK

MARTUA. Hubungan ekspresi NF-kB (*nuclear factor kappa light chain beta*) terhadap status hormon, HER-2 dan derajat histopatologi pada kasus kanker payudara stadium lanjut (dibimbing oleh Indra, Berti Nelwan, Firdaus Hamid, Salman A. Syamsu, dan Elridho Sampepajung).

Kanker payudara merupakan kanker terbanyak kedua di dunia. Peradangan kronis adalah salah satu bukti kondisi patogen yang mendorong perkembangan kanker. *Nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells (NF – kB)* memicu reaksi inflamasi yang berkontribusi pada pertumbuhan kanker dan karsinogenesis. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui hubungan antara ekspresi NF – kB terhadap status hormonal, HER-2, dan derajat histopatologi pada kanker payudara stadium lanjut. Hubungan antara ekspresi NF – kB dan status hormonal (*Estrogen Reseptor (ER)* dan *Progesteron Reseptor Progesteron (PR)*), HER-2, dan derajat histopatologis pada kanker payudara stadium lanjut dinilai melalui studi *cross-sectional* prospektif. Imunohistokimia digunakan untuk menentukan ekspresi NF – kB, ER, PR, dan HER-2. Derajat histopatologis kanker payudara ditentukan berdasarkan sistem penilaian kanker payudara *Bloom-Richardson* versi Nottingham. Uji *Chi-square* digunakan untuk menentukan bagaimana data dikaitkan. Proporsi signifikan dari 41 pasien kanker payudara stadium lanjut memiliki hasil ER negatif (56,1 %), PR negatif (62,0 %), dan HER-2 positif (53,7 %). Selain itu, 33 orang (80,5 %) memiliki hasil positif untuk ekspresi NF – kB. Hubungan antara usia, status menopause, dan derajat ekspresi NF – kB terhadap derajat histopatologi pasien kanker payudara stadium lanjut tidak bermakna (semua  $p - value > 0,05$ ). Selain itu, ekspresi HER-2 dan NF – kB berkorelasi secara substansial (nilai  $p 0,016$ ), meskipun ER, PR, dan subtipe molekuler tidak berkorelasi (semua nilai  $p > 0,05$ ). Pada kanker payudara stadium lanjut, terdapat hubungan antara ekspresi NF – kB dan HER-2. Hasil penelitian ini meningkatkan potensi NF – kB sebagai prediktor unik pada kanker payudara.

Kata kunci: kanker payudara, status hormonal, hubungan ekspresi NF – kB



## ABSTRACT

MARTUA. *The Relationship between Nuclear Factor Kappa Light Chain Beta (NF-Kb) Expressions, Hormone Receptor Status, HER-2 and Histopathological Degree in Advanced Breast Cancer* (Supervised by Indra, Berti Nelwan, Firdaus Hamid, Salman A. Syamsu, and Elridho Sampepajung). To cancer progression.

The second most frequent cancer in the world is breast cancer. Chronic inflammation is one evidence of a pathogenic condition that promotes to cancer progression. The nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells (NF-kB) triggers inflammatory reactions that contribute to the growth of cancer and carcinogenesis. The aim of this study is to determine the relationship between NF-kB expression on hormonal status, HER2 and histopathological grade in advanced breast cancer. The link between NF-kB expression and hormonal state (Estrogen Receptor, ER, and Progesterone Receptor, PR), HER-2, and a histopathological degree in advanced breast cancer was assessed in a prospective cross-sectional study. Immunohistochemistry was used to determine the expression of NF-kB, ER, PR, and HER-2. Based on the Nottingham version of the Bloom-Richardson breast cancer grading system, the histological degree of breast cancer was determined. The Chi-square test was used to determine how the data were associated. The significant proportion of the 41 patients with advanced breast cancer has negative ER (56.1%), negative PR (62.0%), and positive HER-2 (53.7%). Additionally, 33 individuals (80.5%) have positive results for NF-kB expression. Age, menopausal state, and the degree of NF-kb expression in the histopathology degree of patients with advanced breast cancer are not significantly correlated (all p-values > 0.05). Additionally, HER-2 and NF-kb expression are substantially correlated (p-value 0.016), although ER, PR, and molecular subtype are not (all p-value 0.05). In advanced breast cancer, there is an association among both NF-B and Her-2 expression. This revelation enhances the NF-kB potential as an unique predictor in breast cancer.

Keywords: breast cancer, hormonal status, NF-kB expression relationship





## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR.....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
ABSTRAK .....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	4
1.3. Tujuan Penelitian .....	5
1.4. Hipotesis Penelitian.....	5
1.5. Manfaat Penelitian .....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Kanker Payudara .....	6
2.2. Epidemiologi .....	6
2.3. Etiologi dan Patogenesis .....	7
2.4. Stadium Klinik .....	10
2.5. Derajat Hispatologi .....	11
2.6. Petanda Biomolekuler .....	12
2.7. Subtipe Molekuler.....	14
2.8. NF- $\kappa$ B .....	15
2.8.1. Anggota Keluarga NF- $\kappa$ B dan Fungsi Fisiologis.....	15
2.8.2. Peran Onkogen NF- $\kappa$ B.....	20
2.8.3. NF- $\kappa$ B dan Kanker Payudara .....	22
2.9. Hubungan antara NF- $\kappa$ B dengan ER.....	23

2.10.	Hubungan antara NF- $\kappa$ B dengan HER2.....	26
2.11.	Hubungan antara NF- $\kappa$ B dengan Ki-67 .....	28
BAB III KERANGKA PEMIKIRAN KONSEPTUAL.....		31
3.1.	Kerangka Teori.....	34
3.2.	Kerangka Konsep.....	35
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN .....		36
4.1	Desain Penelitian.....	36
4.2	Tempat dan Waktu Penelitian .....	36
4.3	Populasi dan Sampel .....	36
4.4	Besar Sampel.....	37
4.5	Defenisi Operasional.....	37
4.6	Kriteria Objektif .....	38
4.7	Metode Analisis .....	39
4.8	Alur Penelitian .....	40
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....		41
5.1.	Hasil Penelitian .....	41
5.1.1.	Karakteristik Subyek Penelitian.....	41
5.1.2.	Hasil Pemeriksaan Status Hormonal.....	42
5.1.3.	Hasil Ekspresi NF- $\kappa$ B .....	43
5.1.4.	Hubungan antara status hormonal dan sub tipe molekuler dengan Ekspresi NF- $\kappa$ B.....	44
5.1.5.	Hubungan antara Karakteristik Subyek Penelitian dengan Ekspresi NF- $\kappa$ B.....	45
5.2.	Pembahasan.....	47
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN .....		54
6.1.	Kesimpulan .....	54
6.2.	Saran.....	54
DAFTAR PUSTAKA .....		55
LAMPIRAN .....		66

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Klasifikasi KPD berdasarkan sifat imunohistokimia dan prognosis relatifnya .....	15
Gambar 2. Anggota keluarga NF-kB, IκB dan IKK.....	17
Gambar 3. Struktur RelA /vrel/ p65 .....	18
Gambar 4. Jalur canonical dan non canonical aktivasi NFκB .....	20
Gambar 5. NFκB dan kanker .....	21
Gambar 6. Transrepresi reseptor estrogen dan NFκB .....	24
Gambar 7. Jaringan pensinyalan yang dimediasi empat gen.....	27
Gambar 8. Ilustrasi skema jalur yang menghubungkan NFκB dengan penuaan selular, kanker, dan penuaan.....	29
Gambar 9. Diagram skema Ki67 sebagai target molekuler.....	30
Gambar 10. Kerangka teori .....	34
Gambar 11. Kerangka konsep .....	35
Gambar 12. Alur penelitian.....	40

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Gambaran subyek penelitian .....	41
Tabel 2. Hasil status hormonal pasien KPD stadium lanjut .....	42
Tabel 3. Gambaran subyek penelitian berdasarkan kelompok subtipe molekuler	43
Tabel 4. Hasil ekspresi NF-kB pasien KPD stadium lanjut .....	43
Tabel 5. Hasil Hubungan status hormonal dan subtipe molekuler dengan ekspresi NF-kB pasien KPD stadium lanjut.....	44
Tabel 6. Hasil Hubungan antara karakteristik subyek penelitian dengan NF-kB	45

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Kanker payudara (KPD) sampai saat ini masih menjadi masalah kesehatan dunia dan merupakan kanker terbanyak kedua setelah kanker paru, diperkirakan lebih dari 1,67 juta kasus baru yang terdiagnosa tahun 2012, (25% dari seluruh jumlah kasus kanker). KPD merupakan urutan teratas penyebab kanker pada wanita dengan angka kematian yang masih relatif tinggi (324.000 kematian atau sekitar 14,3% pada negara berkembang dan 198.000 kematian pada negara maju).<sup>(Ferlay,2012)</sup>

Pada tahun 2018, berdasarkan *Surveillance Epidemiology and Result (SEER)* diperkirakan kasus baru sebesar 266.120 wanita didiagnosa dengan KPD atau sekitar 15,3 % dari seluruh kasus baru kanker. Sedangkan menurut data Globocan tahun 2018 angka kejadian KPD sebesar 11,6% atau sekitar 2,08 juta dari seluruh kasus baru kanker dan menempati urutan kedua terbanyak setelah kanker paru.<sup>(Globocan, 2018)</sup>. Di negara Arab kejadian KPD sekitar 14-42% dari seluruh kanker pada wanita. Menurut data *ASR (Arabic Surveillance Result)* angka insidensnya bervariasi mulai 10-50 kasus/100.000 wanita setiap tahunnya dan cenderung semakin meningkat. Pada pria diperkirakan 1.500 kasus baru atau 1 % dari semua kasus kanker payudara dan kurang lebih 400 orang yang meninggal setiap tahunnya.<sup>(Thomas 2002; Robson 2002; Apantaku 2002)</sup>

Di Indonesia belum ada data lengkap tentang insidens kanker payudara yang berdasarkan *population base*, sedangkan yang ada yaitu baru berdasarkan data dari rumah sakit di Indonesia (*hospital base*) dan *pathological based registry* yang dikumpulkan dari 13 Pusat Laboratorium Patologi di Indonesia. Tetapi diperkirakan sekitar 20.000 kasus baru pertahun dan lebih dari 50% kasus dalam stadium lanjut.<sup>(Sampepajung, 2010)</sup> Data dari Globocan tahun 2018 diperkirakan sekitar 58.256 kasus baru KPD sebesar 30,9% dengan angka kematian sekitar 22.692 atau sekitar 38,95% dan merupakan peringkat pertama penyebab kematian pada kanker wanita.<sup>(Globocan, 2018)</sup> Sebagian besar pasien KPD di Indonesia datang berobat dalam stadium lanjut, 63% stadium III dan IV saat diagnosis.<sup>(Rhodes and Yip, 2011)</sup>

Tumor payudara yang berdiameter lebih besar dari 5 cm atau yang mengenai dinding dada atau kulit atau dengan kelenjar getah bening aksila yang terfiksasi umumnya diklasifikasikan sebagai stadium *locally advanced*.<sup>(Costa et al., 2018)</sup> Angka kejadian KPD stadium *locally advanced* di Cina sebesar 47% dari seluruh kasus kanker payudara.<sup>(Dhanushkodi et al., 2021)</sup> Angka kejadian KPD stadium *locally advanced* di Indonesia diperkirakan lebih dari 50% dari seluruh kasus kanker payudara.<sup>(Wibisono, 2020)</sup>

Berdasarkan tipe histologi, KPD stadium *locally advanced* dapat dibedakan menjadi karsinoma duktal infiltrasi dan karsinoma lobular infiltrasi. Beberapa penelitian melaporkan bahwa KPD stadium *locally advanced* sebagian besar mempunyai tipe histologi karsinoma duktal infiltrasi dan berdiferensiasi buruk.<sup>(Dhanushkodi et al., 2021; Prati et al., 2010)</sup>

Kanker payudara juga dapat diklasifikasikan ke dalam sub tipe molekuler menurut ekspresi reseptor estrogen (ER), reseptor progesteron (PR) dan faktor pertumbuhan epidermal manusia (HER2). Selain itu, Ki67 merupakan penanda yang digunakan untuk memperkirakan proliferasi tumor dan kemosensitivitas dan, juga, memiliki beberapa nilai prognostik untuk sub tipe molekuler tertentu.<sup>(Lainetti et al., 2020)</sup> Tumor payudara yang secara imunohistokimia ditandai dengan kurangnya reseptor estrogen (ER), reseptor progesteron (PR), dan HER2 (juga didefinisikan oleh kurangnya amplifikasi HER2 oleh FISH) diklasifikasikan sebagai KPD triple-negatif. TNBC memiliki perjalanan klinis yang sangat agresif, dengan onset usia yang lebih dini, potensi metastasis yang lebih besar, dan hasil klinis yang lebih buruk seperti yang ditunjukkan oleh tingkat kekambuhan yang lebih tinggi dan tingkat kelangsungan hidup yang lebih rendah dibandingkan dengan penyakit reseptor hormon-positif atau HER2-positif.<sup>(Garrido-castro et al., 2019)</sup>

Perkembangan kanker pada dasarnya berkaitan dengan proses patologis seperti peradangan kronis. *Nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cell* (NF- $\kappa$ B) merupakan penginduksi respon inflamasi yang mendorong karsinogenesis dan perkembangan kanker. NF- $\kappa$ B merupakan penghubung potensial antara peradangan kronis dan kanker yang mendukung perkembangan siklus sel, migrasi, dan proliferasi yang dihasilkan dari peningkatan ekspresi gen

target yang mengkode protein yang mengatur siklus sel dan faktor anti-apoptosis. Tingkat biomarker seperti reseptor estrogen (ER) dan reseptor progesteron (PR) pada jaringan KPD umumnya digunakan dalam praktik klinis untuk memprediksi prognosis dan sebagai respons terhadap pengobatan hormonal. ER dan NF- $\kappa$ B berinteraksi dengan satu sama lain yang dapat mengakibatkan aktivitas yang saling berubah.<sup>(Agrawal et al., 2018)</sup>

Kegagalan terapi hormonal pada tumor ER-positif disebabkan karena banyak mekanisme yang dipengaruhi oleh jalur pensinyalan NF- $\kappa$ B. Aktivasi NF- $\kappa$ B yang menyimpang atau konstitutif dapat menyebabkan pertumbuhan yang tidak bergantung pada hormon (kehilangan ekspresi ER) dan kegagalan pengobatan ajuvan. Selain itu, NF- $\kappa$ B hiperaktif dapat berkaitan dengan perkembangan resistensi endokrin pada tumor ER-positif.<sup>(Agrawal et al., 2018)</sup>

NF- $\kappa$ B merupakan faktor transkripsi yang dapat mengarahkan efeknya pada setiap aspek dari tumorigenesis, yaitu tumbuh tanpa memerlukan rangsangan pertumbuhan eksogen (*self sufficiency in growth signals*), tidak sensitif terhadap sinyal anti-pertumbuhan, kemampuan apoptosis yang menurun, kemampuan proliferasi tidak terbatas, kemampuan angiogenesis, invasi dan metastasis, dimana proses ini merupakan *hallmarks* kanker.<sup>(Karim dan Lin, 2002)</sup> Faktor transkripsi NF- $\kappa$ B yang diekspresikan oleh sel normal sebagai agen anti-apoptosis menjadi diekspresikan secara berlebihan pada beberapa jenis kanker oleh memblokir jalur intrinsik dan ekstrinsik.<sup>(Prabudi et al., 2020)</sup>

Hubungan antara NF- $\kappa$ B dengan tingkat histologi KPD telah dilaporkan oleh beberapa penelitian. Luminal A merupakan salah satu sub tipe KPD *locally advanced* dengan prognosis terbaik diantara sub tipe lainnya.<sup>(Prabudi et al., 2020)</sup> Kepositifan kelenjar getah bening berkaitan dengan jalur NF- $\kappa$ B dan dinyatakan berhubungan dengan risiko tinggi metastasis jauh pada pasien luminal A.<sup>(Lapcik et al., 2020)</sup> Sebuah penelitian melaporkan sebanyak 89,3% tumor dengan ukuran lebih dari 5 cm mengaktifkan p65 yang menunjukkan bahwa NF- $\kappa$ B berkaitan dengan agresifitas tumor seperti ukuran tumor besar, stadium tinggi dan diferensiasi yang buruk. Ekspresi NF- $\kappa$ B yang berlebihan menyiratkan biologi tumor yang agresif pada KPD dan dapat memprediksi tumor yang cenderung memiliki

prognosis yang buruk. Pasien dengan tumor positif NF- $\kappa$ B perlu ditangani secara agresif. Ekspresi NF- $\kappa$ B berkorelasi langsung dengan ER negatif dan juga berkaitan dengan nilai *Nottingham prognostic indeks* (NPI) yang lebih tinggi yang merupakan hasil prognostik yang buruk. (Sarkar *et al.*, 2013)

Memahami jalur NF- $\kappa$ B dan karakteristik seluler KPD sangat penting dalam mengembangkan inhibitor NF- $\kappa$ B sebagai agen terapeutik. Ekspresi berlebih NF- $\kappa$ B sebagai faktor transkripsi dianggap sebagai target penelitian yang menjanjikan karena dapat mempengaruhi transkripsi onkogen dan juga dapat bertindak sebagai biomarker untuk resistensi prognostik, terapeutik, dan kemoterapi. (Prabudi *et al.*, 2020) Hal ini karena ekspresi berlebih dari NF- $\kappa$ B berkaitan dengan sel ganas dengan tingkat histologis yang lebih tinggi dan, dengan demikian, penghambatan ekspresi faktor-faktor ini dapat memberikan strategi yang menjanjikan dalam pengobatan pasien ini. (Simplicio-Revoredo *et al.*, 2020) Penghambatan ekspresi berlebih NF- $\kappa$ B dapat menurunkan perkembangan tumor pada pasien dan dapat memblokir karsinogenesis payudara, mengurangi kejadian karsinoma payudara pada pasien dengan risiko tinggi. (Sarkar *et al.*, 2013)

Sampai saat ini, belum banyak penelitian yang mengkaji hubungan kelebihan ekspresi NF- $\kappa$ B dengan subtype molekuler berdasarkan pemeriksaan imunohistokimia seperti luminal A, luminal B, HER-2 dan triple negatif dan hubungan kelebihan ekspresi NF- $\kappa$ B dengan derajat diferensiasi pada KPD stadium lanjut. Penggunaan ekspresi NF- $\kappa$ B dalam memperkirakan prognosis KPD stadium lanjut perlu dikaji lebih lanjut. Oleh karena itu, penelitian ini tertarik untuk melakukan kajian hubungan ekspresi NF- $\kappa$ B dengan status hormonal (ER, PR), HER2 dan derajat histopatologi pada KPD stadium lanjut.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Peranan NF- $\kappa$ B sebagai biomarker prognosis KPD stadium lanjut belum sepenuhnya diketahui, sehingga dirumuskan masalah penelitian ini sebagai berikut:

1. Apakah terdapat hubungan antara ekspresi NF- $\kappa$ B dengan status hormonal reseptor (ER,PR) dan HER2 pada KPD stadium lanjut?



2. Apakah terdapat hubungan antara ekspresi NF- $\kappa$ B dengan sub tipe molekuler pada KPD stadium lanjut?
3. Apakah terdapat hubungan antara derajat histopatologi dengan sub tipe molekuler pada KPD stadium lanjut?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### **1. Tujuan umum**

Diketuinya hubungan antara ekspresi NF- $\kappa$ B terhadap status hormonal, HER2 dan derajat histopatologi pada KPD stadium lanjut.

#### **2. Tujuan khusus**

Menilai adanya hubungan antara ekspresi NF- $\kappa$ B terhadap status hormonal, HER2 dan derajat histopatologi pada KPD stadium lanjut di Makassar.

### **1.4. Hipotesis Penelitian**

Hipotesis yang dapat diajukan pada penelitian ini adalah terdapat hubungan antara ekspresi NF- $\kappa$ B dengan status hormonal, HER-2 dan derajat histopatologi pada KPD stadium lanjut.

### **1.5. Manfaat Penelitian**

#### **1. Bidang pelayanan**

- a. Mendapatkan data mengenai ekspresi NF- $\kappa$ B sehingga dapat digunakan sebagai faktor prediktif tambahan KPD stadium lanjut.
- b. Digunakan sebagai acuan (biomarker) prognosis KPD stadium lanjut.

#### **2. Bidang akademik**

- a. Menambah pengetahuan mengenai faktor prediktif serta pemahaman proses inflamasi dan implikasi klinis pada penderita KPD stadium lanjut.
- b. Data hasil penelitian dapat dipakai sebagai dasar untuk menentukan terapi pada KPD stadium lanjut.
- c. Data untuk penelitian lanjutan prognosis KPD stadium lanjut.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Kanker Payudara**

Kanker payudara adalah suatu penyakit neoplasma ganas yang berasal dari jaringan parenkim atau stroma payudara. Penyakit ini oleh *World Health Organization (WHO)* dikelompokkan ke dalam *International Classification of Disease (ICD)* dengan nomor kode 174. (Sainsbury, 2000)

Kanker payudara adakalanya merupakan kanker payudara campuran, terdiri dari beberapa jenis morfologi sekaligus. Namun prinsip klasifikasi patologi lazimnya memberikan nama atas dasar komponen yang dominan. Gambaran histopatologis dari kanker payudara dibedakan menjadi 21 tipe dengan beberapa subtype (WHO, 2003). Kebanyakan kanker payudara adalah adenokarsinoma, diantara yang paling sering adalah tipe Invasif ductal (80%), Invasif lobuler (5-10%), Tubuler (2%), Meduller (5-7%) dan musinosa (3%). Sifat dan perkembangannya dibedakan menjadi karsinoma insitu dan invasif. (Sukardja IDG, 2000, Lester, 2010)

#### **2.2. Epidemiologi**

Insidens kanker payudara pada wanita di negara maju berkisar 200-250 per 100.000 wanita pertahun dan insidens ini bertambah sesuai dengan meningkatnya usia. Kanker payudara merupakan keganasan pada organ padat yang terbanyak didiagnosa pada wanita Amerika setelah keganasan pada bronchogenic, dan merupakan penyebab kematian terbanyak kedua akibat kanker setelah kanker paru (Proznitz LR 2001).

Mortalitas kanker payudara sekitar 28% per 100.000 dan 19% kematian pada perempuan Amerika disebabkan karena kanker payudara. Insidens kanker payudara bervariasi antara satu negara dengan negara lainnya, paling tinggi di Amerika Serikat dan Eropa Barat. Insidens sedang di Eropa Timur, Eropa Selatan dan Amerika Selatan dan insidens paling rendah di benua Asia (Willet WC 2000).

Di Indonesia penderita kanker payudara yang dilaporkan dari beberapa rumah sakit pada umumnya datang berobat pada stadium lanjut (stadium III dan

IV). Siregar KB dari Rumah Sakit Pringadi Medan melaporkan kanker payudara stadium III dan IV sebanyak 76,9% dengan puncak frekuensi umur 31-50 tahun sebanyak 58,5 %. Azamris di Rumah Sakit M. Jamil Padang menemukan 57.9% pada Stadium III dan IV. Dari Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo Jakarta, Tjindarbumi D melaporkan Stadium III dan IV sebesar 70%, sedangkan Manuaba TW dari Rumah Sakit Sanglah Denpasar melaporkan kanker payudara Stadium III dan IV sebanyak 71 % dengan puncak frekuensi umur 35-50 tahun sebanyak 68%. Kanker payudara di Rumah Sakit kanker Dharmais Jakarta dilaporkan terus meningkat dari 221 kasus tahun 2003 dan menjadi 657 kasus pada tahun 2008 dimana 70% datang pada Stadium III dan IV. (Sampepajung D 2010) KPD stadium *locally advanced* di Indonesia terjadi sekitar lebih dari 50% dari seluruh kasus kanker payudara. (Wibisono, 2020)

Data di Sulawesi Selatan dalam periode 1997-2005 kanker payudara menempati urutan pertama angka kejadian kanker dengan angka sekitar 135 kasus pertahun. Data dari Rumah Sakit Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, penderita kanker payudara yang datang berobat dari tahun 2005-2009 adalah 768 pasien, dengan rata-rata 153 pasien pertahunnya, dengan puncak frekuensi pada umur 40-49 tahun sebesar 39,4%. Terdapat kecenderungan peningkatan insidens kanker payudara dari 136 pasien pada tahun 2005 hingga 165 pasien pada tahun 2009. Hal ini sesuai dengan beberapa literatur bahwa baik negara berkembang maupun negara maju, insidens kanker payudara dari tahun ke tahun cenderung semakin meningkat. (Sampepajung D 2010)

### **2.3. Etiologi dan Patogenesis**

Etiologi pasti belum diketahui, beberapa faktor resiko yang dihubungkan dengan terjadinya kanker payudara adalah jenis kelamin, dimana jenis kelamin wanita dibanding dengan laki-laki berkisar antara 100:1, sedangkan faktor umur merupakan faktor resiko yang sangat penting dan diperkirakan 1 diantara 5.900 wanita pada kelompok umur 30 tahun dan 1 diantara 290 wanita pada kelompok umur 80 tahun. Dengan adanya riwayat keluarga yang menderita kanker payudara terutama saudara kandung baik itu tumor bersifat unilateral maupun bilateral dapat

meningkatkan resiko terjadinya kanker payudara. Mutasi genetik yang terjadi pada setiap individu merupakan faktor predisposisi terjadinya 5-10% familial kanker payudara seperti mutasi gen BRCA-1 dan BRCA-2. Ada beberapa kelainan jinak pada payudara yang dikatakan mempunyai resiko dengan terjadinya kanker payudara adalah atypical ductal atau lobuler sampai 4-5 kali dibandingkan dengan tipe kelainan jinak lainnya. Faktor hormonal seperti umur pertama kali menarche, umur pada saat menopause, jumlah anak, umur pertama kali melahirkan anak aterm yang dihubungkan dengan lamanya paparan hormon estrogen dan berhubungan juga dengan derajat differensiasi sel kelenjar mamma yang menggambarkan bahwa semakin lama terpapar hormon estrogen semakin beresiko terjadinya kanker payudara. Paparan radiasi juga menjadi salah satu faktor resiko terjadinya kanker payudara disamping faktor kegemukan/obesitas dan peminum alkohol. (Solorzano, 2003)

Faktor resiko utama terjadinya pertumbuhan kanker payudara adalah faktor hormonal dan genetik. Faktor ini dapat digolongkan menjadi 2 bagian yaitu sporadik (kemungkinan berhubungan dengan hormon) dan herediter (mutasi gen).

#### **a. Kanker Payudara Herediter**

Kerentanan satu atau beberapa gen merupakan penyebab utama dari 12% kanker payudara. Probabilitas penyebab herediter meningkat terutama jika keluarga dekat (tingkat pertama) mengidap kanker payudara maupun kanker lainnya.

Mutasi gen BRCA-1 dan BRCA-2 merupakan penyebab tersering kanker payudara herediter. Penderita carier BRCA-1 dan BRCA-2 juga rentan terhadap kanker epitelial lain seperti prostat dan pankreas. BRCA-1 dan BRCA-2 merupakan gen dengan ukuran panjang lebih dari 80 kilobasa. Kanker payudara terkait BRCA-1 umumnya *poorly differentiated*, mempunyai gambaran medullary dan tidak mengekspresikan hormon reseptor maupun Her2/neu sehingga disebut *triple negative phenotype* dan kanker payudara terkait BRCA-2 juga cenderung *poorly differentiated* namun sering positif terhadap estrogen reseptor (ER). (Rosen,2009, Lester, 2010)

#### **b. Kanker Payudara Sporadik**

Faktor resiko utama untuk jenis ini adalah berhubungan erat dengan faktor hormonal seperti jenis kelamin, usia saat menarkhe dan menopause, riwayat

reproduksi dan menyusui serta pemakaian estrogen eksogen. Kanker ini sering terjadi pada wanita post menopause dan estrogen reseptor positif. Sekali sel premaligna dan malignan muncul, hormon dapat menstimulasi untuk dapat terus tumbuh. (Rosen, 2009, Lester, 2010)

Secara sederhana kanker dapat terjadi bila ada perubahan proto onkogen menjadi onkogen dan perubahan pada tumor supresor gen. Ekspresi proto onkogen dalam keadaan normal diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan sel normal. Aktivitas ini dikontrol oleh tumor supresor gen. Aktivasi proto onkogen menjadi onkogen dapat terjadi melalui perubahan struktural dalam gen, translokasi kromosom, amplifikasi gen atau mutasi beberapa elemen yang dalam keadaan normal berfungsi mengontrol ekspresi gen bersangkutan. Bila terjadi mutasi proto onkogen, merangsang ekspresi tumor supresor gen/anti onkogen menginduksi terhentinya siklus sel atau menginduksi terjadinya apoptosis. Apabila fungsi tumor supresor gen yang berfungsi sebagai *surveillance* terganggu akibat mutasi atau delesi/hilang, maka sel tersebut rentan untuk menjadi ganas. (Sukardja, 2000)

Dengan demikian, apapun penyebabnya sudah diterima secara luas bahwa perkembangan kanker secara umum terjadi melalui beberapa tahap (multistep) yaitu inisiasi, promosi dan progresi. Walaupun ada beberapa modifikasi sesuai dengan jenis karsinogen ditingkat molekuler, efek biokimia dari berbagai jenis karsinogen adalah sama, yaitu pada umumnya menyebabkan perubahan proto-onkogen menjadi onkogen melalui aktivasi onkogen (activating mutation) atau inaktivasi gen supresor (inactivating mutation). (Boedina S, 2011)

Pada tahun 1982 dibuat suatu indeks prognostik bagi pasien KPD primer yang *operable/early stage*. Indeks berdasarkan analisis retrospektif terhadap 9 faktor pada 387 pasien. Hanya 3 faktor yaitu ukuran tumor, stadium klinik dan grading histopatologis yang signifikan pada analisis tersebut. Status hormonal hampir mempunyai nilai yang signifikan. (Galea MH, 1992). Sebagai tambahan informasi prognostik dapat digunakan sebagai petunjuk terapi dan juga mengidentifikasi dari subgroup pasien yang mana yang perlu mendapat terapi yang lebih agresif. Faktor prognostik sangat luas diteliti pada pada pasien KPD stadium dini, demikian juga pada stadium lokal lanjut. Sebaliknya sangat kurang penelitian yang melaporkan

mengenai faktor prognostik pada KPD stadium lokal lanjut /metastasis. Meskipun demikian telah diterima secara luas bahwa stadium klinik dan grading histopatologis merupakan faktor prognostik untuk stadium dini sampai stadium local lanjut /metastasis. Demikian juga dengan status reseptor hormonal yang mempunyai nilai prognostik pada semua stadium KPD. (Masood S, 1995)

#### **2.4. Stadium Klinik**

Sistem staging atau stadium dari kanker adalah usaha untuk membatasi tingkatan kanker terhadap prediksi hasil luaran. Idealnya menghasilkan distribusi yang merata terhadap proses *outcome* nya dari stadium rendah hingga stadium tinggi. Dalam prakteknya, distribusi yang merata biasanya tidak memungkinkan karena heterogenitas dari kanker dan multiple kombinasi dari faktor-faktor yang berperan dalam hasil luaran. Karena hal tersebut sistem staging selalu direvisi secara kontinyu oleh *American Joint Committee on Cancer (AJCC)*.

Sistem staging secara TNM (Tumor, Node dan Metastasis jauh) menurut AJCC digunakan untuk menetapkan status dari tumor primer, kelenjar limfe dan ada tidaknya metastase jauh. Secara umum dibagi empat stadium pada pasien kanker payudara dan dapat digunakan sebagai kesatuan dari outcomenya. Stadium I kanker payudara mempunyai disease-free survivalnya sekitar 80% saat ini. Stadium II merupakan grup yang heterogen, tetapi bernilai 50%-60% pada saat ini. Stadium III kanker payudara juga heterogen tetapi memiliki free survivalnya saat ini sekitar 30%-40%. Terakhir, hampir semua pasien dengan metastasis akan meninggal dengan kelainan ini, mayoritas wanita dengan stadium IV akan meninggal dalam 2 tahun pengamatan. (Prosnitz LR, 2001)

KPD stadium lokal lanjut merupakan tumor payudara besar (diameter lebih dari 5 sentimeter). Kanker yang melibatkan kulit payudara atau otot di bawah dada. Kanker yang melibatkan beberapa kelenjar getah bening lokal (yang terletak di ketiak atau jaringan lunak di atas dan di bawah tulang selangka). Kanker payudara inflamasi, jenis kanker yang berkembang pesat yang membuat payudara tampak merah dan bengkak (karenanya disebut inflamasi) Meskipun kemungkinan penyembuhan KPD stadium lokal lanjut lebih rendah daripada jika kankernya kecil

dan terbatas pada payudara, penyembuhan dimungkinkan dengan pengobatan agresif. (Taghian *et al.*, 2020)

KPD stadium metastasis (*Metastatic breast cancer*) adalah semua jenis kanker payudara dengan terbukti adanya penyebaran jauh (semua T, semua N, M1). Dengan perkembangan terapi beberapa tahun terakhir telah terjadi perbaikan hasil terapi maupun kualitas hidup pasien. Akan tetapi, kanker payudara dengan metastasis tetap merupakan penyakit yang tidak dapat disembuhkan. Dalam kondisi metastasis ini, median dari overall survival adalah 3 tahun dan tingkat survival dalam 5 tahun hanya ~25%. (Taghian *et al.*, 2020)

## **2.5. Derajat Histopatologi**

Derajat histopatologi adalah salah satu faktor prognostik yang paling umum dari KPD. Derajat histopatologi menggambarkan potensi agresif tumor, dan merupakan skor gabungan berdasarkan evaluasi mikroskopis dari pembentukan tubulus, jumlah mitosis, dan pleomorfisme inti. Tumor grade 3 adalah derajat yang paling agresif (sangat proliferasif) dan berdiferensiasi buruk. Tumor grade 2 berdiferensiasi sedang, dan tumor grade 1 adalah yang paling tidak agresif (bertumbuh lambat) dan berdiferensiasi baik. (Skoog *et al.*, 2017)

Kanker payudara dinilai berdasarkan bagian infiltrasi karsinoma duktal invasif. Pembentukan tubulus: pada bagian tumor, skor 1 berarti lebih dari 75% sel dalam pembentukan tubulus (lebih baik), skor 3 digunakan ketika kurang dari 10% sel dalam pembentukan tubulus (lebih buruk), skor 2 berada di antara 10% dan 75%. Pleomorfisme inti: skor diberikan dari 1 hingga 3 berdasarkan ukuran, bentuk, dan kromoplasma dari inti sel tumor, dengan 1 yang paling dekat dengan sel normal (lebih baik), 3 paling banyak variasinya (lebih buruk), dan 2 di di antara. Hitungan mitosis: skor 1 berarti 0-5 per 10 *high power fields* (HPF); skor 2 berarti 6-10 per 10 HPF; dan skor 3 berarti >11 per 10 HPF. Ketiga skor tersebut kemudian digabungkan menjadi skor total antara 3 (1+1+1) dan 9 (3+3+3). Skor ini diterjemahkan menjadi tingkat histologis: Skor 3-5: Tingkat 1 (atau berdiferensiasi baik); skor 6 atau 7: grade 2 (berdiferensiasi sedang); dan skor 8 atau 9: kelas 3 (berdiferensiasi buruk). (Zhang *et al.*, 2012)

## 2.6. Petanda Biomolekuler

Dasar dari progresi suatu malignitas adalah proses dari pengaturan transisi epitelial-mesenkim, hipoksia, desmoplasia dan angiogenesis. Perkembangan kanker meliputi disregulasi signal proliferasi, faktor pertumbuhan dan penghambat, aktivasi onkogen dan hilangnya kemampuan tumor suppressor gen. Peningkatan akan pemahaman dasar patofisiologi dari KPD berhubungan dengan ditemukannya teknik molekular baru, target terapi dan penanganan secara individual. Gambaran ekspresi gen tertentu dapat digunakan sebagai gen penanda terhadap faktor prognostik dan prediktif yang dapat membantu melihat karakteristik tumor atau sebagai acuan terapi secara individual.

Ketertarikan terhadap marker prognostik yang baru berdasarkan fakta bahwa pada pasien KPD stadium dini telah menunjukkan adanya metastasis secara mikroskopik pada saat didiagnosis. Beberapa tanda molekular yang telah diteliti mempunyai nilai prognostik dan prediktif. Tanda prognostik adalah indikator terhadap agresifitas, tingkat invasi, penyebaran tumor dan berkorelasi dengan angka survival terhadap terapi sistemik yang diberikan dan dapat digunakan untuk menentukan pasien yang beresiko. Sedangkan tanda prediktif adalah hasil atau laporan yang dilakukan oleh klinisi untuk mendapatkan hasil terapi yang terbaik dan untuk menentukan rencana terapi yang akan datang.

Biomarker prediktif pada umumnya digunakan untuk memprediksi apakah pasien akan memberikan respon atau resisten terhadap kemoterapi tertentu. Biomarker prediktif penting dalam penatalaksanaan kanker, karena pasien dengan histologik yang sama dapat memberikan respon yang berbeda terhadap obat yang sama, dengan variasi antara 10-90%. Banyak terapi biologis baru hanya menunjukkan efikasi pada minoritas pasien, karena itu perlu adanya biomarker prediktif yang akurat. Selain memprediksi efikasi terapi, biomarker prediktif juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi dosis optimum suatu obat dan memprediksi toksisitas. (Duffy, 2013)

Pada biomarker prediktif, *clinical end-point* adalah peningkatan OS setelah mendapat obat tertentu. Estrogen reseptor (ER) merupakan biomarker prediktif pertama yang direkomendasikan oleh *Tumor Marker Panel of the ASCO*,



untuk digunakan secara rutin pada kanker payudara. ER digunakan untuk menseleksi pasien yang diduga akan memberikan respons baik terhadap terapi hormonal. (Pavlon *et al.*, 2013) Sistem skor reseptor estrogen dan progesteron scoring pada dasarnya didasarkan pada pemeriksaan semua sel tumor pada slide, dengan menghitung persentase semua sel positif dalam 100 sel ganas pada perbesaran total objektif 40, kemudian skor dinilai sesuai dengan sistem penilaian Allred. (Alaaragy *et al.*, 2020)

Biomarker prediktif yang lain adalah *Human epidermal growth factor receptor 2* (HER2) yang diekspresikan pada sekitar 25% pasien kanker payudara (identifikasi dengan immunohistokimia). Ekspresi HER2 digunakan untuk menseleksi pasien kanker payudara yang diduga memberikan respons baik terhadap trastuzumab. (Pavlon *et al.*, 2013) Sistem penilaian HER2 tergantung pada intensitas dan kelengkapan pewarnaan membran sel tumor dan skornya menjadi: 0, 1, 2 dan 3.

- a. Skor 0: negatif dimana tidak ada pewarnaan sama sekali, atau pewarnaan samar atau tidak lengkap pada 10% sel tumor.
- b. Skor 1+: negatif dengan pewarnaan tidak sempurna atau samar pada > 10% sel tumor.
- c. Skor 2+: samar-samar di mana ada pewarnaan membran sekumferensial dengan pewarnaan tidak lengkap dan/atau lemah/sedang pada > 10% sel tumor atau lengkap dan sekumferensial dan intens tetapi pada <10% sel tumor, skor ini harus dievaluasi dengan SISH belajar untuk menentukan positif atau negatif.
- d. Skor 3+: positif terdapat pewarnaan membran sekumferensial dengan sel tumor lengkap, intens dan >10%. (Alaaragy *et al.*, 2020)

Ki-67 ada di semua sel yang berproliferasi, dan berperan sebagai penanda proliferasi. Ki-67 adalah protein nonhistone nukleus yang ada di semua fase aktif siklus sel, kecuali fase G013. Selain itu, Ki-67 adalah salah satu gen yang dipilih secara prospektif yang termasuk dalam uji Oncotype DXTM yang digunakan untuk memprediksi risiko kekambuhan dan tingkat manfaat kemoterapi pada wanita dengan kanker payudara ER+ node-negatif. Biomarker proliferasi Ki-67 juga dianggap sebagai faktor prognostik untuk kanker payudara. Potensi penggunaan Ki-

67 meliputi prognosis respon relatif, resistensi terhadap kemoterapi atau terapi endokrin, estimasi risiko residual pada pasien dengan terapi standar, dan sebagai biomarker dinamis dari efikasi pengobatan dalam sampel yang diperoleh sebelum, selama, dan setelah terapi neoadjuvant, khususnya terapi endokrin neoadjuvant. (Soliman and Yussif, 2020) Sistem penilaian Ki-67 berupa difus atau titik-titik seperti pewarnaan nukleus coklat, tumor dianggap mitotic ally aktif ketika >14% sel tumor menunjukkan pewarnaan positif. (Alaaragy *et al.*, 2020)

## 2.7. Subtipe Molekuler

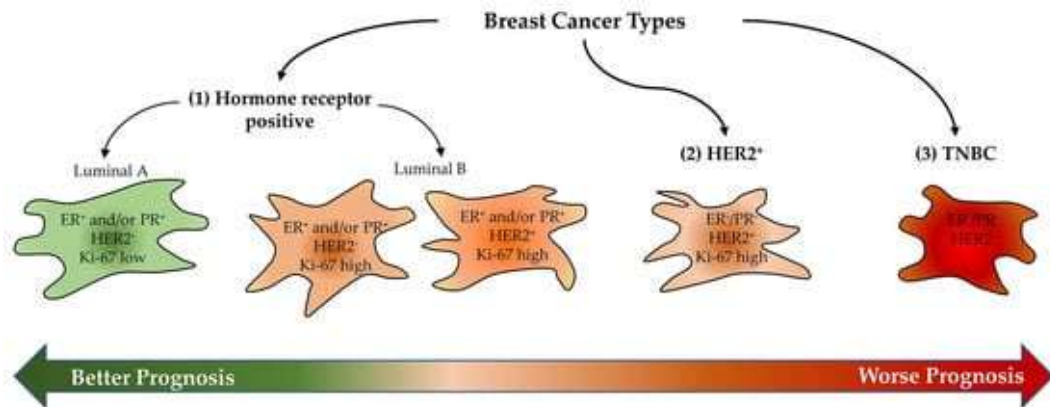
Kanker payudara terbukti dibagi menjadi subtipe molekuler yang berbeda yaitu luminal A, luminal B, HER2 dan triple negatif. Subtipe ini didasarkan dari hasil imunohistokimia dari reseptor estrogen (ER), reseptor progesteron (PR) dan HER2. Nilai cut off dari ER dan PR adalah 10% sel positif, yang tidak tergantung dari intensitas. Pewarnaan HER2 dapat dinilai menurut pedoman American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists. (Kim *et al.*, 2010)

Berdasarkan St. Gallen consensus 2011, subtipe molekuler KPD dapat diklasifikasikan menjadi Luminal A (ER+/PR+/HER2-/low Ki-67); Luminal B (ER+/PR+/HER2-/+/Ki-67 tinggi); HER2-overexpression (ER-/PR-/HER2+) dan TNBC (ER-/PR-/HER2-) (Goldhirsch *et al.*, 2011). Basal-like mengacu pada TNBC yang ditemukan positif untuk ekspresi penanda basal (CK5/6) (Elesawy *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2012).

Dengan menggunakan sistem Nottingham, penentuan derajat histologis dilakukan oleh satu ahli patologi berdasarkan kriteria tertentu. Ekspresi ER dan PR dianggap positif ketika inti sel tumor 1% (Silver *et al.*, 2010). HER2 dianggap positif jika intensitas membran >10% dari sel tumor dan diwarnai secara homogen (Wolff *et al.*, 2014). Cut off Ki-67 adalah 14% untuk kategori tinggi (Cheang *et al.*, 2009). CK5/6 dikatakan positif jika memiliki skor 1+, 2+ atau 3+ (Livasy *et al.*, 2006). Klasifikasi subtipe molekuler kanker payudara didefinisikan menjadi lima subtipe menurut konsensus St. Gallen 2011 (Goldhirsch *et al.*, 2011) sebagai berikut: (Setyawati *et al.*, 2018)

- a. Luminal A: ER dan atau PR (+); HER2 (-/+); Ki-67 rendah (<14%)

- b. Luminal B: ER dan atau PR (+); HER2 (-/+); Ki-67 tinggi ( $\geq 14\%$ )
- c. HER2 (+): ER dan PR (-); HER2 (+)
- d. TNBC (seperti basal): ER (-); PR(-); HER2 (-); CK5/6 (+)
- e. TNBC (tidak seperti basal): ER(-); PR(-); HER2 (-); CK5/6 (-)



Gambar 1. Klasifikasi KPD berdasarkan sifat imunohistokimia dan prognosis relatifnya (Dikutip dari Avagliano et al., 2019)

Kanker payudara yang mengekspresikan ER dan PR mewakili sekitar 85% dari semua kanker payudara dan selanjutnya dibagi menjadi dua subtipe: luminal A, yang mencakup kanker payudara ER<sup>+</sup> dan/atau PR<sup>+</sup> dan HER2<sup>-</sup>, dan ditandai dengan ekspresi Ki-67 yang rendah. Penanda proliferasi, dan luminal B, yang meliputi tumor payudara ER<sup>+</sup> dan/atau PR<sup>+</sup>, HER2<sup>+</sup> (atau HER2<sup>-</sup>), menunjukkan ekspresi Ki-67 yang tinggi dan prognosis yang lebih buruk daripada Luminal A. Baik HER2<sup>+</sup> dan TNBC menyumbang sekitar 15% dari kanker payudara. KPD reseptor-positif memiliki prognosis terbaik, sedangkan TNBC, yang merupakan jenis kanker payudara yang paling heterogen, memiliki risiko kekambuhan yang tinggi dan kelangsungan hidup keseluruhan yang lebih pendek dibandingkan dengan dua jenis lainnya. (Avagliano et al., 2019)

## 2.8. NF- $\kappa$ B

### 2.8.1. Anggota Keluarga NF- $\kappa$ B dan Fungsi Fisiologis

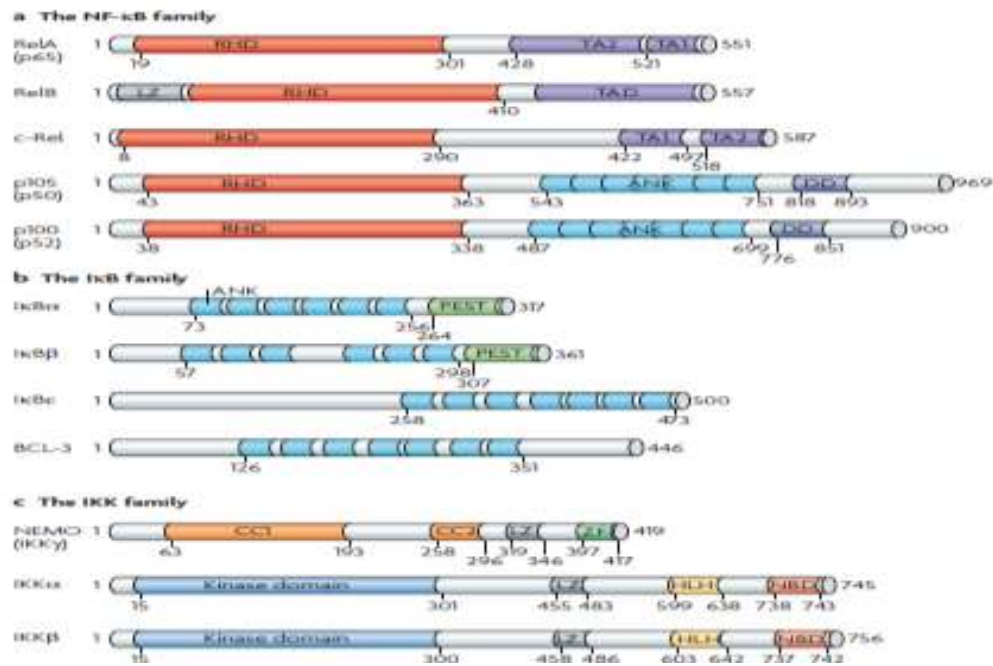
NF- $\kappa$ B (*nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cell*, *nuclear factor kappa B*) pertama kali dijelaskan sebagai faktor transkripsi pada sel B dewasa yang mengikat elemen yang mengendalikan ekspresi imunoglobulin

kappa rantai ringan. Sejak penemuannya pada tahun 1986, NF- $\kappa$ B telah dipelajari secara intensif dan ditemukan memiliki peran dalam mengatur transkripsi beberapa gen target lewat ikatannya dengan gugus  $\kappa$ B melalui jalur canonical dan noncanonical. (Andrea and Sankar., 2009)

Pada sel mammalia, keluarga NF- $\kappa$ B/Rel terdiri dari lima anggota : RelA (p65), RelB, c-Rel, NF- $\kappa$ B1 (p50 prekursor p105), dan NF- $\kappa$ B2 (p52 prekursor p100). Protein ini terdiri atas 300 asam amino sequensial, memiliki struktur N terminal disebut wilayah REL (Rel-homolog domain) yang bertanggung jawab pada homo-dan heterodimerisasi, dan interaksinya dengan protein inhibitor. Tiga dari anggota keluarga ; RelA, c-Rel, dan RelB memiliki domain transaktivasi di C-terminal, yang berperan pada aktivitas transkripsi. NF- $\kappa$ B1/p105 dan NF- $\kappa$ B2/p100 merupakan prekursor yang tidak aktif dari protein p50 dan p52; dan dalam keadaan tidak distimulasi, di sitoplasma. Proses proteolitik meniadakan domain penghambatan di C-terminal memungkinkan protein yang dihasilkan dapat masuk ke inti sel. RelA dan p50 ada diberbagai jenis sel, sedangkan ekspresi c-Rel terbatas pada sel-sel hematopoietik dan limfosit. Ekspresi RelB terbatas pada organ yang spesifik, seperti timus, kelenjar getah bening dan patch peyer's. Dimer masing-masing NF- $\kappa$ B memiliki afinitas DNA-binding yang berbeda pada gugus  $\kappa$ B dengan konsensus sequensial 5'-GGGRNNYYCC-3' (R, purin : Y, pirimidin : N, *any base*), dan fungsi mereka yang sering overlap. Struktur homodimer kompleks Rel A/p65 paling sering ditemukan karena berada di sebagian besar sel tubuh. (Andrea and Sankar, 2009)

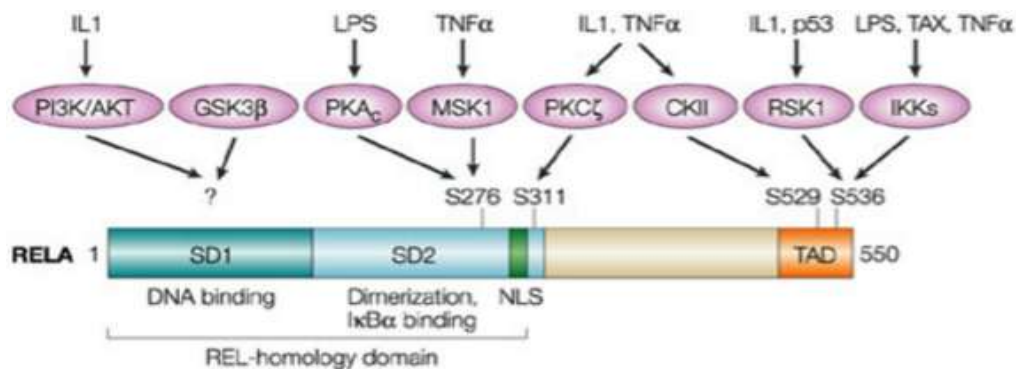
NF- $\kappa$ B dinyatakan dalam sitoplasma pada hampir semua jenis sel, dimana aktivitasnya dikendalikan oleh keluarga pengatur protein yaitu inhibitor NF- $\kappa$ B (I $\kappa$ B). Anggota I $\kappa$ B (I $\kappa$ B $\alpha$ , I $\kappa$ B $\beta$ , I $\kappa$ B $\epsilon$ , I $\kappa$ B $\gamma$ , Bcl-3, p105, p110) umumnya memiliki 6-7 pengulangan ankyrin pada regio C-terminal, terdiri dari 33 urutan asam amino yang mengikat NF- $\kappa$ B dimer. Protein I $\kappa$ B awalnya berperan dalam mempertahankan NF- $\kappa$ B dimer dalam sitoplasma oleh *Nuclear Localization Sequences* (NLSs). (Ghosh et al., 2012) Penelitian terakhir, menunjukkan bahwa baik I $\kappa$ B $\alpha$  dan I $\kappa$ B $\epsilon$  terhubung antara nukleus dan sitoplasma dalam kompleks NF- $\kappa$ B-I $\kappa$ B. Kompleks ini mampu mengusir NF- $\kappa$ B dari DNA target dan mengangkut

kembali ke sitoplasma. Ekspresi protein IκBα diatur oleh NF-κB; lewat mekanisme umpan balik. Namun ekspresi IκBβ tidak dipengaruhi oleh NF-κB. Sebaliknya, IκBβ konstitutif dipertahankan dalam sitoplasma, yang menunjukkan bahwa ia tidak terlibat dalam lingkaran autoregulatori signal NF-κB. (Hinz, M. & Scheidereit, 2014)



Gambar 2. Anggota keluarga NF-κB, IκB dan IKK.

(A). Anggota keluarga NF-κB terdiri atas lima anggota yaitu ; RelA (p65), RelB, c-Rel, p50/p105 (NF-κB1) dan p52/p100 (NF-κB2). P50 dan p52 berasal dari prekursor protein p105 dan p100. Masing-masing anggota keluarga NF-κB mengandung N-terminal Rel homology domain (RHD) yang memediasi ikatan dengan DNA serta dimerisasi dan memiliki *nuclear localization domain*. Subfamily Rel (RelA, RelB dan c-Rel) memiliki c-terminal transcription activation domain (TADs). TA1 dan TA2 adalah subdomain dari RelA. (B). Inhibitor NF-κB (IκB) terdiri dari : IκBα, IκBβ, IκBγ, IκBε, dan BCL-3. Seperti P105 dan p100, protein IκB memiliki gugus *ankyrin-repeat motif* (ANK) pada terminal C. (C). Kompleks IκB kinase (IKK) terdiri atas : subunit katalisator IKKα dan IKKβ, subunit regulator atau NF-κB essential modifier (NEMO) atau IKKγ. Motif struktur masing-masing protein ditampilkan diatas. CC, coiled-coil; DD, region with homology to a death domain; HLH, helix-loop-helix; LZ, RelB-transactivation domain mengandung leucine-zipper-like motif; NBD, NEMO-binding domain; PEST, domain rich in proline (P), glutamate (E), serine (S) dan threonine (T); ZF, zinc-finger domain. (Dikutip dari Perkins, N. D. 2007)



Gambar 3. Struktur ReIA /vrel/ p65

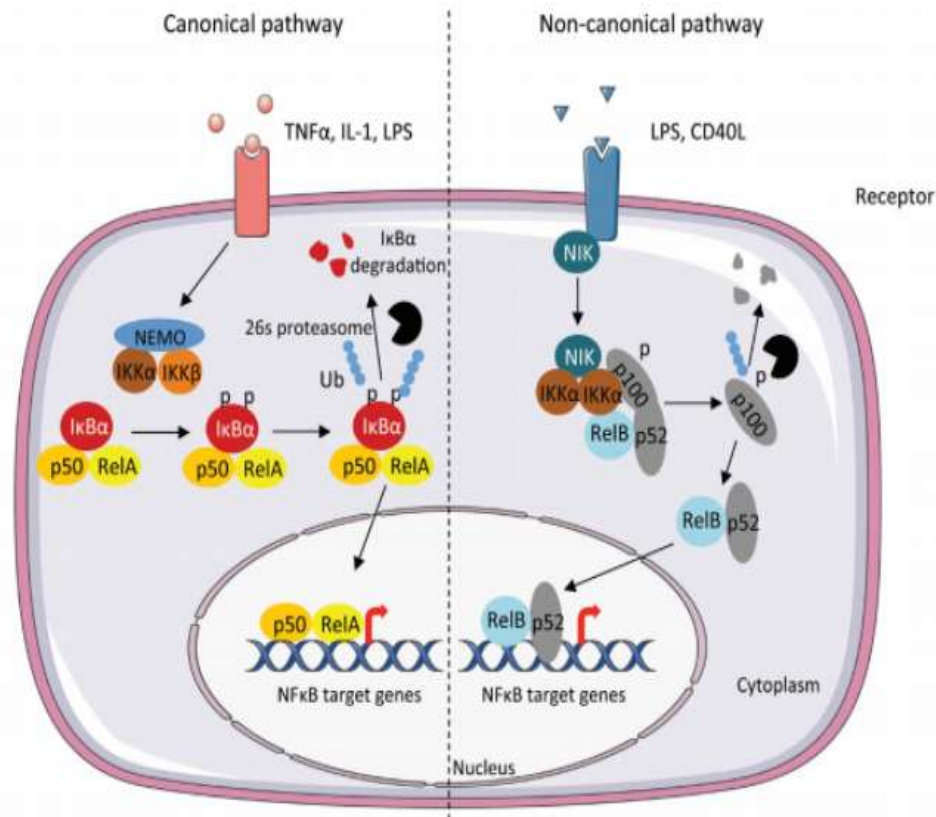
(avian reticuloendotheliosis viral oncogen homolog A), adalah protein pada manusia yang berperan sebagai faktor transkripsi yang berlokasi pada kromosom 11q13, terdiri atas 1473 sequence nucleotida, empat isoform dengan jumlah asam amino 550. Lima *phosphoacceptor sites* yang diketahui : Serine (S) 276 dan S311 pada Rel homology domain dan S529 dan S536 pada transactivation domain. Bersama dengan p50 Rel A tereksresi pada berbagai tipe sel termasuk sel epitel/endotelial dan jaringan neuron<sup>(Dikutip dari Chen & Greene, 2004)</sup>

Aktivasi NF-κB diatur oleh sinyal yang menurunkan IκB. Stimulus dari jalur canonical biasanya oleh sitokin proinflamasi seperti tumor nekrosis factor α (TNFα) dan interleukin-1β (IL-1β). Pengikatan ligan untuk reseptor hasil dalam perekrutan kompleks IKK terdiri dari subunit katalitik IKKβ dan IKKα dan modulator pengaturan subunit NF-κB *essential modulator* (NEMO)/ IKKγ (Gambar 4). Aktivasi kompleks IKK terjadi baik oleh trans-autofosforilasi atau melalui IKK kinase seperti TAK1 (transactivated kinase1). Subunit p50 memiliki kode prekursor 105kDa yang diproses untuk membentuk p50. Struktur cristallografik dari IκBα yang terikat pada p65/p50 menunjukkan NLS p65 yang tertutup dan NLS p50 yang tetap terbuka. NLS dari p50 dan *nuclear export sequence* (NES) dari IκBα keduanya dapat diakses sehingga ada kemungkinan arahnya bolak-balik dari kompleks IκBα/p65/p50 antara nukleus dan sitoplasma, tapi lokasi kompleks terjadinya proses tersebut tetap dalam sitoplasma. Fosforilasi dan ubiquitination IκB mengakibatkan degradasi, terlepasnya dimer NF-κB. Fosforilasi subunit p65 pada residu serin 536 (S536) dalam transactivation domain (TAD), penting dalam aktivasi transkripsi dimer NF-κB. <sup>(Sakurai *et al.*, 2003)</sup> Degradasi IκBα berarti tidak ada lagi kompleks NES dan NLS pada p65 dan p50 yang terbuka, dan berarti lokasi selanjutnya adalah inti. Dimer NF-κB, bertranslokasi ke nukleus dan mengatur transkripsi berbagai gen. Pengikatan hasil dimer p65/p50 pada IκBα di resintesis,

kemudian  $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$  diekspor kembali ke sitoplasma, mengikat NF- $\kappa\text{B}$  dan menonaktifkan jalur tersebut. Fosfatase protein 2A adalah tombol pengatur umpan balik ini karena defosforilasi IKK $\beta$  memungkinkan untuk stabilisasi dan sintesis  $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$  baru di sitoplasma, yang kemudian mengikat dimer NF- $\kappa\text{B}$ . (Barisic *et al.*, 2008)

Jalur non-canonical NF- $\kappa\text{B}$ , membutuhkan aktivitas kinase IKK $\alpha$  dan tidak seperti jalur canonical NF- $\kappa\text{B}$  yang aktivitasnya dari IKK $\beta$  dan NEMO. Jalur ini diaktifkan oleh ligan seperti B-cell activating factor, CD40 dan lymphotoxin- $\beta$ . Dimer dari IKK $\alpha$  diaktifkan oleh *NF- $\kappa\text{B}$  inducing kinase* (NIK). Perbedaan lain kedua jalur ini adalah bahwa pengolahan p100 menjadi p52 dikendalikan oleh aktivasi non-canonical pathway. Dalam keadaan tidak aktif, RelB diasingkan dalam sitoplasma oleh p100, tapi setelah jalur diaktivasi, p100 terfosforilasi dan diolah menjadi p52. Pengolahan p100 ke p52 mengakibatkan hilangnya ankyrin secara berulang di C-terminal dan memungkinkan translokasi dari dimer RelB/p52 ke dalam inti. Mirip dengan jalur canonical, umpan balik negatif dapat terjadi, melibatkan fosforilasi NIK oleh IKK $\alpha$ . Hasil ini terjadi dalam kondisi NIK yang stabil dan penurunan sinyal non-canonical, untuk mencegah aktivasi berlebih. (Razani B, *et al.*, 2010)

Meskipun mereka sering diaktifkan secara bersamaan, dua jalur aktivasi NF- $\kappa\text{B}$  ini memiliki fungsi regulasi yang berbeda. Jalur Canonical biasanya dipicu oleh ligan yang mengikat TNF, *T cell receptor* (TCR), *B cell receptor* (BCR), Toll-like receptor (TLR), dan anggota superfamily Interleukin-1 receptor (IL-1R). Jalur ini berakhir pada transkripsi gen target yang mengkode kemokin, sitokin, molekul adhesi, respon inflamasi, dan kelangsungan hidup sel. Sebaliknya jalur non-canonical dipicu oleh aktivasi anggota keluarga reseptor TNF tertentu (BAFF-R), CD40 dan CD30. Aktivasi jalur alternatif mengatur perkembangan organ limfoid dan sistem imun B adaptif. (Bonizzi G, *et al.*, 2004)



Gambar 4. Jalur canonical dan non canonical aktivasi NFκB

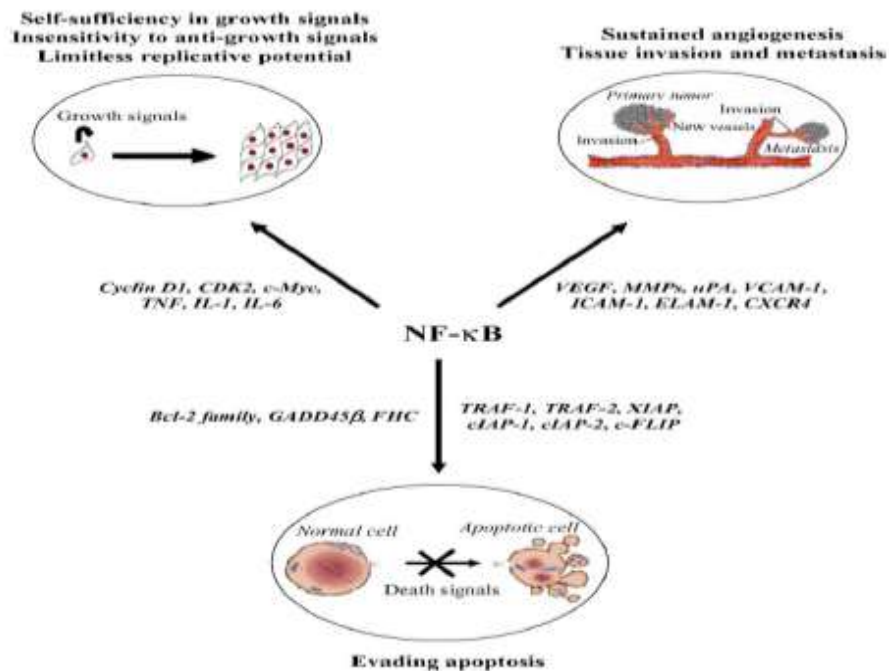
Jalur canonical diinduksi oleh sitokin seperti Tumor Necrosis Factor ( $TNF\alpha$ ) dan Interleukin-1 (IL-1). Hasil aktivasi akibat fosforilasi  $I\kappa B-\alpha$  oleh kompleks IKK mengarahkan ke ubiquitinilasi (Ub) dan selanjutnya degradasi oleh proteasome 26S. Kompleks RelA/p50 bebas translokasi ke nucleus untuk mengaktifkan transkripsi gen target. Jalur Non-kanonikal didahului oleh aktivasi  $IKK\alpha$  oleh NF- $\kappa B$  inducing kinase (NIK) sesudah mendapat stimulasi oleh keluarga sitokin TNF. Kompleks NIK- $IKK\alpha$ -p100 selanjutnya mengarah ke fosforilasi subunit p100. Hal ini menyebabkan pengolahan 26S proteasom dari p100 ke p52, hingga akhirnya menyebabkan aktivasi gen target. LPS (lipopolisakarida), NEMO (NF- $\kappa B$  essential modifier), P (phosphate group). (Dikutip dari Viennois et al., 2013)

### 2.8.2. Peran Onkogen NF- $\kappa B$

Dalil Hanahan dan Weinberg menyebutkan beberapa langkah tumorigenesis yaitu sifat dapat tumbuh tanpa memerlukan rangsangan pertumbuhan eksogen (*self sufficiency in growth signals*), tidak sensitif terhadap sinyal anti-pertumbuhan, kemampuan apoptosis yang menurun, kemampuan proliferasi tidak terbatas, kemampuan angiogenesis, invasi dan metastasis, dimana proses ini adalah *hallmarks* kanker. (Hanahan, D. And weinberg, R. A, 2011) NF- $\kappa B$  dapat mengarahkan efeknya pada setiap aspek dari tumorigenesis melalui



induksi ekspresi protein hilir, dan dengan demikian mungkin menjadi dasar transisi dari inflamasi ke pertumbuhan kanker. (Wong, 2011)



Gambar 5. NFκB dan kanker

Perkembangan kanker melalui regulasi gen yang terlibat dalam oncogenesis. Menurut Hanahan dan Weinberg enam karakteristik sel kanker yaitu ; tumbuh tanpa memerlukan rangsangan pertumbuhan eksogen (*self sufficiency in growth signals*), tidak sensitif terhadap sinyal anti-pertumbuhan, kemampuan apoptosis yang menurun, kemampuan proliferasi tidak terbatas, kemampuan angiogenesis, invasi dan metastasis, dimana sifat ini dimediasi oleh kendali faktor transkripsi NF-κB. (Dikutip dari Pacifico and Leonardi, 2006)

Beberapa studi mengungkapkan bahwa NF-κB mengatur aktivitas dan ekspresi cyclin D1, CDK2 kinase, c-myc, yang terlibat dalam kontrol siklus sel dan berubah dalam beberapa jenis kanker seperti; payudara, prostat dan ovarium. Ekspresi dan fungsi berbagai sitokin, yang menjadi faktor pertumbuhan sel tumor dipengaruhi oleh aktivitas NF-κB, diantaranya adalah : IL-1β yang merupakan faktor pertumbuhan pada acute myeloid leukemia (AML), TNF yang merupakan faktor pertumbuhan Hodgkin's lymphoma, cutaneous T cell lymphoma, dan glioma, serta IL-6 yang merupakan faktor pertumbuhan multiple myeloma. Beberapa faktor pertumbuhan seperti *epidermal growth factor* (EGF), atau reseptor faktor pertumbuhan seperti HER2, mampu meningkatkan pertumbuhan tumor dengan cara mengaktifasi NF-κB. Invasi dan metastasis ke jaringan dua peristiwa

penting dalam perkembangan keganasan diatur oleh gen-gen yang dimediasi oleh NF- $\kappa$ B. Termasuk diantaranya adalah gen *matrix metalloproteinase* (MMP), *urokinase plasminogen activator* (uPA), IL-8, molekul adhesi VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1), ICAM-1 (intercellular cell adhesion molecule-1) dan ELAM-1 (endothelial leucocyte adhesion molecule-1) serta reseptor kemokin seperti CXCR4 (chemokine receptor 4). NF- $\kappa$ B juga terlibat dalam regulasi angiogenesis, proses dimana sel tumor mempromosikan neo-vaskularisasi yang merupakan langkah penting dalam pertumbuhan dan invasi kanker. Vascular endothelial growth factor (VEGF) merupakan anggota utama keluarga angiogenik faktor yang berada dibawah kontrol transkripsi NF- $\kappa$ B. Akhirnya ekspresi gen yang terlibat dalam regulasi apoptosis yang berubah dan merupakan sifat dari sel neoplastik disebabkan oleh aktivitas NF- $\kappa$ B yang memediasi transkripsi gen antiapoptosis. Gen tersebut yaitu ; *TNF receptor associated factor* (TRAF 1 &2), protein *inhibitor of apoptosis protein* (IAP, cIAP 1 dan 2), anggota keluarga Bcl-2, c-FLIP (FLICE-inhibitory protein), GADD45 $\beta$  (growth arrest and DNA damage inducible beta), dan FHC (Ferritin Heavy Chain). Dengan mempromosikan gen-gen ini, NF- $\kappa$ B mengarahkan fungsinya terhadap resistensi kemoterapi. Beberapa studi ini menyimpulkan bahwa transformasi neoplastik dapat disebabkan oleh aktivitas NF- $\kappa$ B dan untuk mencegahnya yaitu dengan mengontrol ekspresi gen ini. (Pacifico and Leonardi, 2006)

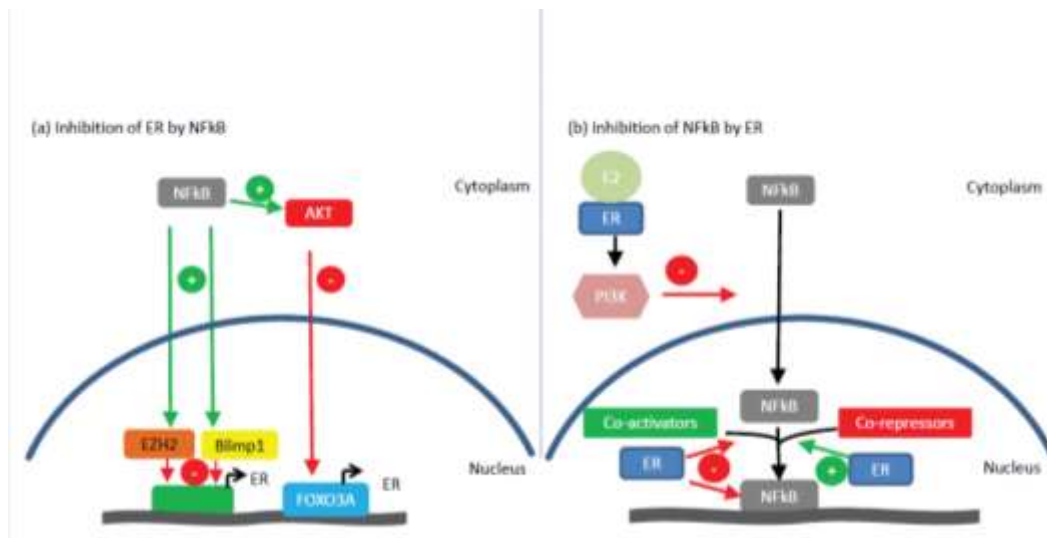
### **2.8.3. NF- $\kappa$ B dan Kanker Payudara**

Ekspresi NF- $\kappa$ B dan aktivitasnya mengikat DNA meningkat di lini sel KPD. Ini ditemukan pada tumor mammae tikus dibandingkan dengan jaringan normal, dan tumor payudara primer manusia. (Sovak, M.A. *et al.*, 1997) Ekspresi subunit p65 inti sel (lewat jalur canonical) ditemukan berkorelasi dengan indeks yang tinggi dari proliferasi, high grade tumor dan ER negatif pada KPD. (Sovak, M. A. *et al.*, 1997) Aktivitas DNA dari p65 dan p50 berkorelasi kuat dalam sampel tumor kanker payudara. Kurva Kaplan-meier untuk DFS menunjukkan bahwa pasien dengan penampilan DNA p50 aktivitas tinggi memiliki DFS yang lebih buruk. (Zhou, Y. *et al.*, 2005)

Ketika immunohistokimia dilakukan pada jaringan KPD dan jaringan normal yang berdekatan, ekspresi subunit p65 dan p50 secara signifikan lebih tinggi pada jaringan kanker.<sup>(Cogswell, P. C. et al., 2000)</sup> Dengan *western blots* fraksi inti diekstraksi dari jaringan payudara normal dan jaringan kanker yang berdekatan juga menunjukkan peningkatan p65 pada jaringan kanker payudara, disertai peningkatan mRNA dari gen  $\kappa$ B termasuk p50, p52, inhibitory protein I $\kappa$ B, Bcl-3 dan cyclin D1 yang kemungkinan merupakan peningkatan gen transkripsi yang diatur oleh NF- $\kappa$ B.<sup>(Cogswell, P. C. et al., 2000)</sup>

## **2.9. Hubungan antara NF- $\kappa$ B dengan ER**

Terdapat penghambatan timbal balik antara ER dan NF- $\kappa$ B. Terjadi transrepresi antara ER dan NF- $\kappa$ B, tetapi cross-talk positif lebih menonjol. Tiga pola regulasi spesifik gen meliputi ekspresi gen target ER yang ditingkatkan NF- $\kappa$ B, ekspresi gen target NF- $\kappa$ B yang ditingkatkan ER, dan 60 gen dengan peningkatan regulasi aditif oleh kedua faktor transkripsi. *Cross-talk* positif antara ER dan NF- $\kappa$ B tidak memengaruhi semua gen target ER dan NF- $\kappa$ B, menunjukkan ketergantungan pada mekanisme pengaturan tambahan. ER dan NF- $\kappa$ B meningkatkan aktivitas masing-masing masih belum jelas, tetapi kedua faktor transkripsi dapat menstabilkan interaksi satu sama lain dengan elemen respons masing-masing.<sup>(Sas et al., 2012)</sup>



Gambar 6. Transrepresi reseptor estrogen dan NFκB

(a) *NF-κB* dapat menghambat reseptor estrogen (ER) dengan cara yang berbeda. Aktivasi Akt dapat menghambat aktivitas forkhead box O3 (FOXO3A). Protein ini memiliki peran penting dalam sintesis RE. Akibatnya, memblokir aktivitas FOXO3A menyebabkan pengurangan transkripsi ER. Mekanisme lain dimana *NF-κB* dapat menghambat ER adalah dengan merangsang enhancer aktivitas zeste homolog 2 (EZH2), yang pada gilirannya akan menghambat ER. Akhirnya, *NF-κB* (RelB) juga dapat menghambat transkripsi ER dengan meningkatkan regulasi Blimp1. (b) Selain represi ER oleh *NFκB*, ER juga mampu menekan *NFκB*. Salah satu mekanisme untuk memblokir translokasi nuklir *NF-κB* adalah dengan meningkatkan transkripsi subunit *NF-κB* p105, yang terletak di sitosol sampai terdegradasi sebagian. Aktivasi jalur pensinyalan phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) juga dapat menyebabkan akumulasi *NF-κB* dalam sitosol. Mekanisme kedua dimana ER menghambat aktivitas *NF-κB* adalah dengan mencegah pengikatan faktor transkripsi ke DNA. Selain itu, aktivitas *NF-κB* dilawan oleh peningkatan interaksi dengan co-represor dan kompetisi untuk co-aktivator dengan ER. E2, estradiol. (Dikutip dari Sas et al., 2012)

Aktivitas *NFκB* pada KPD ER+ dapat dijelaskan bahwa jalur *NF-κB* yang dideregulasi atau aktif secara konstitutif dikaitkan dengan kemandirian hormon, dan kegagalan terapi kemo dan endokrin. Perkembangan sel karsinoma mammae tikus dari fenotipe ER+ nonmalignant ke fenotipe ER- ganas terbukti disertai dengan aktivasi konstitutif dari jalur *NF-κB*. Ekspresi nuklir *NF-κB* dikaitkan dengan resistensi terhadap kemoterapi neoadjuvant pada pasien kanker payudara dengan tumor ER+. (Jones et al., 2011) Jalur *NF-κB* dalam pengembangan tumor payudara ER+ yang tidak tergantung hormon dan/atau endokrin. Keluarga *NF-κB* terdiri dari lima anggota, yaitu, p65 (RelA), RelB, c-Rel, p50, dan p52, yang membentuk homodimer dan heterodimer untuk mengaktifkan transkripsi gen target yang mengatur respons inflamasi dan imun inang, serta pertumbuhan dan kelangsungan hidup seluler. Jalur *NF-κB* kanonik terdiri dari faktor transkripsi p65

dan p50, yang ditahan di sitoplasma oleh protein inhibitor, I $\kappa$ B $\alpha$ . Setelah stimulasi oleh sitokin inflamasi, seperti TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , atau faktor lain, kompleks I $\kappa$ B kinase (IKK), yang terdiri dari IKK $\alpha$ , IKK $\beta$  dan protein perancah NEMO, diaktifkan. Hal ini menyebabkan fosforilasi dan degradasi proteasomal dari I $\kappa$ B $\alpha$ . Akibatnya, faktor p65/p50 dibebaskan dan dapat bertranslokasi ke nukleus, dimana mengikat elemen respons NF $\kappa$ B (NF $\kappa$ B-RE).<sup>(Frasor *et al.*, 2015)</sup>

Dalam lingkungan mikro tumor payudara, aktivasi Jalur NF- $\kappa$ B merupakan penyebab dan efek dari inflamasi lokal. Peradangan sebagai pemicu dan pendorong fenotipe kanker payudara ER+ agresif. Secara singkat, aktivasi faktor transkripsi NF- $\kappa$ B mendorong agresivitas kanker payudara dengan mempromosikan kelangsungan hidup sel tumor, proliferasi, migrasi, invasi, angiogenesis, sifat sel induk kanker, dan resistensi terhadap terapi.<sup>(Gershtein *et al.*, 2010)</sup>

ER dan NF- $\kappa$ B bekerja sama secara ekstensif untuk meningkatkan regulasi secara sinergis gen yang berkaitan dengan tumor payudara luminal B dan respons yang buruk terhadap terapi endokrin. Hal ini menunjukkan bahwa mekanisme lain terlibat dalam perkembangan penyakit ER+. NF- $\kappa$ B menekan ekspresi ER. Secara umum, ada korelasi terbalik antara ekspresi dan profil aktivasi ER dan NF- $\kappa$ B pada tumor KPD. Hubungan terbalik tersebut berkaitan dengan beberapa mekanisme dimana NF- $\kappa$ B dapat menekan ekspresi ER.<sup>(Frasor *et al.*, 2015)</sup>

Mekanisme pertama diusulkan oleh Belguise dan Sonenshein yang telah menunjukkan bahwa serin/treonin protein kinase C (PKC $\theta$ ) menekan tingkat ER dalam sel kanker payudara. PKC $\theta$ , yang menginduksi aktivitas NF- $\kappa$ B dan mengatur tumor mammae yang digerakkan oleh c-Rel pada tikus, juga mengaktifkan AKT, sehingga memfosforilasi faktor transkripsi FOXO3a untuk menyebabkan eksponnya dari nukleus. FOXO3a telah terbukti mengikat dua elemen forkhead hulu di promotor ER dan untuk mengaktifkan transkripsi gen. Dengan demikian, PKC $\theta$  dapat menghambat ekspresi ER melalui inaktivasi FOXO3a.<sup>(Frasor *et al.*, 2015)</sup>

Mekanisme kedua dari represi ER diusulkan oleh Wang *et al.* (2007) yang telah menunjukkan bahwa subunit NF- $\kappa$ B RelB menghambat ekspresi ER dalam sel kanker payudara. Tingkat RelB berkorelasi terbalik dengan status ER dalam sel

kanker payudara dan transaktivasi promotor RelB oleh NF- $\kappa$ B dan AP-1 dilaporkan dalam sel kanker payudara ER negatif tetapi tidak ER positif. RelB merangsang ekspresi penekan jari sengk protein pematangan yang diinduksi limfosit B (BLIMP1), sebuah proses yang dimediasi oleh interaksi target Rel B Bcl2 dengan Ras di membran mitokondria. BLIMP1, pada gilirannya, dapat mengikat promotor ER dan menekan ekspresi ER42. (Frasor *et al.*, 2015)

Mekanisme ketiga yang melibatkan Enhancer of Zeste Homolog2 (EZH2). EZH2 adalah anggota inti dari kompleks represor polycomb 2 yang menginduksi dimetilasi dan trimetilasi residu histon 3 27 (H3K27) dan karenanya menekan ekspresi gen. (Schuettengruber *et al.*, 2007) Korelasi terbalik antara EZH2 dan ER diamati pada tumor payudara primer. Membungkam EZH2 dalam sel MCF-7 secara signifikan meningkatkan ekspresi ER44. Telah dilaporkan bahwa sitokin TNF $\alpha$  mengaktifkan ekspresi EZH2 dengan cara yang bergantung pada NF- $\kappa$ B45, yang mengarah pada kemungkinan bahwa NF- $\kappa$ B menghambat ekspresi ER melalui EZH230. (Frasor *et al.*, 2015)

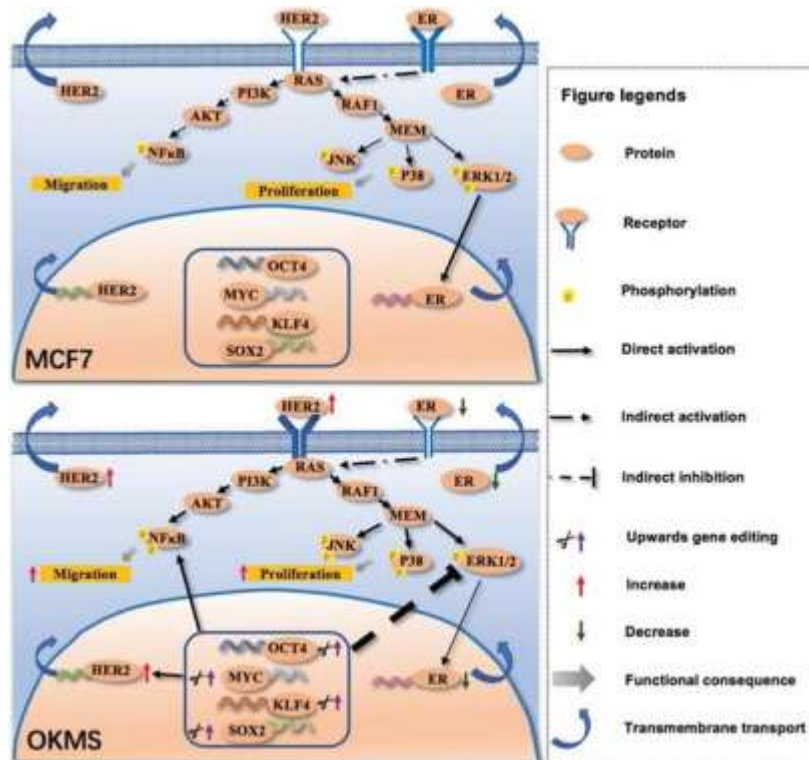
Ekspresi NF- $\kappa$ B ditemukan berubah tergantung pada ekspresi ER, PR dan p53 dan juga pada subtipe molekul (luminal, Her2-positif, hibrida, seperti basal). Tingkat tertinggi NF- $\kappa$ B, Ki-67 dan p53 ditemukan pada Her2/neu+ dan subtipe tumor mirip basal. Peningkatan ekspresi inti NF- $\kappa$ B berkorelasi dengan penurunan ekspresi reseptor hormon steroid (ER dan PR), peningkatan akumulasi p53, dan berhubungan dengan tipe tumor Her2-positif dan basal-like. (Shapochka *et al.*, 2012)

## **2.10. Hubungan antara NF- $\kappa$ B dengan HER2**

Sel-sel positif HER2 merupakan sel-sel progenitor potensial dari sel-sel luminal A, dan dapat dikendalikan, pada prinsipnya, menggunakan strategi-strategi terapeutik yang sama dengan subtipe A luminal. (Mei *et al.*, 2020)

Rancangan sistem CRISPR/dCas9 multiplex yang efisien diterapkan untuk mempelajari hubungan filogenetik di antara subtipe kanker payudara yang dikelompokkan berdasarkan batang kanker. Peningkatan regulasi OCT4, KLF4, MYC dan SOX2 secara bersamaan menyediakan sel luminal A dengan fitur seperti HER2 seperti yang diamati baik pada profil molekuler dan tingkat perilaku seluler.

Hal ini berimplikasi bahwa batang sel mengontrol transisi fenotipik antara sel kanker payudara positif luminal A dan HER2; dan tiga sel negatif, meskipun berbagi batang kanker yang sama dengan sub tipe positif HER2, mewakili penyakit yang berbeda secara revolusioner dari sub tipe kanker payudara lainnya yang memerlukan strategi terapi berbeda untuk pengendalian yang efektif. (Mei *et al.*, 2020)



Gambar 7. Jaringan pensinyalan yang dimediasi empat gen yang mengendalikan batang sel dalam transisi keadaan sel kanker.

Panel empat gen yang mengontrol stemness sel menghubungkan kembali sel dari fitur seperti A luminal ke fitur seperti HER2 melalui perubahan kolektif dalam pensinyalan MAPK/ERK, MAPK/JNK, MAPK/p38 dan NF-κB. Setelah panel empat gen diaktifkan, ekspresi HER2 meningkat, yang mengarah pada peningkatan fosforilasi NF-κB, JNK dan p38, dan penurunan ERK. Peningkatan pensinyalan NF-κB, dan pensinyalan MAPK/JNK dan MAPK/p38 menghasilkan peningkatan migrasi dan proliferasi sel. Penurunan ERK menyebabkan penurunan ekspresi ER. Oleh karena itu, dengan secara bersamaan mengatur panel empat gen, HER2 diekspresikan secara berlebihan, dan ER ditekan, yang mengarah ke perubahan status yang menunjukkan fitur seperti luminal A menjadi fitur seperti HER2 positif (yaitu sel OKMS). Status fosforilasi ditampilkan hanya untuk molekul yang diperiksa dalam percobaan kami. Ketebalan setiap garis atau panah mewakili kekuatan efek pengaturan, dengan garis atau panah yang lebih tebal mewakili efek yang lebih kuat. Ketebalan setiap reseptor mewakili status ekspresi setiap reseptor, dengan simbol yang lebih tebal mewakili status yang lebih terwakili. (Dikutip dari Mei *et al.*, 2020)

### 2.11. Hubungan antara NF-κB dengan Ki-67

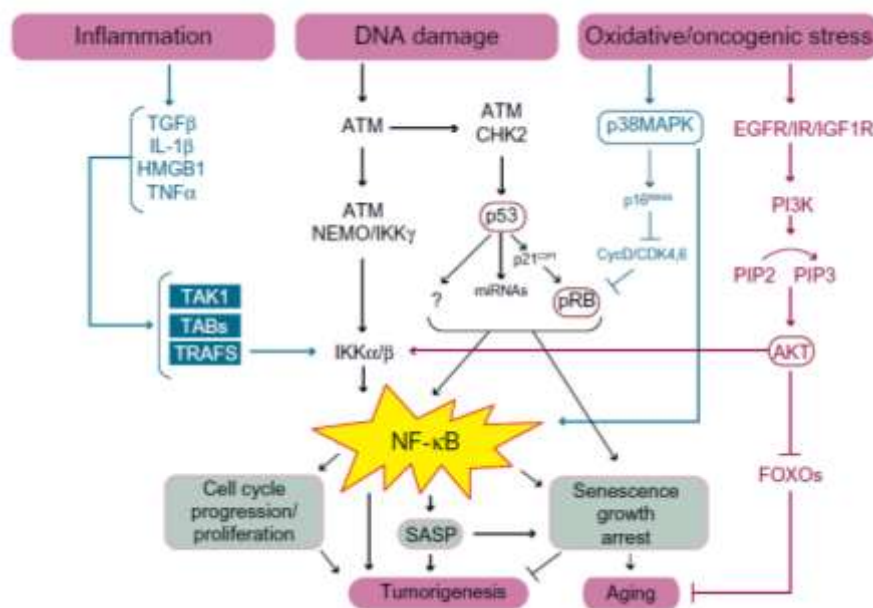
Derajat tumor yang lebih tinggi berkorelasi dengan penurunan ekspresi ER dan PR, peningkatan indeks proliferasi (Ki-67) dan akumulasi p53. Tingkat tertinggi NF-κB, Ki-67 dan p53 ditemukan pada Her2/neu+ dan subtipe tumor mirip basal yang berhubungan dengan prognosis yang buruk. kadar hipoksia. Respon seluler normal terhadap hipoksia diatur oleh dua faktor transkripsi dimer, hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) dan NF-κB. Peningkatan ekspresi inti NF-κB berhubungan dengan penurunan ekspresi ER dan PR dan peningkatan akumulasi p53, yang juga memperburuk prognosis KPD. Peningkatan ekspresi NF-κB berkaitan dengan perubahan molekuler dan fisiologis yang berkontribusi pada aktivasinya. Jadi, Her2/neu+ dan subtipe tumor mirip basal umumnya memiliki pola pertumbuhan yang solid dan terkait dengan peningkatan respons inflamasi, yang mengarah pada peningkatan. Salah satu efek hipoksia adalah penurunan aktivasi I-κB dan NF-κB. NF-κB mengaktifkan jalur pensinyalan yang mendorong kelangsungan hidup sel dan angiogenesis. Regulator dari proses ini adalah p53, yang menghambat aktivasi HIF-1 dan NF-κB. Mutasi pada gen p53 menyebabkan hilangnya kemampuan mereka untuk mengatur aktivitas faktor-faktor yang mempromosikan angiogenesis dan perkembangan tumor. Penghambatan HIF-1 dan/atau NF-κB dapat menghambat aktivitas angiogenik tumor, sehingga membatasi pertumbuhan dan metastasisnya. (Shapochka *et al.*, 2012)

Ki-67 berkaitan dengan ukuran tumor, derajat hispatologi, status hormonal, angiogenesis, NF-κB sitoplasma, tetapi bukan NF-κB inti. NF-κB sitoplasma dan inti berhubungan signifikan. Kelangsungan hidup spesifik kanker berkaitan dengan Ki-67, angiogenesis tetapi tidak pada derajat hispatologi, NF-κB sitoplasma atau NF-κB nuklir. Peningkatan proliferasi pada tumor payudara berkaitan dengan karakteristik tumor dan peningkatan regulasi angiogenesis, ekspresi NF-κB sitoplasma, dan kelangsungan hidup. Namun, NF-κB (sitoplasma atau nuklir) tidak terkait dengan kelangsungan hidup. (Obondo *et al.*, 2008)

Ki-67 menunjukkan hubungan yang signifikan dengan derajat hispatologi, status HER2 dan subtipe molekuler. p53 menunjukkan hubungan yang signifikan dengan status menopause dan status nodal. Status gabungan Ki67-p53



menunjukkan hubungan yang signifikan dengan status menopause, derajat, status nodal dan status HER2 dari tumor HR-positif.<sup>(Baruah dan Sumana, 2020)</sup> Pewarnaan NF-κB nuklir berhubungan dengan derajat histologis yang tinggi, ER negatif dan indeks Ki67 yang tinggi.<sup>(Jones et al., 2010)</sup>

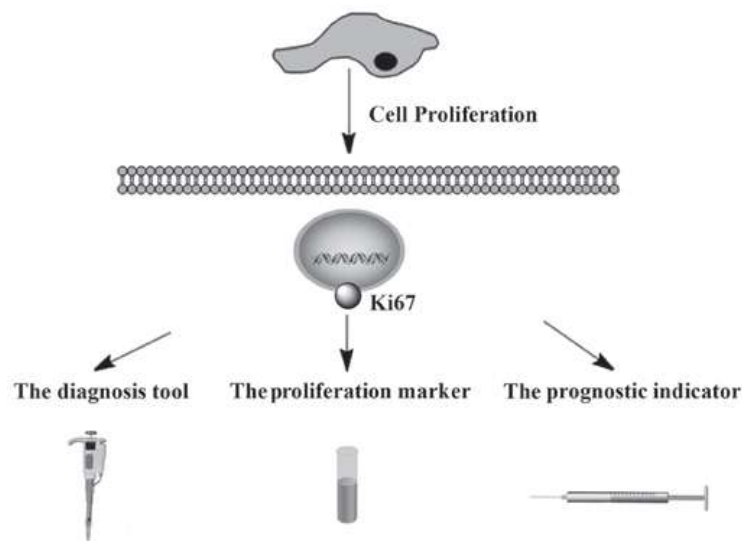


Gambar 8. Ilustrasi skema jalur yang menghubungkan NFκB dengan penuaan selular, kanker, dan penuaan, peradangan, kerusakan DNA, dan stres oksidatif/onkogenik semuanya mengarah pada aktivasi IKKα/IKKβ yang menghasilkan aktivasi. (Dikutip dari Mowla et al., 2013)

NF-κB dapat menghambat tumorigenesis dan mendorong penuaan dengan menginduksi penghentian pertumbuhan penuaan dan *senescence-associated secretory phenotype* (SASP). Atau, tergantung pada sinyal, NF-κB dapat mempromosikan tumorigenesis dengan mengaktifkan perkembangan siklus sel, memblokir apoptosis, dan menginduksi SASP. Protein NF-κB memediasi proliferasi, pertumbuhan, dan apoptosis. Mutasi yang mengarah pada aktivasi NF-κB yang menyimpang berkaitan dengan berbagai kanker. NF-κB bertindak untuk menghambat apoptosis, ciri utama kanker, hilir pensinyalan faktor pertumbuhan seperti faktor pertumbuhan epidermal (EGF). Aktivasi reseptor faktor pertumbuhan epidermal (EGFR) merekrut fosfatidylinositide 3-kinase (PI3K) ke membran plasma yang selanjutnya menginduksi sintesis de novo dari fosfatidilinositol [3, 4, 5]-trifosfat; (PI[3,4,5]P3). Ini mengaktifkan protein kinase B (AKT/PKB) dengan bantuan phosphoinositide-dependent kinase-1 (PDK1) dan target mamalia dari

rapamycin complex 2 (mTORC2). AKT disarankan untuk mengaktifkan NF- $\kappa$ B melalui IKK, menghasilkan transkripsi gen pro-survival, yang mencegah kematian sel kanker, terutama ketika EGFR atau mTOR diaktifkan secara konstitutif karena mutasi. (Mowla *et al.*, 2013)

Ki67 merupakan faktor penting dalam penilaian kanker dan evaluasi prognostik. Pewarnaan imunohistokimia (IHC) Ki67 adalah metode yang efektif untuk menilai prognosis pada sejumlah jenis tumor. Meskipun pKi67 adalah penanda kunci yang terkait dengan proliferasi sel kanker dan prognosis yang buruk. Dalam model hewan syngeneic dengan kanker kandung kemih subkutan atau ortotopik, kanker prostat atau karsinoma sel ginjal, oligonukleotida antisense menginduksi penghambatan pertumbuhan tumor, berpotensi melalui penghambatan Ki-67, menunjukkan keterlibatan Ki-67 dalam proliferasi sel tumor. (Li *et al.*, 2015)



Gambar 9. Diagram skema Ki67 sebagai target molekuler yang menjanjikan dalam diagnosis kanker. Ekspresi Ki-67 sangat terkait dengan proliferasi dan pertumbuhan sel tumor, dan secara luas digunakan dalam patologi rutin sebagai penanda proliferasi dan alat diagnosis. Protein inti Ki-67 (pKi-67) adalah indikator prognostik dan prediktif yang mapan untuk penilaian proliferasi sel dalam biopsi dari pasien kanker. (Dikutip dari Li *et al.*, 2015)