

KARYA AKHIR

**HUBUNGAN EKSPRESI *CXC CHEMOKINE RESEPTOR 4 (CXCR4)*
DENGAN *GRADING* HISTOPATOLOGI, INVASI LIMFOVASKULAR,
DAN METASTASIS PADA KARSINOMA PAYUDARA INVASIF**

***THE CORRELATION BETWEEN CXC CHEMOKINE RECEPTOR 4
(CXCR4) EXPRESSION WITH HISTOLOGICAL GRADING,
LYMPHOVASCULAR INVASION, AND LYMPH NODE METASTASE
IN INVASIVE BREAST CANCER***

**LIDYA MAMONTO
C075182002**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (SP-1)
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI ANATOMI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**HUBUNGAN EKSPRESI *CXC CHEMOKINE RESEPTOR 4 (CXCR4)*
DENGAN *GRADING* HISTOPATOLOGI, INVASI LIMFOVASKULAR,
DAN METASTASIS PADA KARSINOMA PAYUDARA INVASIF**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis

Patologi Anatomi

Disusun dan diajukan oleh:

LIDYA MAMONTO

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (SP-1)
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI ANATOMI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

KARYA AKHIR

HUBUNGAN EKSPRESI *CXC CHEMOKINE RESEPTOR 4 (CXCR4)* DENGAN GRADING HISTOPATOLOGI, INVASI LIMFOVASKULAR, DAN METASTASIS KE KELENJAR GETAH BENING PADA KARSINOMA PAYUDARA INVASIF

Disusun dan diajukan oleh :

dr. Lidya Mamonto

C075182002

Telah dipertahankan di hadapan Panitia ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis
Program Studi Ilmu Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 01 Agustus 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama



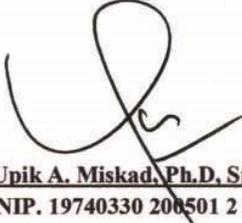
Dr. dr. Berti J. Nelwan, M.Kes, Sp.PA(K)
NIP. 19670718 199903 1 002

Pembimbing Pendamping



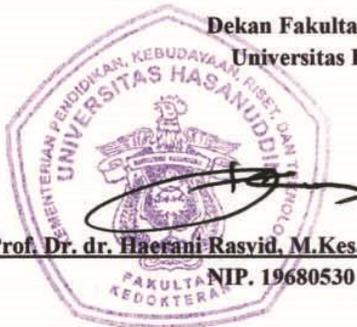
dr. Muh. Husni Cangara, Ph.D Sp.PA
NIP. 19770409 200212 1 002

**Ketua Program Studi
Ilmu Patologi Anatomi**



dr. Upik A. Miskad, Ph.D, Sp.PA(K)
NIP. 19740330 200501 2 001

**Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin**



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

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Lidya Mamonto
NIM : C075182002
Program Studi : Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi
Anatomi Universitas Hasanuddin

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

Makassar, 10 Agustus 2022

Yang menyatakan,



Lidya Mamonto

PRAKATA

Puji syukur kami panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, sehingga tesis ini dapat diselesaikan dengan baik. Penulisan tesis ini merupakan salah satu syarat penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Patologi Anatomi di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar. Dalam penelitian dan penulisan karya akhir ini, penulis mendapat sangat banyak bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. **Dr. dr. Berti J. Nelwan, M.Kes, Sp.PA (K)** sebagai pembimbing pertama dalam penelitian ini atas segala perhatian, bimbingan, dan dorongannya selama proses penelitian sampai penyusunan karya akhir ini, sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
2. **dr. Muh. Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA** sebagai pembimbing kedua yang selalu menyempatkan diri untuk membimbing dan mendorong penulis di tengah kesibukannya.
3. **Dr. dr. Andi Alfian Zainuddin, MKM** yang banyak membimbing dan memberikan masukan kepada penulis dalam hal metodologi penelitian dan analisa statistik tesis ini.
4. Seluruh staf pengajar dibagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin tanpa terkecuali (khususnya **Prof. dr. Syarifuddin Wahid, Ph.D, Sp.PA(K), dr. Gunawan Arsyadi, Sp.PA(K), dr. Cahyono Kaelan, Ph.D, Sp.PA(K), SpS, dr. Djumadi Achmad, Sp.PA(K), dr. Mahmud Ghaznawie, Ph.D, Sp.PA(K), dr. Truly D. Djimahit, Sp.PA(K), dr. Ni Ketut Sungowati, SpPA(K), Dr. dr. Rina Masadah, M.Phill, Sp.PA(K), Dr. dr. Gatot S. Lawrence, Sp.PA(K), Dr. dr. Berti J. Nelwan, M.Kes, Sp.PA(K) , dr. Upik A. Miskad, Ph.D, Sp.PA (K), dr. Juanita, Sp.PA, dr. Imeldy Prihatni Ma'mun, M.Kes, Sp.PA, dr. Jeni Poniman, Sp.PA, dr. Amalia, M.Kes, Sp.PA**) atas bimbingan selama penulis menjalani pendidikan maupun dalam penyusunan tesis ini.
5. Rektor dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, atas kesediaannya menerima penulis sebagai peserta didik pada Program Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu Ilmu Patologi Anatomi Universitas Hasanuddin Makassar.

6. Koordinator Program Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu Universitas Hasanuddin yang senantiasa memantau dan membantu kelancaran pendidikan penulis.
7. Teman PPDS terbaik Angkatan Januari 2019 (Lenda Olivia Gaghana, Vivi Talawo, Ika Magfirah, Rafiqah Nurdin, Dzul Ikram), serta seluruh teman sejawat residen Patologi Anatomi atas semua bantuan, dukungan, dan doa yang diberikan selama penulis menjalani pendidikan hingga menyelesaikan karya akhir ini.
8. Seluruh teknisi dan pegawai laboratorium Rumah Sakit Universitas Hasanuddin, Rumah Sakit Dr. Wahidin Sudirohusodo, Laboratorium Sentra Diagnostik Patologia Makassar dan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.
9. Suami penulis, dr. Leonardus P. Lubis, Sp. OG, anak penulis, Laura Keiza Lubis, orang tua penulis Drs. R. Mamonto dan Poppy Mayulu, beserta seluruh keluarga dan sahabat yang senantiasa mendukung, mendoakan dan menjadi sumber inspirasi serta semangat utama bagi penulis selama menjalani pendidikan.
10. Semua pihak yang telah membantu penulis, yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis berharap agar karya akhir ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan Ilmu Patologi Anatomi di masa yang akan datang. Akhir kata, penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya atas segala khilaf dan salah mulai dari awal penelitian sampai akhir penulisan karya akhir ini.

Makassar, 10 Agustus 2022

Yang menyatakan



(Lidya Mamonto)

ABSTRAK

LIDYA MAMONTO, Hubungan Ekspresi CXCR4 Chemokine Reseptor 4 (CXCR4) dengan *Grading* Histopatologi, Invasi Limfovaskular, dan Metastasis ke Kelenjar Getah Bening pada Karsinoma Payudara Invasif. (Dibimbing oleh **Berti J. Nelwan, Muhammad Husni Cangara, Andi Alfian Zainuddin**)

Tujuan Penelitian: Menentukan ekspresi CXCR4 pada karsinoma payudara invasif yang dihubungkan dengan *grading* histopatologi, invasi limfovaskular dan metastasis ke kelenjar getah bening pada karsinoma payudara invasif.

Metode Penelitian: Penelitian ini merupakan penelitian *cross sectional* menggunakan sampel blok paraffin yang didiagnosis sebagai Karsinoma Payudara Invasif. Pewarnaan imunohistokimia menggunakan antibodi *rabbit anti-CXCR4 polyclonal antibody* dan analisis ekspresi dilakukan dengan mikroskop cahaya Olympus CX-43. Data dianalisis secara statistik dengan uji Chi-Square serta disajikan dalam tabel menggunakan software SPSS 18.

Hasil Penelitian: Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi CXCR4 dengan *grading* histopatologi pada karsinoma payudara invasif dengan nilai $p = 0,467$. Sementara hubungan antara ekspresi CXCR4 dengan invasi limfovaskular dan metastasis ke kelenjar getah bening pada karsinoma payudara invasif, didapatkan hubungan yang bermakna, dengan nilai $p = 0,001$.

Kesimpulan dan Saran: Data penelitian ini menunjukkan ekspresi CXCR4 pada Karsinoma Payudara Invasif yang bervariasi dan mendukung peranannya pada invasi dan metastasis. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menganalisis kompleksitas dan hubungan yang dinamis antara cancer stem cells dan molekul lain yang terlibat dalam invasi dan metastasis.

Kata Kunci: CXCR4, Karsinoma Payudara Invasif, Invasi Limfovaskular, Metastasis.

ABSTRACT

LIDYA MAMONTO, The Correlation Between CXCR4 Chemokine Receptor 4 (CXCR4) Expression with Histological Grading, Lymphovascular Invasion, and Lymph Node Metastasis in Invasive Breast Cancer. (Supervised by **Berti J. Nelwan, Muhammad Husni Cangara, Andi Alfian Zainuddin**)

Objective: To determine the expression of CXCR4 in invasive breast carcinoma associated with histopathological grading, lymphovascular invasion and metastasis to lymph nodes in invasive breast carcinoma.

Methods: This study is a cross sectional study using paraffin block samples diagnosed as Invasive Breast Carcinoma. Immunohistochemical staining using rabbit anti-CXCR4 polyclonal antibody and expression analysis was performed with an Olympus CX-43 light microscope. The data were statistically analyzed by Chi-Square test and presented in a table using SPSS 18 software.

Research: The results showed that there was no significant relationship between CXCR4 expression and histopathological grading in invasive breast carcinoma with a p-value = 0.467. While the relationship between CXCR4 expression with lymphovascular invasion and metastasis to lymph nodes in invasive breast carcinoma, there was a significant relationship, with a p-value = 0.001.

Conclusions and Recommendations: The data of this study show that the expression of CXCR4 in Invasive Breast Carcinoma varies and supports its role in invasion and metastasis. Further research is needed to analyze the complexities and dynamic relationships between cancer stem cells and other molecules involved in invasion and metastasis

Keywords: CXCR4, Invasive Breast Carcinoma, Lymphovascular Invasion, Metastasis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN KARYA AKHIRError! Bookmark not defined.	
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR	iv
PRAKATA	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Hipotesis.....	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
1.5.1 Aplikasi Klinik	6
1.5.2 Pengembangan Ilmu	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
II.1 Karsinoma Payudara Invasif.....	7
II.1.1 Anatomi Dan Histologi.....	7
II.1.2 Etiologi.....	8
II.1.3 Patogenesis.....	9
II.1.4 Histological Grading	12
II.1.5 Prognosis	14
II.1.6 Mekanisme Metastasis Pada Karsinoma Payudara	14
II.2 CXCR4 CHEMOKINE RESEPTOR 4 (CXCR4)	19
II.2.1 Struktur Molekul CXCR4	19
II.2.2 Regulasi CXCR4	21
II.2.3 Ekspresi Dan Regulasi CXCR4 Pada Keganasan.....	22
II.2.4 CXCR4 Pada Metastasis.....	23
II.3 CXCR4 Dan Karsinoma Payudara.....	25
II.4 Kerangka Teori	28
BAB III KERANGKA KONSEP	29
BAB IV METODE PENELITIAN	30
IV.1 Desain Penelitian	30
IV.2 Tempat Dan Waktu Penelitian.....	30
IV.3 Populasi Penelitian.....	30

IV.4 Sampel Dan Cara Pengambilan Sampel	30
IV.5 Perkiraan Besar Sampel	31
IV.6 Kriteria Inklusi Dan Eksklusi	32
IV.6.1 Kriteria Inklusi.....	32
IV.6.2 Kriteria Eksklusi.....	32
IV.7 Cara Kerja	32
IV.7.1 Alokasi Subyek.....	32
IV.7.2 Prosedur Pewarnaan Hematoksilin Eosin	33
IV.7.3 Prosedur Pewarnaan Imunohistokimia.....	34
IV.7.4 Interpretasi Imunohistokimia	34
IV.8 Definisi Operasional Dan Kriteria Obyektif	35
IV.8.1 Definisi Operasional	35
IV.8.2 Kriteria Obyektif.....	36
IV.9 Pengolahan Data Dan Analisa Data.....	38
IV.10 Alur Penelitian	39
IV.11 Personalia Penelitian.....	39
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	40
V.1 Hasil Penelitian.....	40
V.1.1 Karakteristik Sampel	40
V.1.2 Analisa Perbedaan Ekspresi CXCR4 Pada Karsinoma Payudara Invasif Berdasarkan <i>Grading</i> Histopatologi	43
V.1.3 Analisis Perbedaan Ekspresi CXCR4 Antara Karsinoma Payudara Invasif dengan Invasi ke Limfovaskuler (LVI POSITIF) dan Tanpa Invasi ke Limfovaskuler (LVI NEGATIF)	44
V.1.4 Analisis Perbedaan Ekspresi CXCR4 Antara Karsinoma Payudara Invasif dengan Metastasis (KGB Positif) dan Tanpa Metastasis ke Kelenjar Getah Bening (KGB Negatif)	45
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	57
Lampiran 1: Tabulasi Data.....	57
Lampiran 2: Persetujuan Etik.....	60

DAFTAR SINGKATAN

AKT	Protein Kinase B
BRCA-1	Breast cancer susceptibility gene 1
BRCA-2	Breast cancer susceptibility gene 2
CAF	Carcinoma Associated Fibroblast
CSC	Cancer Stem Cell
CXCR4	Chemokine C-X-C Motif Receptor 4
CXCL12	Chemokine Motif Ligand 12
DAG	Diacylglycerol
DCIS	Ductal Carcinoma In Situ
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptors
EMT	Epthelial-to-Mesenchymal Transition
ER	Estrogen Receptor
ERK	Extracellular Signal Regulated Kinase
ETD	Extralobular Terminal Duct
GFCR	G Protein Couple Cell Surface Receptor
GPCRs	Family G Protein Couple Cell Surface Receptors
GRK	G-protein Receptor Kinases
HER2	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
HIF-1	Hypoxia Inducible Factor-1
IBC	Invasive Breast Carcinoma
IP3	Inositol Triphoshate
ITD	Intralobular Terminal Duct
LEC	Lymphatic Endothelial Cell
LVI	Lymphatic vascular invasion
MAPK	Mitogen Aktiveted Protein Kinase
MDM2	Regulator negatif oncosuppressor p53

MMP	Matrix Metalloproteinase
NF- $\kappa\beta$	Nuclear Factor of $\kappa\beta$
NST	No Special Type
PDGF-D	Platelet Derived Growth Factor D
PI3K	Phosphoinositide-3 Kinase
PIP2	Phosphatidylinositol P2
PIP3	Phosphatidylinositol P3
PKC	Protein Kinase C
PLC	Phospholipase-C
Q-RT-PCR	Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction
Raf	Rapidly accelerated fibrosarcoma
RAS	Rat sarcoma viral oncogene homolog
ROS	Reactive Oxygen Species
PR	Progesteron Receptor
RTKs	Reseptor Tirosin Kinase
SDF-1	Stromal Serived Factor-1
sLN	Sentinel Lymph Node
STAT	Transduser Sinyal dan Aktivator Transkripsi
TDLU	Terminal Duct–Lobular Unit
TP53	Tumor Protein 53
VEGF	Vascular Endothelial Cells Factors
VHL	Von Hippel Lindau

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Histological Grading IBC	12
Tabel 2.	Karakteristik sampel karsinoma payudara invasif	40
Tabel 3.	Perbedaan ekspresi CXCR4 berdasarkan grade histopatologi	43
Tabel 4.	Perbedaan ekspresi CXCR4 antara karsinoma payudara invasif dengan invasi ke limfovaskuler (LVI positif) dan tanpa invasi ke limfovaskuler (LVI negatif)	44
Tabel 5.	Perbedaan ekspresi CXCR4 antara karsinoma payudara invasif dengan metastasis (KGB positif) dan tanpa metastasis ke kelenjar getah bening (KGB negatif)	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Terminal duct-lobular unit. ETD (Extralobular Terminal Duct), ITD (Intralobular Terminal Duct)	8
Gambar 2.	Jalur umum perkembangan karsinoma payudara	11
Gambar 3.	Skoring bentukan tubular	13
Gambar 4.	Skoring bentukan pleomorfisme inti	13
Gambar 5.	Mekanisme metastase limfatik	17
Gambar 6.	Struktur kemokin C-X-C motif reseptor 4	20
Gambar 7.	CXCR4 <i>signalling pathway</i> pada sel tumor	22
Gambar 8.	Peran kemokin CXCR4 dan ligan CXCL12 pada karsinoma payudara	27
Gambar 9.	Ekspresi CXCR4 pada karsinoma payudara invasif	42

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang Masalah

Karsinoma payudara merupakan salah satu keganasan terbanyak pada wanita di seluruh dunia. Data *The Global Cancer Observatory 2020* menunjukkan ada 2.261.419 (11,7%) kasus baru yang terdeteksi dengan 684.999 (6,9%) kasus kematian setiap tahunnya. Di Indonesia karsinoma payudara berada di urutan pertama dengan insiden 68,8 per 100.000 penduduk dengan rata-rata kematian 22,4 per 100.000 penduduk. (Globocan, 2020).

Sementara di Makassar sendiri jumlah kasus karsinoma payudara pada Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo pada tahun 2020 sebanyak 113 kasus.

Karsinoma payudara invasif atau *Invasive Breast Carcinoma* (IBC) mengacu pada kelompok besar dan heterogen neoplasma maligna yang berasal dari epitel kelenjar mammae. (Rakha, Allison, Ellis, et al., 2019). Sedangkan *Invasive Breast Carcinoma* (IBC) of No Special Type (NST) mengacu pada kelompok IBC yang tidak dapat diklasifikasikan secara morfologis dalam tipe histologi tertentu. (Rakha, Allison, Bu, et al., 2019).

Karsinoma payudara meningkat cepat pada usia lebih dari 30 tahun. 75% karsinoma payudara ditemukan pada usia lebih dari 50 tahun dan 5% pada usia 40 tahun. Namun, karsinoma payudara dapat berkembang pada usia berapa pun, dari anak-anak hingga usia tua. Karsinoma payudara pada pria hanya 1% dibandingkan pada wanita. (Kumar, Abbas, et al., 2018; Collin., 2018).

Mayoritas 90% karsinoma payudara bersifat unifokal dan 3% menyebar masif atau multifokal. Karsinoma payudara dapat terjadi pada kuadran payudara manapun dengan frekuensi yang lebih tinggi yaitu 50% di kuadran luar atas. Sekitar 0,1% karsinoma payudara ditemukan sebagai tumor metastasis aksila tanpa tumor primer payudara yang jelas. (Rakha, Allison, Ellis, et al., 2019).

Metastasis atau penyebaran sel tumor dapat terjadi baik secara limfogen maupun hematogen. Pada umumnya karsinoma bermetastasis melalui sistem limfatik (limfogen), dimana pemeriksaan histopatologi menjadi prosedur *gold standard* untuk mendeteksi adanya metastasis ke kelenjar getah bening regional. (Rahman and Mohammed, 2015).

Prognosis karsinoma payudara dipengaruhi beberapa faktor antara lain grade histologi tumor, invasi pembuluh darah, dan status metastasis pada kelenjar getah bening. Apabila ditemukan metastasis sel tumor pada kelenjar getah bening maka harapan hidup penderita akan turun dari 90% menjadi 20%. Status metastasis sel tumor pada kelenjar getah bening berkaitan dengan angka kematian penderita kanker payudara. (Rakha, Allison, Bu, et al., 2019; Trianto, H. F. et al., 2019; Debarati, M, et al., 2013).

Penyebaran karsinoma payudara merupakan proses yang sangat rumit mulai sel kanker melepaskan diri dengan sekitarnya, melisiskan membran basal, masuk ke dalam stroma, proses angiogenesis, peredaran dalam pembuluh darah atau kelenjar getah bening, ekstravasasi, proses menuju balik (homing) melalui ikatan antara reseptor dan ligan serta tumbuh di organ sekunder tertentu. Penyebaran ini memerlukan interaksi antara sel kanker dan sel stroma lingkungan tumor *microenvironment* seperti sel fibroblast, myofibroblast, sel imun dan sel pembuluh darah. (Wayan, S and Wayan, P. S. Y., 2013).

Untuk terjadi perpindahan dan penyebaran dari sel kanker payudara, sel stroma memproduksi kemokin (*chemokine motif ligand 12/CXCL12*) atau

yang disebut *stromal derived factor-1* (SDF-1) sebagai *chemoattractant*, yang berikatan dengan reseptor kemokin (*Chemokine C-X-C motif receptor 4/CXCR4*) yang diekspresikan oleh sel kanker payudara. (Wayan, S and Wayan, P. S. Y., 2013).

CXCR4 (*CXC chemokine receptor 4*) adalah suatu reseptor kemokin yang termasuk family *G protein couple cell surface receptor* (GFCR). CXCR4 merupakan reseptor fisiologis terhadap *CXC chemokine stromal cell-derived factor* (SDF-1, disebut juga CXCL 12) sebagai ligannya. Kemokin merupakan peptide dengan berat 8-12 kDa, berfungsi sebagai sitokin kemoatraktan yang berpengaruh dalam aktivasi, diferensiasi dan *trafficking* sel. (Debarati, M, et al.,2013; Florinda, I. and Endah, Z.,2019).

CXC chemokine stromal cell-derived factor 1 (SDF-1, biasa dikenal sebagai CXCL12) adalah kemokin hemostatik yang berfungsi sebagai regulator *trafficking* sel hematopoietik. CXCL12 diekspresikan di beberapa organ seperti paru, hati, otot skeletal, otak, ginjal, jantung, kulit dan sumsum tulang. (Florinda, I. and Endah, Z., 2019).

CXCR4 secara luas diekspresikan pada sel hemotopoietik (seperti CD34+ HSC, limfosit-T, limfosit-B, monosit dan makrofag, neutrophil dan eosinofil) dan organ (otak, paru, colon, jantung, sumsum tulang, lien, timus), endothelial, epitel, sel saraf, kelenjar getah bening, kelenjar pituitari dan kelenjar adrenal, juga pada keadaan patologis seperti pada trauma arteri karotis dan plak ateroskleosis. (Beverly, A. T. and Simon, P. F., 2010; Florinda, I. and Endah, Z., 2019).

CXCR4 juga diekspresikan pada beberapa jenis kanker, seperti kanker payudara, kanker mulut, kanker paru, kanker prostat, kanker esofagus, kanker gaster, kanker colon, kanker hepar, kanker pancreas, kanker thyroid, kanker ovarium, kanker prostat, kanker paru, kanker ginjal, kanker otak, melanoma dan leukemia. Dari data ekperimental didapatkan CXCR4 memediasi terjadinya migrasi, invasi, dan adhesi sel kanker. CXCR4 juga

berperan dalam metastasis sel kanker ke organ lain yang mengekspresikan SDF-1/CXCL12. (Debarati, M, et al.,2013; Florinda, I. and Endah, Z., 2019).

Analisis ekspresi CXCR4 dapat dilakukan dengan pemeriksaan PCR dan imunohistokimia. Ekspresi CXCR4 dapat digunakan untuk menentukan prognostik dan target terapi bagi pasien kanker. (Florinda, I. and Endah, Z., 2019).

Berdasarkan konsep biologi titik kerja CXCR4 dan kepentingan dalam penerapan klinik mencari faktor prognostik dan molekuler target terapi untuk karsinoma payudara invasif, maka perlu dan penting untuk dilakukan penelitian tentang hubungan ekspresi CXCR4 dengan *grading* histopatologi, invasi limfovaskuler, dan kejadian metastasis ke kelenjar getah bening regional pada karsinoma payudara invasif. Penelitian ekspresi CXCR4 pada karsinoma payudara invasif dengan menggunakan sampel di Makassar belum pernah dilakukan.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas maka dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Apakah terdapat hubungan antara ekspresi CXCR4 dengan *grading* histopatologi karsinoma payudara invasif?
2. Apakah terdapat hubungan ekspresi CXCR4 dengan invasi ke limfovaskular pada karsinoma payudara invasif?
3. Apakah terdapat hubungan ekspresi CXCR4 pada karsinoma payudara invasif yang bermetastasis ke kelenjar getah bening dan yang tidak bermetastasis ke kelenjar getah bening?

I.3 Tujuan Penelitian

I.3.1 Tujuan Umum

Menilai hubungan ekspresi CXCR4 pada karsinoma payudara invasif grade 1, 2, dan 3, dengan invasi limfovaskular dan tanpa invasi limfovaskular, yang bermetastasis dan tidak bermetastasis.

I.3.2 Tujuan Khusus

1. Menentukan skor ekspresi CXCR4 pada karsinoma payudara invasif grade 1, 2, dan 3.
2. Menentukan skor ekspresi CXCR4 pada karsinoma payudara invasif dengan invasi limfovaskular (LVI positif) dan tanpa invasi limfovaskular (LVI negatif).
3. Menentukan skor ekspresi CXCR4 pada karsinoma payudara invasif yang bermetastasis ke kelenjar getah bening dan yang tidak bermetastasis ke kelenjar getah bening.
4. Menentukan hubungan antara ekspresi CXCR4 dengan grade histopatologi, dengan membandingkan skor ekspresi CXCR4 pada karsinoma payudara invasif grade 1, 2, dan 3.
5. Menentukan hubungan antara ekspresi CXCR4 dengan invasi limfovaskular, dengan membandingkan skor ekspresi CXCR4 pada karsinoma payudara invasif grade 1, 2, dan 3 dengan invasi limfovaskular (LVI positif) dan tanpa invasi limfovaskular (LVI negatif).
6. Menentukan hubungan antara ekspresi CXCR4 dengan metastasis, dengan membandingkan skor ekspresi CXCR4 pada karsinoma payudara invasif yang bermetastasis dan yang tidak bermetastasis ke kelenjar getah bening.

I.4 Hipotesis

Terdapat perbedaan ekspresi CXCR4 pada karsinoma payudara invasif berdasarkan *grading* histopatologi, invasi limfovaskular, dan metastasis ke kelenjar getah bening.

1. Ekspresi CXCR4 lebih kuat pada karsinoma payudara invasif grade 3 dibandingkan karsinoma payudara invasif grade 2 dan karsinoma payudara invasif grade 1.
2. Ekspresi CXCR4 lebih kuat pada karsinoma payudara invasif dengan invasi limfovaskular daripada karsinoma payudara invasif tanpa invasi limfovaskular.
3. Ekspresi CXCR4 lebih kuat pada karsinoma payudara invasif yang bermetastasis daripada karsinoma payudara invasif yang tidak bermetastasis.

I.5 Manfaat Penelitian

I.5.1 Aplikasi Klinik

Sebagai faktor prediktif dan faktor prognosis pada karsinoma payudara invasif sehingga dapat dijadikan pegangan dalam memberikan terapi.

I.5.2 Pengembangan Ilmu

1. Memberikan informasi ilmiah tentang ekspresi CXCR4 pada karsinoma payudara invasif.
2. Berdasarkan data hasil penelitian ini, bisa dikembangkan penelitian dengan parameter atau marker lainnya untuk lebih memperkuat daya prediksi dan daya prognosis pada karsinoma payudara invasif.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Karsinoma Payudara Invasif

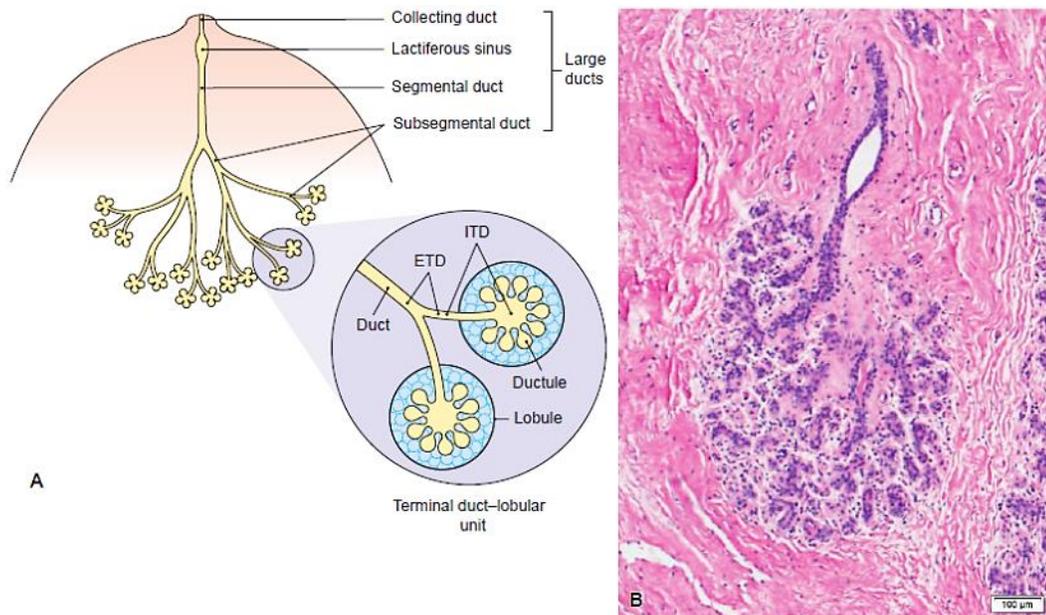
Karsinoma payudara invasif atau *Invasive Breast Carcinoma* (IBC) mengacu pada kelompok besar dan heterogen neoplasma maligna yang berasal dari epitel kelenjar mammae. (Rakha, Allison, Ellis, *et al.*, 2019). Sedangkan *Invasive Breast Carcinoma* (IBC) of No Special Type (NST) mengacu pada kelompok IBC yang tidak dapat diklasifikasikan secara morfologis dalam tipe histologi tertentu. (Rakha, Allison, Bu, *et al.*, 2019).

II.1.1 Anatomi Dan Histologi

Unit morfofungsional mammae adalah struktur percabangan kompleks yang secara topografi tersusun dalam lobulus dan terdiri dari dua komponen utama: *Terminal Duct-Lobular Unit* (TDLU) dan sistem duktus besar. TDLU dibentuk oleh lobulus, yang kemudian membentuk sinus, dan duktus terminal yang mewakili bagian sekresi kelenjar. Duktus ini terhubung dengan duktus subsegmental, yang mengarah ke duktus segmental, duktus laktiferus, dan bermuara di puting susu. Dilatasi fusiform yang terletak di bawah puting antara duktus laktiferus dan segmental disebut sebagai sinus laktiferus. (Collins, 2018).

TDLU dikenali dengan arsitektur lobularnya yang khas, terdapat mantel jaringan ikat, dan tidak ada serat elastis. Perkembangan mammae tergantung pada interaksi epitel dan jaringan mesenkim. Duktus yang besar memiliki stroma yang kurang dan dikelilingi oleh lapisan jaringan elastis. Seluruh sistem duktal-lobular mammae dilapisi oleh sel epitel (lapisan dalam)

dengan fungsi sekresi dan absorpsi serta dikelilingi oleh sel *myoepithelial* (lapisan luar). (Collins, 2018).



Gambar 1. Terminal Duct–Lobular Unit. ETD (*Extralobular Terminal Duct*), ITD (*Intralobular Terminal Duct*). (Collins, 2018)

II.1.2 Etiologi

Etiologi karsinoma payudara adalah multifaktorial. Sebagian besar penelitian menunjukkan faktor risiko sebagai berikut: (Rakha, Allison, Ellis, et al., 2019).

1. Genetik; BRCA1 dan BRCA2.

Mutasi germline BRCA1 dikaitkan dengan risiko karsinoma payudara *triple-negative* (ER-negatif, PR-negatif, dan HER2-negatif), sedangkan mutasi germline BRCA2 dikaitkan dengan hormone *receptor-positive*.

2. Hormon; estrogen dan progesteron.

Tingkat insidens karsinoma payudara meningkat lebih tajam pada usia sebelum menopause (8% per tahun) dibandingkan setelahnya (2% per

tahun), ketika sintesis estrogen dan progesteron ovarium berhenti dan produksi androgen ovarium berangsur-angsur berkurang.

3. Faktor reproduksi; menarche dini, nullipara atau paritas rendah, usia tua saat melahirkan pertama, dan durasi laktasi kurang. Menarche dini, terlambat menopause, terapi penggantian hormon pascamenopause, nulliparitas, dan usia tua saat melahirkan pertama dikaitkan dengan peningkatan risiko karsinoma payudara hormon *receptor-positive*. Paritas sendiri dapat dikaitkan dengan peningkatan risiko tumor *triple-negative* sedangkan durasi laktasi yang lama dikaitkan dengan penurunan risiko semua subtipe tumor.
4. Diet; diet tinggi kalori yang kaya lemak dan protein hewani, disertai aktivitas fisik kurang dan obesitas.

Pada wanita pascamenopause terdapat hubungan positif yang lebih kuat antara indeks massa tubuh dan risiko karsinoma payudara untuk hormone *receptor-positive*. Sedangkan pada wanita premenopause terdapat hubungan negatif yang lemah, dimana indeks massa tubuh yang tinggi terkait dengan penurunan risiko kanker hormon *receptor-positive* dan peningkatan risiko *triple-negative*.

Terdapat beberapa bukti bahwa alkohol, merokok, dan aktivitas fisik dikaitkan dengan risiko kanker hormone *receptor-positive*. Namun, penelitian pada populasi etnis tertentu mengungkapkan bahwa mungkin ada perbedaan berdasarkan populasi / etnis dalam faktor risiko untuk biomarker / subtipe klinis tertentu.

II.1.3 Patogenesis

Patogenesis karsinoma payudara melalui beberapa jalur inisiasi, transformasi, dan perkembangan yang umumnya dijelaskan berdasarkan status reseptor hormon dan morfologi. ER-positif menunjukkan *flat epithelial*

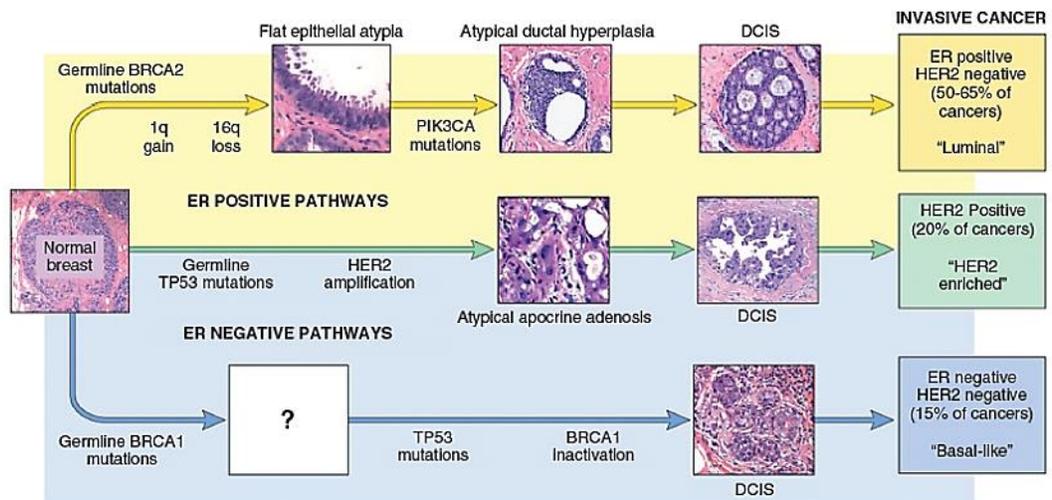
atypia, *atypical ductal hyperplasia*, dan *ER-positive ductal carcinoma in situ* (DCIS) sebagai prekursor karsinoma payudara invasif dan metastasis. Sedangkan ER-negatif menunjukkan ER-negatif DCIS dan *microglandular adenosis* sebagai prekursor kanker ER-negatif. (Rakha, Allison, Ellis, et al., 2019).

Gambaran histologi yang berbeda dari karsinoma payudara dan lesi prekursor menunjukkan manifestasi dari perubahan genetik yang kompleks dan perubahan epigenetik yang menyebabkan karsinogenesis. Terdapat tiga jalur genetik dari karsinogenesis payudara yang diinisiasi oleh mutasi driver: (Elleson and Leste., 2018).

1. Kanker dengan ER-positif dan HER2-negatif berasal dari jalur dominan perkembangan karsinoma payudara, terdiri dari 50-65 % kasus. Terjadi mutasi germline pada BRCA2 yang diturunkan. Sering berhubungan dengan *gains of chromosome 1q*, *losses of chromosome 16q*, dan mutasi aktivasi pada PIK3CA yang merupakan sebuah gen yang mengkode *phosphoinositide-3 kinase* (PI3K) yang merupakan komponen penting pada proses turunya jalur signal faktor pertumbuhan. Lesi genetik ini sama halnya dengan yang ditemukan pada *flat epithelial atypia* dan *atypical ductal hyperplasia*, sehingga kedua lesi ini dikatakan sebagai lesi prekursor untuk kelompok kanker subtype ini. Kanker dengan ER-positif disebut “luminal” karena menyerupai sel luminal payudara normal dalam hal pola ekspresi mRNA, yang didominasi oleh gen yang diregulasi estrogen.
2. Kanker dengan HER2-positif berasal dari jalur amplifikasi gen HER2 pada kromosom 17q. Terdiri dari sekitar 20% karsinoma payudara, yang bisa disertai ekspresi ER-positif atau ER-negatif. Sering juga terjadi mutasi *germline* pada TP53 (*Sindrom Li-Fraumeni*). Lesi prekursor untuk kanker payudara subtype ini adalah *atypical apocrine adenosis*. Kanker ini memiliki pola ekspresi gen yang berbeda, didominasi oleh gen yang

berhubungan dengan proliferasi yang diregulasi oleh turunya jalur signal dari reseptor HER2 tirosin kinase.

3. Kanker dengan ER-negatif dan HER2-negatif berasal dari jalur yang berbeda, yang perubahannya tidak bergantung pada reseptor estrogen dan amplifikasi gen HER2. Pada kelompok jalur ini, tidak ditemukan lesi prekursor, mungkin karena sel tumor tumbuh sangat cepat menjadi karsinoma. Tumor ini terdiri dari sekitar 15 % dari semua kanker payudara, paling sering ditemukan pada pasien dengan mutasi *germline BRCA1*. Tumor sporadik dari tipe ini sering memiliki mutasi berupa “*loss-of function TP53*”, dan jarang dengan mutasi *BRCA1*. Akan tetapi mutasi *BRCA1* pada kasus sporadik sering bersifat *silenced* yang terjadi melalui mekanisme epigenetik. Tumor ini memiliki pola “*basal-like*” dan dapat pula mengandung gen yang juga terekspresi pada sel mioepitel normal.



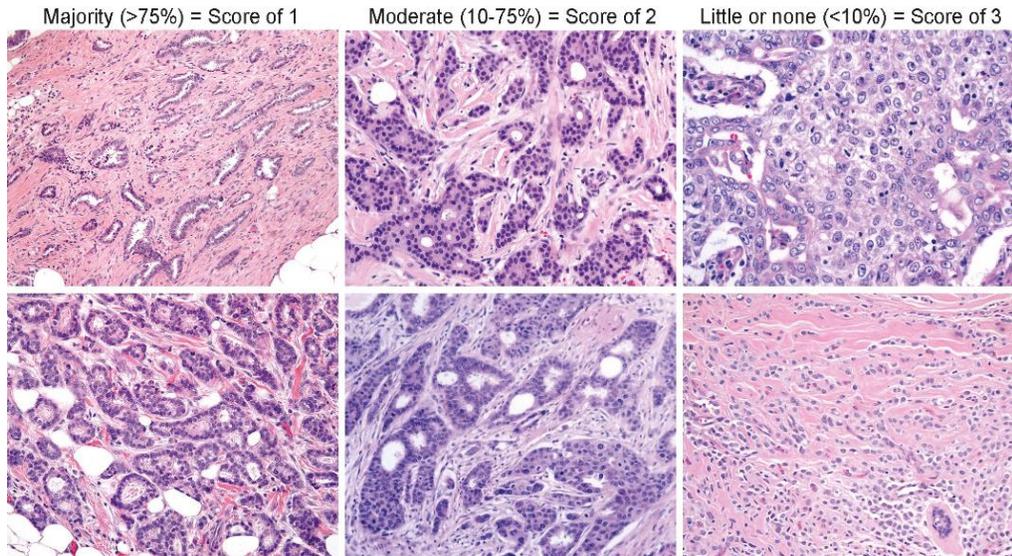
Gambar 2. Jalur Umum Perkembangan Karsinoma Payudara (Ellenson and Lester., 2018)

II.1.4 Histological Grading

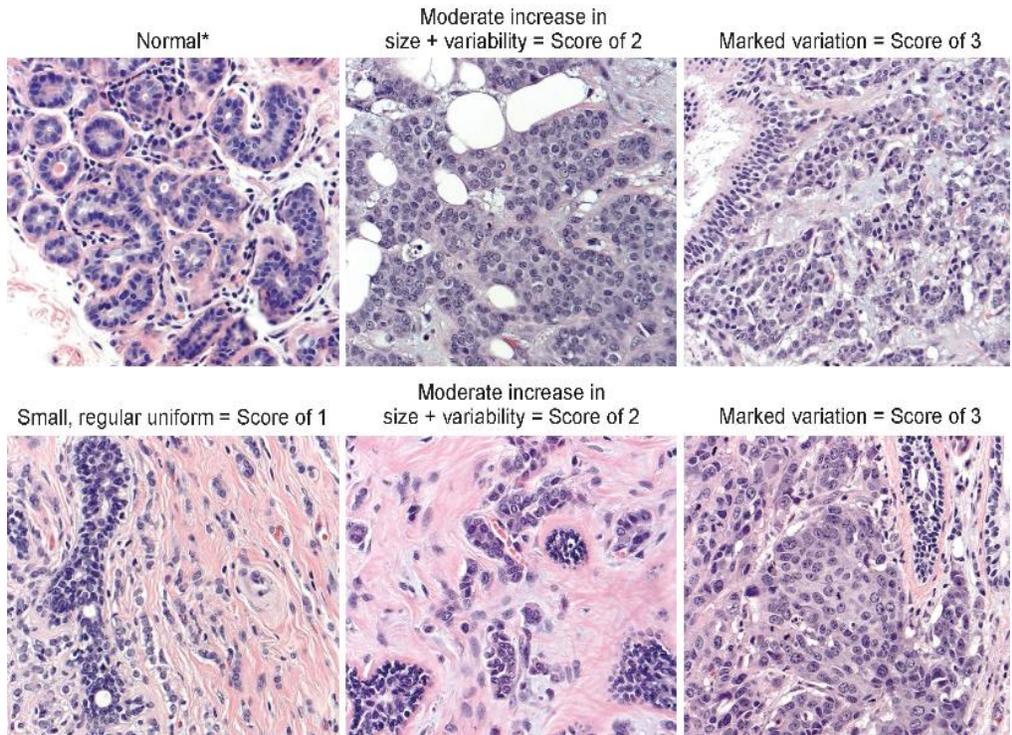
Penilaian grade histologi karsinoma payudara invasif menggunakan metode semikuantitatif dengan menilai bentuk tubular, pleomorfisme inti dan jumlah mitosis. Bentuk tubular dinilai pada seluruh tumor dengan pembesaran kecil; hanya struktur tumor dengan central lumina yang jelas dan dikelilingi sel neoplastik yang dihitung. Sedangkan pleomorfisme inti dinilai dengan membandingkan ukuran dan bentuk sel tumor dengan sel epitel normal di sekitarnya. Skor 1 jika ukuran inti sel tumor sama dengan inti sel normal (<1.5 kali), pleomorfisme minimal, kromatin halus dan anak inti tidak terlihat. Skor 2 jika inti sel tumor lebih besar (1.5-2x), pleomorfisme ringan-sedang, dan anak inti kecil dan tidak jelas. Skor 3 jika inti sel tumor lebih besar (>2x), dengan kromatin vesikular, perbedaan ukuran dan bentuk yang jelas, dan anak inti terlihat. (Rakha, Allison, Elis, et al., 2019).

Tabel 1. Histological Grading IBC. (Rakha, Allison, Elis, et al., 2019).

Feature	Score
Tubule and gland formation	
Majority of tumour (> 75%)	1
Moderate degree (10-75%)	2
Little or none (< 10%)	3
Nuclear pleomorphism	
Small, regular, uniform cells	1
Moderate increase in size and variability	2
Marked variation	3
Mitotic count	
Dependent on microscope field area ²	1-3
Total Score	
Final grading	
Add the scores for gland formation, nuclear polymorphism, and mitotic count:	
3-5	Grade 1
6 or 7	Grade 2
8 or 9	Grade3



Gambar 3. Skoring Bentukkan Tubular. (Rakha, Allison, Elis, et al., 2019).



Gambar 4. Skoring Pleomorfisme Inti. (Rakha, Allison, Elis, et al., 2019).

II.1.5 Prognosis

IBC-NST menyebabkan sebagian besar kasus karsinoma payudara, dan karakteristik prognostik serta penatalaksanaannya sama atau sedikit lebih buruk, dengan tingkat kelangsungan hidup 10 tahun 65-78% dibandingkan dengan karsinoma payudara secara keseluruhan (sekitar 80%). Prognosis sangat dipengaruhi oleh usia pasien, grade histologi tumor, stadium tumor, invasi limfovaskular, dan TILs, serta prediktor respons terapi, seperti status ER, PR, dan HER2. Indeks proliferasi Ki-67 dan status AR juga telah terbukti memiliki nilai prognostik. Sekitar 70-80% dari IBC-NST adalah ER-positif, dan 12-20% dari kasus adalah HER2-positif. Manajemen IBC-NST juga dipengaruhi oleh karakteristik prognostik dan prediktif ini. Dalam satu penelitian, pasien karsinoma payudara berusia ≥ 50 tahun saat didiagnosis mengalami 17% kematian yang lebih tinggi daripada pasien yang lebih muda. Dalam studi lain, pasien usia menengah (40-60 tahun) menunjukkan hasil yang lebih baik daripada pasien usia muda dan lanjut. (Rakha, Allison, Bu, et al., 2019).

II.1.6 Mekanisme Metastasis Pada Karsinoma Payudara

Metastasis atau penyebaran sel tumor dapat terjadi baik secara limfogen maupun hematogen. Pada umumnya karsinoma bermetastasis melalui sistem limfatik. Drainage limfatik akan terkumpul pada limfonodus regional. Diseksi limfonodus yang kemudian dilakukan pemeriksaan histopatologi yang menemukan fokus sel kanker, menjadi prosedur *gold standard* untuk mendeteksi adanya metastasis. (Rahman and Mohammed., 2015).

Pada pasien karsinoma payudara dengan stadium klinik I dan II, status limfonodus merupakan faktor prognosis yang sangat penting untuk penentuan harapan hidup pasien, terlepas dari status ukuran tumor, grading

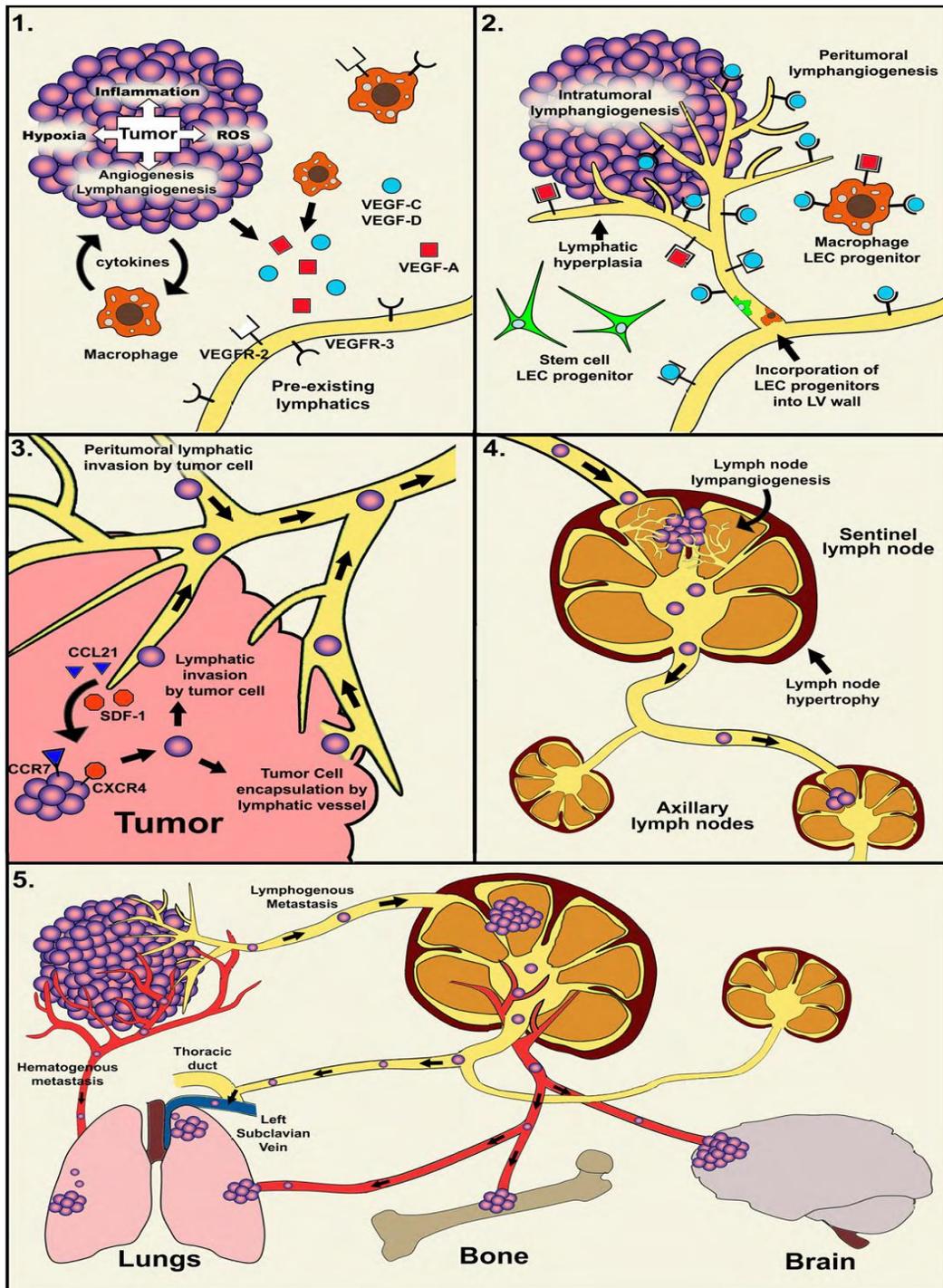
histopatologi, dan parameter klinikopatologi lainnya. Dan hingga saat ini, reseksi kelenjar getah bening aksila menyeluruh, telah rutin dilakukan dan ditemukan sekitar 20-35% positif mengandung sarang tumor metastasis. Prosedur minimal yang dapat dilakukan adalah dengan melakukan biopsi pada *sentinel lymph node* (sLN). Prosedur ini pertama kali dilaporkan pada tahun 1991, yang secara akurat dapat memprediksi penyebaran sel tumor ke kelenjar limfe regional. *Sentinel lymph node* (sLN) merupakan kelenjar limfe yang pertama kali menerima drainage limfatik dari tumor yang mungkin mengandung sel metastatik. Pasien dengan sLN positif akan dilanjutkan dengan diseksi total pada kelenjar getah bening aksila, sedangkan pasien dengan sLN negatif akan dilanjutkan dengan prosedur yang berbeda. (Ran, et al., 2011).

Karakteristik fisiologis aliran limfatik menyediakan rute utama sebagai jalur metastasis sel tumor. Peningkatan ukuran tumor memicu peningkatan tekanan cairan interstitial intratumor yang kemudian akan diikuti dengan pelepasan cairan intersititial ke sistem limfatik untuk mencapai homeostasis. Tidak sama seperti pembuluh vaskuler, pembuluh limfatik bersifat lebih permeabel dengan kecepatan aliran (*flow rate*) 100-500 kali lebih lambat dibandingkan aliran vaskuler karena memiliki tekanan yang lebih kecil akibat efek vasodilatasi. Oleh sebab itu, sistem limfatik menjadi rute utama dalam memfasilitasi penyebaran sel-sel tumor. (Rahman and Mohammed., 2015).

Metastasis merupakan proses yang kompleks dan *ineffisien*, yang membutuhkan regulasi sekuensial untuk terjadinya langkah-langkah biologis, meliputi; disosiasi sel-sel tumor, peningkatan angiogenesis pada tumor primer, intravasasi, ketahanan dan difusi melalui sistem sirkulasi limfatik, adhesi ke dinding organ, ekstravasasi, pembentukan fokus metastasis pada parenkim organ, dan terakhir bermanifestasi secara klinis sebagai tumor sekunder. Kanker payudara lebih sering menggunakan sistem limfatik untuk

bermetastasis. Sel kanker payudara memiliki organ target spesifik seperti penyebaran ke tulang (47-60%), hati (19-20%), paru-paru (16-34%), dan ke otak (10-16%). (Rahman and Mohammed., 2015).

Pada awalnya, sel kanker payudara bermigrasi dari fokus tumor primer menuju *sentinel lymph node* (sLN). Setelah memasuki limfonodus, sel-sel tumor akan keluar melalui pembuluh efferent limfatik dan memanfaatkan sistem vena untuk masuk ke dalam sirkulasi sistemik. Inilah yang kemudian dikenal sebagai proses pasif, dimana ditemukan adanya overekspresi reseptor kemokin C-X-C tipe 4 dan tipe 7 pada organ target seperti di hati, tulang, dan paru-paru. Dan dari studi lainnya didapatkan bahwa tumor primer mensekresikan *vascular endothelial cells factors* (VEGF)-C, D dan faktor-faktor terlarut lainnya yang kemudian berikatan dengan VEGF-3 receptors pada sel endotel pembuluh limfatik yang kemudian memicu terjadinya proliferasi dan pembentukan pembuluh kapiler limfatik yang baru (limfangiogenesis). Limfangiogenesis berhubungan dengan peningkatan kejadian metastasis ke *regional lymph node*. (Nathanson., 2003; Ran et al., 2011; Rahman and Mohammed., 2015; Blackburn et al., 2017).



Gambar 5. Mekanisme Metastase Limfatik. (Ran et al., 2011)

1. Keadaan Inflamasi, hipoksia, dan adanya pelepasan ROS (*reactive oxygen species*) akan meningkatkan pelepasan faktor limfangiogenik seperti VEGF-C, VEGF-D, dan VEGF-A yang diproduksi baik oleh sel tumor maupun oleh stroma sel tumor seperti makrofag dan fibroblast.
2. Terjadi pembentukan pembuluh limfatik baru intra-tumoral yang pada umumnya terbentuk pada bagian perifer tumor (peri-tumor) dan pada beberapa kasus terjadi pada intratumoral. Pembentukan pembuluh limfatik baru ini melibatkan aktivasi VEGFR-3 oleh VEGF-C/-D dan VEGFR-2 oleh VEGF-A yang kemudian diikuti dengan proliferasi *lymphatic endothelial cell* (LEC), bermigrasi kemudian membentuk pembuluh baru.
3. Sel-sel tumor kemudian menginvasi ke dalam pembuluh limfatik peri- dan intra-tumoral (*Lymphatic vascular invasion/LVI*) yang menyebabkan metastase sel tumor ke *sentinel Lymphatic nodes* (sLN).
4. Faktor-faktor yang dilepaskan oleh sel tumor, bukan hanya VEGF-A dan VEGF-C, menyebabkan perubahan morfologi pada sLN yaitu hipertrofi limfatik. Dan secara dramatis akan meningkatkan aliran masuk dan keluar limfatik, memicu terjadinya metastasis ke organ jauh.
5. Penyebaran ke organ jauh dapat melalui aliran darah (hematogen) atau melalui aliran limfe (limfogen). Penyebaran ke sLN akan diikuti dengan penyebaran sel tumor ke sirkulasi vaskuler melalui pembuluh darah kelenjar getah bening, atau melalui aliran limfatik yang memasuki sirkulasi sistem balik vena via duktus thorasis. (Ran et al., 2011).

II.2 CXC CHEMOKINE RESEPTOR 4 (CXCR4)

Kemokin adalah superfamili dari sitokin *kemoattractive* yang merupakan molekul kecil yang mengatur banyak fungsi seluler. *Chemokine CXC stromal-derived-factor-1* (SDF-1 atau CXCL12) diekspresikan dalam berbagai sel, termasuk sel stroma (fibroblas dan sel endotel). CXCR4 adalah reseptor kemokin yang termasuk dalam *family G protein couple cell surface receptors* (GPCRs) dengan tujuh domain transmembran. Kemokin berperan penting pada *trafficking* leukosit. Axis SDF-1/CXCR4 memainkan peran penting dalam proses fisiologis termasuk *trafficking* dan hemostasis sel imun seperti limfosit T serta homing dan retensi stem cell hematopoietik pada bone marrow. Ikatan antara SDF-1 dan CXCR4 mengarah pada aktivasi dari berbagai jalur transduksi persinyalan intraseluler dan efektor hilir yang memediasi kelangsungan hidup sel, proliferasi, kemotaksis, migrasi, dan adhesi. Ekspresi CXCR4 tinggi pada kanker payudara dihubungkan dengan kemotaksis, invasi, angiogenesis dan proliferasi sel yang berkontribusi terhadap tumorigenesis dan progresi kanker. Mekanisme potensial keterlibatan CXCR4 pada penyebaran dan metastasis tumor adalah dengan migrasi transendotelial pada tumor primer. (Chao Xu et al., 2015).

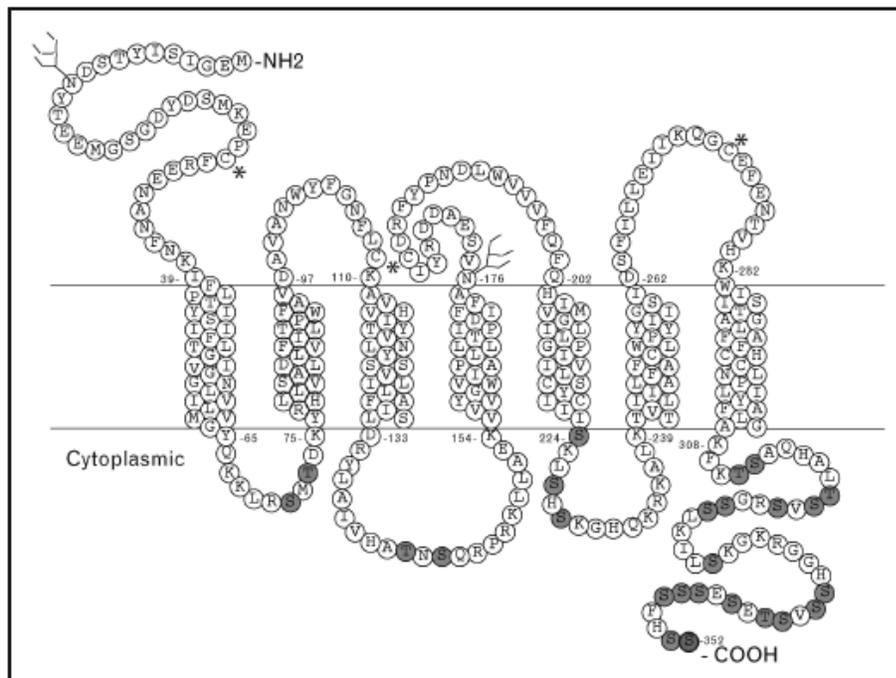
II.2.1 Struktur Molekul CXCR4

Reseptor chemokine C-X-C motif reseptor 4 (CXCR4) adalah anggota kelompok reseptor kemokin CXC, yaitu jenis reseptor yang terdiri dari tujuh reseptor kemokin CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5 dan CXCR6. Reseptor kemokin ini merupakan *seven-transmembrane α -helical domain G protein-coupled receptors*. (Jan, A. B and Thomas, J. K., 2006; Ghalib, A., 2009).

Gen CXCR4 terletak di kromosom 2q21, dengan 5160 base pair (bp), yang menyandi 352 urutan asam amino. Gen ini terdiri dari dua exon yaitu

exon 103 bp dan 1563 bp yang dibatasi intron 2132 bp, tepatnya di antara kodon 5 dan 6 dari urutan kodonnya. (Wayan, S. and Wayan, P. S. Y., 2013).

Satu-satunya ligan dari CXCR4 adalah *chemokine motif ligan 12* (CXCL12) atau juga disebut sebagai *stromal cell derived factor-1* (SDF-1). *Stromal cell derived factor-1* adalah ligan yang berasal dari keluarga CXC, terdiri dari 68 asam amino dan mempunyai dua buah isoform yaitu SDF-1 α dan SDF-1 β , tetapi secara biologis perbedaan fungsinya belum diketahui dengan jelas. Isoform SDF-1 pertama kali dibiakkan dari sel sumsum tulang. Kemudian diketahui bahwa ligan SDF-1 diekspresikan oleh jantung, kelenjar getah bening, paru, hati, otak dan otot rangka dan sumber utamanya adalah endotel vaskular, stroma fibroblast dan osteoblast. (Kryczek, I. et al.,2007; Wayan, S. and Wayan, P. S. Y., 2013).



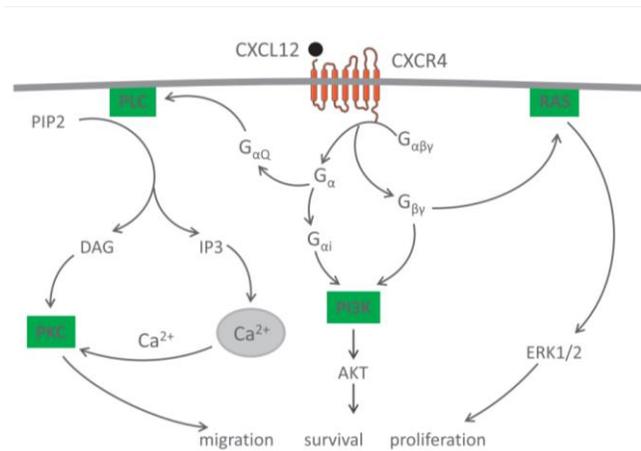
Gambar 6. Struktur Kemokin C-X-C motif reseptor 4 (Ghalib, A., 2009)

II.2.2 Regulasi CXCR4

CXCR4 dapat terekspresi pada jaringan normal antara lain sel imun yaitu limfosit, netrofil, makrofag, dan sel endotel serta membran sel tumor dan akan berikatan dengan ligan yang spesifik yaitu CXCL12. Ikatan antara CXCR4 dengan CXCL12 akan mengaktifkan berbagai sinyal transduksi intraseluler yang dapat mempengaruhi kemampuan invasi dan metastasis dari sel tumor. (Trianto, H. F., et al., 2019; Florinda, I. and Endah, Z., 2019; Xu, C. et al., 2015).

Aktivasi protein CXCR4 akan mengaktifkan berbagai jalur sinyal intraseluler. CXCR4 yang teraktivasi akan terpecah menjadi sub unit $G\alpha$ dan sub unit $G\beta\gamma$. Sub unit $G\alpha_i$ dan $G\beta\gamma$ akan memicu aktivasi sinyal jalur *phosphoinositide-3 kinase* (PI3K) yang mengaktifkan jalur AKT sehingga meningkatkan survival sel tumor. CXCL12 juga meregulasi sel survival melalui dua mekanisme, yaitu inaktivasi kematian sel pasca translasi dan dengan meningkatkan transkripsi gen sel survival. (Trianto, H. F., et al., 2019; Florinda, I. and Endah, Z., 2019).

Aktivasi CXCR4 melalui sub unit $G\beta\gamma$ juga menginduksi protein Ras yang akan mengaktifkan RAF. Selanjutnya mengaktivasi *extracellular signal-regulated kinase* (ERK $\frac{1}{2}$) yang akan meningkatkan proliferasi dan kemampuan migrasi sel tumor. Sub unit $G\alpha_q$ akan menginduksi *phospholipase-c* (PLC) yang akan membuat *phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate* (PIP2) menghasilkan *second messenger* yaitu *diacylglycerol* (DAG) dan *inositol triphosphate* (IP3). IP3 akan meningkatkan pengeluaran kalsium intraseluler dari retikulum endoplasma, yang bersama dengan DAG akan mengaktifkan *protein kinase C* (PKC). Aktivasi PKC akan meningkatkan kemampuan migrasi sel tumor. (Trianto, H. F., et al. 2019; Florinda, I. and Endah, Z. 2019; Xu, C. et al., 2015).



Gambar 7. CXCR4 signaling pathway pada sel tumor (Urszula M.D. et al., 2012).

II.2.3 Ekspresi Dan Regulasi CXCR4 Pada Keganasan

Interaksi antara CXCR4 dengan sel kanker sangat kompleks. Ekspresi CXCR4 rendah pada jaringan normal di sekitar jaringan yang terkena kanker. Keadaan ini mungkin disebabkan adanya perubahan dalam pembuluh darah, seperti menurunnya kadar oksigen yang mengakibatkan kondisi hipoksia pada sel selama pertumbuhan tumor. Hipoksia mengaktifasi HIF-1 (*Hypoxia Inducible Factor-1*) dan menghambat protein supresor tumor VHL (*Von Hippel Lindau*) sehingga meningkatkan ekspresi target gen termasuk CXCR4 pada karsinoma. (Xu, C. et al., 2015).

Banyak studi menyebutkan bahwa ikatan CAF (*Carcinoma Associated Fibroblast*) dan CXCL12 tidak hanya menstimulasi pertumbuhan sel kanker secara langsung melalui reseptor CXCR4, dan secara tidak langsung melalui *Matrix Metalloproteinase* (MMP) yang memediasi perbaikan jaringan tapi juga merekrut sel progenitor endothelial ke dalam tumor dan menstimulasi neoangiogenesis. Fibroblast ditemukan pada karsinoma, dan istilah CAF (*Carcinoma Associated Fibroblast*) merupakan komponen utama dari *microenvironment* sel tumor. Seperti pada fungsi normalnya yang timbul pada saat proses inflamasi dan penyembuhan luka melalui remodeling dan repair,

CAF memicu angiogenesis dan degradasi matriks ekstraseluler melalui peningkatan sekresi CXCL12 dan MMP-1 (*Matrix Metalloproteinase-1*). MMPs dapat meningkatkan ketidakstabilan epitel normal yang mengakibatkan formasi tumor. MMPs adalah enzim utama yang bertanggung jawab untuk degradasi matrix ekstraseluler yang merupakan barrier fisik untuk invasi sel kanker. Sinyal CXCR4 / CXCL12 pada CAFs aktif pada berbagai fungsi sel seperti migrasi sel tumor, adhesi, proliferasi, dan sekresi MMPs. (Florinda, I. and Endah, Z.,2019).

Peningkatan ekspresi CXCR4 juga dipengaruhi oleh peningkatan kadar VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) dan aktivasi NF- κ B (*Nuclear Factor Kappa B*), khususnya selama pertumbuhan kanker serta turut memicu terjadinya invasi dan metastasis sel tumor. (Xu, C. et al., 2015).

II.2.4 CXCR4 Pada Metastasis

Protein CXCR4 dapat meningkatkan kejadian metastasis sel tumor melalui proses angiogenesis. Ikatan antara CXCR4 dan CXCL12 akan meningkatkan aktivasi sel progenitor endothelial untuk datang ke lingkungan sekitar sel tumor dan membentuk pembuluh darah baru. CXCR4 dikaitkan dengan ekspresi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan *platelet derived growth factor D* (PDGF-D) yang dihubungkan dengan pembentukan dan stabilisasi pembuluh darah baru di sekitar tumor. Pembentukan pembuluh darah baru di sekitar tumor akan meningkatkan kejadian metastasis dari sel tumor. (Trianto, H. F. et al., 2019).

Vascular endothelial growth factor (VEGF) memfasilitasi metastasis sel kanker payudara dengan dua cara: (Xu, C. et al., 2015)

1. Dengan cara parakrin, VEGF meningkatkan permeabilitas vaskuler dengan memediasi pengaturan aktin dan mempengaruhi gap junction, sehingga meningkatkan angiogenesis dan ekstravasasi sel tumor.
2. Dengan cara autokrin, VEGF mendorong migrasi sel kanker payudara dan metastasis dengan menginduksi ekspresi CXCR4.

Sel kanker akan meninggalkan tumor primer (sel induk kanker) masuk ke dalam sirkulasi. Interaksi antara reseptor permukaan sel tumor dengan molekul adhesi sel endotel berpengaruh pada penangkapan sel tumor dan ekstravasasi selama metastasis melalui pembuluh darah. Sel tumor yang mengekspresikan CXCR4 tiba di homing site yang ekspresinya tinggi terhadap SDF-1 seperti kelenjar getah bening, paru, hati, dan sumsum tulang melalui pembuluh darah perifer atau pembuluh limfe lalu melekat pada sel endotel, menyerang jaringan, berproliferasi dan ekspansi ke daerah / lokasi lain dengan lingkungan yang mendukung. (Florinda, I. and Endah, Z., 2019).

CXCL12 juga memediasi CAF untuk menstimulasi *Epithelial-to-Mesenchymal Transition* (EMT) pada tumor primer. EMT penting untuk progresi dari lokal karsinoma menjadi malignansi invasif, yang berhubungan dengan hilangnya diferensiasi epitelial dan meningkatkan mesenkimal fenotip. Beberapa studi telah membuktikan hubungan molekuler antara EMT dan *self renewal* dan memperlihatkan bahwa sel kanker yang mengalami EMT akan meningkatkan fenotip stem sel kanker dan tumorigenesis. (Marina, O. K. et al., 2015; Florinda, I. and Endah, Z., 2019; Karolina, A. Z. and Vladimir, L. K., 2020).

II.3 CXCR4 Dan Karsinoma Payudara

Penyebaran kanker payudara mengikuti pola sebaran yang berbeda-beda dan secara khusus biasanya melalui penyebaran ke kelenjar getah bening aksila, paru, hati dan sumsum tulang. Ligan dari kemokin CXCR4 yaitu CXCL12 atau SDF-1 diekspresikan sangat tinggi oleh stromal jaringan fibroblas organ tempat penyebaran tersebut. (Wayan, S. and Wayan, P. S. Y., 2013).

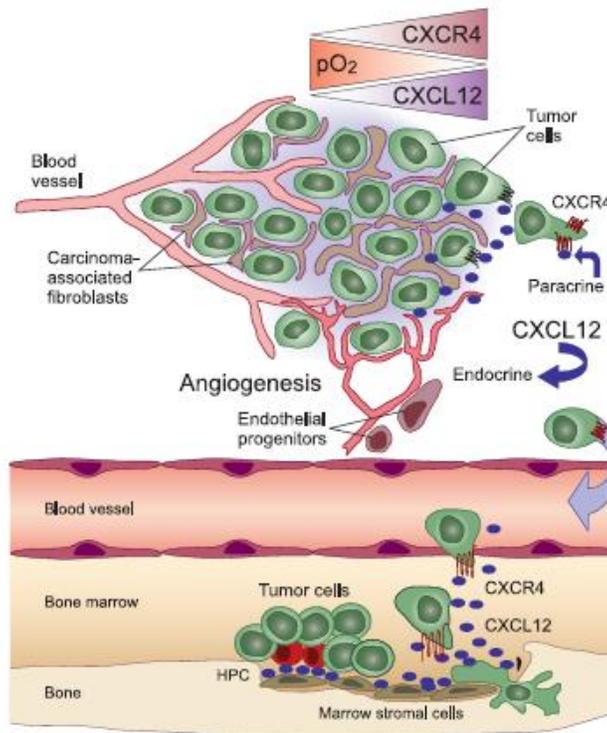
Dibeberapa penelitian ditemukan bahwa ekspresi CXCR4 yang tinggi di sel kanker payudara berhubungan dengan ramalan jalannya penyakit yang buruk dengan angka harapan hidup yang pendek dari penderita karsinoma payudara tersebut. Ekspresi *human epidermal growth factor receptor – 2* (HER2) yang tinggi di sebagian (30%) penderita karsinoma payudara, terbukti dapat meningkatkan ekspresi dan fungsi CXCR4. (Wayan, S. and Wayan, P. S. Y., 2013; Xu, C. et al., 2015).

Telah diketahui bahwa jaringan stromal paling banyak mengandung fibroblas sebagai komponen seluler *microenvironment* di karsinoma payudara. Fibroblas yang berhubungan dengan karsinoma atau yang dikenal dengan *Carcinoma Associated Fibroblast* (CAFs) ini menggambarkan protein mRNA CXCL12 yang tinggi pada karsinoma payudara. (Karolina, A. Z. and Vladimir, L. K., 2020).

Ekspresi ligand CXCL12 secara langsung meningkatkan pertumbuhan dan kemajuan sel kanker payudara dengan cara meningkatkan pengerahan *endothelial progenitor cells* yang diperlukan untuk proses angiogenesis tumor. Dengan demikian CXCL12 yang dihasilkan oleh CAFs ini dapat dikatakan bekerja secara paracrine dan endocrine di dalam merangsang pertumbuhan dan kemajuan karsinoma payudara. Disamping itu *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGR) secara autocrine dapat mengimbas ekspresi kemokin CXCR4 sel kanker payudara yang selanjutnya berpindah ke organ yang mengekspresikan ligan CXCL12 / SDF-1. Selain itu faktor

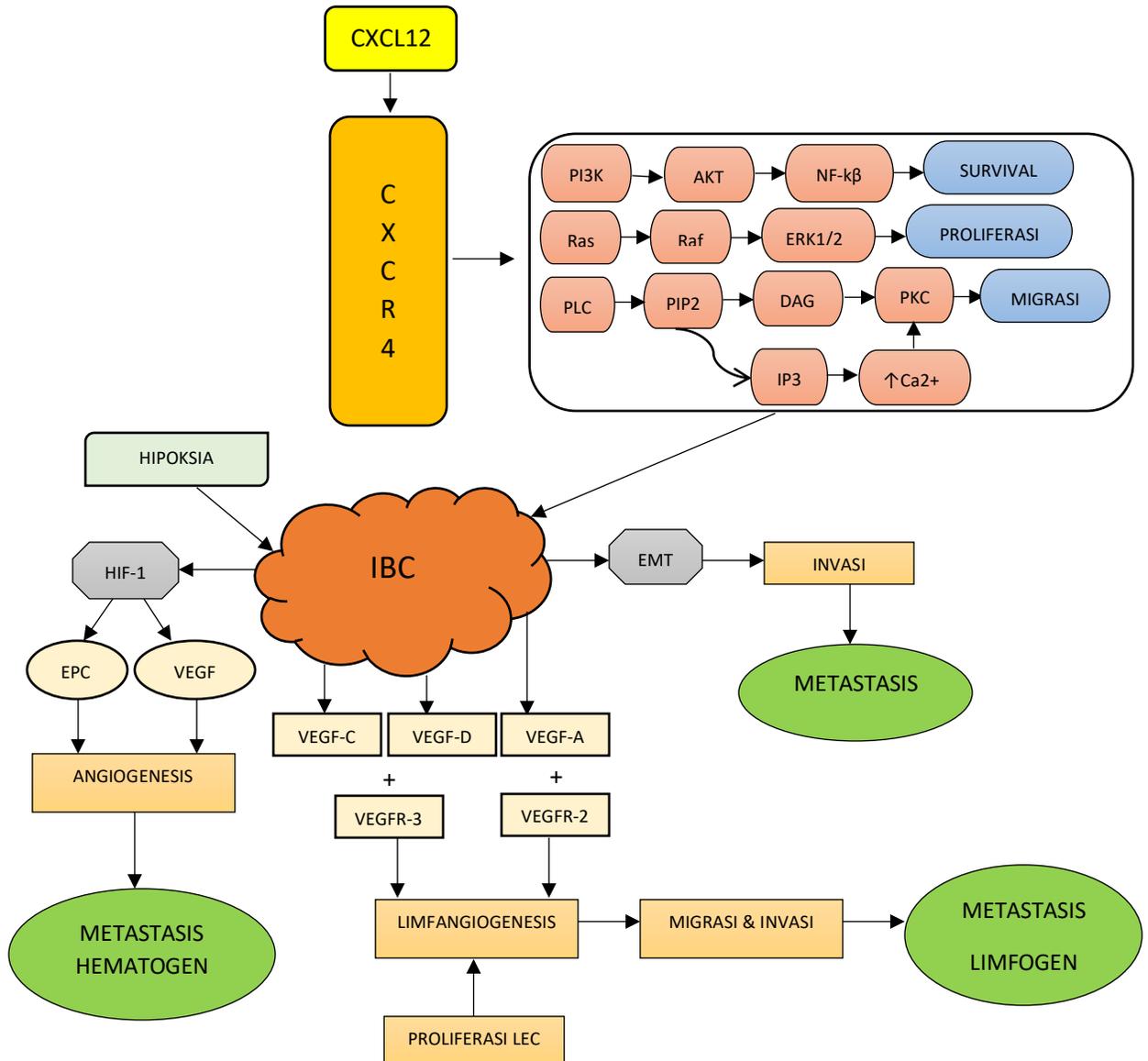
penyalinan inti kB (NF-kB) dapat merangsang ekspresi kemokin CXCR4 di sel kanker payudara untuk bersebaran atau mengalami proses homing ke organ khusus seperti ke organ paru. (Polina, W. and Adit, B.,2013; Debarati, D. and Jihe, Z., 2013).

Kekurangan oksigen jaringan (hipoksia) atau di keadaan pO₂ yang rendah dan ekspresi *Hypoxia-inducible factor-1* (HIF) yang tinggi merupakan faktor yang merangsang proses angiogenesis tumor. Dalam keadaan hipoksia di jaringan tumor, ekspresi ligan SDF-1 / CXCL12 oleh CAFs dan kemokine CXCR4 sel tumor akan merangsang daya gerak dan masuk sel kanker payudara. Ligan CXCL12 secara paracrine merangsang pertumbuhan sel kanker melalui peningkatan ekspresi kemokin CXCR4 dan secara endocrine membentuk sel endotel progenitor untuk proses angiogenesis. Ekspresi ligan CXCL12 yang tinggi di stromal jaringan tempat sasaran penyebaran sel kanker seperti kelenjar getah bening, tulang, paru dan hati akan menarik sel kanker payudara yang mengekspresikan kemokin CXCR4 di dalam peredaran untuk homing ke jaringan sasaran penyebaran tersebut. Kemudian sel kanker payudara dapat memasuki dan mendesak jaringan tempat sebarannya. (Jan, A. B and Thomas, J. K.,2006; Wayan, S. and Wayan, P. S. Y., 2013).



Gambar 8. Peran kemokin CXCR4 dan ligan CXCL12 pada karsinoma payudara.
(Jan, A. B and Thomas, J. K.,2006).

II.4 Kerangka Teori



Keterangan : IBC (*Invasive Breast Carcinoma*), CXCR4 (*CXC Chemokine Receptor 4*), CXCL12 (*Chemokine Motif Ligand 12*), PI3K (*Phosphoinositide-3 Kinase*), AKT (*Protein kinase B*), NF- κ B (*Nuclear Factor Kappa B*), RAS (*Rat sarcoma viral oncogene homolog*), RAF (*Rapidly accelerated fibrosarcoma*), ERK $\frac{1}{2}$ (*Extracellular Signal-Regulated Kinase*), PLC (*Phospholipase-C*), PIP2 (*Phosphatidylinositol 4,5-Biphosphate*), DAG (*Diacylglycerol*), PKC (*Protein Kinase C*), IP3 (*Inositol Triphosphate*), HIF-1 (*Hypoxia Inducible Factor-1*), EPC (*Endothelial Progenitor Cell*), VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), VEGFR (*Vascular Endothelial Growth Factor Receptor*), LEC (*Lymphatic Endothelial Cell*), EMT (*Epthelial-to-Mesenchymal Transition*)