

**HUBUNGAN EKSPRESI CD44 DENGAN DERAJAT HISTOPATOLOGI
KARSINOMA DUKTAL INVASIF PAYUDARA**

***THE CORRELATION BETWEEN THE EXPRESSION of CD44 AND THE
HISTOPATHOLOGICAL DEGREE OF INVASIVE DUCTAL CARCINOMA
MAMMAE***

RATNA SETYAWATI



KONSENTRASI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS TERPADU
(*COMBINED DEGREE*)
PROGRAM PASCASARJANA PROGRAM BIOMEDIK
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013

TESIS

HUBUNGAN EKSPRESI CD44 DENGAN DERAJAT HISTOPATOLOGI KARSINOMA DUKTAL INVASIF PAYUDARA

Disusun dan diajukan oleh :

RATNA SETYAWATI

Nomor Pokok : P1507209064

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 14 Agustus 2013
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasihat,

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

dr.Ni Ketut Sungowati, Sp.PA(K)
Anggota

Ketua Program Studi Biomedik,

Direktur Program Pascasarjana
Universitas Hasanuddin,

Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D

Prof. Dr. Ir. Mursalim

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat dan tuntunan-Nya maka tesis ini dapat diselesaikan dengan baik.

Gagasan yang melatarbelakangi tajuk permasalahan ini timbul dari hasil pengamatan penulis selama menjadi peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Patologi Anatomi FK-UNHAS, dalam penentuan suatu lesi payudara apakah protein CD44 dapat dipakai sebagai petanda untuk menunjang penegakkan diagnosa pasti pada suatu lesi karsinoma payudara invasif duktal.

Banyak kendala yang dihadapi oleh penulis dalam rangka penyusunan tesis ini, dan hanya berkat bantuan dari berbagai pihak maka tesis ini dapat selesai pada waktunya. Pada kesempatan ini penulis dengan tulus menyampaikan terima kasih kepada dr. Truly D. Dasril, Sp.PA(K) sebagai Ketua Komisi Penasihat dan dr. Ni Ketut Sungowati, Sp.PA(K) sebagai Anggota Komisi Penasihat, atas bantuan dan bimbingan yang telah diberikan dalam penyusunan proposal, pelaksanaan penelitian sampai dengan penulisan tesis ini. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada Prof.Dr. dr. H. Dasril Daud, Sp.A(K) sebagai Pembimbing Metodologi Penelitian yang telah sangat membantu dalam pengolahan dan pemberdayaan data statistik.

Penulis juga ingin menyampaikan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada DR. dr. Rina Masadah, M.Phil, Sp.PA selaku pembimbing

akademik yang membantu mencarikan jurnal-jurnal internasional bagi penulis, kepada dr. Cahyono Kaelan, Ph.D., Sp.PA(K) selaku Kepala Bagian Patologi Anatomi FK-UNHAS, serta semua dokter spesialis yang bertugas di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, rekan-rekan PPDS dan semua staf Bagian Patologi Anatomi FK-UNHAS yang selalu mendorong, memacu dan memberikan semangat bagi penulis. Yang terakhir dan terutama, terima kasih yang sedalam-dalamnya penulis sampaikan kepada suami (DR. Sc. Agr. Yusran, SP. MP) dan anak tersayang (Raffa Rezky Aprilio Yusran) dan kedua orangtua serta seluruh keluarga besar atas dukungan doa dan kasih sayang yang memberikan kekuatan ekstra bagi penulis untuk menyelesaikan tesis ini.

Makassar, 17 Agustus 2013

Ratna Setyawati

DAFTAR ISI

I.	PENDAHULUAN	1
I.1.	Latar Belakang Penelitian	1
I.2.	Rumusan Masalah	3
I.3.	Tujuan Penelitian	4
I.3.1.	Tujuan Umum	4
I.3.2.	Tujuan Khusus	4
I.4.	Hipotesis	4
I.5.	Manfaat Penelitian	5
II.	TINJAUAN PUSTAKA	6
II.1.	Kanker Payudara	6
II.1.1.	Etiologi dan Patogenesis	9
II.1.2.	Karsinoma Payudara Insitu	10
II.1.3.	Karsinoma Payudara Invasif Duktal	11
II.1.4.	Grading Histopatologi	11
II.1.5.	Penyebaran Kanker Payudara	13
II.2.	CD44	14
	KERANGKA TEORI	22
III.	KERANGKA KONSEP	22
III.1.	Identifikasi Variabel	22
IV.	METODOLOGI PENELITIAN	27
IV.1.	Desain Penelitian	30
IV.2.	Tempat dan Waktu Penelitian	30

IV.3.	Populasi Penelitian	30
IV.4.	Sampel dan Cara Pengambilan Sampel	31
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	33
	IV.7.1. Alokasi Subyek	33
	IV.7.2. Prosedur Pewarnaan Hematoksilin Eosin	33
	IV.7.3. Prosedur Pewarnaan Imunohistokimia	34
	IV.7.4. Interpretasi Hasil Imunohistokimia	34
IV.8.	Definisi Operasional dan Kriteria Objektif	35
	IV.8.1. Definisi Operasional	35
	IV.8.2. Kriteria Objektif	36
IV.9.	Pengolahan dan Analisis Data	42
IV.10.	Alur Penelitian	45
IV.11.	Personalia Penelitian	46
V.	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	47
V.1.	Hasil Penelitian	47
	V.1.1. Jumlah Sampel	47
	V.1.2. Karakteristik Sampel	50
	V.1.3. Analisis Perbedaan Ekspresi CD44	52
V.2.	Pembahasan	53

VI. KESIMPULAN DAN SARAN	57
DAFTAR PUSTAKA	58

ABSTRAK

Ratna Setyawati. *Hubungan Ekspresi CD44 dengan Derajat Histopatologi Karsinoma Duktal Invasif Payudara (dibimbing oleh Truly D. Dasril dan Ni Ketut Sungowati)*

Metastasis pada kanker payudara invasif duktal dipengaruhi banyak faktor, salah satunya yang diduga berperan adalah glycoprotein transmembran CD44. Penelitian ini bertujuan menilai hubungan ekspresi CD44 dengan derajat histopatologi karsinoma payudara invasif duktal yang belum metastasis dan yang sudah metastasis ke kelenjar limfe. Sampel berasal dari 76 sediaan blok parafin jaringan kanker payudara dengan diagnosa karsinoma duktal invasif payudara diferensiasi baik, diferensiasi sedang dan diferensiasi buruk. Pada seluruh sampel dilakukan pulasan imunohistokimia CD44. Gambaran mikroskopik diamati dengan menggunakan mikroskopik cahaya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekspresi kuat CD44 paling banyak terdapat pada karsinoma duktal invasif payudara diferensiasi sedang sebanyak yaitu 21 sampel (27,6%) diikuti diferensiasi buruk sebanyak 11 sampel (14,5%) dan diferensiasi baik 8 sampel (10,5%).

Kata kunci : CD44, karsinoma duktal invasif payudara diff. baik, karsinoma duktal invasif payudara diff. sedang dan karsinoma duktal invasif payudara diff. buruk

ABSTRACT

Ratna Setyawati. *The correlation between the Eexpression of CD44 and TheHhistopathological Degree of Invasive Ductal Carcinoma Mammae (Supervised by Truly D. Dasril dan Ni Ketut Sungowati)*

Metastasis on breast cancer of invasive ductal is influenced by some factors, where estimated that one of all is glycoprotein transmembrane CD44. This study aims to evaluate the relationship between CD44 expression and the hystopathology level of breast invasive ductal carcinoma before and after metastasis in lymph gland. The sample included 76 paraffin block preparation of breast cancer tissue diagnosed as breast invasive ductal carcinoma with good, medium, and bad differentiation. All samples had CD44 immunohistochemical smer. The microscopic descriptions were observed by using a light microscope. The results revealed that CD44 strong expression was mosttly found in breast invasive ductal with medium differentiation as much as 21 samples (27,6%), followed by bad differentiation as much as 11 samples (14,5%), and good differentiation as much as 8 samples (10,5%)

Keyword : CD44, breast invasive ductal carcinoma with good differentiation, breast invasive ductal carcinoma with medium diffrentiation, breast invasive ductal carcinoma with bad differentiation

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. LATAR BELAKANG

Kanker payudara merupakan salah satu kanker yang paling sering pada wanita di Amerika dan di dunia. (Afify et al., 2009). Data American Cancer Society tahun 2011, terdapat 230.480 (30%) kasus baru kanker payudara wanita di USA dengan estimasi jumlah kematian sekitar 39.520 (15%). Angka ini menjadikan kanker payudara sebagai penyebab kematian wanita terbanyak setelah kanker paru (American Cancer Society, 2011).

Di Indonesia kanker payudara masih menduduki urutan kedua terbanyak diantara berbagai jenis keganasan pada wanita, dan berdasarkan data Yayasan Kanker Indonesia (YKI) tahun 2007 terdapat 2896 (15,9%) kasus baru kanker payudara dan merupakan terbanyak setelah kanker rahim. Di Bagian Patologi Anatomi FK-UNHAS tahun 2011 didapatkan 444 kasus kanker payudara (26,4%) dari seluruh lesi payudara.

Ada beberapa faktor yang memegang peranan penting terjadinya kanker payudara pada wanita. Faktor-faktor resiko tersebut adalah usia menarche, usia menopause, hormon (endogen dan eksogen), riwayat keluarga (genetika), paritas, laktasi, obesitas, aktivitas fisik, diet, alkohol, merokok, lingkungan, dan riwayat biopsi atau pemeriksaan mamma lainnya (Lester. S. C, 2010, Rosai J, 2011)

CD44 adalah multifungsional glycoprotein transmembran kelas I umumnya bertindak sebagai reseptor spesifik untuk hyaluronic acid, promosi migrasi pada sel normal dan tereksresi kuat pada hampir setiap sel kanker pada bentuk standar atau bentuk varian. Terutama terkait dengan protein yang memonitor perubahan ekstraselular dan kritis dalam regulasi adhesi sel, proliferasi, pertumbuhan, motilitas, migrasi, angiogenesis dan differensiasi. CD44 juga menghadirkan sitokin dan kemokin pada reseptor komplementarinya di membran selular. CD44 berinteraksi dengan osteopontin dan mengatur fungsi utama selularnya untuk progresi tumor. Peristiwa interaksi dengan kolagen, laminin, dan fibronectin dimana fungsi fisiologiknya belum jelas. Fungsi CD44 melibatkan reseptor yang mengikat ligan, coreceptor dan sebagai pengatur dalam cortical actin skeleton. CD44 tereksresi pada permukaan sel kanker dan membantu menyebar secara hematogen saat dengan selektin P- atau L-. Ini juga melibatkan sejumlah cascade sinyal kompleks meningkatkan inisiasi tumor dengan reseptor tetangganya seperti tyrosine kinase (Jaggupilli and Elkord). Beberapa penelitian memiliki implikasi varian CD44 dibandingkan CD44 standar pada progresi tumor, tapi tergantung tahap progresi dan tipe tumor. (Toole, 2009)

Banyak penelitian membandingkan ekspresi CD44 pada tumor payudara, namun sepanjang pengetahuan peneliti, penelitian ekspresi CD44 dengan menggunakan sampel Makassar belum pernah dilakukan. Dengan mengetahui status CD44 dari suatu jaringan kanker payudara invasif duktal yang dihubungkan derajat serta terjadinya metastasis diharapkan dapat

menjadi landasan yang kuat bagi para klinisi, serta pemahaman mengenai biologi seluler tentang peranan CD44 dapat dimanfaatkan untuk prediksi karsinogenesis

1.2. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah diatas dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

Apakah ada hubungan antara ekspresi CD44 dengan derajat histopatologi kanker payudara invasif dan terjadinya metastase ke kelenjar limfe?

1.3. TUJUAN PENELITIAN

1.3.1. Umum

Menilai hubungan ekspresi CD44 dengan derajat histopatologi karsinoma payudara invasif duktal yang belum metastasis dan yang sudah metastasis ke kelenjar limfe.

1.3.2. Khusus

1. Menentukan diagnosis dan derajat histopatologi jaringan karsinoma payudara invasif duktal yang belum dan yang sudah metastasis ke kelenjar limfe dengan pewarnaan H.E.
2. Menentukan ekspresi CD44 pada karsinoma payudara invasive duktal
3. Menentukan korelasi antara ekspresi CD44 dengan derajat histopatologi kanker payudara invasif duktal

4. Membandingkan ekspresi skor CD44 pada karsinoma payudara invasif duktal yang belum dan yang sudah metastase ke kelenjar limfe.

1.4. HIPOTESIS

Hipotesis yang dapat diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Terdapat korelasi antara skor ekspresi CD44 dengan grading histopatologi kanker payudara invasive duktal yaitu makin tinggi skor ekspresi CD44 makin tinggi derajat histopatologi/ derajat differensiasi karsinoma payudara invasif duktal.
2. Ekspresi CD44 lebih tinggi pada karsinoma payudara invasif duktal yang sudah metastase ke kelenjar limfe dibandingkan dengan yang belum metastase

1.5. MANFAAT PENELITIAN

1. Memberikan informasi ilmiah tentang peranan CD44 yang dapat memberikan prognosis penderita.
2. Memberikan landasan ilmiah dalam diagnosis suatu kanker payudara invasif duktal
3. Sebagai sumber data untuk melanjutkan penelitian dalam mekanisme biologikkarsinogenesis kanker payudara

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. KANKER PAYUDARA

Kanker payudara (*carcinoma mammae*) adalah suatu penyakit neoplasma ganas yang berasal dari *parenkim* (Lester et al, 2005).

Faktor resiko kanker payudara:

A. Umur. Kanker payudara jarang ditemukan sebelum usia 25 tahun kecuali pada kasus-kasus keluarga tertentu. 77% kasus terjadi pada wanita dalam usia diatas 50 tahun, rata-rata umur yang didiagnosis adalah 64 tahun. (Lester. S. C, 2010)

B. Umur menarce. Wanita yang mendapatkan haid dibawah 11 tahun memiliki 20% resiko tinggi dibandingkan dengan wanita yang berusia diatas 14 tahun. Menopause yang terlambat juga memiliki resiko tetapi besarnya resiko belum diketahui. (Lester. S. C, 2010)

C. Ras. Insidens kanker payudara tertinggi pada wanita kaukasian, rendah pada wanita pedalaman Afrika-Amerika dan wanita korea, tetapi lebih banyak terdapat penderita stadium lanjut dan angka mortalitas yang tinggi dibandingkan wanita kulit putih. Wanita berkulit hitam resikonya lebih tinggi daripada wanita berkulit putih,. (Bartow, 2001, Lester. S. C, 2010)

D. Estrogen reseptor. Pemakaian estrogen dan progesteron bersama-sama meningkatkan resiko dibanding dosis tunggal estrogen. Pada karsinoma

invasif lobular dan karsinoma dengan estrogen reseptor positif dilaporkan meningkat pada kelompok ini..(Bartow, 2001, Lester. S. C, 2010)

E. Pemaparan radiasi. Wanita yang terpapar terapi radiasi atau radiasi setelah ledakan bom atom memiliki resiko tinggi kanker payudara. Resiko meningkat pada wanita berusia muda dengan dosis radiasi tinggi. (Lester. S. C, 2010)

F. Diet. Variasi makanan khususnya lemak meningkatkan resiko tetapi dalam penelitian sulit menentukan hubungan yang kuat. Beberapa penelitian menunjukkan resiko berkurang dengan asupan tingginya beta karoten. Pengguna alkohol sedang dan berat memiliki resiko tinggi. Terdapatnya kadar estrogen tinggi dan kadar folat rendah dihubungkan dengan mekanisme yang mendasari hubungannya dengan pengguna alkohol.

G. Obesitas. Resiko menurun pada wanita gemuk dibawah 40 tahun yang memperlihatkan hubungan dengan siklus anovulatorik dan kadar progesteron rendah pada akhir siklus. Pada wanita gemuk pasca menopause resiko meningkat akibat kaitannya dengan sintesa estrogen dalam deposit lemak.(Bartow, 2001, Lester. S. C, 2010)

H. Wanita menyusui. Wanita yang menyusui memiliki resiko lebih rendah. Insidens kanker payudara yang rendah pada negara berkembang juga karena banyak dan lamanya dalam masa menyusui anaknya. (Lester. S. C, 2010)

I. Toksin Lingkungan. Insiden kanker payudara pada negara-negara industri barat, 4-5 kali lebih besar daripada negara-negara berkembang. Selanjutnya wanita yang bermigrasi ke Amerika Serikat dari negara yang insidensnya rendah (misalnya Jepang) dapat beresiko kanker setinggi populasi Amerika berkulit putih dalam 1-2 generasi. (Bartow, 2001, Lester. S. C, 2010)

J. Penyakit *Fibrocystic change*. Wanita dengan *fibrocystic change* memiliki resiko tinggi kanker payudara jika terdapat lesi poliferasi yang spesifik. (Lester. S. C, 2010)

K.Menderita kanker sebelumnya. Wanita yang sebelumnya menderita kanker payudara memiliki resiko 10 kali lipat mendapatkan kanker payudara yang kedua.(Lester. S. C, 2010)

II.1.1.Etiologi dan Patogenesis

II.1.1.a. Etiologi

Faktor resiko utama terjadinya pertumbuhan kanker payudara adalah faktor hormonal dan genetik. Faktor ini dapat digolongkan menjadi dua bagian yaitu herediter (mutasi gen)dan sporadik (kemungkinan berhubungan erat dengan hormon) dan (Lester. S. C, 2010)

A. Kanker Payudara Herediter

Wanita dengan riwayat keluarga kanker payudara, terutama garis keturunan pertama, seperti ibu, saudara perempuan atau anak, memiliki peningkatan resiko perkembangan kanker payudara. Resiko

tertinggi jika lebih dari satu garis keturunan mengalami kanker payudara dan resiko ini akan lebih meningkat, bila salah seorang anggota keluarga terdiagnosa pada usia muda (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 2001). Dengan demikian, genetic merupakan determinan penting resiko kanker payudara. Sejumlah kanker payudara kerentanan gen dapat digolongkan, khususnya *BRCA1* dan *BRCA2*, yang memiliki respons 15% kanker payudara pada mutasi yang diwariskan. (Juhua et al., 2011)

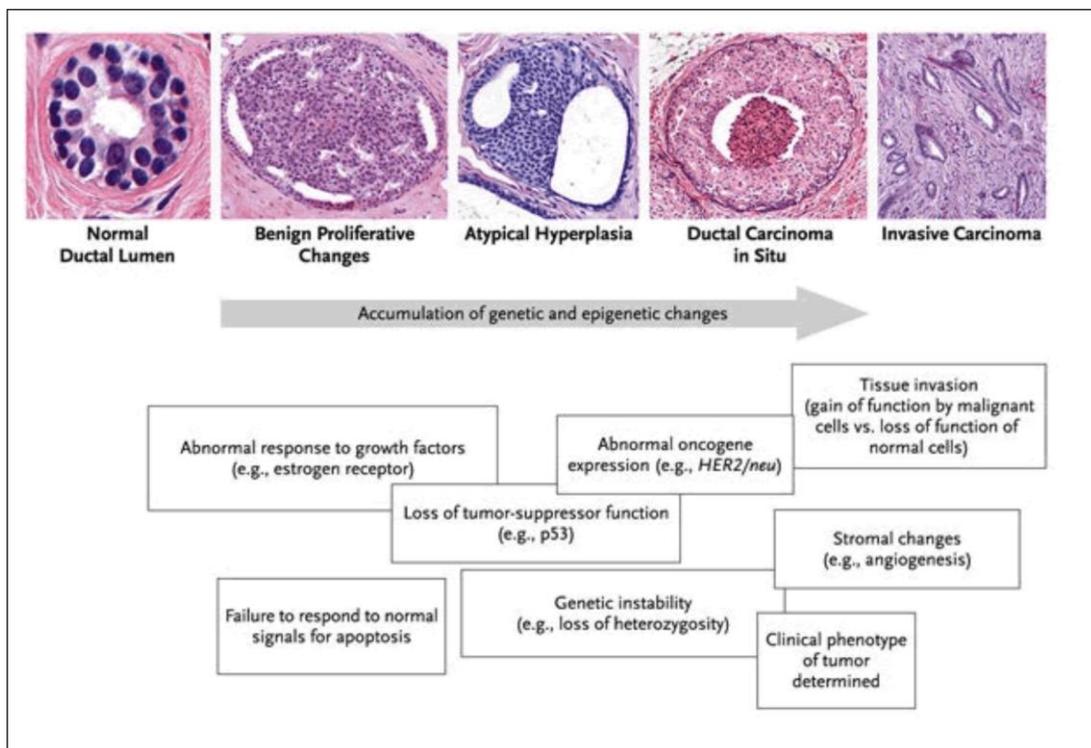
B. Kanker Payudara Sporadik

Faktor utama resiko terjadinya kanker payudara erat hubungannya dengan paparan hormonal yaitu gender, umur menarce, umur menopause, riwayat reproduksi, menyusui, estrogen eksogen, wanita nullipara atau wanita yang hamil pertama kali setelah umur 35 tahun meningkat 2 – 3 kali dibandingkan dengan yang pertama kali hamil sebelum umur 25 tahun .

II.1.1.b. Patogenesis

Payudara atau kelenjar payudara dilapisi oleh kulit dan jaringan subkutan dan terletak di otot pectoralis, dipisahkan oleh fascia. Bagian morphofunctional organ merupakan kelenjar tunggal, struktur percabangan kompleks secara topografi tersusun menjadi lobus dan memiliki dua komponen utama : *the terminal duct-lobular unit (TDLU)* dan *the large duct system*. TDLU dibentuk oleh lobul dan duktul terminal yang menggambarkan

bagian luar kelenjar. Atypical Ductal Hyperplasia (ADH) adalah suatu lesi premaligna ditandai adanya sel – sel abnormal dalam duktus atau lobules, ADH diduga merupakan precursor DCIS. Pada setiap tingkatan terjadi peningkatan resiko berkembangnya keganasan disebut Invasive Breast Cancer (IBC). Ductal Carcinoma In Situ dapat berkembang menjadi IBC tetapi belum dapat ditentukan jenis lesi insitu yang dapat berkembang menjadi Invasive Ductal Carcinoma Mammae.(Rosen.P.P, 2009, Vargo-Gogola and Rosen, 2007)



Gambar 1. Proses patobiologik yang berhubungan dengan karsinoma payudara invasive duktal(Burstein et al., 2004)

II.1.2. Karsinoma Payudara Insitu

Karsinoma in situ dikatakan sebagai lesi prekursor obligate karsinoma invasif dan secara histologi, ditemukan berbagai macam subtype karsinoma in situ memiliki bagian invasif. Namun hanya 20% - 30% wanita dengan biopsi terbukti karsinoma payudara in situ (DCIS), tetapi tidak menerima terapi lanjut, yang kemudian berkembang menjadi kanker invasif. (Ann D. Thor and Osunkoya, 2008)

II.1.3. Karsinoma Payudara Invasif Duktal

Karsinoma invasif duktal adalah istilah yang digunakan untuk semua karsinoma yang tidak dapat disubklasifikasikan ke dalam salah satu tipe. Sebagian besar karsinoma ini menimbulkan respon desmoplastik, yang menggantikan lemak payudara normal (menghasilkan densitas pada mammografi) dan membentuk massa yang teraba keras. Secara klinis kanker payudara teraba sebagai benjolan kenyal keras dan terdapat kerutan pada kulit yang menutupinya atau otot dibawahnya. Kulit juga menunjukkan gambaran *peau d'orange*, lekukan akibat penyebaran ke limfatik. Papila mamma dapat mengalami penarikan akibat adanya kerutan dan kontraksi ligamen intramamma. (Lester. S. C, 2010)

Pada potongan melintang, tumor tampak berinfiltrasi dan mengerut di bawah jaringan ikat dan lemak dan memiliki gambaran berbintik yang merupakan masa nekrotik kecil-kecil berwarna putih kapur, juga terdapat fokus-fokus kalsifikasi kecil. (Lester. S. C, 2010)

Secara histologik tumor terdiri dari sel-sel maligna yang tersusun dalam kelompok / sarang-sarang atau struktur mirip kelenjar. Sel-sel ganas tampak jelas menginvasi stroma jaringan ikat. Sering ditemukan invasi perivaskuler dan perineural(Lester. S. C, 2010, Rosai J, 2011)

II.1.4. Grading Histopatologi

Grading tumor atau derajat differensiasi merupakan penilaian tingkat keganasan atau agresivitas tumor. dapat dilihat dari gambaran histologiknya. Struktur yang paling penting untuk membantu penilaian grading tumor ialah tingkat kemiripan dengan jaringan normal (tubular diferensiasi), ukuran inti dan pleomorfisme dan aktivitas mitosis. (Rosai J,2004). Sistem skoring 1-3 digunakan untuk memastikan hitungan secara individual.

Untuk mengevaluasi tubulus dan kelenjarasini payudara yang memiliki lumen sentral yang jernih, hitungan 75% dan 10% digunakan untuk alokasi skoring. Pleomorfisme inti dihitung berdasarkan regularitas ukuran inti dan ukuran normal sel epitel. Peningkatan iregularitas inti, jumlah serta ukuran digunakan untuk perhitungan. Mitosisdievaluasi secara hati-hati dan hanya menghitung gambaran mitosis; sel hiperkromatik dan inti piknotik tidak dihiraukan karena kemungkinan suatu apoptosis. Standar hitungan mitosis yaitu jumlah total mitosis per 10 lapangan pandang besar (10x40), mulai dari bagian tepi. Jika terdapat heterogenitas, yang dipilih adalah lapangan pandang dengan sel tumor yang paling representatif. (Ellis IO et al, 2003.)

Evaluasi yang sering digunakan adalah *NOTTINGHAM MODIFICATION OF THE BLOOM-RICHARDSON SYSTEM* (Ellis IO et al, 2003., Rosai J, 2011) yakni:

1. Formasi tubuler

Nilai 1 bila formasi tubuler > 75% dari tumor

Nilai 2 bila formasi tubuler 10 – 75% dari tumor

Nilai 3 bila formasi tubuler < 10% dari tumor

2. Bentuk nukleus

Nilai 1 bila ukuran dan bentuk nukleus variasinya minimal

Nilai 2 bila ukuran dan bentuk nukleus variasinya sedang

Nilai 3 bila ukuran dan bentuk nukleus bervariasi sekali (bermacam-macam)

3. Jumlah mitosis

Dihitung per 10 lapangan pandang besar (10x40) pada area yang paling aktif

Nilai 1 : 0 - 9 /LPB

Nilai 2 : 10 - 19/LPB

Nilai 3 : >20/LPB

PENILAIAN :

Nilai 3 – 5 : Diferensiasi baik (grade I, *Low malignancy*)

Nilai 6 – 7 : Diferensiasi sedang (Grade II, *Intermediate malignancy*)

Nilai 8 - 9 : Diferensiasi buruk (grade III, *High malignancy*)

II.1.5. Penyebaran Kanker Payudara

Penyebaran kanker payudara dapat melalui saluran limfe dan darah. Metastasis ke kelenjar getah bening ditemukan pada sekitar 40% kanker yang bermanifestasi sebagai massa yang dapat dipalpasi. Lesi yang terletak di tengah atau kuadran luar mula-mula menyebar ke kelenjar aksilla. Metastasis mungkin dapat timbul bertahun-tahun setelah terapi.(Ellis IO et al, 2003., Lester. S. C, 2010)

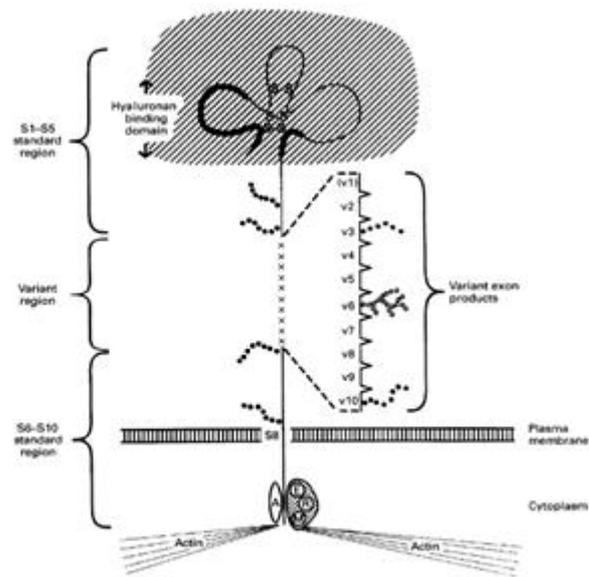
Invasi dan metastasis merupakan petanda biologik untuk tumor ganas. Merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas. Terdiri dari proses rumit yang melibatkan serangkaian tahapan. Hanya subklonal tertentu yang memiliki kombinasi produk gen yang tepat untuk dapat menyelesaikan seluruh tahapan. (Stricker T, 2010)

Menurut sistim WHO, *grading* histologi keganasan rendah (I), probabilitas ketahanan hidup 5 dan 10 tahun adalah 75% dan 45 % . Keganasan menengah (II) probabilitas ketahanan hidup 5 dan 10 tahun 53% dan 27%. Keganasan tinggi (III) probabilitas ketahanan hidup 5 dan 10 tahun adalah 31% dan 18%.(Ellis IO et al, 2003.)

II.2. CD44

CD44 adalah penanda cluster yang diberikan oleh Third International Workshop on Leukocyte Differentiation Antigens untuk glycoprotein p80 yang ditandai oleh berbagai antibodi yang berbeda pada leukosit dan sel – sel lainnya. Protein CD44 pertama kali diidentifikasi pada tahun 1980 oleh Dalchau dan kolega sebagai brain-granulocyte lymphocyte antigen. (Y, 2004)

CD44 merupakan suatu glycoprotein transmembran permukaan sel, yang di kode oleh gen tunggal. Pada manusia gen CD44 terletak pada kromosom 11 lengan pendek yang mengandung sedikitnya 20 exon dan tiap exon mengandung 50 kb DNA. Gen ini terdiri dari 2 grup ekson. Grup pertama, terdiri dari exon 1-5 dan 16-20, diekspresikan bersama diseluruh jenis sel dalam bentuk standar. 10 jenis exon (exon 6 – 15) dapat sebagai alternatif sambungan dan termasuk didalam standar exon pada tempat sisipan antara exon 5 dan 16. CD44 diekspresikan dalam berbagai sel termasuk sel hemopoetik, epitel, endotel, dan beberapa mesoderm asal (Bourguignon *et al.*, 1998; Nebe *et al.*, 2006). Studi genomik DNA mendokumentasi bahwa Cd44 dikode paling sedikit 20 ekson. Lima pertama (s1 – s5) seperti ekson 16 sampai 20 (s6 – s10) hampir selalu diekspresi oleh sejumlah besar sel non epitel, termasuk hematopoetik; produknya menunjuk sebagai bentuk CD44 "standar" atau "hemopoetik" (disingkat CD44s atau CD44H). Ekson 6 sampai 15, kemudian disebut v1 – v10, merupakan alternatif splice. (Rudzki and Jothy, 1997).



Gambar 2. Struktur CD44(Rudzki and Jothy, 1997)

Ligand utama CD44 adalah Hyaluronic Acid (HA), dimana merupakan komponen extracelullar matrix (ECM). HA linear, polymeric glycosaminoglycan dan sedikitnya menempati tiga tempat untuk berikatan di molekul CD44: satu yang menghubungkan bagian yang disandi exon 2, dan dua lainnya melengkapinya bagian yang disandi exon 5 (Goodison et al., 1999). Hyaluronan ditandai baik sebagai faktor penentu penting dari perilaku sel kanker. Interaksi hyaluronan dengan CD44 reseptor permukaan selnya dan RHAMM menginduksi peristiwa sinyal yang mempromosi pertumbuhan sel tumor pada tempatnya, kelangsungan hidup, dan migrasi, hingga peningkatan penyebaran metastase. Meningkatnya sintesis hyaluronan pada sel kanker menyebabkan pembentukan matriks tidak padat yang meningkatkan motilitas dan invasi sel tumor. Selain itu, adanya hyaluronan

membentuk mantel yang melindungi sel kanker dari sel sitotoksik dan agen kemoterapi(Gotte and Yip, 2006).

Ikatan antara hyaluronic acid dan molekul adhesi CD44 dapat memulai serangkaian peristiwa yang dimulai dengan modifikasi adhesi pada matriks dan dilanjutkan aktivasi molekul lainnya seperti faktor – faktor pertumbuhan, degenerasi matriks, angiogenesis, permeasi oleh pembuluh darah, dan ekstrasvasasi. Semua langkah – langkah ini dibutuhkan dalam inisiasi metastasis.(Trapasso and Allegra).

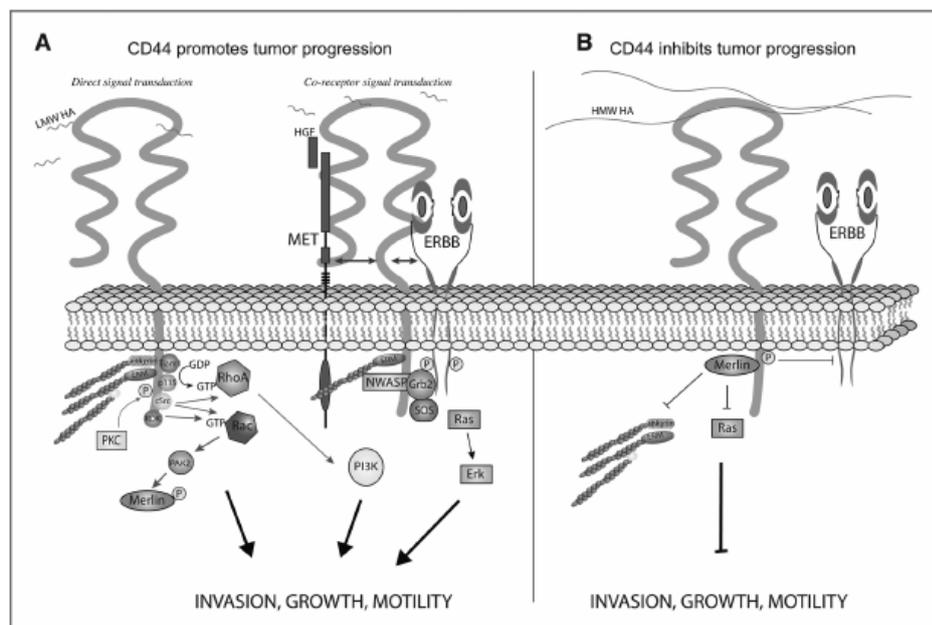
Pada beberapa tipe sel kanker, ikatan hyaluronan pada CD44 dengan sinyal reseptor menghasilkan interaksi secara langsung atau tidak langsung CD44 dengan reseptor sinyal, seperti ERBb2, epidermal growth factor reseptor (EGFR), dan transforming growth factor- β (TGF- β) reseptor tipe I, dan mempengaruhi aktivitas reseptor. Hal ini dapat menyebabkan interaksi dengan dan perubahan aktivitas nonreseptor kinase Src famili atau Ras famili GTPase. Dengan demikian, ikatan hyaluronan - CD44 mempengaruhi aktivitas berbagai jalur sinyal downstream, terutama MAP kinase dan jalur PI3 kinase-Akt dan akibatnya meningkatkan proliferasi sel tumor, kelangsungan hidup, motilitas, invasi dan kemoresisten. Selain itu, ikatan hyaluronan pada CD44 menstimulasi multidrug transportasi metabolik yang penting dalam resistensi terapi(Toole, 2009). Pada tangan lain, hyaluronan instruktif, peranannya sebagai sinyal sel selama proses dinamis sel seperti morfogenesis, inflamasi, penyembuhan luka, dan kanker, dimana interaksi

reseptor hyaluronan aktif dan berkolaborasi dalam sejumlah jalur sinyal. (Toole, 2009)

CD44 adalah multifungsional glycoprotein transmembran kelas I umumnya bertindak sebagai reseptor spesifik untuk hyaluronic acid, promosi migrasi pada sel normal dan terekspresi kuat pada hampir setiap sel kanker pada bentuk standar atau bentuk varian. Terutama terkait dengan protein yang memonitor perubahan ekstraselular dan kritis dalam regulasi adhesi sel, proliferasi, pertumbuhan, motilitas, migrasi, angiogenesis dan differensiasi. CD44 juga menghadirkan sitokin dan kemokin pada reseptor komplimentarinya di membran selular. CD44 berinteraksi dengan osteopontin dan mengatur fungsi utama selularnya untuk progresi tumor. Peristiwa interaksi dengan kolagen, laminin, dan fibronectin dimana fungsi fisiologiknya belum jelas. Fungsi CD44 melibatkan reseptor yang mengikat ligan, coreceptor dan sebagai pengatur dalam cortical actin skeleton. CD44 terekspresi pada permukaan sel kanker dan membantu menyebar secara hematogen saat dengan selektin P- atau L-. Ini juga melibatkan sejumlah cascade sinyal kompleks meningkatkan inisiasi tumor dengan reseptor tetangganya seperti tyrosine kinase (Jaggupilli and Elkord).

CD44 juga dapat sebagai respons sel penengah microenvironment ekstraselular oleh pengaturan pertumbuhan, pertahanan, differensiasi dan motilitas. CD44 memainkan peranan pada metastasis tumor. (Marhaba and Zoller, 2004). CD44s (bentuk standar) diketahui penting dalam T-cell signaling dan berbagai fungsi sel imun. Sebagai tambahan, CD44s

memainkan peranan pada adhesi T-cell dan B-cell, agregasi sel, proliferasi, dan migrasi sel .CD44s juga penting sebagai molekul cytotoxic triggering pada cytotoxic T lymphocyte, double-negative T cell dan natural killer cell pada tikus (Rafi-Janajreh *et al.*, 1998). CD44 juga memperlihatkan interaksi dengan hyaluronan dalam regulasi proliferasi sel kanker payudara, migrasi, dan invasi, angiogenesis tumor, dan kelangsungan hidup pasien (Gotte and Yip, 2006; Nebe *et al.*, 2006).(Klingbeil *et al.*). Pada studi terbaru memperlihatkan CD44 terlibat dalam dua dari tiga cascade invasif : adhesi pada matriks ekstraselular dan motilitas yang memungkinkan progresi tumor(Rys *et al.*, 2003).



Gambar 3. CD44 mengaktivasi dan menghambat sinyal onkogen(Louderbough and Schroeder)

Tidak terkontrolnya pertumbuhan, evasi apoptosis, angiogenesis, dan motilitas sel dan invasi merupakan penanda progresi kanker. CD44 dapat mempromosi fungsinya, secara bebas atau berkolaborasi dengan reseptor permukaan sel, dan dapat pula menghambat fungsinya. CD44 memperlihatkan aktivitas sejumlah jalur sinyal sentral, termasuk Rho GTPase dan the Ras-MAPK dan jalur PI3K/AKT, tetapi juga memperlihatkan tindakan sebagai pertumbuhan/ menahan sensor, pada respon sebagai isyarat dari microenvironment, dapat menahan pertumbuhan, promosi apoptosis, dan menghambat angiogenesis dan invasi. Saat sinyal CD44 menginisiasi ikatan pada berbagai ligan ECM, sinyal yang di induksi oleh hyaluronan adalah yang karakteristiknya luas. (Louderbough and Schroeder).

CD44 mengatur beberapa aktivitas sinyal yang berinteraksi pada tail sitoplasmik. Perlakuan dengan solubel LMW atau HMW hyaluronan menyebabkan invasi sel dan migrasi aktivasi yg di mediasi oleh CD44 pada famili Rho GTPase. Beberapa penelitian memperlihatkan interaksi hyaluronan menginisiasi pengambilan sinyal molekul termasuk Tiam 1, p115, Rac1, Rho GEFs, protein kinase yang terkait Rho, dan cSrc. Interaksi dengan sinyal molekul mengaktifkan jalur PI3K dan sejumlah output selular, yaitu kelangsungan hidup dan invasi sel. CD44 juga memperlihatkan interaksi dengan dan aktivasi RhoA bebas, ikatan hyaluronan, meningkatkan CD44 terkait ankyrin, membawa informasi proyek membran, dan menyebabkan migrasi. Sebaliknya, oligomers hyaluronan menunjukkan

hambatan aktivasi PI3K dan fosforilasi AKT ketika menstimulasi apoptosis dan ekspresi upregulatorfosfatase tumor supressor PTEN pada sel karsinoma mammae murine TA3/St. Dengan demikian, aktivasi CD44 pada Rho GTPase dan jalur PI3K sangat tergantung pada hantaran microenvironment. (Louderbough and Schroeder)

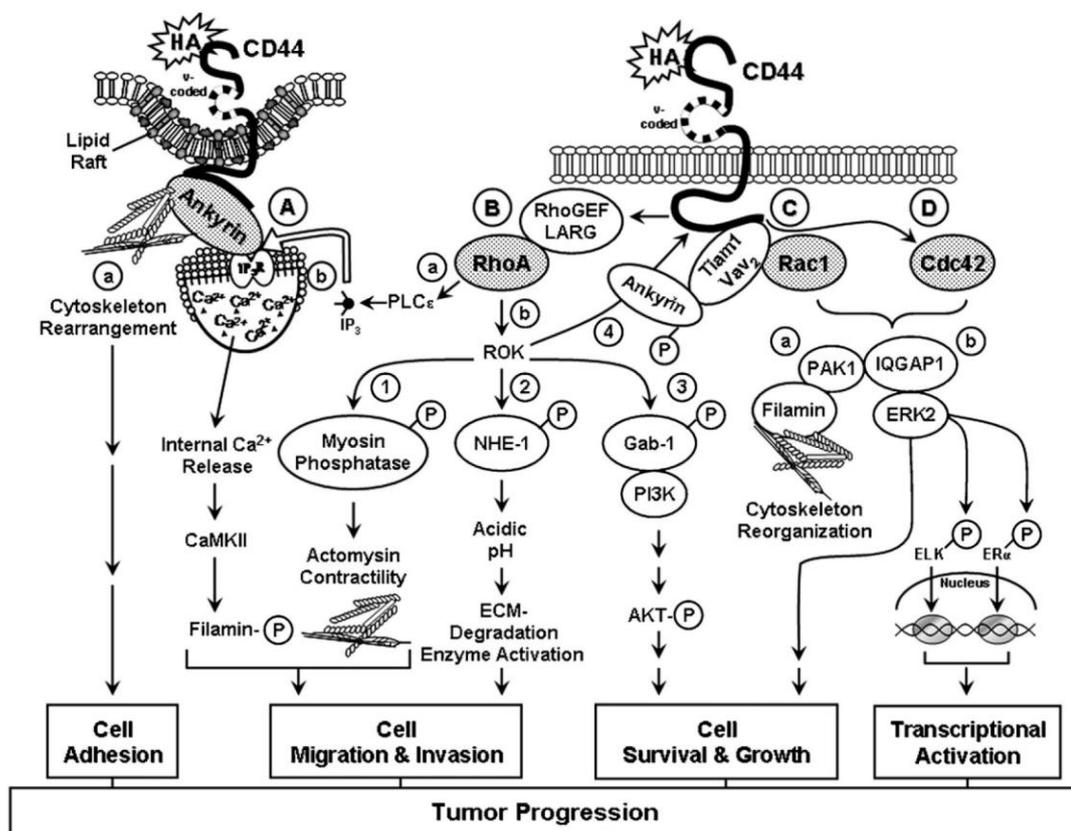
CD44 memediasi actin skeleton remodelling dan invasi yang berinteraksi dengan protein ERM (Ezrin-Radixin-Moesin), hubungan CD44 secara langsung dengan skeleton actin dan mempromosi remodelling sitoskeletal dan invasi. Protein ERM, bagaimanapun, melengkapi tempat ikatan pada tail sitoplasmik dengan Merlin, protein terkait Merlin fungsinya sebagai tumor supressor. ERM dan Merlin dapat melengkapi ikatan pada pertumbuhan dan migrasi atau menghambat pertumbuhan dan migrasi. Pada respons densitas sel yang tinggi dan hyaluronan HMW, Merlin berikatan pada CD44, menggantikan ERM dan kemudian menghambat pertumbuhan sel yang diaktivasi Ras. Dengan demikian, aktivasi PI3K membawa fosforilasi dan deaktivasi Merlin oleh kinase terkait p21 (Pak2), yang menghambat ikatannya pada CD44. Meninggalkan ankryn dan protein ERM bebas di sambungan sitoplasmik CD44 pada sitoskeleton actin, yang mengatur kembali promosi sitoskeletal dan meningkatkan invasi selular. (Louderbough and Schroeder)

Onkogen HER2 (disebut juga c-erbB-2 atau neu) di kode sebagai 185kDa (p185^{HER2}) protein membran yang mengandung transmembran tunggal mencakup tempat, dua wilayah ekstraselular yang kaya cysteine

dan tyrosine kinase yang terkait wilayah sitoplasmik. Protein ini termasuk reseptor epidermal growth factor (EGF) subgroup superfamili terkait reseptor tyrosine kinase. Overekspresi dan amplifikasi onkogen HER2 ditemukan berkorelasi dengan kelangsungan hidup yang buruk beberapa tumor termasuk kanker payudara dan ovarium. Hung dan kawan-kawan memperlihatkan onkogen HER2 overekspresi pada beberapa sel karsinoma menunjukkan potensial tumorigenik dan metastasis. (Bourguignon, 2008)

CD44 (juga dikenal sebagai homing cellular adhesion molecule, PGP-1, Hermes antigen, and HUTCH-1) adalah reseptor glycoprotein transmembran tipe 1 terutama yang berikatan dengan extracellular glycosaminoglycan, hyaluronan. Ikatan CD44 oleh hyaluronan mengakibatkan intracellular signaling yang berhubungan dengan berbagai efek seperti adhesi seluler, migrasi dan invasi yang penting dalam progresi kanker, maupun perkembangan hemopoetic dan penyembuhan luka. Berbagai macam respons yang dihasilkan dari interaksi CD44-Hyaluronan mungkin dikaitkan dengan ekspresi CD44 varian isoform pada jaringan dan sel yang berbeda. CD44 merupakan protein yang sangat polimorfik karena insersi potensial 10 varian exon kedalam bagian extracellular protein (CD44v). Sedangkan CD44 bentuk standar (CD44s) secara luas diperlihatkan dan hyaluronan ada di berbagai ruang extracellular, varian isoform CD44 memiliki ekspresi yang dibatasi oleh kondisi tertentu seperti transformasi, penyembuhan luka dan aktivasi limfosit (Naor.D, Nedverzki.S, Golan.I, Melnik.L, Faitelson.Y). Fungsi CD44 tergantung pada ikatannya

dengan ligand seperti hyaluronan. Telah dilaporkan fungsi ikatan CD44-hyaluronan bertanggungjawab untuk interaksi matriks sel extracellular dan sel ke sel (Aruffo,1996), inhibisi apoptosis (Kaneko *et al.*,2000), stimulasi limfosit Lesley *et al.*,1997, dan augmentasi motilitas sel tumor dan metastase (Thomas and Speight, 2001).



Gambar 4. Ilustrasi Hyaluronan dan CD44 dalam jalur onkogenesis dan progresi tumor.(Bourguignon, 2008)

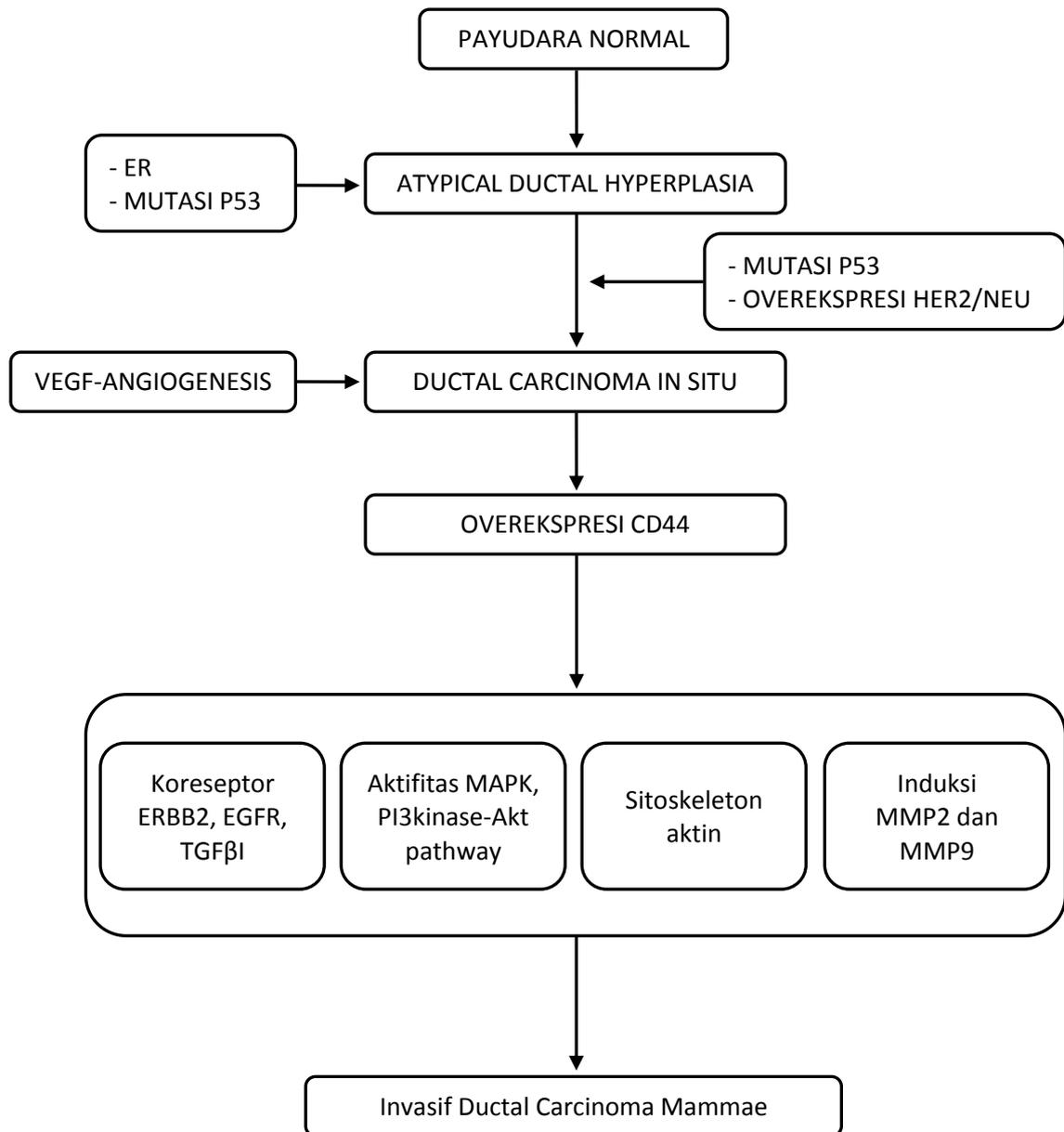
Saat ini, penelitian berlanjut pada studi karakteristik biologik pada molekul permukaan CD44 sebagai penanda cancer stem cells. Pada abad

ini, beberapa penelitian memperlihatkan beberapa tipe tumor yang ditandai oleh kehadiran sel dengan karakteristik seperti stem, disebut cancer stem cell (CSCs). Munculnya penelitian yang memperlihatkan CD44 adalah biomarker penting pada subpopulasi selular cancer stem cell (CSCs) yang mampu self – renewal dan memiliki kapasitas untuk inisiasi, progresi, invasi, metastasis, kekambuhan tumor, dan resisten terhadap kemo dan radioterapi.(Trapasso and Allegra).

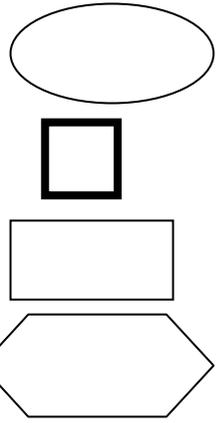
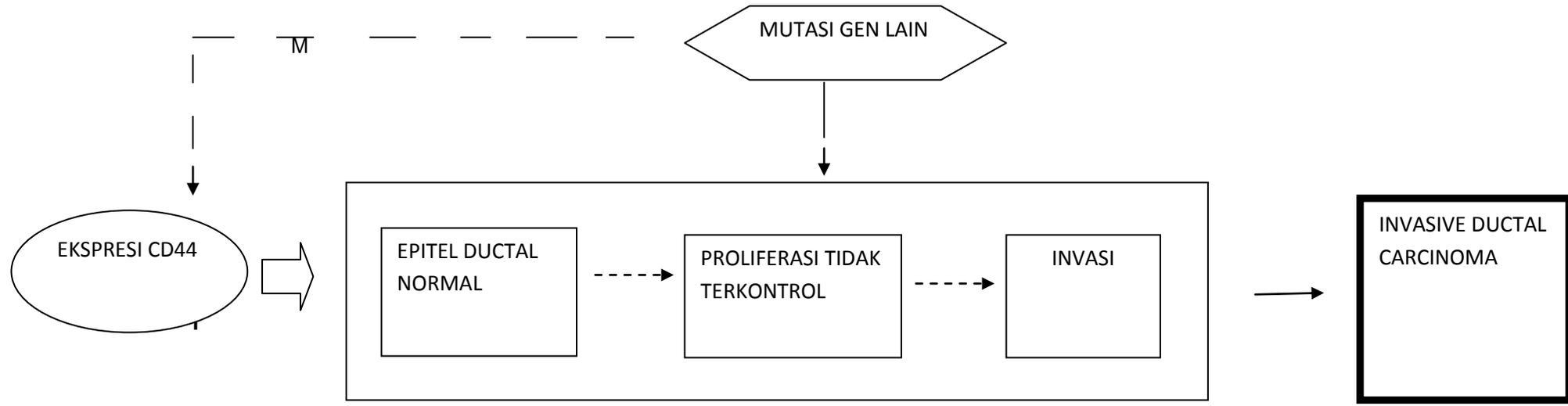
Pada payudara normal, differensiasi stemcell akan menghasilkan kelompok sel yang spesifik organ seperti: sel luminal ductal, myoepithel dan sel epithelial alveolar. Pada kanker payudara, CSC diduga dapat menimbulkan sel dengan tipe menyimpang dan differensiasinya terbatas, yang berubah menjadi subtype molekuler payudara. Perubahan epigenetik dapat mempengaruhi differensiasi tumor abnormal pada tempat pertumbuhan sel. Disamping itu, differensiasi sel dapat juga dipengaruhi oleh sel induk (stemcell atau progenitor) dan peristiwa onkogen yang terjadi (mutasi yang diinisiasi perubahan dan peristiwa tambahan yang diikuti peristiwa initial). (Emmanuelle Charafe-Jauffret et al., 2008)

Peranan polimorfisme CD44 pada perkembangan kanker payudara sepenuhnya belum dimengerti. Polimorfisme CD44 dapat efektif digunakan dalam evaluasi resiko kanker, prediksi, pencegahan, diagnosa dan studi genetik kanker payudara. (Klingbeil et al.)

KERANGKA TEORI



KERANGKA KONSEP



: VARIABEL BEBAS

: VARIABEL TERGANTUNG : HUBUNGAN VARIABEL TERGANTUNG

: VARIABEL ANTARA

:VARIABEL MODERATOR

⇨ : HUBUNGAN VARIABEL BEBAS



- - - - -> : HUBUNGAN VARIABEL ANTARA

— — — — —> :HUBUNGAN VARIABEL MODERATOR

III.1. IDENTIFIKASI VARIABEL

1. Variabel bebas adalah skor ekspresi CD44 sebagai variabel kategorikal (ordinal).
2. Variabel tergantung adalah gambaran histopathologi invasif ductal carcinoma mammae
3. Variabel antara adalah mekanisme proliferasi tidak terkontrol dan invasi
4. Variabel moderator adalah mutasi gen lain