

Parathyroid Hormone-Related Protein (PTHrP) dan Osteonectin (OSN) sebagai Petunjuk Adanya Penentu Metastasis ke Tulang pada Karsinoma Payudara Duktal Invasif

Nida Sufrida, Bethy S. Hernowo, Ismet M. Nur, Sri Suryanti

Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran
Bandung

ABSTRAK

Latar Belakang

Metastasis ke tulang sering terjadi (sekitar 60-80%), dan morbiditasnya pun tinggi pada pasien karsinoma payudara duktal invasif (KPD). *Parathyroid Hormone-related Protein (PTHrP)* adalah sejenis protein hormon mempunyai peranan pada patofisiologi metastasis ke tulang pada karsinoma payudara duktal invasif. *Osteonectin* suatu glikoprotein dalam matriks tulang juga dapat meningkat ekspresinya pada karsinoma payudara. Sidik tulang digunakan untuk mendeteksi metastasis ke tulang. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan peran *PTHrP* dan *osteonectin* pada KPD dengan metastasis ke tulang.

Cara

Sampel yang diteliti sebanyak 60 preparat dari jaringan biopsi bedah yang didiagnosis sebagai KPD dan disertai pemeriksaan dengan sidik tulang. Semua sampel dilakukan pulasan imunohistokimia menggunakan *monoclonal antibody PTHrP* dan *osteonectin*. Dilakukan penilaian tentang sensitivitas dan spesifisitas pulasannya, dan analisis perbedaan serta korelasi imunoekspresi antara *PTHrP* dan *osteonectin*.

Hasil

PTHrP mempunyai sensitivitas 83,3%, dengan spesifisitas 63,3% sedangkan *Osteonectin* mempunyai nilai sensitivitas 80%, dengan spesifisitasnya 83,3% untuk mendeteksi metastasis ke tulang pada KPD. Persentase imunoekspresi *PTHrP* 83,3%, *osteonectin* 80,0% untuk yang bermetastasis ke tulang pada KPD. Persentase imunoekspresi *PTHrP* 36,7%, *osteonectin* 20% untuk yang tidak bermetastasis ke tulang pada KPD. Terdapat korelasi yang bermakna secara statistik antara imunoekspresi *PTHrP* dan *osteonectin* dengan $p\text{-value} < 0,01$ untuk yang bermetastasis ke tulang dan $p\text{-value} < 0,05$ untuk yang tidak bermetastasis ke tulang pada KPD.

Kesimpulan

Imunoekspresi *PTHrP* sensitive, tapi tidak spesifik untuk mendeteksi adanya metastasis pada KPD, sedangkan *osteonectin* dapat dijadikan *marker* untuk mendiagnosis metastasis ke tulang pada KPD.

Kata Kunci : KPD metastasis, *osteonectin*, *PTHrP*, sidik tulang.

ABSTRACT

Background

Bone metastasis occurs in 60-80% of Invasive Ductal Breast Carcinoma (IDBC) patients and had poor prognostic. PTHrP is protein that implicated the pathogenesis of bone metastasis in breast carcinoma. Osteonectin is a bone matrix protein that is increased expression in malignant breast cancer. Isotope bone scanning is widely used for the detection of bone metastasis and had high sensitivity but low specificity. The aim of study was to find correlation between immunochemistry PTHrP and osteonectin in IDBC with bone metastasis.

Method

Sixty samples specimen of surgically biopsy breast carcinoma which confirmed and diagnose as IDBC with bone scanning was evaluated by immunohistochemical staining for PTHrP and osteonectin. The sensitivity and specificity, percentage and correlation of immunoexpression of PTHrP and osteonectin was evaluated.

Result

Sensitivity of PTHrP was 83,3% and osteonectin was 80,0%, while specificity of PTHrP was 63,3%, and osteonectin was 83,3% was found in bone metastasis at IDBC. The percentage of PTHrP was 83,3% and osteonectin was 80,0% was found in bone metastasis at IDBC. The percentage of PTHrP was 36,7% and osteonectin was 20,0% in non bone metastasis at IDBC. The statistic correlation between PTHrP and osteonectin high significant with $p\text{-value} < 0,01$ in bone metastasis and $p\text{-value} < 0,05$ in non bone metastasis IDBC.

Conclusion

Immuoexpression of PTHrP have a higher sensitivity to osteonectin (83.35 vs 80.0%) although it has a lower specificity (63.3% vs 83.3%) for detecting bone metastasis IDB in comparison to Osteonectin. Immuoexpression of osteonectin could be use for determining bone metastasis IDBC.

Key words : bone scanning, IDBC, metastasis, osteonectin, PTHrP

PENDAHULUAN

Karsinoma Payudara menduduki peringkat ke-2 terbanyak setelah kanker leher rahim, dengan jenis Karsinoma Duktal Invasif (KPD) merupakan tipe karsinoma payudara yang paling sering ditemukan.^{1,2} Kelompok usia 35-64 tahun merupakan usia yang berisiko tinggi dengan puncaknya pada usia 35-45 tahun.³⁻⁷

Metastasis pada KPD masih merupakan masalah besar karena morbiditas dan mortalitasnya yang tinggi baik di negara maju maupun di negara berkembang.⁸⁻¹⁰ KPD sering bermetastasis ke tulang (70-80%) dalam kurun waktu 18-20 bulan setelah ditegakkannya diagnosis dari biopsi.¹¹⁻¹³

Metastasis ke tulang dapat berupa lesi osteolitik, osteoblastik, atau keduanya.¹⁴⁻¹⁶ Hipotesis "seed and soil" masih dipakai sebagai teori untuk mekanisme metastasis ke tulang dari karsinoma payudara yaitu adanya interaksi antara lingkungan tulang dan sel-sel karsinoma payudara.¹⁷ Interaksi antara lingkungan tulang dan sel-sel karsinoma payudara pertama kali diperkenalkan oleh Sir Stephen Paget, yaitu teori tentang "the seed and the soil".^{17,18} Tulang dimanifestasikan sebagai "the soil" yaitu tempat yang baik dan cocok serta menguntungkan untuk tumbuh dan berkembangnya benih yaitu sel-sel karsinoma payudara yang disebut sebagai "the seed".^{17,18-20} Sel-sel karsinoma yang bersifat invasif seperti pada KPD yang menyebar ke tulang seringkali menimbulkan gangguan pada jaringan sekitarnya secara lokal (*microenvironment*) dan menyebar secara hematogen atau limfogen, dan cenderung menyebabkan destruksi tulang.^{13,20-23}

PTHrP (*Parathyroid Hormone-related Protein*) diduga berhubungan dengan KPD yang bermetastasis ke tulang. Peningkatan PTHrP pada KPD mengakibatkan hiperkalsemia yang kalsiumnya berasal dari tulang sehingga dapat menyebabkan destruksi tulang.^{14,15,25} Imunoekspresinya sebanyak 92%, lebih tinggi dibandingkan dengan karsinoma payudara yang tidak menyebar ke tulang.¹⁵ Keadaan sensitif tidaknya PTHrP berhubungan dengan ada atau tidaknya peningkatan produksi PTHrP tersebut oleh sel-sel karsinoma payudara tersebut. PTHrP yang dihasilkan oleh sel-sel karsinoma payudara akan mensekresikan faktor-faktor osteolitik yang dapat secara langsung dan tidak langsung mendorong pembentukan osteoklas, untuk selanjutnya

terjadi resorpsi tulang oleh osteoklas dan juga menyebabkan peningkatan faktor-faktor pertumbuhan pada matriks tulang yang di satu sisi mendorong pertumbuhan sel-sel karsinoma payudara tersebut akan tetapi disisi lain juga menyebabkan kerusakan tulang.^{26,27-30}

Osteonectin merupakan suatu glikoprotein non kolagen dalam matriks tulang diduga dapat juga dihasilkan oleh sel-sel karsinoma payudara serta mempunyai peranan penting dalam motilitas sel-sel karsinoma payudara yang bermetastasis ke tulang.^{19,20} *Osteonectin* juga dihasilkan oleh osteoblas memang mempunyai karakteristik yang unik, akan tetapi dalam peranannya pada metastasis karsinoma payudara di tulang diyakini mempunyai karakter yang sama dengan bagaimana caranya *osteonectin* itu menyebabkan metastasis ke tulang pada karsinoma prostat.^{20,25,26} Domain-domain dalam *osteonectin* mempunyai kemampuan masing-masing untuk menghambat, mengadakan proliferasi serta adhesi lokal akan tetapi dapat juga menambah dan berikatan dengan banyak protein matriks lainnya bahkan diyakini sebagai *chemoattractant* yaitu faktor yang menginduksi motilitas sel-sel karsinoma payudara yang bermetastasis ke tulang. Berdasarkan hal itulah mungkin *osteonectin* bisa sensitif dan spesifik dalam mendeteksi adanya metastasis ke tulang pada KPD, oleh karena keberadaannya dalam matriks tulang dan kemampuannya untuk menginduksi pergerakan sel-sel karsinoma payudara sehingga mungkin kondisi tersebut yang dapat membuat *osteonectin* sensitif dan spesifik untuk hal tersebut. Hal ini berarti *osteonectin* dalam kondisi apapun karena keberadaannya dalam matriks tulang, banyak atau sedikitnya tidak tergantung pada sel-sel karsinoma itu tapi pada bagaimana aktifitas osteoklas dalam matriks tulang.^{19,20}

Osteonectin juga dianggap berperan pada metastasis sel-sel karsinoma payudara ke tulang yaitu dengan adanya pembentukan mikrokalsifikasi ektopik yang dihasilkan *osteonectin*.^{18-20,25} Diduga pula *osteonectin* merupakan *chemoattractant* seperti halnya yang terjadi pada sel-sel karsinoma prostat yang bermetastasis ke tulang. Mekanisme osteolitik atau osteoblastik yang terjadi pada KPD yang bermetastasis ke tulang akibat peranan PTHrP dan *osteonectin* yang berbeda dalam mengaktifkan osteoklas.^{16,17,20}

Hasil penelitian sebelumnya dikatakan

bahwa imunoekspresi PTHrP positif ditemukan pada karsinoma payudara duktal invasif *grade 2* (sebanyak 215 pasien dari 270 kasus) dan pada *grade 3* (sebanyak 145 pasien dari 190 kasus).¹²⁻¹⁴ Demikian pula ditemukan imunoekspresi *osteonectin* positif kuat (+2 atau +3) ditemukan sebesar 74,5% KPDI.^{19,20}

Pemeriksaan yang selalu dilakukan saat ini untuk mengetahui ada tidaknya metastasis ke tulang adalah dengan pemeriksaan sidik tulang.²¹⁻²³ Sidik tulang diakui sensitif namun tidak spesifik.^{16,21} Pemeriksaan imunohistokimia telah diketahui sangat sensitif dan spesifik karena menggunakan antibodi yang sesuai dengan antigennya.^{18-20,31} Metode pulasan imunohistokimia berguna untuk membantu menegakkan diagnosis patologi lebih tepat, seperti mendeteksi adanya mikroinvasi dan mikrometastasis karena ekspresi dan ikatan antigen-antibodinya sangat sensitif dan spesifik.^{20,31}

Ketepatan suatu tes diagnostik yang menggunakan metode pulasan imunohistokimia dapat dinyatakan dengan angka, yaitu berapa bagian atau berapa persen dari jumlah positif benar dan negatif benar yang terdapat pada populasi sampel. Makin tinggi sensitivitas suatu tes maka makin kecil nilai prediksi negatif salah. Makin tinggi spesifisitas suatu tes makin kecil nilai prediksi positif salah.^{18,32}

Berdasarkan hal tersebut diatas, pada penelitian ini ingin dianalisa peranan pemeriksaan imunohistokimia yaitu PTHrP dan *osteonectin* sebagai *marker* yang diduga lebih sensitif dan spesifik daripada pemeriksaan sidik tulang. Hasil penelitian diharapkan PTHrP dan *osteonectin* atau salah satunya dapat digunakan sebagai penentu (*marker*) ada tidaknya metastasis ke tulang sehingga bisa membantu menegakkan diagnosis pasti pada KPDI yang berpotensi metastasis atau tidak bermetastasis ke tulang baik pada yang belum dilakukan pemeriksaan sidik tulang maupun yang telah dilakukan pemeriksaan sidik tulang namun hasilnya meragukan. Dapat juga untuk membantu dalam skrining, disamping itu ingin diketahui pula korelasi antara imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin* pada KPDI yang bermetastasis dan tidak bermetastasis ke tulang.

METODE PENELITIAN

Data yang dikumpulkan sebanyak 60 sampel masing-masing 30 kasus KPDI dengan hasil

pemeriksaan sidik tulang positif dan 30 kasus KPDI dengan hasil pemeriksaan sidik tulang negatif. Seluruh blok parafin yang terpilih tersebut dibuat preparat dengan pulasan Hematoksilin Eosin (HE) untuk menegakkan diagnosis histopatologinya (KPDI) dan masing-masing dibuat 2 preparat lagi untuk dilakukan pulasan imunohistokimia dengan PTHrP dan *osteonectin*. Pulasan imunohistokimia dengan menggunakan *labelled streptavidin-biotin* (LSAB). PTHrP menggunakan antibodi *mouse monoclonal (3D1.1) to parathyroid hormone reseptor 1(ab 3271)* dari *Abcam* dengan pengenceran 200x, dinyatakan positif apabila terdapat pulasan berwarna coklat pada sitoplasma sel tumor.^{14,33} *Osteonectin* yang digunakan adalah *mouse monoclonal antibody NCL-O nectin CLONE 15G1*, dinyatakan positif apabila terdapat pulasan berwarna coklat pada sitoplasma sel tumor.^{19,20,33}

Distribusi positivitas PTHrP sebagai berikut:^{12,14}

- 0 : Menunjukkan sel-sel jaringan tumor yang seluruhnya tidak imunoreaktif
- +1 : Menunjukkan < 25% sel-sel jaringan tumor yang imunoreaktif
- +2 : Menunjukkan (25-75)% sel-sel jaringan tumor yang imunoreaktif
- +3 : Menunjukkan > 75% sel-sel jaringan tumor yang imunoreaktif

Untuk penilaian intensitas warna pulasan imunoekspresi PTHrP dinilai sebagai berikut:¹⁴

- 0 : Jika tidak ditemukan sel imunoreaktif
- +1 : Jika intensitas warna sitoplasma sel tumor imunoreaktif lemah (coklat muda)
- +2 : Jika intensitas warna sitoplasma sel tumor imunoreaktif sedang (coklat)
- +3 : Jika intensitas warna sitoplasma sel tumor imunoreaktif kuat (coklat tua)

Distribusi positivitas *osteonectin* sebagai berikut:^{19,20}

- 0 : Jika seluruh sel tumor tidak imunoreaktif
- +1 : Fokal <50% pada sel-sel jaringan tumor yang imunoreaktif
- +2 : Difus <50% pada sel-sel jaringan tumor yang imunoreaktif
- +3 : Menunjukkan difus >50% pada sel-sel jaringan tumor yang imunoreaktif

Untuk intensitas warna pulasan imunoekspresi *osteonectin* dinilai sebagai berikut:^{19,20}

- 0 : Jika tidak ditemukan sel imunoreaktif
- +1 : Jika intensitas warna sitoplasma sel tumor imunoreaktif lemah (coklat muda)

- +2 : Jika intensitas warna sitoplasma sel tumor imunoreaktif sedang (coklat)
- +3 : Jika intensitas warna sitoplasma sel tumor imunoreaktif kuat (coklat tua)

Penilaian pulasan imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin* menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran objektif 10x dan 40x pada seluruh sediaan, dilihat pada lima lapang pandang besar/kecil yang diambil secara acak dari preparat yang mengandung massa tumor, kemudian dihitung luas area yang imunoreaktif dalam persen, setelah itu diambil nilai rata-rata keseluruhan dan dikategorikan berdasarkan skala masing-masing penilaian imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin*.^{11,19,20}

Skor akhir untuk penilaian pulasan imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin* adalah penjumlahan antara skala penilaian distribusi area imunoreaktif dan intensitas warna pulasan PTHrP dan *osteonectin* yang terekspresi positif yaitu dengan skor antara 2 sampai 6 (2-6), sedangkan yang tidak terekspresi yaitu dengan skor 0.¹⁹

Desain penelitian yang digunakan adalah uji observasional analitik dengan ran-cangan potong lintang. Untuk menganalisis sensitivitas dan spesifitas imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin* digunakan tabel kontingensi 2x2, sedangkan untuk mengetahui besarnya korelasi antara keduanya digunakan analisis *rank-Spearman*.³²

HASIL

Dari 30 sampel KPDI yang bermetastasis dan tidak bermetastasis ke tulang berdasarkan pada skor imunoekspresi PTHrP yaitu skor 0 berarti negatif (tidak terekspresi) dan skor 2-6 berarti positif (terekspresi) tersaji pada Tabel 1 di bawah ini :

Tabel 1. Skor PTHrP dan skor osteonectin pada KPDI Metastasis dan Tidak Metastasis.

	Metastasis (n=30)	Non-metastasis(n=30)
Skor PTHrP		
0	5	19
2	1	4
3	3	2
4	9	2
5	7	2
6	5	1
Skor Osteonectin		
0	6	25
2	2	1
3	9	3
4	10	1
5	1	0
6	2	0

Pada tumor dengan metastasis terdapat 5 kasus dengan nilai skor 0 dan 25 kasus dengan nilai skor 2-6 pada KPDI. Pada KPDI yang tidak bermetastasis ke tulang terdapat 19 kasus dengan nilai skor 0 dan 11 kasus dengan nilai skor 2-6.

Untuk menghitung nilai sensitivitas dan spesifisitas pada imunoekspresi PTHrP pada KPDI dengan skor 0 dan skor 2-6, ditunjukkan selengkapnya pada Tabel 2.

Tabel 2. Sensitivitas dan Spesifisitas Imunoekspresi PTHrP dan Imunoekspresi *Osteonectin* pada KPDI.

	Metastasis	Tidak Metastasis	Jml
Positif 2-6	25	11	60
Negatif 0	5	19	
Jumlah	30	30	
Sensitivitas = $a/(a+c) \times 100\% = 25/(25+5) \times 100\%$			= 83,33%
Spesifisitas = $d/(b+d) \times 100\% = 19/(11+19) \times 100\%$			= 63,33%
Positif 2-6	24	5	60
Negatif 0	6	25	
Jumlah	30	30	
Sensitivitas = $a/(a+c) \times 100\% = 24/(24+6) \times 100\%$			= 80,00%
Spesifisitas = $d/(b+d) \times 100\% = 25/(25+5) \times 100\%$			= 83,33%

Hasil perhitungan statistik menggunakan tabel kontingensi nilai sensitivitas imunoekspresi PTHrP sebanyak 83,33%, spesifitas imunoekspresi PTHrP sebanyak 63,33%. Hasil perhitungan statistik dengan menggunakan tabel kontingensi nilai sensitivitas imunoekspresi *osteonectin* adalah 80% dan spesifitas imunoekspresi *osteonectin* adalah 83,33%.

Untuk imunoekspresi *osteonectin* pada KPDI yang bermetastasis dan tidak bermetastasis ke tulang yang berasal dari 30 sampel dengan skor 0 berarti negatif (tidak terekspresi) dan 2-6 berarti positif (terekspresi), dapat dilihat pada Tabel 1.

Skor imunoekspresi *osteonectin* didapatkan sebanyak 6 kasus dengan nilai skor 0 dan 24 kasus dengan nilai skor 2-6 pada KPDI yang bermetastasis ke tulang dengan perincian sebagai berikut yaitu, skor 2: 2 kasus, skor 3: 9 kasus, skor 4: 10 kasus, skor 5: 1 kasus dan skor 6: 2 kasus. Imunoekspresi *osteonectin* pada KPDI yang tidak bermetastasis ke tulang terdapat 25 kasus dengan nilai skor 0 dan 5 kasus dengan nilai skor 2-6 dengan rincian sebagai berikut yaitu, skor 2: 1 kasus, skor 3: 3 kasus, skor 4: 1 kasus, skor 5 dan skor 6 : 0 kasus.

Untuk menghitung sensitivitas dan spesifisitas imunoekspresi *osteonectin* pada KPDI

dengan skor 0 dan skor 2-6 data selengkapnya tampak pada Tabel 2.

Untuk mengetahui korelasi antara imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin* pada KPDI yang bermetastasis dan tidak bermetastasis ke tulang digunakan uji analisis rank-Spearman untuk memperlihatkan adanya korelasi di antara keduanya, terlihat pada Tabel 4 dan Tabel 5.

Tabel 3. Analisis korelasi rank-Spearman pada KPDI bermetastasis ke tulang.

	PTHr-P		Osteo	
	+	-	+	-
Metastasis	25	5	24	6
Non mua	11	19	5	25

Tabel 4. Analisis korelasi rank-Spearman pada KPDI bermetastasis ke tulang Spearman Coefficient of Rank Correlation.

	PTHr-P	Osteo
PTHr-P	1.000	
Osteo	.546	1.000

30 sample size
 ± .361 critical value .05 (two-tail)
 ± .463 critical value .01 (two-tail)

r_s = .546
 t hitung = 3.45
 t tabel = 2.05
 p value = 0.0018146
 Sifat : High Sign

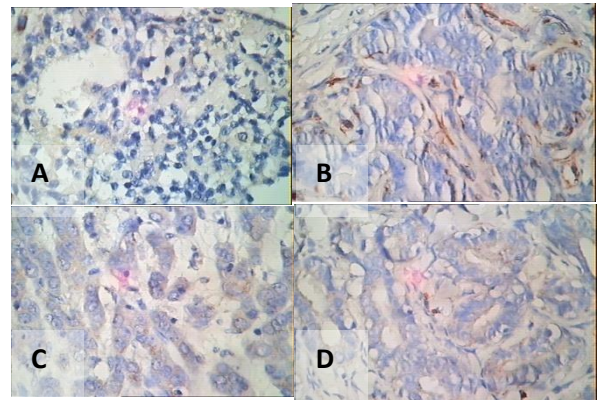
Tabel 5. Analisis korelasi rank-Spearman pada KPDI tidak bermetastasis ke tulang Spearman Coefficient of Rank Correlation

	PTHr-P	Osteo
PTHr-P	1.000	
Osteo	.492	1.000

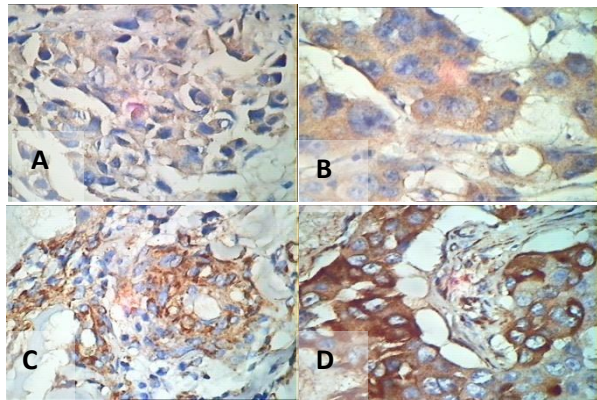
30 sample size
 ± .361 critical value .05 (two-tail)
 ± .463 critical value .01 (two-tail)

r_s = .492
 t hitung = 2.99
 t tabel = 2.05
 p value = 0.0057248
 Sifat : High Sign

Di bawah ini adalah gambar-gambar yang menunjukkan KPDI grade 2 dan grade 3 dengan imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin* negatif (skor 0) dan imunoekspresi positif (skor 2-6).



Gambar 1. A.PTHrP Skor 0 (Tidak Terekspresi), B.Osteonectin skor 0 (Tidak Terekspresi), C.Osteonectin >50%,Intensitas Lemah, D.PTHrP >75%, Intensitas Lemah (Pembesaran asli 400 X).



Gambar 2. A. Osteonectin difus<50%, Intensitas Sedang, B. PTHrP 25-75%, Intensitas Sedang, C. Osteonectin <50%, Intensitas Kuat, D. PTHrP 25-75%, Intensitas Kuat (Pembesaran asli 400 X)

DISKUSI

Hasil penelitian ini memperlihatkan sensitivitas dan spesifisitas imunoekspresi PTHrP pada KPDI yang bermetastasis ke tulang sebanyak 83,33% sedangkan spesifisitas imunoekspresi PTHrP sebanyak 63,33%. Hasil data tersebut menunjukkan bahwa sensitivitas imunoekspresi PTHrP mendekati nilai 100% akan tetapi spesifisitasnya jauh dari nilai 100%. Hasil tersebut memberikan gambaran bahwa imunoekspresi PTHrP mempunyai sensitivitas yang cukup baik tapi tidak spesifik digunakan untuk mendeteksi adanya metastasis ke tulang pada KPDI.

Untuk hasil sensitivitas imunoekspresi PTHrP sebesar 83,33% sebenarnya cukup baik karena mendekati nilai 100%, akan tetapi dalam hal untuk menentukan ketepatan tes diagnostik

yang dapat memprediksi adanya metastasis dan tidaknya metastasis ke tulang dengan nilai sensitivitas PTHrP sebesar itu (83,33%) belum dapat dijadikan sebagai acuan atau *reference test* dalam mendiagnosis KPDI yang bermetastasis dan tidak bermetastasis ke tulang, karena untuk tes diagnostik diperlukan dua karakteristik penilaian yaitu nilai sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi nilainya atau mendekati 100%. Hal itu berarti imunoekspresi PTHrP memang sensitif tapi tidak spesifik untuk mendeteksi adanya metastasis ke tulang pada KPDI.

Imunoekspresi PTHrP memang sensitif untuk mendeteksi adanya metastasis sel-sel karsinoma payudara ke tulang bila melihat mekanisme yang terjadi pada matriks tulang oleh aktifitas sel-sel karsinoma payudara tersebut akan tetapi tidak spesifik karena tergantung pada ada atau tidaknya peningkatan aktifitas osteoklas. Peningkatan osteoklas oleh sel-sel karsinoma payudara akan menyebabkan mulai terjadi resorpsi dan destruksi tulang yang berlebihan sehingga hal ini akan mendorong faktor-faktor pertumbuhan untuk merangsang pertumbuhan sel-sel karsinoma payudara itu kembali. Mekanisme osteolitik tersebut merupakan langkah awal yang sangat penting pada kejadian ada tidaknya metastasis ke tulang.

Hasil penilaian tentang skor untuk imunoekspresi PTHrP juga perlu dipertimbangkan batasannya, dalam arti sejauh mana untuk penilaian imunoekspresi PTHrP yang tereksresi kuat (positif) dan tidak tereksresi (negatif), sehingga akan dapat ditentukan ketepatan kedua nilai tersebut. Data yang diperoleh memang memperlihatkan bahwa dengan terdeteksinya persentasi distribusi area dari sel-sel tumor yang imunoreaktif dijumlahkan dengan skala intensitas pulasan warna pada sitoplasma pada sel-sel tumor yang kuat (skor keduanya) dapat memberikan pertanda akan besarnya nilai sensitivitas dan spesifisitas imunoekspresi PTHrP tersebut. Oleh karenanya dapat saja dengan batasan yang lebih tinggi untuk kriteria penilaian skor hasil pengukuran keduanya (distribusi dan intensitas warna pulasan) akan didapatkan penilaian hasil akhir pada nilai sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi.

Penilaian imunoekspresi *osteonectin* sama halnya dengan penilaian tentang sensitivitas dan spesifisitas untuk imunoekspresi PTHrP yang juga merupakan karakteristik untuk

tes diagnostik. Nilai imunoekspresi *osteonectin* dengan sensitivitas sebesar 80% dan nilai spesifisitasnya sebesar 83,3% menunjukkan bahwa imunoekspresi *osteonectin* dapat secara baik mendeteksi ada tidaknya metastasis ke tulang pada KPDI bila dibandingkan dengan hasil sensitivitas dan spesifisitas imunoekspresi PTHrP. Keadaan ini memang bisa saja terjadi apabila kita melihat dimana dan bagaimana aktifitas *osteonectin* itu sendiri.

Tes diagnostik dengan menggunakan imunohistokimia PTHrP dan *osteonectin* ini dilihat dari sensitivitas dan spesifisitas kedua *marker* tersebut untuk dua kelompok yang berbeda yaitu pada KPDI yang bermetastasis dan tidak bermetastasis ke tulang. Hasil sensitivitas kedua *marker* tersebut tinggi berarti semua pasien KPDI yang bermetastasis ke tulang (dengan hasil sidik tulang positif) menunjukkan hasil positif tes positif (terekspresi). Dengan perhitungan statistik menggunakan tabel kontingensi, hasil sensitivitas imunoekspresi PTHrP tinggi pada penelitian ini yaitu sebesar 83,33% dan sensitivitas *osteonectin* sebesar 80,0% artinya bahwa imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin* cukup sensitif untuk mendeteksi adanya metastasis ke tulang pada kasus karsinoma payudara duktal invasif tersebut.

Akan tetapi hasil nilai tes diagnostik untuk sensitivitas dan spesifisitas imunoekspresi PTHrP tidak seperti yang diharapkan, karena ternyata imunoekspresi PTHrP mempunyai nilai sensitivitas yang tinggi (83,33%) tapi kurang spesifik (63,33%) dalam mendeteksi adanya metastasis ke tulang pada KPDI sehingga belum dapat dijadikan sebagai tes acuan. Imunoekspresi *osteonectin* berdasarkan nilai sensitivitas (80,0%) dan spesifisitasnya (83,3%) yang cukup tinggi kiranya dapat dipertimbangkan untuk dijadikan sebagai alternatif pemeriksaan lainnya apabila memang dibutuhkan, atau bisa dijadikan sebagai tes skrining pemeriksaan pendahuluan untuk mendeteksi ada tidaknya metastasis ke tulang pada KPDI. Hasil tes negatif pada suatu tes yang sensitivitasnya tinggi seperti hasil imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin* ini akan bermanfaat bagi dokter klinik, karena kemungkinan hasil negatif salah akan kecil artinya bahwa orang atau pasien KPDI yang diduga bermetastasis ke tulang ternyata dengan interpretasi imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin* tidak tereksresi positif

(nilai skor PTHrP=0) berarti hasilnya negatif salah. Hal ini sesuai dengan teori untuk interpretasi tes diagnostik, bahwa makin tinggi nilai sensitivitas maka makin kecil jumlah negatif salah. Hasil tes positif pada suatu tes diagnostik dengan spesifisitas yang cukup tinggi seperti spesifisitas *osteonectin* (83,3%) tersebut akan bermanfaat bagi pemeriksa atau dokter klinik, karena kemungkinan hasil positif salah kecil.

Tes diagnostik seperti di atas yang mengukur sensitivitas dan spesifisitas seperti pada pemeriksaan imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin* ini diharapkan dapat dijadikan sebagai tes acuan (*reference test*) dalam menentukan ada tidaknya metastasis ke tulang pada KPDI. Suatu tes acuan tidak harus berupa tes yang mahal, berisiko atau canggih, seperti halnya pemeriksaan imunohistokimia yang ingin penulis teliti ini. Penelitian ini tentu saja berdasarkan pertimbangan bahwa pada hasil pemeriksaan sidik tulang juga terkadang atau mungkin masih meragukan apakah benar telah terjadi metastasis ke tulang atau tidak, karena pada lesi osteolitik atau osteoplastik karena sebab lain bukan keganasan dapat juga menghasilkan pencitraan sidik tulang yang juga bisa positif. Diharapkan pemeriksaan imunohistokimia PTHrP dan *osteonectin* ini bisa menjadi alternatif pemeriksaan lain untuk menegakkan diagnosis pasti atau paling tidak dapat untuk saling menguatkan dengan pemeriksaan sidik tulang, atau bisa dijadikan sebagai uji skrining pemeriksaan tahap awal.

Pemeriksaan dengan imunohistokimia hanya memerlukan blok parafin hasil biopsi dari jaringan pasien dengan karsinoma payudara duktal invasif dan tanpa menyentuh pasien tersebut sedikitpun, sehingga kemungkinan adanya rasa ketidaknyamanan terhadap pasien pada tes ini akan dapat dihindarkan. Dari segi biaya juga dapat dipertimbangkan karena tidak terlalu mahal. Pemeriksaan imunohistokimia dengan menggunakan antibodi monoklonal seperti PTHrP dan *osteonectin* ini hasilnya diharapkan dapat untuk menilai apakah telah terdapat metastasis ke tulang atau tidak pada KPDI.

Data hasil penelitian tentang korelasi antara imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin* pada KPDI yang bermetastasis dan tidak bermetastasis ke tulang dengan perhitungan statistik memperlihatkan adanya korelasi yang bermakna diantara keduanya. Hasil uji statistik

tersebut memperlihatkan bahwa imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin* mempunyai hubungan satu dengan yang lainnya.

Korelasi antara PTHrP dan *osteonectin* pada KPDI yang bermetastasis ke tulang bisa jadi dapat saling menunjang satu dengan yang lainnya dalam arti bahwa dalam proses terjadinya metastasis ke tulang terdapat interaksi yang saling menguatkan antara PTHrP dan *osteonectin* untuk sampai terjadinya metastasis ke tulang karena sama-sama melibatkan peran osteoblas dan osteoklas. Kejadian metastasis ke tulang pada KPDI memerlukan suatu mekanisme molekuler yang sangat kompleks dan faktor-faktor lainnya yang mendukung untuk keadaan tersebut. Peranan PTHrP itu sendiri pada kejadian pada KPDI didasarkan pada peristiwa "vicious cycle" di tulang, sedangkan peranan *osteonectin* didalam jaringan tulang juga tampak dalam osteoblas, sehingga apabila terdapat aktivitas osteoblas yang berlebihan atau abnormal dalam jaringan tulang terutama matriks tulang secara langsung tidak maupun langsung akan mempengaruhi pula pertumbuhan sel-sel karsinoma payudara itu untuk bermetastasis ke tulang.

Kejadian pada KPDI yang tidak bermetastasis ke tulang tentu saja terkait juga pada banyak atau sedikitnya sel-sel karsinoma payudara tersebut memproduksi PTHrP dan tergantung pula pada fluktuasinya produksi *osteonectin* di dalam matriks tulang. Hasil imunoekspresi *osteonectin* negatif itu mungkin bisa saja terjadi karena seperti yang dikatakan oleh Mc Knight, tentang produksi *osteonectin* yang berfluktuasi, banyak atau sedikitnya diproduksi tergantung motilitas sel-sel karsinoma payudara tersebut.¹⁹

Keadaan ini bila ditinjau dari awal timbulnya peningkatan PTHrP atau *osteonectin* pada KPDI yang bermetastasis ke tulang boleh jadi berhubungan dengan banyak atau sedikitnya proliferasi PTHrP atau *osteonectin* yang dihasilkan sel-sel karsinoma payudara tersebut yang akan memacu pembentukan osteoklas berlebihan dan mulai terjadi destruksi tulang disamping itu menyebabkan pula meningkatnya faktor-faktor pertumbuhan sel-sel karsinoma payudara tersebut. Peningkatan jumlah *osteonectin* yang terdapat dalam matriks tulang dapat disebabkan akibat aktifitas berlebihan dari osteoblas yang diaktifasi sel-sel KPDI. Selanjutnya terbentuk *bone formation* baru yang

berlebihan di sekeliling deposit sel-sel KPDI disamping itu dapat pula mempengaruhi motilitas dan migrasi sel-sel karsinoma payudara ke tulang.^{14,20}

Invasi dan metastasis sel-sel karsinoma payudara pada jaringan tulang memerlukan langkah-langkah rumit seperti adhesi sel pada membran basalis, terjadi proteolisis lokal pada membran serta pergerakan sel melalui robekan pada membran dan matriks ekstraseluler. Selanjutnya sel-sel karsinoma bergerak menuju sistim sirkulasi dan kembali harus mengulangi langkah demi langkah seperti sebelumnya pada tempat yang jauh dari tempat asalnya (bisa saja gagal) serta membentuk pembuluh darah baru untuk menunjang pertumbuhan lokal di tempat tersebut.^{11,13,27,28}

Potensi sel-sel karsinoma payudara untuk mengadakan metastasis dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu pengaruh lingkungan mikrolokal, angiogenesis, interaksi stroma dengan sel-sel karsinoma tersebut disertai dengan perluasan *cytokine* dan perubahan *moleculer phenotype* dari sel-sel karsinoma payudara itu sendiri.^{11,13,29}

Imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin* yang positif tereksresi pada KPDI bermetastasis ke tulang dan hasil yang negatif (tidak tereksresi) pada KPDI yang tidak bermetastasis ke tulang tidak perlu disangsikan lagi karena seharusnya hasilnya memang seperti itu, walaupun secara keseluruhan tidak memberikan hasil yang sesuai semuanya, seperti pada KPDI yang bermetastasis ke tulang jumlah kasusnya yang keduanya positif (PTHrP dan *osteonectin*) sebanyak 22 kasus (73,3%) artinya sisanya yaitu 8 kasus (26,7%) dengan sidik tulang positif tapi tidak tereksresikan positif oleh kedua imunoekspresi tersebut. Keadaan ini dapat disebabkan oleh hal lain yaitu bukan karena adanya metastasis sel-sel KPDI ke tulang, tetapi mungkin oleh lesi osteolitik atau osteoblastik yang juga dapat dicitrakan positif dengan sidik tulang.

Hasil tersebut di atas terpulung kembali kepada data awal untuk penelitian ini, yaitu bahwa kriteria ada atau tidaknya metastasis didasarkan pada hasil pencitraan oleh sidik tulang yaitu negatif atau positif. Telah diketahui sebelumnya bahwa pemeriksaan sidik tulang memang sensitif tapi tidak spesifik, karenanya mungkin saja hasil positif atau negatif dari sidik tulang untuk menandakan adanya metastasis

atau tidak metastasis ke tulang memberikan hasil *false positive* atau *false negative*.

Pemeriksaan sidik tulang dapat memberikan interpretasi tentang adanya metastasis atau tidak metastasis ke tulang, tetapi pada lesi selain metastasis seperti trauma atau infeksi juga dapat memberikan hasil yang positif. Sidik tulang positif (KPDI yang bermetastasis ke tulang) yang memberikan hasil imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin* negatif keduanya memberikan kesimpulan mungkin saja positifnya sidik tulang bukan lesi metastasis tapi karena ada proses osteoblastik atau osteolitik lain pada sampel itu. Hasil sidik tulang negatif (KPDI tidak metastasis ke tulang) yang memberikan hasil positif keduanya pada imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin* bisa saja menunjukkan gambaran penangkapan radioaktivitas yang kurang seperti misalnya proses stadium awal nekrosis aseptik. Hasil *false negative* sidik tulang yang memberikan hasil positif imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin* mungkin juga memang menunjukkan kedua *marker* tersebut lebih sensitif dan spesifik daripada sidik tulang.

Kajian di atas mengisyaratkan kepada dokter klinik dan Patolog untuk saling mengingatkan dan mewaspadaikan bahwa untuk kasus metastasis ke tulang pada KPDI memerlukan kerjasama dan komunikasi yang baik antara dokter klinik dan Patolog sehingga hasil akhir diagnosis seorang pasien yang berpotensi metastasis ke tulang pada KPDI dapat akurat dan tepat. Hal ini akan sangat bermanfaat pada penatalaksanaan terapi selanjutnya sehingga angka morbiditas dan mortalitas akibat metastasis ke tulang pada KPDI menurun.

KESIMPULAN

1. Sensitivitas PTHrP lebih tinggi dibandingkan dengan sensitivitas *osteonectin* pada KPDI yang bermetastasis ke tulang.
2. Spesifisitas imunoekspresi *osteonectin* lebih spesifik dibandingkan dengan spesifisitas imunoekspresi PTHrP pada KPDI yang bermetastasis ke tulang.
3. Terdapat korelasi antara imunoekspresi PTHrP dan *osteonectin* pada KPDI yang bermetastasis dan yang tidak bermetastasis ke tulang.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ellis IO, Schnitt SJ, Sastre-Garau X, Bussolati G, Tavassoli FA, Eusebi V, dkk. Invasive breast carcinoma. Dalam: Tavassoli FA, Devilee P, penyunting. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs. Lyon: IARC Press; 2007.h.13-59.
2. Tjindarbumi D. Deteksi dini kanker payudara dan penanggulangannya. Dalam: Azamaris H, Suardi DR, penyunting. Buku panduan acara dan makalah lengkap pendidikan dokter berkelanjutan bedah onkologi dan konferensi kerja PERABOI. Padang : PERABOI; 2006. h. 32-48.
3. Moningkey S, Shirley I. Epidemiologi kanker payudara. Medika; Januari 2000.(Diunduh 23 Juli 2010)
4. Wood WC, Muss HB, Solin LJ, Olopade OI. Malignant tumor of the breast. Dalam: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, penyunting. Cancer principle and practice of oncology. Edisi ke-7. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2006. h. 1415-71.
5. Bussard MK, Mastro MA. Ex-vivo analysis of the bone microenvironment in bone metastatic breast cancer. J. Mammary Gland Biol Neoplasia. 2009;14:387-395.
6. Prayogo Nugroho. Manajemen metastasis kanker ke tulang. Dalam: penyunting: Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II. Edisi IV. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI. 2007.h:881-7
7. Lipton A. Pathophysiology of bone metastases: how this knowledge may lead to therapeutic intervention (diunduh 2 Juli 2010). Tersedia dari www.supportiveOncology.net
8. Weinberg RA. Moving out: invasion and metastasis. Dalam: Weinberg RA, penyunting The biology of cancer. New York: Garland science, Taylor & Francis Group; 2006. h. 587-651.
9. Chiang AC, Massague J. Molecular basis of metastasis: NEJM. 2008;359:2814-23.
10. Henderson MA, Danks JA, Slavin JL, Byrnes GB, Chong PFM, Spillane JB, dkk. Parathyroid hormone-related protein location in breast cancer predict improved prognosis. Cancer Res 2006;66:2250-6.
11. Roodman GD. Mechanism of bone metastasis. (diunduh 26 Mei 2010) Tersedia dari www.nejm.org
12. Bohn OL, Nasir I, Brufsky A, Tseng GC, Bhargava R, Lacroix M, dkk. Biomarker profile in breast carcinomas presenting with bone metastasis. Int J Clin Exp Pathol. 2010;3(2):139-46.
13. Blouin S, Basle MF, Chappard D. Interactions between microenvironment and cancer cells in two animals models of bone metastasis. Br J Cancer. 2008;98: 809-15.
14. Mi Dong, Zhang M, Yan JD, Zhang J, Wang Xu, Wang Q, dkk. PTHrP inhibit BMP-6 expression through the PKA signaling pathway in breast cancer cells. J Cancer Res Clin Oncol. 2010;4:154-8.
15. Anderson JA, Grabrowska AM, Watson SA. PTHrP increases transcriptional activity of the integrin sub unit α 5. British J Cancer. 2007;4:1394-403.
16. Virk MS, Lieberman JR. Tumor metastasis to bone. Mosby; Arthritis Research & Therapy; 2007:1-10
17. Guise. TA. The vicious cycle of bone metastasis. J Musculoskel Neuron Interact. 2007;2(9):580-6.
18. Bellahcene A, Castronovo V. Expression of bone matrix proteins in human breast cancer: potential role in microcalcification formation and the genesis of bone metastasis. Buletin Du Cancer. 2007;94:37-41.
19. McKnight DAC, Sosnoski DM, Koblinski JE, Gay CV. Roles of osteonectin in the migration of breast cancer cells into bone. J Cellular biochem. 2006;97:288-302.
20. Bellahcene A, Castronovo V. Increased expression of osteonectin and osteopontin, two bone matrix protein in human breast cancer. Am J Pathol. 2005;146:95-9.
21. Lester SC. Manual of surgical pathology. Edisi ke-2. Boston: Elsevier Churchill Livingstone; 2006:h.1254-63
22. Sumantri R, Supandiman I, Fadjar TH, Fianza PI, Oehadian A. Kanker payudara. Dalam: penyunting: Hematologi onkologi medik. Edisi ke-2. Bandung: Sub Bagian Hematologi Onkologi Medik dan Pusat Informasi Ilmiah(PII) Bagian Ilmu Penyakit Dalam FK Unpad/RS Dr. Hasan Sadikin; 2009. h. 219-39.
23. Kumar V, Abas AK, Fausto N. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. Edisi ke-8. Philadelphia: Elsevier Saunders;

- 2009;1065-92
24. Casciato DA, Pegram MD. Breast cancer. Dalam: Casciato DA, Territo MC, penyunting: Manual of clinical oncology. Edisi ke-6. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2010. h. 242-49.
 25. Gralow JR. Rationale: the biology of the bone metastases. Dalam: Harris JR, Morrow M, Lippman ME, Osborne CK, penyunting: Diseases of the breast. Edisi ke-4. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010. h. 668-73.
 26. Burstein HJ, Harris JR, Morrow M. Malignant tumors of the breast. Dalam: De Vita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA, penyunting: Cancer principles & practice of oncology. Volume 2. Edisi ke-8. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2010. h. 1645-50.
 27. Cher ML, Towler DA, Rafii S, Rowley D, Donahue HJ, Keller E, Herlyn M dkk. Cancer interaction with bone micro-environment. *Am J Pathol.* 2006;168:1405-12.
 28. Roodman GD. Biology of osteoclast activation in cancer. (Diunduh 22 Maret 2010) Tersedia dari : jco.sascopubs.org.
 29. Roodman GD, Drews RE, Savareser DMF. Mechanisms of bone metastases. (diunduh 28 Mei 2010) Tersedia dari: www.update.com.
 30. Abbink W, Bevelander SG, Hang X, Lu W, Guerreiro PM, Spannings T, dkk. PTHrP regulation and calcium balance in seabream (*Sparus auratus* L) under calcium constraint. *J experim biol.* 2006;209:350-7.
 31. Hardjolukito E. Pemeriksaan Khusus di Bidang Patologi. Course Workshop the 9th Basic Sciences in Oncology. RS Kanker Darmas/POI. Jakarta; 2006.
 32. Dahlan MS. Seri evidence based medicine statistika untuk kedokteran dan kesehatan. Jakarta: Arkans; 2009:32-37
 33. Lab vision corporation catalogue dari Neomarkers, 2006. (diunduh 22 Mei 2010) tersedia dari <http://www.labvision.com>