

Hubungan Ekspresi Cyclooxygenase-2, Reseptor Estrogen dan Derajat Histologi *Invasive Carcinoma of No Special Type* Payudara

I Nyoman Upadana, I Gusti Alit Artha

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar, Bali

ABSTRAK

Latar belakang

Ekspresi berlebihan Cyclooxygenase-2 (COX-2) telah secara jelas diketahui berperan penting pada proses karsinogenesis karsinoma payudara. Walaupun demikian hubungan antara ekspresi COX-2 dengan derajat diferensiasi dan ekspresi estrogen reseptor (ER) pada *invasive carcinoma of no special type (NST)* payudara masih belum jelas diketahui. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan ekspresi COX-2 dan ER dengan derajat histologi *invasive carcinoma NST* payudara.

Metode

Penelitian ini adalah penelitian observasional analitik *cross-sectional*, dimana derajat histologi ditentukan dari pemeriksaan Hematoksin Eosin (HE), dan pemeriksaan ekspresi COX-2 dan ER menggunakan metode imunohistokimia (IHK). Hubungan ekspresi COX-2 dan ER dengan derajat histologi dengan menggunakan uji statistik *Pearson Chi-Square*, dan dianggap bermakna jika $p < 0,05$.

Hasil

Didapatkan 60 sampel penelitian, dengan umur termuda adalah 28 tahun dan tertua adalah 79 tahun. Berdasarkan derajat histologi didapatkan kasus derajat *low grade* sebanyak 27 kasus (45%) dan *high grade* 33 kasus (55%). Ekspresi COX-2 positif ditemukan pada 53,4% sampel penelitian dan terdapat hubungan yang bermakna dengan derajat histologi *invasive carcinoma NST* payudara ($p = 0,045$), namun demikian antara ekspresi ER dengan derajat histologi, dan ekspresi COX-2 dengan ekspresi ER tidak didapatkan hubungan yang bermakna.

Kesimpulan

Terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi COX-2 dengan derajat histologi, dan tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi COX-2 dengan ekspresi ER serta ekspresi ER dengan derajat histologi *invasive carcinoma NST*.

Kata kunci : COX-2, derajat histologi, ER, *invasive carcinoma NST* payudara.

ABSTRACT

Background

Cyclooxygenase-2 (COX-2) overexpression clearly plays an important role in the pathogenesis of breast cancer. The relationship between COX-2 expression with histological grade and estrogen receptor (ER) in *invasive carcinoma NST* of the breast remains uncertain. The aim of this study was to evaluate the correlation between expression of COX-2 and ER with histology grade of *invasive carcinoma NST* of the breast.

Methods

This is observational analytical *cross-sectional* study, the histology grade was assessed on by hematoxylin eosin, COX-2 and ER expression was assessed by immunohistochemistry (IHC) staining. The correlation between COX-2 and ER expression with histological grade were analysed by *Pearson Chi-Square*.

Results

60 samples were studied, the youngest case was 28 years old and the oldest case was 79 years old. According to histological grade we found the case of *low grade* were 27 cases (45%) and *high grade* were 33 cases (55%). COX-2 expression positive was found in 53.4% and was correlated to histological grade ($p = 0.045$), however between ER expression and histological grade, and COX-2 expression and ER expression were not correlated.

Conclusion

COX-2 expression has correlation with histological grade, and COX-2 expression was not correlated with ER expression, and ER expression was not correlated with histological grade *invasive carcinoma NST* of breast.

Key words : COX-2, ER, histologic grade, *invasive carcinoma NST* of Breast.

PENDAHULUAN

Invasive carcinoma NST payudara merupakan kelompok tumor epitel payudara yang tidak menunjukkan karakteristik tertentu untuk digolongkan kedalam tipe histologi spesifik, seperti karsinoma lobuler atau tubuler.¹⁻³ Derajat histologi *invasive carcinoma NST* payudara dinilai berdasarkan sistem *Nottingham Combined Histologic Grade (Elston-Ellis Modification of Scarff-Bloom-Richardson Grading System)* atau biasa disebut dengan *Nottingham Grading System*. Sistem ini menilai histologi tumor payudara berdasarkan tiga karakteristik tumor yaitu formasi tubulus, pleomorfisme inti sel dan jumlah mitosis, dan membaginya menjadi derajat 1, 2 dan 3.^{2,4}

Beberapa literatur menjelaskan, pemeriksaan terhadap gambaran histologi, derajat histologi, stadium, reseptor hormonal dan status *human epidermal growth factor receptor-2* (HER-2) telah dipakai sebagai standar dalam menentukan diagnosis, prognosis dan prediksi *invasive carcinoma NST* payudara. Sebagai tambahan penanda spesifik baru masih diperlukan dalam membantu menentukan prognosis *invasive carcinoma NST* payudara. Salah satu faktor prediktif pada *invasive carcinoma NST* payudara yang sedang banyak diteliti saat ini adalah protein COX-2. Untuk terapi target dengan menggunakan terapi hormonal dan anti HER-2 telah berhasil dan menjadi terapi utama pada pengobatan kanker payudara selama menjalani kemoterapi dan radiasi. Sebagai tambahan strategi dalam terapi kanker payudara faktor lain sedang dilakukan penelitian, satu diantaranya adalah dengan menggunakan anti COX-2. Ekspresi COX-2 yang berlebihan juga potensial dipakai sebagai terapi target kanker payudara. Sejumlah studi *in vitro* dan *in vivo* mengindikasikan bahwa inhibitor COX-2 (coxibs) potensial dipakai sebagai terapi target. Efek coxibs pada biologi tumor menyebabkan terjadinya induksi apoptosis, menekan proses angiogenesis dan menurunkan potensi invasif sel kanker. Pada kasus tumor-tumor yang tergantung pada hormon seperti kanker payudara, coxibs akan menurunkan secara perlahan pertumbuhan sel tumor ganas, akibat terjadi penurunan ekspresi enzim aromatase dan sekresi hormon estrogen.^{2,4,5}

Dengan melihat protein COX-2 yang berperan pada tumorigenesis *invasive carcinoma NST* payu

dara di tingkat molekuler dan beberapa penelitian mendapatkan masih adanya kontroversi, maka adalah hal yang penting untuk melakukan pemeriksaan IHK COX-2 yang penting artinya dalam strategi penatalaksanaan serta mengetahui prognosis penderita *invasive carcinoma NST* payudara.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui ekspresi protein COX-2 dan ER yang dihubungkan dengan derajat histologi tumor dan mengetahui hubungan ekspresi COX-2 dengan ekspresi ER pada *invasive carcinoma NST* payudara.

METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian ini adalah observasional analitik *cross-sectional*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah Denpasar, sejak 12 Maret 2013 sampai 15 Mei 2013. Populasi pada penelitian ini adalah semua sediaan blok parafin dari bahan biopsi maupun operasi penderita *invasive carcinoma NST* payudara yang telah didiagnosis dengan pemeriksaan histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah Denpasar/RSUP Sanglah Denpasar.

Selanjutnya setiap sediaan dievaluasi, derajat histologi dengan pulasan HE, dan ekspresi COX-2 dan ER dievaluasi dengan pulasan IHK. Parameter seperti umur, derajat histologi tumor, interpretasi pulasan IHK COX-2 dan ER dicatat dan ditabulasi. Penilaian ekspresi ER dikatakan positif apabila sama atau lebih dari 1% sel tumor ganas invasif terpulas pada inti. Sedangkan ekspresi COX-2 diberi skor 0 (<6%), +1 (6-25%), +2 (26-50%), dan +3 (51-75%) dan +4 (76-100%) dari seluruh sel-sel tumor. Intensitas pengecatan diberi skor 0 (negatif), 1 (lemah), 2 (sedang) dan 3 (kuat). Jumlah skor dari sel tumor yang tercatat dan intensitas warna pengecatan antara 0 sampai 7. Untuk menyimpulkan hasil dari pengecatan IHK COX-2 yaitu skor dengan jumlah lebih dari atau sama dengan tiga (≥ 3) dianggap positif, sedangkan skor kurang dari tiga dianggap negatif.

Selanjutnya data dianalisis dengan menggunakan SPSS for window 16.0. Karakteristik sampel disajikan secara deskriptif, menggunakan tabel.

Hubungan antara variabel bebas dan atau variabel antara dengan variabel tergantung disajikan dalam bentuk tabel. Hasil analisa penelitian dianggap bermakna jika $p < 0,05$.

HASIL

Berdasarkan data pasien yang melakukan pemeriksaan histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah Denpasar. Jumlah kasus karsinoma payudara invasif periode 1 Januari 2011 sampai 31 Desember 2012 adalah 274 kasus (130 kasus tahun 2011 dan 144 kasus tahun 2012). Dari jumlah tersebut, 190 kasus (94 kasus tahun 2011 dan 96 kasus tahun 2012) merupakan *invasive carcinoma NST*, sedangkan 74 kasus (36 kasus tahun 2011 dan 38 kasus tahun 2012) lainnya merupakan invasif karsinoma payudara dengan tipe tertentu. Sampel dipilih secara acak, dimana sampel penelitian adalah 60 (berdasarkan hasil perhitungan besar sampel Maachein *et al*) sediaan blok parafin dari penderita *invasive carcinoma NST* payudara yang telah didiagnosis dengan pemeriksaan histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP. Sanglah Denpasar, yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang ditetapkan oleh peneliti.

Distribusi sampel berdasarkan umur ditunjukkan pada Tabel 1.

Dari 60 kasus *invasive carcinoma NST* payudara didapatkan umur penderita termuda adalah 28 tahun dan tertua adalah 79 tahun. Kelompok umur penderita terbanyak adalah antara 41-50 tahun (40%) dengan rata-rata umur penderita adalah 55,5 tahun. Berdasarkan karakteristik derajat histologi tumor, didapatkan sebanyak 27 kasus (45%) termasuk derajat rendah (*low grade*) termasuk derajat 1 dengan poin 3-5, atau dan 33 kasus (55%) termasuk derajat tinggi (*high grade*), termasuk derajat 2 dan derajat 3, dengan poin 6-9.

Ekspresi COX-2 dan ER pada berbagai derajat histologi *invasive carcinoma NST* payudara ditunjukkan pada Tabel 2, dan hubungan ekspresi COX-2 dengan ekspresi ER pada *invasive carcinoma NST* payudara ditunjukkan pada Tabel 3.

Pada penelitian ini dilakukan uji Chi-Square dan didapatkan hubungan yang bermakna antara ekspresi COX-2 dengan derajat histologi tumor ($p < 0,05$), dan didapatkan hubu-

ngan yang tidak bermakna antara ekspresi ER dengan derajat histologi tumor serta ekspresi COX-2 dengan ekspresi ER.

Tabel 1. Distribusi sampel berdasarkan umur.

No	Umur (tahun)	Jumlah (<i>invasive carcinoma NST</i>)	%
1	< 30	1	1,7
2	30-40	12	20
3	41-50	24	40
4	51-60	15	25
5	61-70	6	10
6	> 70	2	3,3
Jumlah		60	100

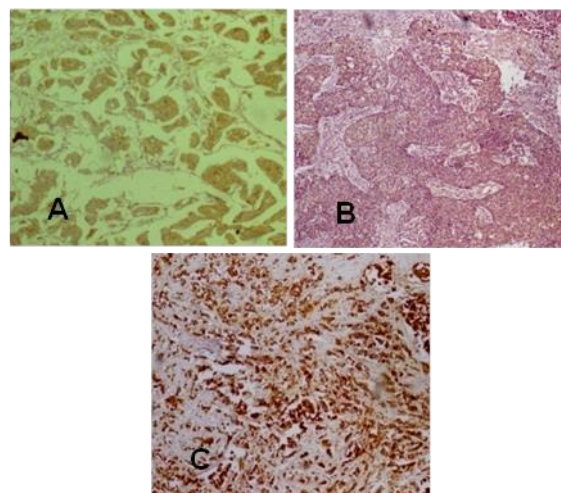
Tabel 2. Hubungan ekspresi COX-2 dan ER pada berbagai derajat histologi *invasive carcinoma NST* payudara.

Derajat histologi tumor	Ekspresi COX-2		p
	Positif	Negatif	
- <i>low grade</i>	11 (18,3%)	16 (26,7%)	0,045
- <i>high grade</i>	22 (36,7%)	11 (18,3%)	
Jumlah	33 (55%)	27 (45%)	

	Ekspresi ER		p
	Positif	Negatif	
- <i>low grade</i>	16 (26,7%)	11 (18,3%)	0,405
- <i>high grade</i>	16 (26,7%)	17 (28,3%)	
Jumlah	32 (53,4%)	28 (46,6%)	

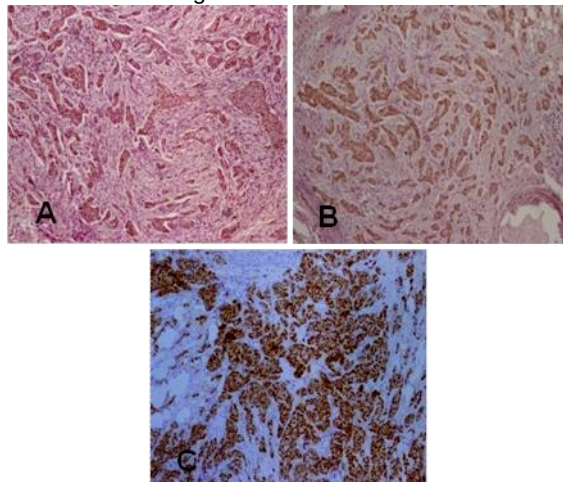
Tabel 3. Hubungan Ekspresi COX-2 dengan ER pada *invasive carcinoma NST* payudara

Ekspresi ER	Ekspresi COX-2		p
	Positif	Negatif	
- Positif	17 (28,3%)	11 (18,3%)	0,405
- Negatif	16 (26,7%)	16 (26,7%)	
Jumlah	33 (55%)	27 (45%)	



Gambar 1. Hasil pemeriksaan IHC COX-2 positif didapatkan sebanyak 33 kasus (55%) positif. Dengan intensitas lemah ditunjukkan pada gambar 1A (kasus no.2263/PP/12), intensitas sedang ditunjukkan pada gambar 1B (kasus no.3220/PP/11) dan intensitas kuat

ditunjukkan pada gambar 1C (kasus no.1921/PP/12), sedangkan sebanyak 27 kasus (45%) dengan pulasan IHK COX-2 negatif.



Gambar 2. Hasil pemeriksaan IHK ER positif didapatkan sebanyak 28 kasus (46,6%), dengan intensitas lemah ditunjukkan pada gambar 2A, intensitas sedang ditunjukkan pada gambar 2B dan intensitas kuat ditunjukkan pada gambar 2C, sedangkan sebanyak 32 kasus (53,4%) IHK ER negatif.

DISKUSI

Invasive carcinoma NST payudara lebih sering terjadi pada wanita dengan umur yang lebih tua dengan puncak insiden pada umur 75-80 tahun dan kemudian insiden menurun setelahnya. Umur rata-rata pasien saat diagnosis adalah 61 tahun pada wanita kulit putih, 56 tahun pada Hispanik, dan 46 tahun pada wanita Afrika-Amerika. Karsinoma payudara invasif sangat jarang terjadi sebelum umur 25 tahun.^{4,6,7} Rata-rata umur penderita pada penelitian ini relatif lebih muda (55,5 tahun) apabila dibandingkan dengan umur penderita karsinoma payudara invasif di negara-negara barat, di mana 80-90% penderitanya adalah berumur di atas 60 tahun.^{1,8-11}

Terdapat berbagai faktor prognostik karsinoma payudara invasif, terdiri dari faktor prognostik mayor dan faktor prognostik minor. Derajat histologi termasuk faktor prognostik minor atau faktor prediktif, yaitu faktor-faktor yang dinilai dalam memprediksi respon terapi. Pada penelitian ini berdasarkan karakteristik derajat histologi tumor, didapatkan data *invasive carcinoma NST* payudara dengan derajat histologi tinggi yang lebih banyak, yaitu 33 kasus (55%) dibandingkan dengan derajat histologi

rendah yaitu sebanyak 27 kasus (45%). Penelitian lain mendapatkan derajat histologi tinggi proporsinya lebih tinggi dibandingkan dengan derajat histologi rendah.^{1,12,13}

Peningkatan kadar protein COX-2 yang terdeteksi dengan pemeriksaan IHK rata-rata 40% pada karsinoma payudara invasif, di mana pada beberapa studi didapatkan rentangannya antara 17% sampai 84%. Pada penelitian ini didapatkan ekspresi COX-2 positif pada 53,4% kasus. Hasil penelitian ini sesuai dengan peneliti sebelumnya yang menyatakan bahwa ekspresi COX-2 positif pada 37,4% kasus karsinoma payudara invasif.^{7,8,15}

Peningkatan ekspresi COX-2 pada *human* karsinogenesis karsinoma payudara ditemukan pada stadium pre-invasif sampai metastasis. Ekspresi berlebihan COX-2 pada karsinoma payudara invasif berhubungan dengan beberapa parameter yang menandakan agresifitas karsinoma payudara invasif seperti ukuran tumor yang lebih besar, derajat histologi yang tinggi, proliferasi sel ganas yang tinggi, status ER negatif, ekspresi berlebihan HER-2, kekambuhan meningkat, harapan hidup pasien yang pendek dan hasil terapi yang buruk.^{1,5,16,17}

Pada penelitian ini untuk mengetahui hubungan ekspresi COX-2 dengan derajat histologi memakai uji Chi-Square dan nilai p yang didapat adalah 0,045 ($p < 0,05$). Berdasarkan uji tersebut, disimpulkan terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi COX-2 dengan derajat histologi *invasive carcinoma NST* payudara. Sedangkan Berdasarkan uji statistik untuk mengetahui hubungan antara ekspresi COX-2 dengan ekspresi ER dan ekspresi ER dengan derajat histologi tumor didapatkan hubungan yang tidak bermakna ($p = 0,45$).

Peningkatan derajat histologi *invasive carcinoma NST* payudara selain dipengaruhi oleh ekspresi ER juga dipengaruhi oleh faktor lainnya. Faktor lain tersebut adalah gen BRCA1, dimana adanya penurunan gen ini akan berhubungan derajat histologi tumor yang tinggi. Selain itu ekspresi berlebihan protein Ki67, stromal CD10, protein HER-2, protein p53 dan adanya emboli sel tumor dalam pembuluh darah juga akan meningkatkan derajat histologi tumor. Faktor lain yang juga berperan dalam peningkatan derajat histologi tumor adalah *DNA ploidy*, dimana semakin *uneploidy* derajat diferensi tumor akan semakin tinggi.^{1,3,4,18} Pada penelitian ini tidak terbukti bahwa peningkatan ekspresi

COX-2 melalui jalur peningkatan ekspresi ER tetapi kemungkinan melalui jalur lain, seperti melalui jalur peningkatan ekspresi VEGF/ endotelin-1 atau jalur BCL2/BAX atau jalur CD44.¹⁷

KESIMPULAN

Terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi COX-2 dan derajat histologi, namun tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi ER dengan derajat histologi dan ekspresi COX-2 dengan ekspresi ER pada *invasive carcinoma NST* payudara.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ellis IO, Schnitt SJ, Garau XS, Bussolati G, Tavaoli FA, Eusebi V, *et al.* Invasive Breast Carcinoma. In: Tavassoli FA, Devilee P, editors. WHO : Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. Lyon: IARC; 2003.
2. Rosen PP. Invasive Duct Carcinoma: Assessment of prognosis, morphologic prognostic markers, and tumor growth rate. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
3. Tavassoli FA, Eusebi V. Staging of breast carcinoma and prognostic and predictive indicators. In: Sillverberg SG, editor. Tumors of the mammary gland-AFIP Atlas of Tumor Pathology, Series 4. Washington: AFIP; 2009.
4. Lester SC, Bae JW, Woo SU, Kim H, Kim CH. The Breast. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, editors. Robbin and Cotran's Pathology Basic of Diseases. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010.
5. Krcova Z, Ehrmann J, Krejci V, Eliopoulos A, Kolar Z. TPL-2/COT and COX-2 in breast cancer. J Biomed. 2008; 152: 21-5.
6. Takeshita E, Osanai T, Higuchi T, Soumaoro LT, Sugihar K. Elevated cyclooxygenase-2 expression is associated with histological grade in invasive ductal breast carcinoma. J Med Dent Sci. 2005;42:189-93.
7. Ranger GS, Thomas V, Jewell A, Mokbel K. Elevated cyclooxygenase-2 expression correlates with distant metastases in breast cancer. J Cancer Res. 2004;24:2349-52.
8. Ahmed HG, Al-Adhraei MA, Al-Thobhani AK. Correlations of hormone receptors (ER and PR), Her2/neu and p53 expression in breast ductal carcinoma among Yemeni women. Open Cancer Immunol. 2011; 4: 1-9.
9. Visscher DW, Pankratz VS, Santisteban M, Reynolds C, Ristimaki A, Vierkant RA, *et al.* Association between cyclooxygenase-2 expression in atypical hyperplasia and risk of breast cancer. JNCI. 2008; 100: 420-7.
10. Shim V, Gauthier ML, Sudilovsky D, Mantei K, Chew KL, Moore DH, *et al.* Cyclooxygenase-2 expression is related to nuclear grade in ductal carcinoma in situ and is increase in its normal adjacent epithelium. J Cancer Res. 2003;63:2347-50.
11. Monica B. Cyclooxygenase-2 (COX-2) as a target for cancer prevention and treatment. Human Press. 2004; 2: 509-41.
12. Suvarchala SB, Nageswararao R. Carcinoma breast-histopathological and hormone receptors correlation. J Biosci Tech. 2011; 2: 340-8.
13. Lee JA, Bae JW, Woo SU, Kim H, Kim CH. Correlation between COX-2 expression and hormone receptors in invasive ductal breast cancer. J Korean Surg. 2010; 78: 140-8.
14. Sihto H, Lundin J, Lundin M, Lehtimaki T, Ristimaki A, Hilli K, *et al.* Breast cancer biological subtypes and protein expression predict for the preferential distant metastasis sites: a Nationwide cohort study. J Breast Cancer. 2011; 13: 1-11.
15. Howe LR. Cyclooxygenase/prostaglandin signaling and breast Cancer. Breast Cancer Res. 2007; 9: 210.
16. Divvela AK, Challa SR, Tagaram IS. Pathogenic role of cyclooxygenase-2 in cancer. J Health Sci. 2010; 56: 502-16.
17. Bertagnolli M, Viner JI, Hawk ET. Cyclooxygenase-2 as a target for cancer prevention and treatment. In: Tavassoli FA, Devilee P, editors. Molecular targeting in oncology. Boston: Humana Press; 2008.