

Hubungan Imunoekspresi β -Katenin antara Karsinoma Sel Skuamosa Oral Derajat Rendah dan Derajat Tinggi Berdasarkan Sistem *Grading Bryne*.

Welly Hartono Ruslim, Ening Krisnuhoni, Kusmardi

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia
Jakarta

ABSTRAK

Latar belakang

β -katenin merupakan protein yang memiliki peran penting dalam adhesi antar sel dan transduksi sinyal. Pada keadaan tanpa stimulasi β -katenin hanya tampak pada membran sel, namun bila terdapat stimulasi maka β -katenin akan tampak pada sitoplasma dan inti. Perubahan ekspresi β -katenin telah diketahui berhubungan dengan progresivitas dan metastasis pada berbagai penyakit keganasan manusia. Tujuan penelitian ini adalah mengevaluasi perbedaan ekspresi β -katenin di daerah invasif karsinoma sel skuamosa oral (KSSO) antara derajat rendah dan derajat tinggi berdasarkan sistem *grading Bryne*.

Metode

Penelitian dilakukan pada 20 kasus KSSO derajat rendah dan 20 kasus derajat tinggi. Pewarnaan imunohistokimia β -katenin digunakan untuk menilai perbedaan ekspresi yang tampak pada membran, sitoplasma, dan inti sel tumor.

Hasil

Ekspresi β -katenin pada membran, sitoplasma, maupun inti sel tumor memiliki perbedaan yang bermakna antara KSSO derajat rendah dan derajat tinggi ($p=0,000$; $p=0,005$; dan $p=0,035$). Tidak ditemukan hubungan yang bermakna antara ekspresi β -katenin dengan variabel usia, jenis kelamin, maupun lokasi tumor.

Kesimpulan

Ekspresi β -katenin dapat menunjukkan perubahan morfologi sel-sel KSSO.

Kata kunci : β -katenin, *grading Bryne*, karsinoma sel skuamosa oral.

ABSTRACT

Background

β -catenin is an important protein in cellular adhesion and signal transduction. In unstimulated condition, β -catenin only appears on the cellular membrane. Altered expression of β -catenin has been associated with progressiveness and metastatic process of malignancy in human. The aim of this study was to evaluate the expression of β -catenin on oral squamous cell carcinoma (OSCC) and also to assess its different expression in low grade and high grade lesions based on *Bryne grading system*.

Methods

This study was conducted on 2 groups of OSCC which included 20 cases of low grade and 20 cases of high grade. Immunohistochemistry staining of β -catenin was used to identify the difference of its expression in cell membrane, cytoplasm, and nuclei on invasive tumor front.

Results

The expression of β -catenin on cell membrane, cytoplasm, and nuclei showed significant difference between low and high grade OSCC ($p=0.000$; $p=0.005$; and $p=0.035$, respectively). There has not been any significant association between β -catenin expression with age, sex, and tumor location.

Conclusion

Expression of β -catenin could showed morphological change the OSCC.

Key words : β -catenin, *Bryne grading*, oral squamous cell carcinoma (OSCC).

PENDAHULUAN

Karsinoma sel skuamosa oral (KSSO) merupakan tumor ganas dengan tingkat morbiditas dan mortalitas yang tinggi. Prognosis KSSO dalam 30 tahun terakhir ini tetap buruk yaitu dengan angka kesintasan 5 tahun antara 30%-50%, walaupun kemajuan dalam bidang diagnostik dan terapeutik semakin berkembang. Hal ini disebabkan sulitnya mendeteksi *ocult metastasis* pada kelenjar getah bening (KGB) leher yang merupakan tempat pertama KSSO melakukan penyebaran.¹⁻³ Karsinoma sel skuamosa oral memiliki tingkat predisposisi yang tinggi dalam metastasis ke KGB, bahkan pada KSSO T1-T2 dapat memiliki sifat agresif dan sudah memiliki *ocult metastasis* pada KGB leher. Hal ini menyebabkan tumor yang telah direseksi tetap memiliki prognosis yang buruk.⁴⁻⁸

Anak sebar pada KGB menyebabkan penurunan angka kesintasan sampai 50%.^{2,9-11} Sekitar 25% pasien T1 dan 50% pasien T2 dilaporkan memiliki prognosis yang buruk,^{1,12-15} bahkan 34% dari KSSO yang secara klinis dinyatakan N0 ternyata telah terdapat *ocult metastasis*.^{2,16} Gang *et al.*¹⁷ menyebutkan bahwa 30% pasien dengan stadium awal akhirnya meninggal karena penyakitnya, dan 30%-40% pasien dengan status KGB negatif, setelah operasi reseksi akhirnya meninggal juga karena metastasis.

Sistem *grading* telah digunakan sejak lama untuk memprediksi perilaku KSSO. Broders (1927) memeloporkan sistem *grading* berdasarkan proporsi sel-sel yang berdiferensiasi pada seluruh area tumor yang terdiri atas: diferensiasi baik, sedang, dan buruk. Sistem Broders sampai saat ini masih banyak dipergunakan, namun beberapa penelitian melaporkan bahwa sistem tersebut tidak memiliki nilai prognostik terhadap KSSO sehingga secara klinik tidak memiliki manfaat bagi penatalaksanaan pasien.^{5,6,13,14,18}

Bryne *et al.*¹⁹ memodifikasi sistem *grading* multifaktor untuk mengatasi kelemahan sistem Broders, yang terdiri atas 4 parameter yaitu: derajat keratinisasi, pleomorfisme inti, pola invasi, dan infiltrasi leukosit. Masing-masing parameter dievaluasi di daerah peritumor (*invasive tumor front*) dan diberi skor 1-4 kemudian dijumlahkan. Total skor ≤ 8 dinyatakan derajat keganasan rendah, skor > 8 dinyatakan derajat keganasan tinggi.^{18,19}

Bryne *et al.*¹⁹ dan berbagai studi lain menyebutkan bahwa daerah peritumor merupakan daerah yang mengandung informasi prognostik yang berguna karena sel-sel tumor yang bersifat paling invasif berada di daerah ini.¹⁸⁻²⁰ Berdasarkan hasil penelitiannya, Bryne mengatakan bahwa sistem *grading* baru ini memiliki nilai prognostik yang bermakna dibandingkan dengan sistem Broders.^{10,13,18,19} Karakida¹ (2002) menyebutkan bahwa pada KSSO derajat tinggi, kemungkinan sudah terjadinya penyebaran ke KGB leher sekitar 50%.

Penelitian ini akan menilai apakah terdapat perbedaan ekspresi β -katenin pada KSSO derajat rendah dan derajat tinggi. Apabila KSSO derajat tinggi memperlihatkan ekspresi β -katenin yang lemah pada membran sel, namun kuat pada sitoplasma dan inti maka *grading* Bryne sejalan dengan perubahan molekular pada KSSO.

METODE PENELITIAN

Desain penelitian yang dilakukan adalah studi potong lintang observasional analitik. Populasi penelitian adalah semua kasus biopsi dan reseksi yang didiagnosis sebagai KSSO dengan derajat keganasan menggunakan sistem *grading* Bryne, yang berasal dari arsip Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM tahun 2009 hingga 2012. Pada penelitian ini digunakan 40 kasus KSSO dengan 20 kasus derajat rendah dan 20 kasus derajat tinggi yang memenuhi kriteria inklusi untuk dievaluasi β -katenin secara imunohistokimia.

Sistem *grading* Bryne

Sistem *grading* Bryne merupakan sistem penilaian derajat keganasan sel tumor secara histopatologi yang hanya dilakukan pada sel-sel tumor di area peritumor. Parameter yang dinilai terdiri atas: derajat keratinisasi, pleomorfisme inti, pola invasi, dan infiltrasi leukosit.

- Derajat keratinisasi dihitung dengan melihat persentase mutiara keratin diantara sel-sel tumor.
- Pleomorfisme inti dihitung dengan melihat persentase maturitas sel-sel tumor.
- Pola invasi dihitung dengan melihat gambaran invasi sel tumor.
- Infiltrasi leukosit dihitung dengan melihat kepadatan sel-sel leukosit diantara sel-sel tumor.

Tabel 1. Sistem *grading* Bryne^{13,19,21,22}

Parameter	Fitur morfologi dan nilai skor			
	1	2	3	4
Derajat keratinisasi	Tinggi >50%	Sedang 20-50%	Minimal 5-20%	Tidak 0-5%
Pleomorfisme inti	Sedikit >75%	Sedang 50-75%	Banyak 25-50%	Ekstrem 0-25%
Pola invasi	Mendorong Tepi infiltrasi	Infiltratif	Infiltratif dalam	Sel individual Tidak ada
Respon pejamu	Jelas	Sedang	Ringan	

Setiap parameter dinilai dan diberi skor 1 sampai 4 (Tabel 1), skor yang semakin tinggi mencerminkan sel-sel yang berdiferensiasi semakin rendah dan prognosis yang makin buruk. Masing-masing skor dijumlahkan, total skor ≤ 8 dinyatakan sebagai derajat keganasan rendah, sedangkan skor >8 disebut derajat keganasan tinggi.^{8,13,23,24}

Imunohistokimia

Setelah dilakukan pemotongan blok parafin dan melalui proses awal, sediaan diinkubasi dengan antibodi β -katenin (Novocastra, UK) dengan pengenceran 1:50 selama 60 menit, dilanjutkan inkubasi dengan antibodi sekunder *biotinylated universal secondary antibody* (Starrtek Universal, Biocare Medical, USA) selama 30 menit. Sediaan diinkubasi dengan kompleks peroksidase/streptavidin selama 20 menit. Visualisasi dilakukan dengan DAB yang diinkubasi selama 1-2 menit. Sediaan diinkubasi dengan DAB selama 1-2 menit, dilakukan *counterstain* dengan Hematoksin Meyer. Dehidrasi dengan alkohol konsentrasi meningkat selanjutnya dilakukan *clearing* dengan xylol. Kemudian sediaan ditutup dengan kaca penutup menggunakan *mounting* (Entellan, Merck, Germany).

Penilaian Imunohistokimia

Penilaian ekspresi β -katenin dihitung menggunakan cara yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya.^{20,26} Dari setiap kasus dihitung berapa banyak sel yang mengekspresikan β -katenin pada membran. Persentase sel yang terwarnai diberi skor dan dikalikan dengan intensitasnya. Interpretasinya sebagai berikut: (a) 0 bila $<5\%$ sel terwarnai, (b) 1 bila $5\%-25\%$ sel terwarnai, (c) 2 bila $26\%-50\%$ sel terwarnai, (d) 3 bila $51\%-75\%$ sel terwarnai, (e) 4 bila $>75\%$ sel terwarnai. Intensitas warna dinilai sebagai berikut : (a) 0, negatif, (b) 1+, lemah, (c) 2+, sedang, dan (d) 3+, kuat. Skor akhir merupa-

kan perkalian antara skor persentase (N) dan skor intensitas (I), yang hasilnya berkisar antara 0-12. Kasus dengan skor 9-12 dinyatakan sebagai ekspresi kuat, skor 5-8 dinyatakan sebagai ekspresi kurang, dan skor 0-4 dinyatakan sebagai ekspresi sangat kurang.^{20,26}

Penilaian ekspresi β -katenin sitoplasma dan inti dinilai sebagai berikut : (a) 0, bila negatif (sitoplasma dan inti tidak terwarnai, sesuai dengan sel epitel normal, (b) 1+, bila $<5\%$ sel yang terwarnai, (c) 2+, bila $5\%-25\%$ sel terwarnai, (d) 3+, bila $>25\%$ sel terwarnai.²⁶

Pengamat independen tanpa mengetahui *grading* histopatologik sebelumnya akan mengidentifikasi daerah peritumor. Daerah peritumor difoto beberapa tempat sampai kira-kira diperoleh 500 sel tumor untuk setiap kasus²⁵ kemudian diproses menggunakan program imageJ. Pembaca kedua membaca secara acak hasil gambar yang telah diberi titik warna sesuai lokasi β -katenin pada kompartemen sel sesuai keluaran program imageJ.

HASIL

Berdasarkan demografi dan klinikopatologi (Tabel 2) diperoleh 20 orang laki-laki (50%) dan 20 orang perempuan (50%) dengan rata-rata usia 47,5 tahun. Lokasi lesi terbanyak ditemukan pada lidah yaitu 24 kasus (60%), dasar mulut 4 kasus (10%), palatum 3 kasus (7,5%), bukal 3 kasus (7,5%), dan sisanya ditemukan pada gingiva, bibir dan lain-lain masing-masing 2 kasus (5%).

Hasil pengamatan (tabel 3) ekspresi β -katenin di membran, sitoplasma, maupun inti pada pasien di bawah usia 40 tahun maupun diatas 40 tahun tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=0,940$; $p=1,000$; $p=0,999$). Demikian pula dengan ekspresi β -katenin pada pasien laki-laki maupun perempuan tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=0,978$; $p=0,978$; $p=0,978$). Lokasi lesi terbanyak ditemukan pada lidah yaitu sebanyak 24 kasus (60%), kemudian dasar mulut sebanyak 4 kasus (10%), palatum 3 kasus (7,5%), bukal 3 kasus (7,5%), gingiva, bibir dan lain-lain masing-masing sebanyak 2 kasus (5%). Ekspresi β -katenin (membran, sitoplasma, maupun inti) pada lidah dan non-lidah tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=1,000$; $p=0,998$; $p=1,000$).

Tabel 2. Data demografi dan klinikopatologik kasus KSSO yang diteliti periode tahun 2009-2012.

Variabel	n (%)	Ekspresi β -katenin (p)		
		Mem- bran	Sito- plasma	Inti
Umur				
<40 tahun	11 (27,5)	0,940	1,000	0,999
$\geq$ 40 tahun	29 (72,5)			
Jenis kelamin				
Laki-laki	20 (50)	0,978	0,978	0,978
Perempuan	20 (50)			
Lokasi tumor				
Lidah	24 (60)	1,000	0,998	1,000
Non-lidah	16 (40)			
Grading Bryne				
Derajat rendah	20 (50)	0,000	0,005	0,035
Derajat tinggi	20 (50)			

Ekspresi β -katenin di membran sel pada KSSO derajat rendah ditemukan terekspresi kuat dan homogen pada 8 kasus (40%), kurang kuat pada 9 kasus (45%), dan sangat kurang pada 3 kasus (15%). Sedangkan pada KSSO derajat tinggi hanya 1 kasus yang terekspresi kuat (5%), 2 kasus terekspresi kurang (10%), dan mayoritas yaitu sebanyak 17 kasus (85%) terekspresi sangat kurang. Uji statistik komparatif Kolmogorov-Smirnov menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kedua variabel ($p=0,000$). Gambar 1 menunjukkan spesimen KSSO derajat rendah yang setelah dipulas dengan β -katenin menunjukkan ekspresi yang kuat pada membran sel, namun tidak tampak pada sitoplasma maupun inti sel.

Ekspresi β -katenin sitoplasma pada KSSO derajat rendah diperoleh 2 kasus (10%) dengan ekspresi kuat, 4 kasus (20%) dengan ekspresi sedang, 9 kasus (45%) dengan ekspresi lemah, dan 5 kasus (25%) yang negatif. Sedangkan pada derajat tinggi diperoleh 10 kasus (50%) terekspresi kuat, 7 kasus (35%) terekspresi sedang, 3 kasus (15%) terekspresi lemah, dan tidak ditemukan kasus yang negatif. Uji statistik komparatif Kolmogorov-Smirnov menunjukkan perbedaan yang bermakna antara variabel derajat keganasan dengan ekspresi β -katenin pada sitoplasma ($p=0,005$).

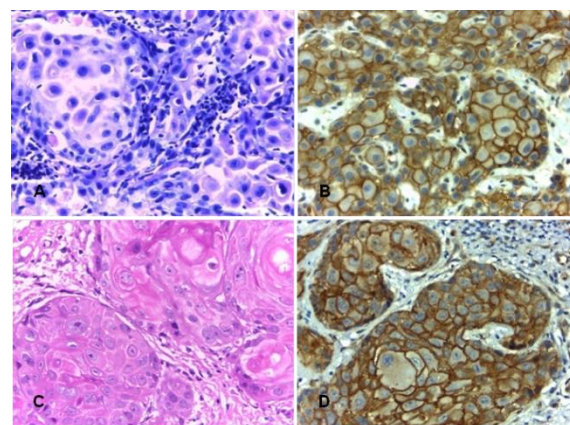
Ekspresi β -katenin inti pada KSSO derajat rendah (tabel 2) diperoleh 3 kasus (15%) dengan ekspresi sedang, 7 kasus (35%) dengan ekspresi lemah, dan 10 kasus (50%) yang negatif. Sedangkan pada derajat tinggi diperoleh 9 kasus (45%) terekspresi sedang, 10 kasus (50%) terekspresi lemah, dan hanya 1 kasus (5%) yang negatif. Uji statistik komparatif

Kolmogorov-Smirnov menunjukkan perbedaan yang bermakna antara variabel derajat keganasan dengan ekspresi β -katenin pada inti ($p=0,035$). Gambar 2 menunjukkan spesimen KSSO derajat tinggi yang setelah dipulas dengan β -katenin menunjukkan ekspresi positif pada sitoplasma dan inti sel, tidak tampak ekspresi pada membran sel.

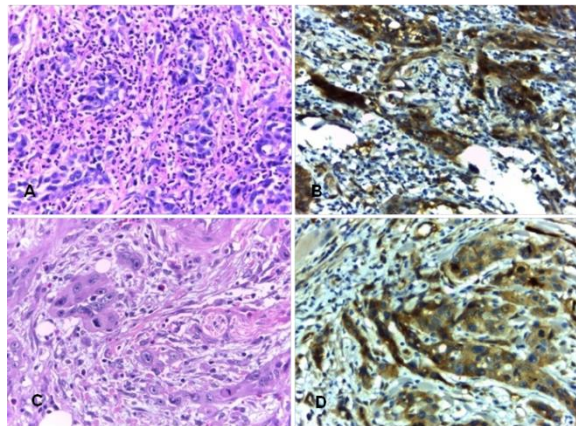
Tabel 3. Ekspresi β -katenin pada KSSO dihubungkan dengan variabel demografis, klinis, dan derajat keganasan.

Variabel	Ekspresi β -katenin											
	Membran			Sitoplasma				Inti				
	1+	2+	3+	0	1+	2+	3+	0	1+	2+	3+	
Umur												
<40 tahun	7	1	3	2	2	4	3	2	6	3	0	
$\geq$ 40 tahun	13	10	9	3	10	7	9	9	11	9	0	
P			0,940				1,000					=0,999
Jenis kelamin												
Laki-laki	9	5	6	3	7	5	5	7	8	5	0	
Perempuan	11	6	3	2	5	6	7	4	9	7	0	
p			0,978				0,978					0,978
Lokasi tumor												
Lidah	12	7	5	4	7	7	6	7	10	7	0	
Non-lidah	8	4	4	1	5	4	6	4	7	5	0	
p			1,000				0,998					1,000
Grading Bryne												
Derajat rendah	3	9	8	5	9	4	2	10	7	3	0	
Derajat tinggi	17	2	1	0	3	7	10	1	10	9	0	
p			0,000				0,005					0,035

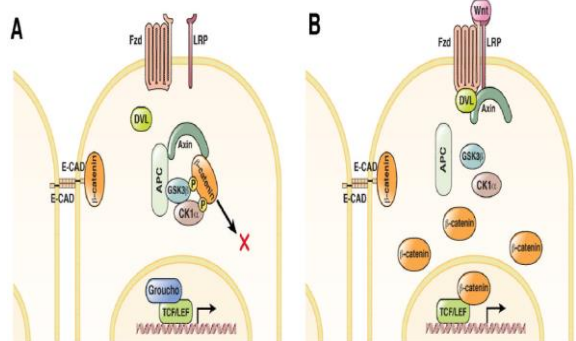
*Uji komparatif Kolmogorov-Smirnov



Gambar 1. A. dan C, KSSO derajat rendah dengan skor Bryne masing-masing 8. B. dan D. Hasil pewarnaan IHC menunjukkan ekspresi β -katenin pada membran sel yang kuat dan tidak tampak ekspresi pada sitoplasma maupun inti.



Gambar 2. A. KSSO derajat tinggi dengan skor Byrne 15; B. Pewarnaan IHK menunjukkan ekspresi β -katenin pada sitoplasma dan inti, namun tidak tampak ekspresi pada membran sel; C. KSSO derajat tinggi dengan skor Byrne 9; D. Pewarnaan IHK menunjukkan ekspresi β -katenin pada sitoplasma dan beberapa pada inti sel, namun tidak tampak ekspresi pada membran sel.



Gambar 3. A. Pada keadaan tidak terdapat sinyal Wnt, β -katenin terikat pada E-cadherin (E-CAD) di *adherens junctions* atau akan difosforilasi oleh kompleks destruksi (Axin, APC, GSK3 β , dan CK1). β -katenin yang terfosforilasi akan menjadi target degradasi oleh proteasome, yang memelihara β -katenin dalam kadar rendah di sitoplasma dan inti. Target gen Wnt akan dihambat oleh Tcf/Lef/Groucho dan histone deacetylase; B. Sinyal Wnt memulai stimulusnya melalui reseptor FZD (Frizzled) dan co-receptor LRP (*low-density lipoprotein receptor-related protein*), kemudian mengaktifkan dan merekrut DVL (Dishevelled) dan Axin menuju membran sehingga kompleks destruksi tidak dapat bekerja, menyebabkan β -catenin berakumulasi di sitoplasma.²⁹

DISKUSI

Hilangnya adhesi antar sel merupakan pemicu timbulnya program *epithelial-to-mesenchymal*

transition (EMT) yang berperan pada metastasis, invasi, dan progresivitas kanker. Salah satu molekul yang berperan dalam proses EMT tersebut adalah β -katenin.^{27,28}

β -katenin merupakan protein dengan berat molekul 92 kDa, memiliki 2 peran yang berbeda di dalam sel yaitu: 1) sebagai protein struktural pada *adherens junction* yang berikatan dengan E-cadherin, dan 2) sebagai aktivator transkripsi yang memediasi transduksi sinyal Wnt. Pada gambar 1 tampak β -katenin membentuk ikatan kompleks dengan E-cadherin dan α -catenin serta menghubungkannya dengan *actin cytoskeleton* di sitoplasma, sehingga dalam keadaan tanpa stimulasi β -katenin hanya akan tampak pada membran sel.^{17,28,30} Bila terdapat stimulasi, maka akan terjadi perubahan ekspresi β -katenin yaitu berupa melemahnya ekspresi pada membran atau ditemukannya ekspresi pada sitoplasma dan inti. Ekspresi β -katenin yang salah (*abberant*) telah banyak diketahui berhubungan dengan progresivitas dan metastasis pada berbagai keganasan manusia.³¹

Hilang atau berkurangnya protein β -katenin membran sel akan menyebabkan berkurangnya adhesi interselular dan mengubah sel tumor ke arah fenotip yang invasif, dan memicu timbulnya program EMT.^{27,28,32,33} β -katenin bebas di sitoplasma merupakan sekues-ter yang berikatan dengan kompleks molekul *Adenomatous Polyposis Coli* (APC), *Serine-threonin Glycogen Synthetase Kinase* (GSK3 β), molekul adapter Axin, dan *Casein Kinase-1* (CK1) yang memediasi proses fosforilasi dan degradasi cepat β -katenin oleh sistem proteasome ubiquitin. Hanya β -katenin di membran yang terikat dengan E-cadherin yang diproteksi dari proses degradasi tersebut.^{27,28,34,35}

Proses tersebut diregulasi oleh jalur sinyal Wnt, yang berperan sentral dalam adhesi sel, proliferasi, diferensiasi, dan proses *epithelial to mesenchymal transition* (EMT). (Laxmidevi) Aktivasi sinyal Wnt meningkatkan stabilitas β -catenin dalam menghindari proses degradasi, yaitu dengan cara menonaktifkan GSK3 β sehingga terjadi akumulasi β -katenin di sitoplasma. β -katenin bebas di sitoplasma kemudian akan bermigrasi ke inti sel dan membentuk ikatan kompleks dengan *T-cell factor/lymphoid enhancer factor* (Tcf/Lef) yang merupakan keluarga faktor transkripsi, menyebabkan akti-

vasi beberapa target gen seperti *cyclin-D1* dan *c-myc*.^{28,34}

Pada penelitian ini diperoleh hasil rasio penderita laki-laki dan perempuan dengan KSSO pada penelitian ini diperoleh 1:1. Beberapa dekade yang lalu, umumnya jumlah penderita laki-laki lebih banyak dibanding perempuan yaitu 3:1, namun dalam beberapa tahun terakhir jumlah penderita perempuan bergeser naik sehingga rasio menjadi 2:1. Beberapa studi menyebutkan bahwa di beberapa negara, jumlah penderita perempuan bisa sama atau bahkan lebih banyak dibanding laki-laki. Hal itu disebabkan pola hidup yang memicu KSSO seperti merokok, alkohol, dan mengunyah tembakau di negara-negara tertentu lebih banyak pada perempuan.^{36,37}

Usia pasien yang menderita KSSO umumnya terjadi pada dekade 5 dan 6.³⁷ Pada penelitian ini usia rata-rata adalah 47,5 tahun, dan sebanyak 29 kasus (72,5%) berada pada usia di atas 40 tahun, sisanya yaitu 11 kasus (27,5%) di bawah usia 40 tahun. Hasil tersebut sesuai dengan kepustakaan bahwa KSSO umumnya didiagnosis pada usia diatas 40 tahun.^{4,38,39}

Lidah merupakan lokasi tersering dari seluruh kasus. Data WHO menyebutkan bahwa KSSO dapat timbul di setiap bagian rongga mulut seperti bibir, mukosa bukal, gingival, palatum, lidah, dan dasar mulut.³⁷ Menurut peneliti terdahulu tempat yang sering terkena adalah lidah, bibir, dan dasar mulut. Namun, frekuensi organ yang paling sering bisa berbeda-beda di setiap negara.^{4,15,40} Lidah merupakan lokasi tersering (40%) KSSO di Amerika dan Eropa. Pada beberapa negara Asia dengan penduduk yang memiliki tradisi makan sirih, lokasi tersering KSSO adalah di mukosa bukal (40%).³⁸

Hubungan antara ekspresi β -catenin dengan variabel klinis usia, jenis kelamin, dan lokasi tumor diperlihatkan pada tabel 2. Tidak tampak hubungan yang bermakna antara ekspresi β -catenin (membran, sitoplasma, dan inti) dengan usia, jenis kelamin, maupun lokasi tumor. Hasil yang sama dilaporkan oleh peneliti terdahulu yang memperoleh hubungan yang tidak bermakna antara ekspresi β -catenin dengan variabel usia, jenis kelamin, maupun lokasi tumor ($p=0,313$; $p=0,091$; $p=0,882$).²⁰ Beberapa penelitian lain juga menyebutkan tidak ada perbedaan prognosis KSSO antara laki-laki

dan perempuan.⁴¹ Namun masih terdapat kontroversi antara variabel usia dan prognosis. Beberapa penulis menyebutkan bahwa semakin tua usia penderita maka prognosis pasien akan semakin buruk.⁴¹

Ekspresi β -catenin telah diuji pada berbagai karsinoma seperti pada kolon, lambung, dan payudara yang hasilnya menunjukkan adanya hubungan antara berkurangnya ekspresi β -catenin pada membran dengan prognosis yang buruk.^{17,42} Peneliti sebelumnya mengatakan bahwa berkurangnya ekspresi β -catenin membran dapat merupakan petanda prognostik yang bermakna dan tidak bergantung pada jenis tumornya.³¹

Empat puluh persen kasus KSSO derajat rendah masih menunjukkan ekspresi β -catenin yang kuat pada membran sel sesuai dengan kontrol positif atau sel epitel yang normal, dan sisanya sebanyak 60% kasus menunjukkan ekspresi yang kurang dan/atau negatif. Sebaliknya, pada KSSO derajat tinggi sebanyak 95% kasus menunjukkan ekspresi kurang dan sangat kurang. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penurunan ekspresi β -catenin pada membran berhubungan secara bermakna dengan derajat keganasan KSSO ($p=0,000$).

Hasil ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang membandingkan ekspresi β -catenin terhadap status klinis kelenjar getah bening leher, yang hasilnya menunjukkan bahwa pada KSSO dengan metastatik KGB menunjukkan ekspresi β -catenin negatif dan lemah sebanyak 81,2% dan 18,8% ($p=0,001$). Hasil yang serupa juga dilaporkan peneliti terdahulu sebanyak 15 dari 17 kasus KSSO metastatik menunjukkan ekspresi β -catenin membran yang berkurang.³¹ Penelitian pada lidah menunjukkan ekspresi yang kuat dan normal pada membran, dan sebanyak 68% menunjukkan ekspresi yang abnormal atau berkurang. Melalui uji statistik korelasi antara ekspresi β -catenin terhadap diferensiasi tumor, diperoleh hubungan yang bermakna ($p=0,002$).⁴³

Status ekspresi β -catenin juga telah dievaluasi hubungannya dengan rekurensi lokal KSSO oleh Yu *et al.*⁴⁴ hasilnya menunjukkan bahwa ekspresi membran yang lemah meningkatkan laju rekurensi dalam 5 tahun. Pasien dengan ekspresi β -catenin yang lemah memiliki laju rekurensi 79% dibandingkan 29% pada pasien dengan ekspresi β -catenin yang kuat

($p=0,0021$). Pasien dengan ekspresi β -katenin membran yang lemah memiliki tingkat resiko 3,5x lebih tinggi dibandingkan dengan ekspresi yang kuat.⁴⁴

Penemuan penting pada penelitian-penelitian sebelumnya mencatat bahwa ekspresi β -catenin membran berkorelasi terbalik dengan status metastasis KGB, sehingga penurunan ekspresi β -katenin membran dapat digunakan sebagai prediktor terhadap status KGB.¹⁷ Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian-penelitian sebelumnya, menunjukkan bahwa berkurangnya ekspresi membran pada KSSO derajat tinggi kemungkinan akibat terganggunya stabilitas dan integritas kompleks E-caderin/catenin yang menyebabkan rusaknya *adherens junctions* dan disosiasi inter-selular. Hal itu tentunya mempengaruhi peningkatan kemampuan metastatik sel tumor.¹⁷

β -katenin merupakan protein multifungsi yang terlibat dalam dua proses selular yang berbeda, yaitu dalam proses adhesi sel dan transduksi sinyal. β -katenin merupakan kofaktor transkripsi pada jalur sinyal Wntless (Wnt) dan merupakan target dari produk gen *Adenomatous Polyposis Coli* (APC) yang berimplikasi pada berbagai keganasan. Terganggunya jalur β -katenin dapat berdampak penting pada pertumbuhan dan progresivitas tumor. Mutasi gen APC dapat menyebabkan akumulasi β -katenin di sitoplasma dan inti sel. Selain mutasi pada APC, mutasi pada β -katenin itu sendiri atau adanya perubahan pada jalur sinyal Wnt dapat berimplikasi pada langkah penting karsinogenesis.¹⁷

Pada penelitian ini, hasil penilaian ekspresi β -katenin pada sitoplasma KSSO derajat rendah didapatkan 75% kasus positif (lemah 45%, sedang 20%, dan kuat 10%) sedangkan sebanyak 5 kasus (25%) negatif. Sedangkan pada KSSO derajat tinggi semuanya menunjukkan ekspresi sitoplasma yang positif (lemah 15%, sedang 35%, dan kuat 50%). Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna antara derajat keganasan dengan ekspresi β -katenin pada sitoplasma ($p=0,005$), sehingga memberikan pengertian dengan semakin tingginya ekspresi β -katenin pada sitoplasma berhubungan dengan derajat keganasan yang semakin tinggi.

Peneliti terdahulu melaporkan bahwa ekspresi predomnan pada sitoplasma cenderung ditemukan pada KSSO yang berdiferen-

siasi buruk; dan ekspresi pada sitoplasma kemungkinan berhubungan dengan hilangnya β -katenin pada membran yang disebabkan adanya mutasi pada gen APC atau β -katenin, sehingga menyebabkan akumulasi pada sitoplasma karena proses degradasi yang terhambat.²⁸

Mutasi tersebut juga menyebabkan percepatan proliferasi tumor melalui aktivasi transkripsi gen target seperti *cyclin D-1*, yang menghasilkan akumulasi pada inti sel. Berkurangnya ekspresi pada membran dan meningkatnya ekspresi pada sitoplasma merefleksikan perilaku agresif dari sel tumor. Korelasi yang bermakna dalam beberapa penelitian antara *grading* histologik dengan penurunan ekspresi β -katenin mendukung peran *grading* histologik sebagai *marker* prognostik.²⁸

Hasil yang sama juga diperoleh pada penelitian Zhu EX⁴⁵, yaitu dari 41 kasus KSSO didapatkan hubungan yang bermakna antara ekspresi β -katenin dengan status KGB leher ($p=0,013$). Pada KSSO dengan KGB positif ditemukan ekspresi sitoplasma 0/1+ sebanyak 3 kasus, 2+ sebanyak 8 kasus, dan 3+ sebanyak 14 kasus. Sedangkan pada KSSO dengan KGB negatif ditemukan ekspresi sitoplasma 0/1+ sebanyak 9 kasus, 2+ sebanyak 2 kasus, dan 3+ sebanyak 5 kasus.⁴⁵ Hasil tersebut menunjukkan bahwa akumulasi β -katenin pada sitoplasma dapat menginduksi aktivitas transkripsi yang dimediasi oleh Tcf/Lef dan menginduksi proses EMT, sehingga mampu meningkatkan kemampuan invasi dan migrasi sel-sel tumor KSSO.³²

Pada penelitian ini sebanyak 50% KSSO derajat rendah menunjukkan ekspresi inti yang positif (lemah dan sedang) dan 50% sisanya negatif. Sedangkan pada KSSO derajat tinggi 95% kasus menunjukkan ekspresi inti yang positif (lemah dan sedang). Pada semua kasus KSSO tidak ditemukan ekspresi β -katenin inti yang kuat (>25% sel), walaupun demikian dari analisis statistik didapatkan bahwa positivitas inti menunjukkan perbedaan yang bermakna antara derajat keganasan dengan ekspresi β -katenin pada inti ($p=0,035$).

Penelitian terdahulu melaporkan sebanyak 27 (23%) dari 116 kasus karsinoma kepala dan leher menunjukkan ekspresi inti yang positif, dan hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pasien dengan ekspresi inti positif memiliki angka ketahanan hidup yang lebih rendah dibandingkan pasien dengan ekspresi inti yang negatif ($p=0,04$). Lokasi β -katenin di inti juga

telah dilaporkan dalam beberapa penelitian dan berhubungan dengan ketahanan hidup yang lebih rendah pada karsinoma kolorektal dan hepatoselular.⁴²

Hasil yang berbeda dilaporkan oleh peneliti lain yang tidak menemukan akumulasi β -catenin pada inti sel tumor KSS di kepala dan leher. Mereka berpendapat bahwa berkurangnya ekspresi β -catenin pada membran berhubungan dengan prognosis yang buruk dan sesuai dengan keganasan di tempat lainnya seperti pada ovarium, karsinoma paru tipe sel kecil, melanoma, gaster, serviks, payudara, kandung kemih, dan nasofaring. Selanjutnya, menurut mereka β -catenin pada karsinoma kepala dan leher terutama hanya berfungsi sebagai adhesi sel bukan sebagai sinyal molekular. Hal ini disebabkan karena jarang ditemukan adanya mutasi APC dan β -catenin pada karsinoma di daerah kepala dan leher.^{28,44}

Ekspresi β -catenin di inti yang relatif lebih rendah dibandingkan pada keganasan di kolorektal menunjukkan adanya perbedaan mekanisme jalur disregulasi pada berbagai organ. Pada karsinoma kolorektal umumnya ditemukan ekspresi di inti yang dominan yaitu sebesar 58%-80%, namun hasil yang berbeda ditemukan pada karsinoma hati dan pankreas. Pada karsinoma hati ditemukan ekspresi pada inti sebanyak 17%-43%, sedangkan pada pankreas ditemukan hanya 4%-11%.²⁹ Pada penelitian kami ini ekspresi β -catenin di inti umumnya kurang dari 25% atau berkisar antara 0-23% dari seluruh sel tumor KSSO.

KESIMPULAN

Ekspresi β -catenin dapat menunjukkan perubahan morfologi sel-sel KSSO.

DAFTAR PUSTAKA

- Karakida K, Ota Y, Aoki T, Yamazaki H, Tsukinoki K. Examination of factors predicting occult metastasis of the cervical lymph nodes in T1 and T2 tongue carcinoma. *Tokai J Exp Clin Med.* 2002; 27: 65-71.
- Massano J, Regateiro FS, Januario G, Ferreira A. Oral squamous cell carcinoma: review of prognostic and predictive factors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 102: 67-76.
- Markopoulos AK. Current aspects on oral squamous carcinoma. *Open Dent J.* 2012; 6: 126-30.
- Neena PD, Siddharth AS, Keyuri BP, Munira IJ. Histological grading of oral cancer: a comparison of different systems and their relation to lymph node metastasis. *Nat J Comm Med.* 2011; 2: 136-42.
- Nagaraja A. Histopathological study and correlation between invasive tumor front grading and clinical staging of oral squamous cell carcinoma. [dissertation]. Davangere (Bangalore): Rajiv Gandhi University; 2005.
- Bhargava A, Saigal S, Chalishazar. Histopathological grading systems in oral squamous cell carcinoma: a review. *J Int Oral Health.* 2010; 2: 1-10.
- Fang KH, Kao HK, Cheng MH, Chang YL, Tsang NM, Huang YC, *et al.* Histological differentiation of primary oral squamous cell carcinomas in area of betel quid chewing prevalence. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2009; 141: 743-9.
- Dantas DDL, Ramos CCF, Costa ALL, Souza LB, Pinto LP. Clinical-pathological parameter in squamous cell carcinoma of the tongue. *Braz Dent J.* 2003; 14: 22-5.
- Boonkitticharoen V, Kulapaditharom B, Leopairut J, Kraiphibul P, Larbcharoensub N, Cheewaruangroj W, *et al.* Vascular endothelial growth factor and proliferation marker in prediction of lymph node metastasis in oral and pharyngeal squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008; 134: 1305-11.
- Akhter M, Hossain S, Rahman QB, Molla MR. A study on histological grading of oral squamous cell carcinoma and its co-relationship with regional metastasis. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2011; 15: 168-76.
- Ow TJ, Myers JN. Current management of advanced resectable oral cavity squamous cell carcinoma. *Clin Exp Otorhinol.* 2011; 4: 1-10.
- Santii HK, Atula T, Tikka J, Hollmen J, Makitie AA, Leivo I. Predictive value of histopathologic parameters in early squamous cell carcinoma of oral tongue. *Oral Oncol.* 2007; 43: 1007-13.
- Ivkic M, Bedekovic V, Kalogjera L, Cupic H, Ferencic Z. Invasive cell grading-an overview. *Acta Clin Croat.* 2002; 41: 233-6.

14. Yazdi I, Khalili M. Grading of oral cancer: comparison of different systems with respect to lymph node metastasis in tongue scc. *Arc Iran Med.* 1999; 2: 1-9.
15. Bundgaard T, Rossen K, Henriksen SD, Charabi S, Segard H, Grau C. Histopathologic parameters in the evaluation of T1 squamous cell carcinomas of the oral cavity. *Head Neck.* 2002; 24: 656-60.
16. Jalisi S. Management of the clinically negative neck in early squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Otolaryngol Clin N Am.* 2005; 38: 37-46.
17. Gang CZ, Jian SX, Yan G, Jie WM, Yu WC, Yan YG. B-catenin expression pattern in primary oral squamous cell carcinoma. *Chin Med J.* 2008; 121: 1866-70.
18. Bryne M, Koppang HS, Lilleng R, Stene T, Bang G, Dabelsteen E. New malignancy grading is a better prognostic indicator than Broders' grading in oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med.* 1989; 18: 432-7.
19. Bryne M. Is the invasive front of an oral carcinoma the most important area for prognostication? *Oral Dis.* 1998; 4: 70-7.
20. Liu LK, Jiang XY, Zhou XX, Wang DM, Song XL, Jiang HB. Upregulation of vimentin and aberrant expression of E-cadherin/ β -catenin complex in oral squamous cell carcinomas: correlation with the clinicopathological features and patient outcome. *Mod Pathol.* 2010; 23: 213-24.
21. Gensler MB, Teixeira MS, Lewis CM, Lee B, Rolnitzky L, Hille JJ, *et al.* Oral squamous cell carcinoma histologic risk assessment, but not margin status, is strongly predictive of local disease-free and overall survival. *Am J Surg Pathol.* 2005; 29: 167-78.
22. Piffko J, Bankfalvi A, Ofner D, Bryne M, Rasch D, Joos U, *et al.* Prognostic value of histobiological factors (malignancy grading and AGNOR content) assessed at the invasive tumor front of oral squamous cell carcinoma. *Br J Cancer.* 1997; 75: 1543-6.
23. Kurokawa H, Zhang M, Matsumoto S, Yamashita Y, Tomoyose T, Tanaka T, *et al.* The high prognostic value of the histologic grade at the deep invasive front of the tongue squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 2005; 34: 329-33.
24. Costa ALL, Junior RFA, Ramos CCF. Correlation between TNM classification and malignancy histological feature of oral squamous cell carcinoma. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2005; 71: 181-7.
25. Tanaka N, Odajima T, Ogi K, Ikeda T, Satoh M. Expression of E-cadherin, α -catenin, β -catenin in the process of lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma. *Br J Cancer.* 2003; 89: 557-63.
26. Hao PH, Pretlow TG, Rao JS. β -catenin expression is altered in human colonic aberrant crypt foci. *Cancer Res.* 2001; 61: 8085-8.
27. Krisanaprakornkit S, Iamaroon A. Epithelial-mesenchymal transition in oral squamous cell carcinoma. *ISRN Oncol.* 2011; 2012:1-10.
28. Laxmidevi LB, Angadi PV, Pillai RK, Chandreshekar C. Abberant β -catenin expression in the histologic differentiation of oral squamous cell carcinoma and verrucous carcinoma: an immunohistochemical study. *J Oral Sci.* 2010; 52:633-40.
29. White BD, Chien AJ, Dawson DW. Dysregulation of Wnt/ β -catenin signaling in gastrointestinal cancers. *Gastroenterol.* 2012; 142: 219-32.
30. Huang TT, Tzeng JE, Wang YK. Evaluation of the β -catenin expression in the oral squamous cell carcinoma. *Chin J Oral Maxillofac Surg.* 2008; 19: 10-8.
31. Kudo Y, Kitajima S, Ogawa I, Hiraoka M, Sargolzaei S, Keikhaee MR, *et al.* Invasion and metastasis of oral cancer cells require methylation of E-cadherin and/or degradation of membranous β -catenin. *Clin Cancer Res.* 2004; 10: 5455-63.
32. Iwai S, Yonekawa A, Harada C, Hamada M, Katagiri W, Nazakawa M, *et al.* Involvement of the Wnt- β -catenin pathway in invasion and migration of oral squamous carcinoma cells. *Int J Oncol.* 2010; 37: 1095-103.
33. Valkenburg KC, Graveel CR, Diegel CRZ, Zhong Z, Williams BO. Wnt/ β -catenin signaling in normal and cancer stem cells. *Cancer.* 2011; 3: 2050-79.
34. Orsulic S, Huber O, Aberle H, Arnold S, Kemler R. E-cadherin binding prevents β -catenin nuclear localization and β -catenin/LEF-1-mediated transactivation. *J Cell Sci.* 1999; 112: 1237-45.
35. MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/ β -catenin signaling: components, mecha-

- nisms, and diseases. *Dev Cell*. 2009; 17: 9-26.
36. Gale N, Zidar N. Invasive squamous cell carcinoma. In: Cardessa A, Slootweg PJ, editors. *Pathology of the Head and Neck*. 1st ed. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2006; p.13.
 37. Johnson N, Franceschi S, Ferlay J, Ramadas K, Schmid S, MacDonald, *et al*. Squamous cell carcinoma. In: Barnes L, Veson JW, Reichart P, Sidransky D, editors. *World Health Organization-Pathology and genetics of head and neck tumours*. Switzerland: IARC Press; 2005. p.168.
 38. Omar EA. The outline of prognosis and new advances in diagnosis of oral squamous cell carcinoma (OSCC): review of the literatur. *J Oral Oncol*. 2013; 13: 1-13.
 39. Albar ZA, Tjindarbumi D, Ramli M, Lukito P, Reksoprawiro, Handojo D, *et al*. *Protokol Peraboi-Perhimpunan Ahli Bedah Onkologi Indonesia*. SMF Ilmu Bedah FK Unpad: Bandung; 2003.
 40. Al-Rawi N, Talabani NG. Squamous cell carcinoma of the oral cavity: a case series analysis of clinical presentation and histological grading of 1,425 cases from Iraq. *Clin Oral Invest*. 2008; 12: 15-8.
 41. Zygogianni AG, Kyrgias G, Karakitsos P, Psyrri A, Kouvaris J, Kelekis N, *et al*. Oral squamous cell cancer: early detection and the role of alcohol and smoking. *Head Neck Oncol*. 2011; 3: 1-12.
 42. Pukkila MJ, Virtaniemi JA, Kumpulainen EJ, Pirinen EJ, Johansson RT, Valtonen HJ, *et al*. Nuclear β -catenin expression is related to unfavourable outcome in oropharyngeal and hypopharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Pathol*. 2001; 54: 42-7.
 43. Yun X, Wang L, Cao L, Okada N, Miki Y. Immunohistochemical study of β -catenin and functionally related molecular markers in tongue squamous cell carcinoma and its correlation with cellular proliferation. *Oncol Lett*. 2010; 1: 437-43.
 44. Yu Z, Weinberger PM, Provost E, Haffty BG, Sasaki C, Joe J, *et al*. β -catenin functions mainly as an adhesion molecule in patients with squamous cell cancer of the head and neck. *Clin Cancer Res*. 2005; 11: 2471-7.
 45. Zhu EX, Li XM, Zhu L, Yao BS, Xiao J. Expression of Wnt5 and β -catenin in Chinese oral squamous carcinoma of tongue. *J Hard Tissue Bio*. 2005;14:247-8.