

DISERTASI

EKSPRESI PROTEIN c-erbB2, p53, pRb DAN MIB-1 PADA KARSINOMA DUKTAL PAYUDARA INSITU, INVASIF DAN METASTASIS

**Kajian Biologi Molekuler Dalam Usaha Mencari Parameter Sebagai
Faktor Prognosis**



IMAM SUSILO

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006**



**EKSPRESI PROTEIN c-erbB2, p53, pRb DAN MIB-1
PADA KARSINOMA DUKTAL PAYUDARA
INSITU, INVASIF DAN METASTASIS**

**Kajian Biologi Molekuler Dalam Usaha Mencari Parameter Sebagai
Faktor Prognosis**

DISERTASI

Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga
Telah dipertahankan di hadapan
Panitia Ujian Doktor Terbuka
Pada hari : Rabu
Tanggal : 12 April 2008
Pukul 10.⁰⁰ WIB

Oleh :

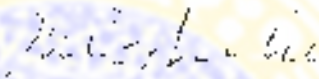
**IMAM SUSILO
NIM : 090214913-D**

LEMBAR PENGESAHAN

**DISERTASI INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL, 20 APRIL 2006**

Oleh :

Promotor


Prof. Dr. Julati Hood A, dr, MS, Sp.PA(K), FIAC
NIP. 130 517 159

Ko-promotor

Prof. Soetjipto, dr., MS., Ph.D
NIP. 130 687 606

Ko-promotor

Prof. Boediwarsono, dr., Sp.PD-KHOM
PGD. Pall. Med (ECU)
NIP. 130 355 353

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

iii

**Telah diuji pada Ujian Doktor Tahap I (Tertutup)
Tanggal 22 Februari 2006**

PANITIA PENGUJI DISERTASI

Ketua :

Prof. Kuntoro, dr., M.PH., Dr.PH

Anggota :

Prof. Dr. Juliati Hood A., dr., MS., Sp.PA (K) FIAC

Prof. Soetjipto, dr., MS., Ph.D

Prof. Baediwarsono, dr., Sp.PD-KHOM PGD Pall Med (ECU)

Prof. Rahmat Santoso, dr., Sp.PA (K)

Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr., MS

Prof. Dr. Yjahyono, dr., Sp.PA (K), FIAC

Dr. Ketut Sudiana, drs., MS

Ditetapkan dengan.

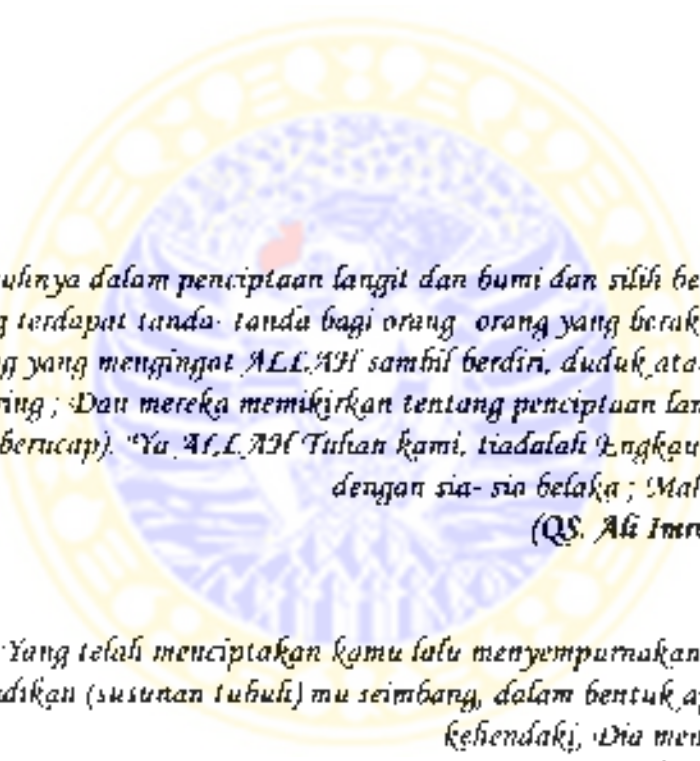
Surat Keputusan Rektor Universitas Airlangga

Nomor : 1550/J03/P1/2006

Tanggal : 4 Maret 2006

*Dengan Menyebut Asma ALLAH Yang Maha Pengasih dan Maha
Penyayang*

*Kupersembahkan kepada:
Almamater
Orang tua, Istri dan Anak-anakku tercinta*



Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat ALLAH sambil berdiri, duduk, atau dalam keadaan berbaring; Dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi itu (seraya berucap): "Ya ALLAH Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia belaka; Maha Suci Engkau!"
(QS. Ali Imron, 3 : 190 - 191)

(Dia) Yang telah menciptakan kamu lalu menyempurnakan kejadianmu dan menjadikan (susunan tubuh) mu seimbang, dalam bentuk apa saja yang Dia kehendaki, Dia menyusun tubuhmu.
(QS. Al Infithar, 82 : 7 - 8)

... Dan sekali-kali tidak dipanjangkan umur seseorang yang berumur panjang dan tidak pula dikurangi umurnya melainkan (sudah ditetapkan) dalam Kitab (Lauh Mahfuzh). Sesungguhnya yang demikian itu bagi ALLAH adalah mudah!
(QS. Fathir, 35 : 11)

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhammdulillahirobbil'alamin, segala puji syukur saya panjatkan kehadirat ALLAH Subhanahu wa ta 'ala atas segala rahmat, hidayah dan inayahNYA yang dilimpahkan kepada saya, sehingga dapat menyelesaikan disertasi ini.

Dengan selesainya disertasi ini, maka dengan rasa syukur saya sampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Prof. Dr. Juliati Hood A., dr. MS, Sp.PA(K) FIAC, guru besar dalam bidang Patologi di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. selaku Promotor beliau telah menghantarkan saya melewati jenjang pendidikan tertinggi. Dari beliau saya mendapatkan wawasan keilmuan yang luas dan senantiasa menekankan bagaimana seharusnya seorang ilmuwan bersikap dan mengamalkan ilmunya sesuai dengan tanggung jawabnya kepada ALLAH Sang Pemilik Segala Ilmu. Sebagai Promotor beliau senantiasa menyediakan waktunya untuk membimbing dengan segala kesabaran dan senantiasa mendorong semangat serta meningkatkan rasa percaya diri saya. Saya sangat bersyukur telah menjadi anak bimbing beliau sejak pendidikan Program Dokter Spesialis Patologi. Semoga ALLAH SWT melimpahkan rahmat dan hidayahNYA serta melipat gandakan pahalaNYA untuk beliau.

Terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya juga saya sampaikan kepada Prof. Soetjipto, dr. MS, PhD, guru besar Biokimia di

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, selaku Ko-Promotor beliau senantiasa menyediakan waktu dan membimbing untuk menyempurnakan disertasi saya. Dengan ilmunya yang luas beliau telah membimbing saya dengan kritis, khususnya dalam substansi ilmu yang saya tekuni. Beliau senantiasa berpandangan ke depan dan menekankan untuk selalu mengikuti perkembangan ilmu. Semoga ALLAH SWT membalas beliau dengan pahala yang berlipat ganda.

Demikian pula penghargaan dan terima kasih yang tidak terhingga saya sampaikan kepada Prof. Boediwarsono, dr, SpPD-KHOM, PGD, Pall Med (ECU), guru besar Ilmu Penyakit Dalam di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, selaku Ko-Promotor telah membimbing saya sampai selesainya disertasi. Beliau selalu memberi masukan hal-hal yang baru dan dengan ilmunya yang luas beliau senantiasa memberi wawasan perkembangan keilmuan untuk menyempurnakan disertasi saya. Semoga ALLAH SWT membalas beliau dengan pahala yang berlipat ganda.

Pemerintah Republik Indonesia, dalam hal ini Departemen Pendidikan Nasional yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti Program Pasca Sarjana dengan bantuan dana Tim Managemen Program Doktor, sehingga meringankan beban saya dalam menyelesaikan disertasi ini.

Rektor Universitas Airlangga Prof. DR.Med. Puruhito, dr, Sp B TKV (K) , yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Program Doktor di Universitas Airlangga Surabaya.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof. Muhammad Amin, dr .Sp P (K) , yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Program Doktor di Universitas Airlangga

Rasa terima kasih juga saya sampaikan kepada Prof. Dr. Mandojo Rukmo, org. MSc. SpKG, selaku Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga dan Prof. Dr. Juliat Hood A, dr , MS, SpPA(K). FIAC, mantan Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga atas perhatian dan nasehat yang dibenkan kepada saya selama mengikuti program pendidikan Doktor

Kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof. Dr. H. MS Wiyadi, dr, Sp.THT (K) , saya sampaikan terima kasih atas ijin serta dorongan yang dibenkan kepada saya untuk menyelesaikan pendidikan doktor

Kepada Direktur RSU. Dr. Soetomo Surabaya H. Slamet Riyadi Yuwono, dr. DTM&H, MARS, saya sampaikan terima kasih atas ijin serta dorongannya.

Kepada Prof. HR. Hariadi, dr, SpOG-KFER dan tim Panitia Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Soetomo Surabaya, saya sampaikan terima kasih atas arahan dan petunjuk dalam penelitian ini.

Kepada Ketua Bagian / SMF. Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya Prof. Dr. Juliati Hood A, dr, MS, Sp.PA(K), FIAC dan Prof. Soegeng Soekanto M, dr, MS, Sp PA(K), PhD, (Alm), saya sampaikan terima kasih atas keletuasaan kesempatan yang diberikan kepada saya serta dorongan yang tiada hentinya sehingga saya mampu menyelesaikan pendidikan Doktor. Kepada Almarhum, semoga diterima dan ditempatkan di tempat yang mulia disisi ALLAH SWT.

Sekali lagi kepada Ketua Bagian / SMF. Patologi Anatomi dan Kepala Bagian / SMF Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya, atas ijin yang diberikan kepada saya untuk menggunakan fasilitas dan bahan jaringan dari penderita karsinoma payudara di kedua bagian yang beliau pimpin

Kepada Kepala Divisi Imunohistokimia Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Dr. Juliati Hood A., dr, MS, SpPA(K), FIAC, atas perkenannya memakai segala fasilitas dan bantuannya, saya sampaikan terima kasih.

Kepada para sejawat di Bagian / SMF / Instalasi Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya

yang mendiagnosis penderita, pada jaringan tumor yang dipakai penelitian, saya sampaikan terima kasih dan penghargaan yang tinggi.

Kepada para sejawat di Bagian / SMF / Instalasi Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Soetomo Surabaya yang melakukan pembedahan terhadap penderita, pada jaringan tumor yang dipakai penelitian, saya sampaikan terima kasih dan penghargaan yang tinggi

Kepada Prof Kuntoro dr MPH, Dr PH, yang banyak membantu dan memberikan konsultasi metodologi penelitian dan analisis penelitian sehingga penelitian ini dapat diselesaikan, saya sampaikan terima kasih

Kepada saudara Tito dan Ary yang telah membantu dalam proses pengumpulan sampel dan pemeriksaan imunohistokimia di Divisi Imunohistokimia Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, saya sampaikan terima kasih.

Kepada seluruh staf dan karyawan di Bagian / SMF Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Soetomo atas segala perhatian, kebersamaan dan bantuan yang diberikan kepada saya selama menempuh pendidikan Doktor khususnya saat mengerjakan penelitian sampai selesainya disertasi ini. Semoga rahmat dan hidayah ALLAH SWT dilimpahkan kepada semuanya

Kepada semua guru saya pada masa pendidikan: Sekolah Dasar Sekolah Menengah Pertama, Sekolah Menengah Atas (Sekolah Menengah Pembangunan Persiapan) serta para Dosen saya di Fakultas

Kedokteran Universitas Airlangga. saya sampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya atas didikan dan bimbingan yang telah diberikan kepada saya

Kepada para Dosen, saat saya menempuh pendidikan Spesialis Patologi di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSU. Dr Soetomo Surabaya. saya sampaikan penghargaan yang tinggi atas didikan dan bimbingan yang telah diberikan kepada saya

Ungkapan terima kasih saya sampaikan kepada para Dosen saya di Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof. Eddy Pranowo Soedibyo, dr MPH (Alm), Fuad Amsyari, dr MPH, PhD, Prof. Dr Zainudin, Apt, Prof Soegeng Soekamto, dr. MS, SpPA(K) PhD (Alm), Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr. MS, Widodo J. Pudjirahardjo, dr. MS, MPH, Dr PH, Prof. Dr. Lasyo., Siti Pariani, dr. MS, MSc, PhD., Prof Ari Gunawan, dr. MS, PhD, Prof. Dr.sc.med. Harmut Kuehn., Dr. Ni Made Mertaningsih, dr, SpMK., Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr., ABK., Dr Watadianta, dr, MS, Sp.PA(K), Dr Fedik Abdul Rantam, drh, MS., dan masih banyak staf pengajar lainnya yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang telah menambah dan meningkatkan wawasan keilmuan saya selama masa pendidikan Doktor.

Ungkapan terima kasih dan penghargaan yang tiada tara tingginya, saya haturkan kepada ayah saya Almarhum Soeboer dan ibu saya Ngatipah yang telah membesarkan, mendidik, mendo'akan dan membentuk kepribadian saya. Kepada ayah saya semoga ALLAH SWT

mengampuni segala kekurangan dan menempatkan beliau di tempat yang mulia di sisiNYA. Semoga ALLAH SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayahNYA kepada ibu saya. Demikian juga kepada ayah mertua Abdul Ghoni dan ibu mertua Siti Maisaroh yang senantiasa menasehati dan mendo'akan saya sekeluarga untuk mencapai kebaikan di dunia dan akhirat, penghormatan dan penghargaan yang tinggi kepada beliau berdua, semoga ALLAH SWT melimpahkan rahmat dan hidayahNYA.

Kepada yang terhormat istri saya Dian Agami Islam, dr. SpOG yang telah merelakan saya mengikuti pendidikan Doktor yang senantiasa mendampingi dan mendorong saya serta senantiasa membantu saya dengan do'a dan kesabarannya, tidak ada kata yang dapat saya ucapkan selain syukur kehadiratNYA. Semoga ALLAH SWT senantiasa melimpahkan petunjuk, rahmat, hidayah dan inayahNYA. Semua ini telah menjadi kekuatan bagi saya untuk mampu menyelesaikan pendidikan Doktor. Kepada kedua anak saya Abdur Rahman dan Firda Hanifah kalian adalah amanah dan karunia ALLAH Yang Maha Besar kepada bapak dan ibu, sikap dan ketaatan kalian selama ini telah menjadikan semangat dan kekuatan bagi bapak untuk tetap melangkah kedepan. Do'a bapak semoga kalian menjadi anak yang sholeh dan sholehah di dalam Indungan ALLAH Subhanahu wa ta'ala. Bapak minta maaf atas sebagian hak-hak kalian yang tidak sempat bapak peruhi selama menyelesaikan pendidikan ini.

Akhirnya kepada semua pihak, teman sejawat, keluarga dan saudara yang tidak sempat saya sebutkan satu persatu, yang telah berjasa dalam hidup saya dan membantu selama masa pendidikan, saya sampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya, semoga ALLAH SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan karuniaNYA. Amin Ya Robbal 'alamin.



RINGKASAN

Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 Pada Karsinoma Duktal Payudara Insitu, Invasif dan Metastasis

Imam Susilo

Karsinoma payudara adalah tumor ganas yang banyak ditemukan pada perempuan. Tumor ini memiliki perilaku biologis yang heterogen sehingga pengetahuan mengenai petanda tumor menjadi sangat penting untuk menentukan prognosis dan terapi terhadap penyakit tersebut. Penentuan diagnosis, prognosis dan pilihan terapi sampai saat ini, terutama masih didasarkan pada keadaan klinis dan morfologis, walaupun berbagai penelitian terakhir menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang erat antara pertumbuhan karsinoma dengan kelainan yang terjadi pada tingkat molekuler yang sifatnya tidak tunggal. Target kelainan pada tingkat ini adalah gen regulasi sel yang terdiri dari gen pemicu pertumbuhan (*proto-oncogene*), gen penghambat pertumbuhan (*tumor supresor gene*), gen pengendali apoptosis (*programmed cell death gene*) dan gen yang termasuk dalam perbaikan DNA (*DNA repair genes*). Oleh karena itu diperlukan usaha untuk dapat menjelaskan perubahan yang terjadi pada tingkat molekuler sebagai landasan yang kuat untuk menentukan prognosis dan terapi karsinoma duktal payudara. Masing-masing gen tersebut menyandi protein tertentu (*onco-protein*) yang dapat mengendalikan aktivitas biologis sel kanker dan dapat dideteksi melalui metode pemeriksaan tertentu.

Tujuan penelitian ini adalah menjelaskan mekanisme perbedaan ekspresi protein c-erbB2 (*oncogene*), p53 (*apoptosis – repair gene*), pRb (*tumor supresor gene*) dan MIB-1 (*proliferation gene*) pada berbagai ukuran diameter tumor, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis karsinoma duktal payudara.

Rancangan penelitian ini adalah menggunakan *cross sectional study* dengan jenis penelitian analisis observasional, dan pengambilan sampel secara random.

Tiga puluh sampel berupa jaringan tumor pada penderita karsinoma duktal payudara (NOS / NST) di Bagian / SMF / Instalasi Patologi Anatomi yang diterima dari Bagian / SMF / Instalasi Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD. Dr. Soetomo Surabaya, dipilih dari keseluruhan sampel karsinoma payudara mulai dari Februari 2003 sampai Maret 2005, yang terdiri dari tiga kelompok, yaitu karsinoma duktal insitu 10 sampel, karsinoma duktal invasif 10 sampel dan karsinoma duktal metastasis 10 sampel. Penentuan besar sampel untuk keseluruhan kelompok didasarkan pada penelitian pendahuluan yang dilakukan sebelumnya. Kriteria inklusi penelitian ini adalah sampel pasien karsinoma duktal payudara di Bagian / SMF / Instalasi Patologi Anatomi yang diterima dari Bagian / SMF / Instalasi Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD. Dr. Soetomo Surabaya, umur 30 – 70 tahun, perempuan, tidak menderita keganasan lain, tidak menderita infeksi secara klinis. Semua sampel pasien karsinoma duktal payudara dilakukan pemeriksaan ulang terhadap data dan morfologi untuk menentukan identitas, morfologi (makroskopis dan mikroskopis), diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis karsinoma duktal payudara. Kemudian seluruh sampel dilakukan pemeriksaan biologik terhadap ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1.

Pemeriksaan imunopatologik dilakukan dengan cara menggunakan metode imunohistokimia, menggunakan antibodi monoklonal terhadap protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1. Penilaian dan pengukuran variabel dari pemeriksaan imunopatologik dilakukan dengan cara menghitung jumlah sel per 200 sel tumor yang imunoreaktif pada permukaan sel untuk ekspresi protein c-erbB2, dan pada inti sel untuk ekspresi protein p53, pRb dan MIB-1. Pemeriksaan imunohistokimia untuk semua sampel dilakukan di Divisi Imunohistokimia Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

Analisis yang digunakan dalam penelitian adalah analisis multivariat, dengan menggunakan program SPSS, yang dimaksudkan untuk mendapatkan perbedaan ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai ukuran diameter, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis karsinoma duktal payudara.

Berdasarkan uji multivariat metode Wilks' Lambda menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb, dan MIB-1 secara bersama berbeda terhadap berbagai ukuran diameter, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis karsinoma duktal payudara ($p=0,000 < \alpha=0,05$), kecuali ekspresi MIB-1 tidak signifikan terhadap berbagai *grading* histopatologis ($p=0,051 > \alpha=0,05$).

Uji multivariat dari variabel ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 terhadap berbagai ukuran diameter karsinoma duktal payudara, menunjukkan bahwa protein c-erbB2 diekspresikan oleh tumor paling tinggi. Uji multivariat terhadap variabel ekspresi protein pada berbagai diferensiasi karsinoma duktal payudara, menunjukkan bahwa variabel protein c-erbB2 diekspresikan oleh tumor paling tinggi dan diikuti oleh protein p53, MIB-1 dan pRb. Sedangkan uji multivariat terhadap variabel ekspresi protein pada berbagai progresivitas pertumbuhan karsinoma duktal payudara, menunjukkan protein c-erbB2 diekspresikan oleh tumor paling tinggi dan diikuti oleh protein p53, MIB-1 dan pRb. Hal yang sama juga pada uji multivariat terhadap variabel ekspresi protein pada berbagai *grading* histopatologis karsinoma duktal payudara, menunjukkan bahwa variabel protein c-erbB2 diekspresikan oleh tumor paling tinggi dan diikuti oleh protein p53, dan pRb, sedangkan tidak demikian dengan protein MIB-1 yang kurang signifikan.

Analisis klasifikasi data pada berbagai pengelompokan penelitian (diameter, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis), menunjukkan bahwa sistem pengelompokan data berdasarkan diferensiasi sel tumor adalah yang terbaik. Hal ini dapat

ditunjukkan dengan hasil uji klasifikasi data pada pengelompokan penelitian, yang menunjukkan bahwa pengelompokan data berdasarkan diferensiasi terdapat sebanyak 22 kasus dengan diferensiasi buruk yang terklasifikasi dengan benar atau sebesar 73,3 %

Dari penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa protein c-erbB2, p53, pRb, dan MIB-1 secara bersama diekspresikan berbeda secara signifikan terhadap berbagai ukuran diameter tumor, diferensiasi progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis (kecuali MIB-1 terhadap *grading* histopatologis dengan $p=0.000 < \alpha=0,05$). Perilaku biologis sel karsinoma duktal payudara yang tercermin dari tampilan klinis dan morfologis ditentukan oleh lesi genetik yang sifatnya tidak tunggal

Diferensiasi sel tumor, ekspresi protein c-erbB2 dan p53 karsinoma duktal payudara adalah faktor prognosis terbaik yang mempunyai nilai signifikan paling tinggi pada penelitian dan diharapkan dapat digunakan untuk menentukan prognosis dan terapi yang sesuai terhadap pasien karsinoma duktal payudara.

SUMMARY

Protein Expression c-erbB2, p53, pRb and MIB-1 in Breast Cancer Imam Susilo

Breast cancer is a malignant tumor mostly disclosed in women. It has heterogenous biological behaviour - so that the knowledge of tumor markers is very important to determine its prognosis and therapy. Up to now, the determination of prognosis and treatment of choice is still based on clinical and morphologic finding although recent studies pointed out that there was tight relationship between carcinoma growth and molecular abnormalities including normal cell gene consisting of proto-oncogene, tumor suppressor gene, programmed cell death and DNA repair gene. Therefore, the description of molecular changes is required - in determining the prognosis and therapy of breast cancer. Each of gene as oncoprotein can control the proliferation of cancer cells and be detected by a certain method of investigation.

The aim of study is to describe the different of protein expression c-erbB2 (oncogene), p53 (apoptosis – repair gene), pRb (tumor suppresor gene) and MIB-1 (proliferation gene) in various diameters, cell differentiation, progressiveness and grade of breast cancer.

The design of study used cross section study, analysis observational study, and random sample taking.

30 samples of tumor specimens from the patients with breast cancer, received from Surgical Department, at Pathologic Anatomic Department of Dr. Soetomo Hospital, Medical School, Airlangga University, Surabaya were randomly selected. The samples of breast cancer from February 2003 to March 2005, consisting of three groups, ie, 10 samples of in situ breast cancer, 10 samples of invasive ductal carcinoma, and 10 samples of metastatic ductal carcinoma. The determination of total number of all groups was based on the previous study. Inclusion criteria of study were samples from patient with breast

cancer received from Surgical Department at Pathologic Anatomic Department of Dr. Soetomo Hospital, Medical Faculty, Airlangga University, Surabaya; 30-70 years old ; female ; no other malignancies ; no clinical infection. The data and morphology of all samples of breast cancer patients were reexamined to determine identity, morphology (macroscopy and microscopy), the differentiation of tumor, tumor cell growth progression and grade. Then, to all samples of in situ, invasive, and metastatic ductal carcinoma were undertaken biologic investigation of protein expression c-erbB2, p53, pRb and MIB-1.

Immunopathologic investigation was carried out by using immunohistochemical method, with antibody monoclonal against protein c-erbB2, p53, pRb and MIB-1. The assesment and variable measurement of biologic investigation were conducted by quantifying a number of cells per 200 tumor cells which positively react in the surface of cells by protein expression c-erbB2, and nuclei by protein expression p53, pRb and MIB-1. Immunohistochemical examination of all samples was performed in the Immunohistochemical Division of Pathologic Anatomic Department, Dr. Soetomo Hospital, Medical School, Airlangga University, Surabaya.

Multivariate analysis using SPSS programe to obtain the difference of protein expression c-erbB2, p53, pRb and MIB-1 with various diameters, cell differentiation progressiveness and grade of ductal carcinoma was exerted.

Based on multivariate test of Wilks' Lambda method, protein expression of c-erbB2, p53, pRb and MIB-1 was concomitantly different in various tumor diameters of breast cancer ($p = 0,000 < \alpha = 0,05$). With methode of Wilks' Lambda method, protein expression c-erbB2, p53, pRb and MIB-1 was simultaneously different in various carcinoma cell differentiation of breast cancer ($p = 0,000 < \alpha = 0,05$) and with Wilks' Lambda method, protein expression c-erbB2, p53, pRb and MIB-1 was concomitantly different in various progressiveness of ductal carcinoma growth ($p = 0,000 < \alpha = 0,05$). Also with Wilks' Lambda method, protein

expression c-erbB2, p53, and pRb (without MIB-1) was concomitantly different in various grade of ductal carcinoma ($p = 0,000 < \alpha = 0,05$).

Variable multivariate test of protein expression c-erbB2, p53, pRb and MIB-1 in various diameters of ductal carcinoma revealed that protein c-erbB2 was expressed by most tumor, then followed by protein p53, MIB-1 and pRb consecutively. Multivariate variable test of various degree of differentiated of ductal carcinoma cell designated that variable of protein c-erbB2 was expressed by most tumor (the highest in moderate cell differentiation group); then, followed by protein p53, MIB-1 and pRb, whereas, variable multivariate test of various progressiveness of ductal carcinoma growth showed that there was similar result, ie, variable of protein c-erbB2 was expressed by most tumor (the highest in invasive group) and then, followed by protein p53, MIB-1 and pRb; also variable multivariate test of various grade of ductal carcinoma showed that similar result, ie, c-erbB2 was expressed by most tumor and then, followed by protein p53 and pRb.

It is concluded that protein c-erbB2, p53, pRb and MIB-1 simultaneously expressed are significantly different in various tumor diameters, cell differentiation, progressiveness and grading (without MIB-1) of ductal carcinoma ($p = 0,000 < \alpha = 0,05$). Variable of protein c-erbB2 is expressed by the most tumor and followed by protein p53, MIB-1 and pRb in various tumor diameters, cell differentiation, progressiveness and grade (without MIB-1) of ductal carcinoma ($p = 0,000 < \alpha = 0,05$). By identifying the difference of protein expression, expected to complete the available parameter and used as a principle to determine prognosis and proper therapy of patients with breast cancer

This study suggest that the result of study can to determine prognosis and appropriate therapy in the patients with breast cancer. Author suggest that the result of study can to describe the mechanism of protein expression changes to the progressiveness of breast cancer growth

ABSTRACT

Protein Expression c-erbB2, p53, pRb and MIB-1 in Breast Cancer

Imam Susilo

Cancer of the breast is one of the most common human neoplasms, accounting for approximately one quarter of all cancers in females. It is associated with the lifestyle, and still occupies the second rank of females cancers morbidity and mortality rate in Indonesia. Early detection and advances in treatment have begun to reduce mortality rates in several countries. Breast cancer is further characterized by a marked genetic susceptibility. Through the use of protein gene expression profile, it may become possible to predict clinical outcome in individual patients. Molecular pathologic approach may offer a prospective promise even though the genetic mechanism of molecular carcinogenesis of breast cancer is still unclear.

In this study, we attempt to explain the role of mechanism of c-erbB2, p53, pRb and MIB-1 oncoprotein expression on cancer cells based on molecular pathology science. By using immunohistochemistry examination, it showed cellular activity in carcinogenesis of breast cancer.

The statistic was investigated by using multivariate analysis-design of protein gene expression measured and counted with Olympus microscope BX-50 Japan, from immunohistochemistry processing with monoclonal antibody to identify the differences of protein gene expression in breast cancer with ≤ 2 cm, $> 2 - \leq 5$ cm, and > 5 cm diameters, the differences of protein gene expression in breast cancer with well, intermediately and poorly differentiated cell tumors; the differences of protein gene expression in breast cancer with insitu, invasive and metastatic progression, and the differences of protein expression in low, intermediate and high grade tumors.

The result designated that there was a significant difference among four breast cancer groups ($p = 0,000 < \alpha = 0,05$) and all oncoprotein expression (without MIB-1) contributed on cellular activity in carcinogenesis of breast cancer. The most significant prognostic indicator among these biological parameters were differentiated cell tumor and protein gene expression (c-erbB2 and p53). It showed that malignancy occurred in genetic lesion accumulation.

Key words: Breast cancer, Prognosis, Molecular pathological role (c-erbB2, p53, pRb and MIB-1 protein expression)

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Persetujuan	iii
Penetapan	iv
DAFTAR ISI	xxii
DAFTAR TABEL	xxix
DAFTAR GAMBAR	xxxiv
DAFTAR SINGKATAN	xxxviii
DAFTAR LAMPIRAN	xlii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.3.1 Tujuan umum	9
1.3.2 Tujuan khusus	9
1.4 Manfaat Penelitian	10
1.4.1 Manfaat ilmiah	10
1.4.2 Manfaat praktis	10
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1 Anatomi dan Histologi Payudara	11

2.2 Epidemiologi Karsinoma Duktal Payudara	14
2.3 Patogenesis Karsinoma Duktal Payudara	17
2.3.1 Faktor resiko	18
2.3.1.1 Kehidupan reproduksi	19
2.3.1.2 Hormonal eksogen	20
2.3.1.3 Nutrisi	22
2.3.1.4 Alkohol	23
2.3.1.5 Rokok	23
2.3.1.6 Berat badan	23
2.3.1.7 Aktivitas fisik	25
2.3.1.8 Hormonal endogen	25
2.3.1.9 Paparan bahan spesifik	27
2.3.2 Karsinoma duktal payudara	29
2.3.2.1 Karsinoma duktal insitu	30
2.3.2.2 Karsinoma duktal invasif	35
2.3.2.3 Karsinoma duktal metastasis	38
2.3.3 Gradasi histologis dan stadium klinis	39
2.4 Sinyal Transduksi	44
2.4.1 Reseptor dan faktor pertumbuhan	47
2.4.2 Aktivasi reseptor dan autofosforilasi	49
2.4.3 <i>Cytoplasmic tyrosine kinase</i>	51
2.4.4 Kaskade protein kinase	53
2.5 Proliferasi Sel	54

2.6 Siklus Sel	56
2.7 Karsinogenesis	58
2.7.1 Proto onkogen – onkogen	60
2.7.1.1 Protein gen c-erbB2	61
2.7.2 Gen supresor tumor	68
2.7.2.1 Protein Rb	68
2.7.3 Gen perbaikan DNA	70
2.7.3.1 Protein p53	71
2.8 Kematian Sel	73
2.8.1 Apoptosis	73
2.8.2 Nekrosis	76
2.9 Parameter Proliferasi Sel	77
2.9.1 Protein MIB-1	77
2.10 Imunohistokimia	79
2.10.1 Metode kompleks avidin biotin	81
2.10.2 Metode peroksidase anti peroksidase	82
2.10.3 Metode alkalifosfatase anti alkalifosfatase	83
2.10.4 Metode streptavidin biotin	83
2.11 Fluorescence In Situ Hybridization(FISH)	84
2.12 Ekspresi Genetik	86
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	88
3.1 Kerangka Konseptual	88
3.2 Hipotesis	91

BAB 4 METODE PENELITIAN	92
4.1 Jenis Penelitian	92
4.2 Rancangan Penelitian	92
4.3 Bagan Rancangan Penelitian	94
4.4 Kerangka Operasional Penelitian	95
4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian	96
4.6 Bahan Penelitian	97
4.7 Unit Analisis	97
4.8 Penentuan Besar Sampel	98
4.9 Variabel Penelitian	99
4.10 Batasan Operasional	100
4.11 Kriteria Sampel dan Kriteria Inklusi	104
4.11.1 Kriteria sampel	104
4.11.2 Kriteria inklusi kelompok kasus	104
4.12 Cara Kerja	105
4.13 Analisis Data	112
4.14 Etik Penelitian	112
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	113
5.1. Data Penelitian	113
5.2 Data Ekspresi Protein pada Berbagai Variabel Penelitian	118
5.2.1 Ekspresi c-erbB2 pada diameter KDPD insitu	118
5.2.2 Ekspresi c-erbB2 pada diameter KDPD invasif	119
5.2.3 Ekspresi c-erbB2 pada diameter KDPD metastasis	120

5.2.4	Ekspresi p53 pada diameter KDPD insitu	121
5.2.5	Ekspresi p53 pada diameter KDPD invasif.....	121
5.2.6	Ekspresi p53 pada diameter KDPD metastasis	122
5.2.7	Ekspresi pRb pada diameter KDPD insitu	123
5.2.8	Ekspresi pRb pada diameter KDPD invasif.	124
5.2.9	Ekspresi pRb pada diameter KDPD metastasis.	125
5.2.10	Ekspresi MIB-1 pada diameter KDPD insitu	126
5.2.11	Ekspresi MIB-1 pada diameter KDPD invasif.	127
5.2.12	Ekspresi MIB-1 pada diameter KDPD metastasis	128
5.2.13	Ekspresi c-erbB2 diferensiasi KDPD insitu	129
5.2.14	Ekspresi c-erbB2 pada diferensiasi KDPD invasif.	130
5.2.15	Ekspresi c-erbB2 pada diferensiasi KDPD metastasis.	131
5.2.16	Ekspresi p53 dan diferensiasi KDPD insitu	132
5.2.17	Ekspresi p53 pada diferensiasi KDPD invasif.	133
5.2.18	Ekspresi p53 pada diferensiasi KDPD metastasis.	134
5.2.19	Ekspresi pRb pada diferensiasi KDPD insitu	135
5.2.20	Ekspresi pRb pada diferensiasi KDPD invasif.	136
5.2.21	Ekspresi pRb pada diferensiasi KDPD metastasis	137
5.2.22	Ekspresi MIB-1 pada diferensiasi KDPD insitu	138
5.2.23	Ekspresi MIB-1 pada diferensiasi KDPD invasif	139
5.2.24	Ekspresi MIB-1 pada diferensiasi KDPD metastasis	140
5.2.25	Ekspresi c-erbB2 pada <i>grading</i> KDPD invasif.	141
5.2.26	Ekspresi c-erbB2 pada <i>grading</i> KDPD metastasis	141

5.2.27. Ekspresi p53 pada <i>grading</i> KDPD invasif.....	142
5.2.28. Ekspresi p53 pada <i>grading</i> KDPD metastasis	143
5.2.29. Ekspresi pRb pada <i>grading</i> KDPD invasif.	144
5.2.30. Ekspresi pRb pada <i>grading</i> KDPD metastasis	144
5.2.31. Ekspresi MIB-1 pada <i>grading</i> KDPD invasif.....	145
5.2.32. Ekspresi c-erbB2 pada <i>grading</i> KDPD metastasis	146
5.3. Analisis Data Penelitian	147
5.3.1 Uji Normalitas data penelitian	147
5.3.2 Analisis ekspresi protein pada diameter KDPD	147
5.3.2.1 Uji homogenitas data	147
5.3.2.2 Analisis variabel data	148
5.3.3 Analisis ekspresi protein pada diferensiasi KDPD	154
5.3.3.1 Uji homogenitas data	154
5.3.3.2 Analisis variabel data	155
5.3.4 Analisis ekspresi protein pada progresivitas KDPD	161
5.3.4.1 Uji homogenitas data	161
5.3.4.2 Analisis variabel data	161
5.3.5 Analisis ekspresi protein pada <i>grading</i> KDPD	167
5.3.5.1 Uji homogenitas data	167
5.3.5.2 Analisis variabel data	167
5.4 Analisis Klasifikasi Data pada Pengelompokan Penelitian	173
BAB 6 PEMBAHASAN	191
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	215

7.1 Kesimpulan	215
7.2 Saran	217
DAFTAR PUSTAKA	218
LAMPIRAN	228



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Jumlah Kanker Payudara Perempuan di Surabaya dan Sekitarnya Tahun 1988 sampai Tahun 2000	15
Tabel 2.2 Gambaran Kejadian Lima Kanker Terbanyak pada Perempuan di Amerika Serikat	16
Tabel 5.1 Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 Pada Berbagai Diameter, Diferensiasi, Progresivitas dan Grading Histopatologis KDPD Insitu	113
Tabel 5.2 Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 Pada Berbagai Diameter, Diferensiasi, Progresivitas dan Grading Histopatologis KDPD Invasif	115
Tabel 5.3 Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 Pada Berbagai Diameter, Diferensiasi, Progresivitas dan Grading Histopatologis KDPD Metastasis	116
Tabel 5.4 Ekspresi Protein c-erbB2 Pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD Insitu	118
Tabel 5.5 Ekspresi Protein c-erbB2 Pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD Invasif	119
Tabel 5.6 Ekspresi Protein c-erbB2 Pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD Metastasis	120
Tabel 5.7 Ekspresi Protein p53 Pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD Insitu	121

Tabel 5.8 Ekspresi Protein p53 Pada Berbagai Ukuran Diameter	
KDPD Invasif	121
Tabel 5.9 Ekspresi Protein p53 Pada Berbagai Ukuran Diameter	
KDPD Metastasis	122
Tabel 5.10 Ekspresi Protein pRb Pada Berbagai Ukuran Diameter	
KDPD Insitu	123
Tabel 5.11 Ekspresi Protein pRb Pada Berbagai Ukuran Diameter	
KDPD Invasif	124
Tabel 5.12 Ekspresi Protein pRb Pada Berbagai Ukuran Diameter	
KDPD Metastasis	125
Tabel 5.13 Ekspresi Protein MIB-1 Pada Berbagai Ukuran Diameter	
KDPD Insitu	126
Tabel 5.14 Ekspresi Protein MIB-1 Pada Berbagai Ukuran Diameter	
KDPD Invasif	127
Tabel 5.15 Ekspresi Protein MIB-1 Pada Berbagai Ukuran Diameter	
KDPD Metastasis	128
Tabel 5.16 Ekspresi Protein c-erbB2 Pada Berbagai Diferensiasi	
KDPD Insitu	129
Tabel 5.17 Ekspresi Protein c-erbB2 Pada Berbagai Diferensiasi	
KDPD Invasif	130
Tabel 5.18 Ekspresi Protein c-erbB2 Pada Berbagai Diferensiasi	
KDPD Metastasis	131

Tabel 5.19 Ekspresi Protein p53 Pada Berbagai Diferensiasi KDPD	
Insitu	132
Tabel 5.20 Ekspresi Protein p53 Pada Berbagai Diferensiasi KDPD	
Invasif	133
Tabel 5.21 Ekspresi Protein p53 Pada Berbagai Diferensiasi KDPD	
Metastasis	134
Tabel 5.22 Ekspresi Protein pRb Pada Berbagai Diferensiasi KDPD	
Insitu	135
Tabel 5.23 Ekspresi Protein pRb Pada Berbagai Diferensiasi KDPD	
Invasif	136
Tabel 5.24 Ekspresi Protein pRb Pada Berbagai Diferensiasi KDPD	
Metastasis	137
Tabel 5.25 Ekspresi Protein MIB-1 Pada Berbagai Diferensiasi KDPD	
Insitu	138
Tabel 5.26 Ekspresi Protein MIB-1 Pada Berbagai Diferensiasi KDPD	
Invasif	139
Tabel 5.27 Ekspresi Protein MIB-1 Pada Berbagai Diferensiasi KDPD	
Metastasis	140
Tabel 5.28 Ekspresi Protein c-erbB2 Pada Berbagai Grading KDPD	
Invasif	141
Tabel 5.29 Ekspresi Protein c-erbB2 Pada Berbagai Grading KDPD	
Metastasis	141

Tabel 5.30 Ekspresi Protein p53 Pada Berbagai Grading KDPD	
Invasif	142
Tabel 5.31 Ekspresi Protein p53 Pada Berbagai Grading KDPD	
Metastasis	143
Tabel 5.32 Ekspresi Protein pRb Pada Berbagai Grading KDPD	
Invasif	144
Tabel 5.33 Ekspresi Protein pRb Pada Berbagai Grading KDPD	
Metastasis	144
Tabel 5.34 Ekspresi Protein MIB-1 Pada Berbagai Grading KDPD	
Invasif	145
Tabel 5.35 Ekspresi Protein MIB-1 Pada Berbagai Grading KDPD	
Metastasis	146
Tabel 5.36 Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada	
Berbagai Ukuran Diameter KDPD	148
Tabel 5.37 Ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada	
Berbagai Diferensiasi KDPD	155
Tabel 5.38 Ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada Berbagai	
Progresivitas KDPD	162
Tabel 5.39 Ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada	
Berbagai Grading Histopatologi KDPD	168
Tabel 5.40 Klasifikasi Data Pengelompokan Diameter KDPD	173
Tabel 5.41 Klasifikasi Data Pengelompokan Diferensiasi KDPD	174

Tabel 5.42 Klasifikasi Data pada Pengelompokan Progresivitas

Pertumbuhan KOPD 175

Tabel 5.43 Klasifikasi Data pada Pengelompokan Grading

Histopatologis KOPD 175



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual	88
Gambar 4.3 Bagan Rancangan Penelitian	94
Gambar 4.4 Kerangka Operasional Penelitian	95
Gambar 5.1 Diagram Ekspresi Protein c-erbB2 pada Berbagai Diameter KDPD	149
Gambar 5.2 Diagram Ekspresi Protein p53 pada Berbagai Diameter KDPD	150
Gambar 5.3 Diagram Ekspresi Protein pRb pada Berbagai Diameter KDPD	151
Gambar 5.4 Diagram Ekspresi Protein MIB-1 pada Berbagai Diameter KDPD	152
Gambar 5.5 Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada Berbagai Diameter KDPD	153
Gambar 5.6 Diagram Ekspresi Protein c-erbB2 pada Berbagai Diferensiasi KDPD	156
Gambar 5.7 Diagram Ekspresi Protein p53 pada Berbagai Diferensiasi KDPD	157
Gambar 5.8 Diagram Ekspresi Protein pRb pada Berbagai Diferensiasi KDPD	158
Gambar 5.9 Diagram Ekspresi Protein MIB-1 pada Berbagai Diferensiasi KDPD	159

Gambar 5.10 Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB1 pada Berbagai Diferensiasi KDPD	160
Gambar 5.11 Diagram Ekspresi Protein c-erbB2 pada Berbagai Progresivitas Pertumbuhan KDPD	162
Gambar 5.12 Diagram Ekspresi Protein p53 pada Berbagai Progresivitas Pertumbuhan KDPD	163
Gambar 5.13 Diagram Ekspresi Protein pRb pada Berbagai Progresivitas Pertumbuhan KDPD	164
Gambar 5.14 Diagram Ekspresi Protein MIB-1 pada Berbagai Progresivitas Pertumbuhan KDPD	165
Gambar 5.15 Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada Berbagai Progresivitas KDPD	166
Gambar 5.16 Diagram Ekspresi Protein c-erbB2 pada Berbagai Grading Histopatologis KDPD	168
Gambar 5.17 Diagram Ekspresi Protein p53 pada Berbagai Grading Histopatologis KDPD	169
Gambar 5.18 Diagram Ekspresi Protein pRb pada Berbagai Grading Histopatologis KDPD	170
Gambar 5.19 Diagram Kurva Ekspresi Protein MIB-1 pada Berbagai Grading Histopatologis KDPD	171
Gambar 5.20 Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada Berbagai Grading Histopatologis KDPD	172

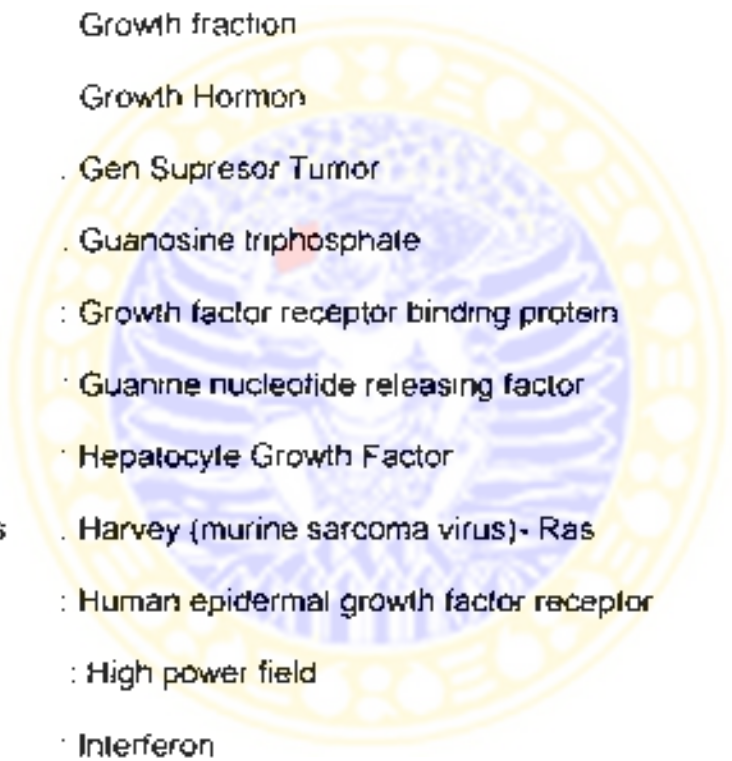
XXXX

Gambar 5.21	Karsinoma Duktal Payudara (KDPD) Insitu dengan Pulasan HE	177
Gambar 5.22	Karsinoma Duktal Payudara (KDPD) Invasif dengan Pulasan HE	177
Gambar 5.23	Karsinoma Duktal Payudara (KDPD) Metastasis dengan pulasan HE	178
Gambar 5.24	Ekspresi Protein c-erbB2 Kontrol Pulasan Negatif KDPD Insitu dengan Pulasan IHC	179
Gambar 5.25	Ekspresi Protein c-erbB2 Positif KDPD Insitu dengan Pulasan IHC	179
Gambar 5.26	Ekspresi Protein c-erbB2 Kontrol Pulasan Negatif KDPD Invasif dengan Pulasan IHC	180
Gambar 5.27	Ekspresi Protein c-erbB2 Positif KDPD Invasif dengan Pulasan IHC	180
Gambar 5.28	Ekspresi Protein c-erbB2 Kontrol Pulasan Negatif KDPD Metastasis dengan Pulasan IHC	181
Gambar 5.29	Ekspresi Protein c-erbB2 Positif KDPD Metastasis dengan Pulasan IHC	181
Gambar 5.30	Ekspresi Protein p53 Kontrol Pulasan Negatif KDPD Insitu dengan Pulasan IHC	182
Gambar 5.31	Ekspresi Protein p53 Positif KDPD Insitu dengan Pulasan IHC	182
Gambar 5.32	Ekspresi Protein p53 Kontrol Pulasan Negatif KDPD Invasif dengan Pulasan IHC	183
Gambar 5.33	Ekspresi Protein p53 Positif KDPD Invasif dengan Pulasan IHC	183
Gambar 5.34	Ekspresi Protein p53 Kontrol Pulasan Negatif KDPD Metastasis dengan Pulasan IHC	184
Gambar 5.35	Ekspresi Protein p53 Positif KDPD Metastasis dengan Pulasan IHC	184

Gambar 5.36	Ekspresi Protein pRb Kontrol Pulasan Negatif KDPD Insitu dengan Pulasan IHC	185
Gambar 5.37	Ekspresi Protein pRb Positif KDPD Insitu dengan Pulasan IHC	185
Gambar 5.38	Ekspresi Protein pRb Kontrol Pulasan Negatif KDPD Invasif dengan Pulasan IHC	185
Gambar 5.39	Ekspresi Protein pRb Positif KDPD Invasif dengan Pulasan IHC	186
Gambar 5.40	Ekspresi Protein pRb Kontrol Pulasan Negatif KDPD Metastasis dengan Pulasan IHC	187
Gambar 5.41	Ekspresi Protein pRb Positif KDPD Metastasis dengan Pulasan IHC	187
Gambar 5.42	Ekspresi Protein MIB-1 Kontrol Pulasan Negatif KDPD Insitu dengan Pulasan IHC	188
Gambar 5.43	Ekspresi Protein MIB-1 Positif KDPD Insitu dengan Pulasan IHC	188
Gambar 5.44	Ekspresi Protein MIB-1 Kontrol Pulasan Negatif KDPD invasif dengan Pulasan IHC	189
Gambar 5.45	Ekspresi Protein MIB-1 Positif KDPD Invasif dengan Pulasan IHC	189
Gambar 5.46	Ekspresi Protein MIB-1 Kontrol Pulasan Negatif KDPD Metastasis dengan Pulasan IHC	190
Gambar 5.46	Ekspresi protein MIB-1 Positif KDPD Metastasis dengan pulasan IHC	190

DAFTAR SINGKATAN

AJC	American Joint Commission
AMP	Adenosine monophosphate
ATP	Adenosine triphosphate
BCR	Breakpoint cluster region
BM	Berat Molekul
BRK	Badan Registrasi Kanker
C-AMP	Cyclic AMP
CDK	Cycline dependent kinase
C-Myc	Cellular Myc
CRE	C-AMP responsive element
CREB	C-AMP Regulatory element binding protein
C-src	Cellular- src
DED	Death effector domain
DNA	Deoxy ribonucleic acid
E2F	Protein E2F
EGF	Epidermal Growth Factor
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
ER	Estrogen receptor
ErbB-2	Epidermal growth factor receptor
ERK	Extracellular receptor
FADD	Fas associated deathly domain
Fas DISK	Fas death inducing signal

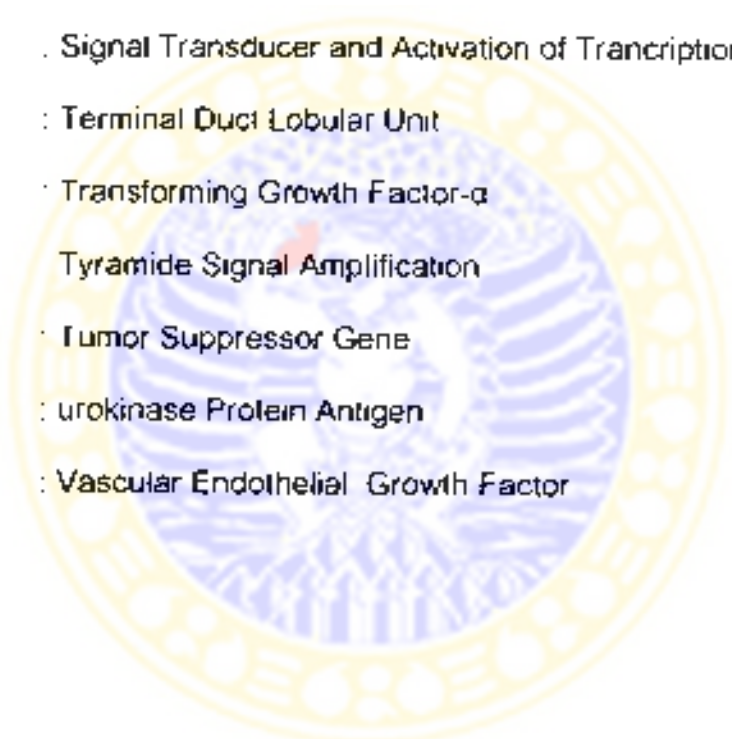


FDA	: United States Food and Drug Administration
FGF	: Fibroblast Growth Factor
G (1,2)	: Gap 1, dan 2
GAP	: GTP-ase activating protein
GDP	: Guanosine diphosphate
GEF	: Guanosine nucleotide exchange factor
GF	: Growth factor
GFr	: Growth fraction
GH	: Growth Hormon
GST	: Gen Supresor Tumor
GTP	: Guanosine triphosphate
Grb2	: Growth factor receptor binding protein
GRF	: Guanine nucleotide releasing factor
HGF	: Hepatocyte Growth Factor
H-Ras	: Harvey (murine sarcoma virus)- Ras
HER2	: Human epidermal growth factor receptor
HPF	: High power field
IF	: Interferon
IIDN	: Identically independency and normality
IL	: Interleukin
IUCC	: International Union Against Cancer
KDPD	: Karsinoma Duktal Payudara
K- Ras	: Kirsten (murine sarcoma virus)- Ras

XXXX



MAP	: Mitogen activated protein
MAPKK	: MAP kinase kinase
Max	: Protein Max
M- CSF	: Macrophage colony stimulating factor
MEK	: Max Erk Kinase
MI	: Mitotic index
MMP	: Matrix membrane protein
MFS	: Metastatic free survival
Neu	: Neuroblastoma
NES	: Nuclear Export Signal
NGF	: Nerve Growth Factor
NOS	: Not Otherwise Specified
NST	: Not Specific Type
OS	: Overall Survival
PAP	: Peroxidase Anti Peroxidase
PCD	: Programmed Cell Death
PCNA	: Proliferating Cell Nuclear Antigen
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
PgR(PR)	: Progesteronr Receptor
p53	: Protein 53
PLcy	: Phospholipase Cy
PPARs	: Peroxisome Proliferator-Activated Receptors
pRas	: Protein Ras



pRb	Protein Retinoblastoma
PTK	Protein Tyrosine Kinase
Raf	Protein Raf
RTK	Receptor Tyrosine Kinase
SH (2,3)	Src Homology region –2.3
Sos	Son of Sevenless
SPF	S-phase fraction
STAT	Signal Transducer and Activation of Transcription
TDLU	Terminal Duct Lobular Unit
TGF-α	Transforming Growth Factor-α
TSA	Tyramide Signal Amplification
TSG	Tumor Suppressor Gene
uPA	urokinase Protein Antigen
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran a Surat Ijin Direktur RSUD Dr. Soetomo	227
Lampiran b. Surat Keterangan Ketaikan Etik	228
Lampiran A Umur Penderita Karsinoma Duktal Payudara Insitu	229
Lampiran B Umur Penderita Karsinoma Duktal Payudara Invasif	230
Lampiran C Umur Penderita Karsinoma Duktal Payudara Metastasis	231
Lampiran D Lokasi dan Besar Tumor Penderita Karsinoma Duktal Payudara Insitu	232
Lampiran E Lokasi dan Besar Tumor Penderita Karsinoma Duktal Payudara Invasif	233
Lampiran F Lokasi dan Besar Tumor Penderita Karsinoma Duktal Payudara Metastasis	234
Lampiran G. Diferensiasi Sel Tumor Karsinoma Duktal Payudara Insitu	235
Lampiran H. Diferensiasi Sel Tumor Karsinoma Duktal Payudara Invasif	236
Lampiran I Diferensiasi Sel Tumor Karsinoma Duktal Payudara Metastasis	237
Lampiran J. Ekspresi Protein c-erbB2 pada Karsinoma Duktal Payudara Insitu	238
Lampiran K Ekspresi Protein c-erbB2 pada Karsinoma Duktal Payudara Invasif	239
Lampiran L Ekspresi Protein c-erbB2 pada Karsinoma Duktal Payudara Metastasis	240
Lampiran M Ekspresi Protein p53 pada Karsinoma Duktal Payudara Insitu	241
Lampiran N Ekspresi Protein p53 pada Karsinoma Duktal Payudara Invasif	242

Lampiran O	Ekspresi Protein p53 pada Karsinoma Duktal Payudara Metastasis	243
Lampiran P.	Ekspresi Protein pRb pada Karsinoma Duktal Payudara Insitu	244
Lampiran Q.	Ekspresi Protein pRb pada Karsinoma Duktal Payudara Invasif	245
Lampiran R.	Ekspresi Protein pRb pada Karsinoma Duktal Payudara Metastasis	246
Lampiran S.	Ekspresi Protein MIB-1 pada Karsinoma Duktal Payudara Insitu	247
Lampiran T	Ekspresi Protein MIB-1 pada Karsinoma Duktal Payudara Invasif	248
Lampiran U.	Ekspresi Protein MIB-1 pada Karsinoma Duktal Payudara Metastasis	249
Lampiran V	Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb, dan MIB-1 pada Berbagai Besar Tumor Karsinoma Duktal Payudara Insitu	250
Lampiran W.	Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb, dan MIB-1 pada Berbagai Besar Tumor Karsinoma Duktal Payudara Invasif	251
Lampiran X.	Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb, dan MIB-1 pada Berbagai Besar Tumor Karsinoma Duktal Payudara Metastasis	252
Lampiran Y	Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada Berbagai Diferensiasi Sel Tumor Karsinoma Duktal Payudara Insitu	253
Lampiran Z.	Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb, dan MIB-1 pada Berbagai Diferensiasi Sel Tumor Karsinoma Duktal Payudara Invasif	254

Lampiran AA. Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb, dan MIB-1 pada Berbagai Diferensiasi Sel Tumor Karsinoma Duktal Payudara Metastasis	255
Lampiran BB. Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb, dan MIB-1 pada Berbagai Grading Histopatologis Tumor Karsinoma Duktal Payudara Invasif	256
Lampiran CC. Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb, dan MIB-1 pada Berbagai Grading Histopatologis Tumor Karsinoma Duktal Payudara Metastasis	257
Lampiran DD. NPar Tests	258



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Karsinoma payudara merupakan tumor ganas yang banyak dijumpai pada wanita. Tumor ini memiliki perilaku biologis yang heterogen, sehingga penentuan petanda tumor menjadi sangat penting untuk menentukan prognosis dan pengelolaan penyakit tersebut (Indrawati et al, 2004) Prognosis penyakit ini sangat ditentukan oleh progresivitas pertumbuhan sel tumor itu sendiri disamping faktor lain. Penilaian progresivitas tumor dengan cara melihat aktivitas proliferasi sel untuk memprediksi prognosis suatu penyakit neoplasma adalah langkah penting dalam upaya penanganan penyakit keganasan, termasuk karsinoma duktal payudara. Penilaian tersebut dapat bersifat morfologis sel maupun jaringan, juga morfofungsi sel yang akan menunjukkan aktivitas biologis kanker. Dewasa ini karsinoma duktal payudara, secara morfologis dibedakan menjadi tiga kelompok, yaitu karsinoma duktal payudara dengan *grading* histopatologis rendah, sedang dan tinggi. (Tavassoli FA., 2003; Kumar . et al., 2005; Rosai., et al., 2004) Karsinoma duktal payudara *grading* histopatologis rendah tersusun atas sel kanker yang relatif *mature* dan masih menunjukkan morfologi yang dapat dikenali seperti sel asal kanker, sedangkan karsinoma *grading* histopatologis tinggi tersusun atas sel kanker yang *immature*, dan secara morfologis tidak

mencerminkan bentuk yang spesifik dan tidak dapat dikenali sebagai sel epitel duktal payudara normal. Kelompok karsinoma duktal payudara *grading* histopatologis sedang tersusun atas sel kanker yang merupakan peralihan antara kelompok sel kanker *grading* histopatologis rendah dan *grading* histopatologis tinggi. Karsinoma duktal payudara *grading* histopatologis rendah dianggap mempunyai derajat keganasan lebih rendah dibandingkan dengan karsinoma duktal payudara *grading* histopatologis tinggi. Sedangkan progresivitas pertumbuhan tumor ditunjukkan dengan perjalanan penyakit dari karsinoma duktal payudara in situ, invasif dan metastasis. Karsinoma duktal payudara yang sudah metastasis diperkirakan mempunyai aktivitas proliferasi sel kanker yang lebih tinggi dibandingkan dengan invasif maupun in situ. (Favassoli FA., 2003) Penggunaan pengelompokan karsinoma duktal payudara yang berdasarkan morfologis seperti ini, masih kurang mempunyai nilai klinik yang signifikan, karena cara tersebut belum dapat menjelaskan mengenai pengelompokan karsinoma duktal payudara secara nyata berdasarkan derajat aktivitas proliferasi sel. (Kumar, et al., 2005) Cara pengelompokan karsinoma duktal payudara seperti ini, juga masih belum dapat menjelaskan secara patologis tingkat molekuler yang diperlukan untuk memberikan penjelasan mengenai perubahan aktivitas proliferasi sel kanker, sebagai dasar penentuan derajat keganasan, yang mencerminkan kondisi aktivitas biologis sel kanker tersebut.

Setiap tahun terdapat seratus ribu pendenta baru, dan tigapuluh ribu wanita meninggal dunia karena karsinoma duktal payudara di Amerika Serikat dan merupakan penyakit keganasan terbanyak pada wanita di Amerika dan Eropa. (Rosai J., 2004) Sampai sekarang ini masih terus dijumpai angka kejadian dan kematian karena kanker payudara yang cukup tinggi, baik di Amerika Serikat maupun Eropa yang merupakan kanker terbanyak diderita para wanita dan nomor dua keganasan terbanyak pada wanita di Indonesia setelah kanker leher rahim. Setiap tahun jumlah kasus yang berhasil ditemukan semakin bertambah banyak jumlahnya. (BRK Nasional, 1995) Laporan Direktur Jendral Pelayanan Medik Departemen Kesehatan Republik Indonesia dengan Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia dan Yayasan Kanker Indonesia tahun 1998, dan 13 pusat patologi di seluruh Indonesia, dilaporkan bahwa kanker payudara menempati urutan kedua terbanyak (2598 kasus) di Indonesia setelah kanker leher rahim (3682 kasus), diikuti selanjutnya oleh tumor kelenjar getah bening, kulit dan nasofaring. Kanker payudara dan tahun ke tahun, masih merupakan kanker terbanyak kedua setelah kanker leher rahim pada keganasan wanita di Surabaya dan sekitarnya, juga di Indonesia. Tetapi hal menarik terjadi di beberapa pusat patologi dimana ditemukan kanker payudara menempati urutan teratas dalam jumlah, yaitu seperti di pusat patologi Medan (170 kasus), Padang (120 kasus), Palembang (113 kasus) Yogyakarta (535 kasus), dan Makasar (147 kasus) Data dari hampir

seluruh pusat patologi di Indonesia menunjukkan bahwa karsinoma duktal payudara merupakan keganasan nomor dua pada wanita setelah karsinoma leher rahim (serviks uteri). Di Surabaya dan sekitarnya telah dilaporkan bahwa terdapat sekitar 400 sampai 750 orang penderita kanker payudara tiap tahun (Kusumowardoyo et al, 2004). Kanker ini umumnya ditemukan pada kondisi yang sudah lanjut dan berderajat keganasan yang tinggi. Data dari Bagian /SMF/ Instalasi Patologi Anatomi RSUD. Dr. Soelomo - FK Unair Surabaya, menunjukkan bahwa 43 % penderita adalah karsinoma payudara dengan derajat keganasan yang tinggi atau diferensiasi sel kanker yang buruk. (Susraini, 2001)

Pengelompokan karsinoma duktal payudara untuk menentukan derajat keganasan dan prognosinya, memerlukan landasan ilmiah yang mantap, yakni dengan cara mengungkap mekanisme patologis tingkat molekuler mengenai aktivitas biologis proliferasi sel. Penentuan prognosis dengan pengelompokan yang didasarkan atas morfologi tingkat sel dan jaringan, yang sekarang ini masih dipakai, ternyata belum dapat menjelaskan mekanisme secara patologis tingkat molekuler aktivitas biologis mengenai proliferasi sel kanker duktal payudara. Pengelompokan tersebut juga belum dapat menjelaskan sel dengan morfologis sama, tetapi memiliki aktivitas perilaku biologis yang berbeda. Kondisi yang demikian memunculkan pemahaman bahwa diagnosis dan pengelompokan karsinoma duktal payudara masih perlu dilandasi mekanisme patologis proliferasi sel kanker tingkat molekuler, sehingga diharapkan dapat

mengungkap kejadian gangguan pengendalian proliferasi dan diferensiasi pada sel kanker duktal payudara. Kalau masalah tersebut tidak segera mendapat perhatian, dikhawatirkan hasil diagnosis dan pengelompokan yang tidak didasari penjelasan aktivitas biologis mekanisme patologi molekuler tersebut tidak aplikatif, karena kurang mempunyai nilai klinis yang signifikan, khususnya penentuan prognosis dan pilihan terapi, yang dapat merugikan penderita karsinoma duktal payudara.

Proliferasi sel kanker yang berlebihan dibandingkan dengan sel yang mati, akan membuat fraksi pertumbuhan lebih tinggi dan menyebabkan tumor tumbuh lebih cepat, yang diduga akan tumbuh lebih progresif. Sampai sekarang karsinoma duktal payudara *grading* histopatologis tinggi dianggap mempunyai perjalanan penyakit lebih jelek, yaitu lebih progresif, dibandingkan dengan kanker *grading* histopatologis rendah. Keadaan yang demikian disebabkan karena karsinoma duktal payudara dengan *grade* tinggi diperkirakan memiliki aktivitas proliferasi sel yang lebih tinggi, dibandingkan dengan kanker dengan *grading* histopatologis rendah (Kumar, et al 2005). Aktivitas proliferasi sel karsinoma duktal payudara sampai saat ini masih menggunakan pendekatan patologi tingkat molekuler. Indikator aktivitas proliferasi memakai pendekatan morfologis sel dan struktur jaringan dengan penilaian histopatologis yang menggunakan alat mikroskop cahaya, walaupun pada waktu belakangan ini sudah mulai dicoba untuk mengarah ke sana. Penilaian pemeriksaan tersebut dimaksudkan untuk mencari

kelainan morfologis tumor, yaitu perubahan orientasi-struktur jaringan, gangguan diferensiasi sel dan keberadaan mitosis. Kelompok karsinoma duktal payudara dengan *grading* histopatologis yang berbeda diperkirakan mempunyai aktivitas proliferasi sel berbeda, tidak dapat dijelaskan mekanisme perubahan patologis pada tingkat molekuler mengenai aktivitas proliferasi sel kanker yang terjadi, untuk menunjukkan progresivitas tumor, yang pada akhirnya dapat dipakai untuk menentukan prognosis dan pengelolaan penyakit tersebut. Oleh karena itu diperlukan usaha dalam upaya mengungkap dasar mekanisme aktivitas proliferasi sel karsinoma duktal payudara. Sehingga dapat dihasilkan parameter tertentu dari penyakit karsinoma duktal payudara dengan nilai klinis seperti yang diharapkan, melalui pendekatan secara patologi molekuler. Penentuan diagnosis dan parameter tersebut akan dapat dipakai sebagai dasar dalam menentukan langkah pengelolaan dan evaluasi, khususnya prediksi ke arah prognosis penyakit. Kondisi yang demikian tidak dapat segera terjadi, mengingat masih diperlukan penelitian yang lama dan komprehensif dengan biaya yang tidak murah, disamping para praktisi di lapangan masih terpancang dengan metode penilaian morfologis tingkat sel dan jaringan, yang kurang mendapat penjelasan mengenai perilaku biologis sel kanker pada tingkat patologi molekuler.

Berbagai penelitian pada dekade terakhir menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang erat antara progresivitas pertumbuhan suatu neoplasma dengan kelainan yang terjadi pada tingkat molekuler. Kelainan

atau lesi tingkat molekuler yang terjadi tidak hanya bersifat tunggal, akan tetapi merupakan akumulasi lesi genetik yang sangat kompleks. Pada dasarnya akumulasi lesi genetik tersebut dapat dikelompokkan berupa, aktivasi gen pemicu tumor (onkogen), inaktivasi gen penghambat tumor (GST) dan gen "Programmed Cell Death" (PCD), yang menyebabkan onkogen menjadi dominan. Peran dan fungsi onkogen yang dominan tersebut akan memicu aktivitas proliferasi sel kanker yang berlebihan dan gangguan diferensiasi, karena aktivitas hambatan pertumbuhan dan program kematian sel tidak berfungsi. (Yamold JR., 1996) Dengan memakai alur pikir tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa penilaian derajat progresivitas pertumbuhan tumor berdasarkan *grading* histopatologis dan stadium klinis masih memerlukan kelengkapan penjelasan yang mendasar di tingkat patologi molekuler. Kalau hal ini berhasil, akan dapat digunakan untuk mendeteksi dan menilai gangguan pengendalian aktivitas proliferasi sel dan memprediksi potensi keganasan secara lebih dini, yang belum terdeteksi oleh perubahan morfologi tingkat sel, jaringan atau organ. Pada karsinoma duktal payudara peran ekspresi c-erb B-2 yang dikode oleh onkogen ErbB-2 adalah penting. (Yasasever, et al., 2000) Peran ekspresi protein c-erb B-2 dapat mengganggu fungsi pRas dan c-myc (*proto-onkogene*) serta pRb (*supressor gene*) dalam mengendalikan proliferasi dan siklus sel. (Asikin N., 2003; Ferdinal F., 2003; Kresno SB., 2003) Terdapat bukti secara signifikan bahwa ekspresi protein c-erbB-2 pada sel karsinoma duktal payudara lebih tinggi daripada

lesi jinak atau sel duktal payudara orang sehat. (Streeckfus c. et al 2000) Dilaporkan bahwa implikasi prognosis ekspresi protein p53 dalam hubungannya dengan diferensiasi dan aktivitas proliferasi sel pada kanker payudara masih kontroversial. (Tsutsui S., et al., 2004) Protein supresor tumor pRb memainkan peran penting dalam pengaturan jalannya siklus sel. pRb menjadi inaktif setelah mengalami fosforilasi akibat stimulasi faktor pertumbuhan (*growth factor*) yang memfasilitasi transisi dari fase G1 ke fase S. (Dasguptal et al, 2004)

Untuk mengungkap mekanisme perubahan perilaku biologis sel secara patologi molekuler, dalam usaha memprediksi prognosis karsinoma duktal payudara, maka dapat ditunjukkan dengan mengukur ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai ukuran diameter tumor, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis karsinoma duktal payudara.

1.2 Rumusan Masalah

1. Adakah perbedaan ekspresi protein c-erbB2 pada berbagai ukuran diameter tumor, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis pada karsinoma duktal payudara ?
2. Adakah perbedaan ekspresi protein p53 pada berbagai ukuran diameter tumor, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis pada karsinoma duktal payudara ?

3. Adakah perbedaan ekspresi protein pRb pada berbagai ukuran diameter tumor, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis pada karsinoma duktal payudara ?
4. Adakah perbedaan ekspresi protein MIB-1 pada berbagai ukuran diameter tumor, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis pada karsinoma duktal payudara ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Mengungkap mekanisme patologi molekuler perbedaan ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai ukuran diameter tumor, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan tumor dan *grading* histopatologis pada karsinoma duktal payudara.

1.3.2 Tujuan khusus

1. **Membuktikan adanya perbedaan ekspresi protein c-erbB2 pada berbagai ukuran diameter tumor, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis pada karsinoma duktal payudara**
2. **Membuktikan adanya perbedaan ekspresi protein p53 pada berbagai ukuran diameter tumor, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis pada karsinoma duktal payudara .**

3. Membuktikan adanya perbedaan ekspresi protein pRb pada berbagai ukuran diameter tumor, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis pada karsinoma duktal payudara .
4. Membuktikan adanya perbedaan ekspresi protein MIB-1 pada berbagai ukuran diameter tumor, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis pada karsinoma duktal payudara .

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat ilmiah

Dari segi pengembangan ilmu, penelitian ini diharapkan dapat mengungkap mekanisme patologi molekuler perbedaan ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai ukuran diameter tumor, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis karsinoma duktal payudara.

1.4.2 Manfaat praktis

Dari segi penerapan ilmu, dengan mengetahui perbedaan ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai ukuran diameter tumor, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis karsinoma duktal payudara, maka konsep ini dapat dikembangkan sebagai sistem untuk menilai derajat progresivitas pertumbuhan dan proliferasi sel karsinoma duktal payudara, yang selanjutnya dapat dipakai sebagai dasar untuk menentukan prognosis dan terapi yang tepat.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anatomi dan Histologi Payudara

Payudara adalah organ tubuh yang merupakan modifikasi dari jaringan kelenjar keringat yang terbungkus oleh jaringan kulit dan jaringan bawah kulit. Organ ini terletak di atas jaringan otot (muskulus) pektoralis mayor dan dipisahkan oleh jaringan fasia. Parenkim organ dibentuk oleh kurang lebih 15 – 20 lobus, yang semuanya mempunyai saluran sendiri untuk mengalirkan hasil produksinya. Semua saluran dari setiap lobus bermuara pada puting susu. Setiap lobus dibentuk dan disusun oleh beberapa lobulus yang terdiri dari 10 – 100 asinus. Setiap lobulus merupakan struktur dasar dari kelenjar payudara. Payudara merupakan organ yang dibungkus oleh jaringan fasia pektoralis superfisialis. Pada permukaan anterior dan posterior dibungkus oleh ligamentum Cooper yang berperan sebagai penyangga. (Kumar . 2005; Rosai J., 2004)

Unit morfofungsional payudara adalah kelenjar yang tunggal. Kelenjar tersebut merupakan suatu struktur bercabang yang kompleks, terdiri dari dua bagian utama, yaitu *terminal duct lobular unit (TDLU)* , dan sistem duktus besar. (Rosai J., 2004; Underwood, 1994) *Terminal duct lobular unit (TDLU)* terbentuk dari lobuli dan duktus terminalis yang merupakan bagian sekretori dari kelenjar. Bagian ini berhubungan dengan duktus sub segmentalis dan duktus segmentalis yang menuju ke duktus koledokus

(duktus laktiferus atau duktus galaktoferus) yang berakhir di papila payudara. Di bawah papila payudara terdapat pelebaran setempat, yaitu di bagian luar diantara duktus koledokus dan duktus segmentalis, yang disebut sebagai sinus laktiferus (Rosai J., 2004) *Terminal duct lobular unit (TDLU)* memiliki struktur dan sistem lobulus yang jelas. Struktur dan sistem tersebut disangga oleh lapisan jaringan stroma penyangga, yakni berupa jaringan ikat spesifik seperti miksoid dan bersifat responsif terhadap hormon dan tidak mengandung jaringan ikat elastis. Sedangkan rangkaian duktus yang besar hanya mengandung sedikit jaringan seperti di atas dan lebih banyak dilapisi oleh jaringan ikat elastis. Seluruh sistem epitelial duktuli dan lobuli payudara dilapisi oleh dua macam tipe sel yang spesifik, yaitu epitel bagian dalam yang mempunyai fungsi sekresi dan absorpsi yang disebut dengan sel epitelium dan sel mioepitel yang terletak di bagian luar. Kedua jenis sel tersebut di atas mempunyai perbedaan secara ultrastruktur maupun gambaran imunohistokimia. Kebanyakan sel epitelium bereaksi positif secara bervariasi terhadap pemeriksaan keratin, EMA, *related milk fat globule membrane antigen* , dan *alpha-lactalbumin* . Sedangkan sel mioepitel bereaksi positif kuat dengan aktin dan protein S-100. Seluruh sistem epitel kelenjar berada pada lapisan membran basal, yang dapat dibuktikan dengan pulasan retikulin, pemeriksaan ultrastruktur atau reaksi imunohistokimia terhadap laminin dan kolagen IV (Rosai J. 1996 dan 2004) Setiap lobus dibungkus oleh jaringan interlobaris yang berupa jaringan adiposit yang mengandung banyak sel

lemak. Kemudian jaringan adiposit lemak dan jaringan ikat membagi lobus menjadi banyak lobulus. Dalam setiap lobulus terdapat jaringan penyangga, berupa jaringan ikat longgar yang halus. Duktus intralobularis bermuara ke dalam duktus interlobularis, kemudian bersatu membentuk sebuah saluran keluar dari setiap lobus yang disebut sebagai duktus laktiferus. Duktus laktiferus berjalan menuju papila payudara dan melebar selempai sebelum ujungnya membentuk sinus laktiferus seperti tersebut di atas. Selanjutnya sinus laktiferus membentuk pori di permukaan papila, yang jumlahnya lebih sedikit daripada jumlah duktusnya, karena beberapa duktus bersatu pada ujungnya. (Rosai J . 1996 dan 2004 ; Kumar et al. 2005) Papila payudara mempunyai gambaran mikroskopis yang khusus, karena permukaannya mengandung banyak muara kelenjar sebaceous dan folikel rambut yang tertanam pada stroma jaringan ikat fibrous tebal dengan otot polos erektil, serta terdapat muara duktus laktiferus. Papila payudara dan ujung saluran utama duktus laktiferus dilapisi sel epitel berlapis pipih. Sedangkan duktus interlobularis dilapisi oleh peralihan sel silindris bertumpuk sampai selapis epitel kubis. Kulit papila payudara berwarna lebih gelap, karena mengandung bahan pigmen melanin yang banyak. Pada lapisan basal ditemukan sel yang jernih, serta daerah di bawahnya tampak gambaran papila dermis yang tinggi dengan sabut otot polos. Di sekitar papila payudara terdapat daerah dengan pigmen lebih gelap disebut areola payudara. Daerah tersebut banyak mengandung kelenjar khusus (*Montgomery gland*), yang jumlahnya 10- 20 buah, dan

akan membesar pada saat kehamilan. Pertumbuhan payudara selama masa perkembangan anak hanya sedikit, baik pada pria maupun wanita. Tetapi pada usia remaja (pubertas) pertumbuhan payudara pada wanita jauh lebih cepat. Pertumbuhan payudara tersebut pada dasarnya adalah penambahan jaringan lemak dan jaringan penyangga lainnya. Sedangkan pada laki-laki tumbuh sangat lambat, dan berhenti setelah usia pubertas, dan sudah tidak ada pertumbuhan lagi (Kumar . et al . 2005)

2.2 Epidemiologi Karsinoma Duktal Payudara

Menurut data lebih dari sepuluh pusat patologi di Indonesia, didapatkan bahwa karsinoma payudara sampai saat ini masih menduduki urutan kedua, dari jumlah kasus keganasan yang paling sering dijumpai pada wanita setelah karsinoma serviks uteri. Setiap tahun jumlah kasus yang berhasil ditemukan semakin bertambah banyak jumlahnya (BRK Nasional, 1995). Kanker payudara dari tahun ketahun, masih merupakan kanker terbanyak kedua setelah kanker leher rahim pada perempuan di Surabaya dan sekitarnya, bahkan di Indonesia. Data dari Badan Registrasi Kanker Ikatan Ahli Patologi Indonesia menunjukkan bahwa ditemukan sekitar 400 sampai 750 perempuan menderita kanker payudara setiap tahun di Surabaya dan sekitarnya (Kusumowardoyo et al . 2004)

Tabel 2.1 Jumlah Kanker Payudara Perempuan di Surabaya dan Sekitarnya Tahun 1988 sampai dengan 2000

Tahun	Jumlah Kanker Payudara	Jumlah Seluruh Kanker	Prosentase Kanker Payudara
1988	540	3173	17,02
1989	575	3814	15,08
1990	672	4112	16,34
1991	754	4150	18,17
1992	703	4301	16,35
1993	767	4463	17,19
1994	597	3647	16,56
1995	683	3837	17,80
1996	592	3470	17,06
1997	475	3098	15,33
1998	482	2956	16,31
1999	513	3186	16,10
2000	388	2452	15,82

Diambil dari *Kusumawardoyo (2004). Beberapa Aspek Sitologi dan Histologi Kanker Payudara IN. Indonesian Issues on Breast Cancer (IIBC)-I Surabaya, Februari: 1- 17*

Di Amerika Serikat setiap tahun ditemukan seratus ribu penderita karsinoma duktal payudara baru, dan tiga puluh ribu wanita meninggal karena karsinoma payudara. (Rosai J., 1996) Laporan lain menyebutkan bahwa 1 diantara 9 perempuan di Amerika Serikat kemungkinan akan menderita penyakit karsinoma payudara dalam waktu hidupnya. dimana sepertiga diantara perempuan tersebut, menjadi sakit, yang menyebabkan lebih dari 44 000 kematian setiap tahunnya. Kondisi tersebut terjadi lebih tinggi pada penduduk golongan kulit hitam daripada kulit putih. Karsinoma duktal payudara pada perempuan jarang ditemukan sebelum usia 25 tahun. kecuali pada keluarga dengan riwayat penyakit tersebut. Kejadian penyakit tersebut meningkat dari 1 diantara 323 wanita pada dekade ke

empat menjadi 1 diantara 29 wanita pada dekade ke tujuh. (Colran et al., 1999) Laporan terakhir yang disampaikan oleh Jamal A. dan kawan-kawan dalam Cancer statistic tahun 2003 disebutkan bahwa kanker payudara kejadiannya sebanyak 32% dari seluruh keganasan yang terjadi pada perempuan Amerika. Sedangkan kematian yang disebabkan kanker payudara adalah sebanyak 15% dari seluruh kematian yang diakibatkan kanker pada perempuan Amerika (Kumar, et al., 2005) Wilayah dengan resiko tinggi terjadinya kanker payudara adalah Amerika utara, Eropa dan Australia dengan 6% perempuan sebelum usia 75 tahun dalam kehidupannya menderita penyakit tersebut. Didapatkan data bahwa kejadian kasus baru kanker payudara adalah 70 sampai 90 perempuan diantara 100.000 populasi setiap tahun. Sedangkan resiko kanker payudara rendah terjadi pada wilayah Afrika (*Sub Saharan*), Asia Selatan dan Timur termasuk Jepang, dengan kejadian pada usia sebelum 75 tahun adalah sepertiga dari negara maju. Jepang meskipun termasuk negara maju, sampai tahun 2000, kejadian kanker payudara masih rendah. (Tavassoli, et al., 2003)

Tabel 2.2 Gambaran kejadian lima kanker terbanyak pada perempuan di Amerika Serikat

Kanker	Prosentase dari seluruh kanker wanita
Payudara	33
Paru-paru	13
Kolorektal	12
Leukemia / limfoma	6
Ovarium	5

Diambil dari *Haryana, SM (2002)*. *Mutagenesis and Transformation IN Course and Workshop Basic Science in Oncologi, Jakarta, POI, 1- 14*

Dari data tersebut di atas menunjukkan bahwa berbagai upaya penanggulangan karsinoma duktal payudara, khususnya pencegahan dan deteksi dini masih sangat diperfukan untuk terus digalakkan dan ditingkatkan. Pendidikan dan penyuluhan mengenai karsinoma duktal payudara harus terus lebih ditingkatkan pelaksanaannya. Keberhasilan langkah tersebut diwaktu mendatang diharapkan akan menunjukkan hasil dengan penurunan angka morbiditas dan mortalitas, disamping peningkatan temuan kasus karsinoma duktal payudara pada kondisi yang dini

2.3 Patogenesis Karsinoma Duktal Payudara

Kelainan pada payudara perempuan lebih banyak dari pada payudara laki- laki. Pada laki- laki payudara mengalami kemunduran fungsi dan struktur. Payudara laki- laki relatif tidak peka terhadap pengaruh hormon endokrin dan lebih tahan terhadap pertumbuhan neoplastik, sedangkan pada perempuan sebaliknya. Payudara perempuan memiliki struktur yang kompleks dengan volume yang besar dan sensitif terhadap pengaruh hormon endokrin. Kelainan yang ditemukan pada payudara, meliputi 40 % berupa perubahan fibrokistik, 13 % penyakit jinak yang lain, 7 % fibro adenoma, dan 10 % berupa keganasan (Cotran et al . 1999 , Kumar . et al . 2005)

2.3.1 Faktor resiko

Berbagai faktor resiko telah banyak dibicarakan para peneliti sebelumnya. Penyebab terjadinya kanker payudara adalah multifaktor, termasuk di dalamnya adalah faktor makanan (diet), faktor reproduksi, dan kaitannya dengan ketidakseimbangan hormonal. Dari data epidemiologi, didapatkan fakta bahwa kejadian kanker payudara berkaitan dengan pola hidup masyarakat, khususnya kehidupan masyarakat barat (*Western lifestyle*) yang khas, yaitu dengan mengkonsumsi makanan tinggi kalori dari lemak dan protein binatang, dengan ditambah rendahnya aktivitas fisik seseorang. Wilayah yang seperti ini dan berlangsung dalam waktu lama adalah Amerika Utara, Eropa Utara dan Australia. Negara yang mulai berubah menjadi industri mempunyai resiko yang sama, disamping timbulnya keganasan lain seperti kanker prostat, kolon, rektum dan endometrium. Kondisi khusus, seperti radiasi, alkohol, dan paparan hormonal eksogen juga merupakan faktor resiko, walaupun rendah. Lebih banyak dari kebanyakan neoplasma pada manusia lain, kanker payudara sering terjadi pada keluarga tertentu, berhubungan dengan ditemukannya gen BCRA1 dan BCRA2 (Cotran et al., 1999; Tavassoli, et al., 2003). Faktor resiko terbanyak diketahui pada perkembangan kanker payudara, diidentifikasi dengan studi epidemiologi yang dikombinasi dengan model statistik untuk mencari resiko absolut dari pertumbuhan kanker pada perempuan secara individual, seperti ditunjukkan dalam <http://bcra.ncl.nih.gov/bcr/>. Studi dilaksanakan pada perempuan usia

didasar di atas 35 tahun, tidak didahului oleh *lobular carcinoma insitu (LCIS)* atau *ductal carcinoma insitu (DCIS)*, dan tidak terdapat riwayat mutasi gen tunggal pada keluarga (Kumar . et al., 2005)

2.3.1.1 Kehidupan reproduksi

Setengah abad kehidupan reproduksi perempuan mempunyai resiko terhadap terjadinya kanker payudara. Kanker payudara ditemukan lebih sering pada perempuan dengan menstruasi dini, perempuan yang tidak mempunyai anak (*nulliparous*), kalau mempunyai anak (*parous*) terjadi pada perempuan dengan melahirkan anak yang pertama pada usia lanjut. Perempuan infertil juga mempunyai resiko untuk menderita kanker payudara, dimungkinkan karena kurangnya menyusui. Resiko mendapatkan kanker payudara juga dialami perempuan dengan menstruasi lambat (usia lanjut). Kebanyakan faktor tersebut di atas ditemukan pada perempuan di daerah dengan resiko rendah kanker payudara, termasuk negara Jepang dan Cina. Data terbatas dari Afrika menyatakan bahwa efek negatif terjadi pada kelahiran usia lanjut, pengurangan jumlah kelahiran dan pendeknya waktu menyusui. Data terakhir yang diperoleh menyatakan bahwa kelahiran, tidak hanya anak pertama, tidak berkaitan dengan resiko terjadinya kanker payudara, kalau terjadi kurang dari usia 30 tahun. Kontroversi masih terjadi, dengan adanya penemuan bahwa abortus meningkatkan resiko terjadinya kanker payudara. Tetapi penelitian yang lain memberikan hasil yang tidak

demikian. (Tavassoli . et al 2003) Menyusui mempunyai efek proteksi terhadap terjadinya kanker payudara, sehingga sekarang program laktasi diusahakan diperpanjang menjadi sampai dua tahun. (Tavassoli . et al., 2003) Laporan lain menyatakan bahwa, kanker payudara jarang ditemukan pada perempuan usia dibawah 25 tahun, tetapi sering pada perempuan setelah mengalami *menopause* Kanker payudara lebih sering ditemukan pada perempuan yang tidak mempunyai anak daripada perempuan dengan banyak anak. Demikian juga resiko meningkat ditemukan pada wanita dengan menstruasi pertama (*menarche*) dini dan *menopause* yang terlambat Penyakit ini juga meningkat pada perempuan yang waktu melahirkan anak pertama pada usia diatas 30 tahun (Cotran . et al . 1999; Kumar . et al . 2005; Rosai J., 1996) Perempuan dengan menstruasi pertama kurang dari 11 tahun mempunyai resiko kanker payudara 20% lebih tinggi dibandingkan perempuan dengan *menarche* diatas 14 tahun Perempuan dengan mengandung anak aterm pertama dibawah umur 20 tahun mempunyai resiko kanker payudara setengahnya dari perempuan *nulliparous* atau melahirkan anak pertama pada umur lebih dari 35 tahun. (Kumar . et al . 2005)

2.3.1.2 Hormonal eksogen

Ada dua mayoritas komponen hormonal dalam evaluasi yang berhubungan dengan terjadinya kanker payudara, yaitu kontrasepsi oral dan terapi hormonal pada *menopause* Resiko terjadinya kanker payudara

sedikit meningkat pada pemakaian kontrasepsi oral selama dan setelah pemakaian. Pemakaian tersebut tidak tergantung pada lama dan dosis kemasan hormon yang digunakan. Data dari pemakaian kontrasepsi oral dan injeksi progesteron murni, menunjukkan relatif meningkat resiko terjadinya kanker payudara, tetapi tidak signifikan secara statistik. Studi epidemiologi pada pemakaian estrogen *post menopause*, pada pemakaian dalam jangka waktu lama, selama penggunaan dan setelahnya terjadi sedikit peningkatan resiko terjadinya karsinoma payudara. Informasi efek terapi pemakaian jangka panjang estrogen-progesteron pada *post menopause* adalah hanya pada studi yang terbatas. Pada studi tersebut terjadinya peningkatan resiko relatif adalah tidak signifikan. Hal ini berbeda dengan penggunaan jangka panjang dengan hanya pemakaian hormone estrogen murni saja. (Tavassoli, et al., 2003) Laporan lain menyebutkan, bahwa pemakaian hormon estrogen meningkatkan resiko terhadap karsinoma duktal payudara. Pemakaian kontrasepsi oral tidak jelas hubungannya terhadap meningkatnya resiko timbulnya penyakit karsinoma payudara pada perempuan. (Cotran, et al., 1999) Penambahan hormon estrogen pada perempuan *post menopause* menyebabkan sedikit meningkatnya resiko terjadinya kanker payudara, tetapi mungkin tidak sampai meningkatkan resiko kematian pada perempuan. Sedangkan pengurangan estrogen endogen setelah *oophorectomy* dapat menurunkan resiko terjadinya kanker payudara lebih dari 75% (Kumar, et al., 2005)

2.3.1.3 Nutrisi

Konsumsi makanan dengan jumlah banyak jenis buah-buahan dan sayuran adalah mungkin berhubungan dengan menurunnya resiko timbulnya kanker payudara. Pertumbuhan yang cepat dan tinggi badan melebihi usianya yang tercermin pada total konsumsi makanan diusia dini, meningkatkan resiko terjadinya kanker payudara. Berat badan yang tinggi, selara dengan konsumsi makanan dan tidak sesuai dengan penggunaan kalori untuk aktivitas fisik adalah suatu faktor resiko terjadinya kanker payudara pada perempuan *post menopause*. Lemak total, seperti lemak jenuh hewani, juga kemungkinan meningkatkan resiko. Konsumsi daging mungkin berhubungan dengan meningkatnya resiko terjadinya kanker payudara. Di negara dengan tingkat konsumsi yang beragam, resiko lebih tinggi terjadi pada populasi dimana total konsumsi daging lebih banyak, daging merah atau cara pemrosesannya, walaupun studi tersebut tidak selalu signifikan secara statistik. Dapat disimpulkan bahwa, konsumsi daging yang tinggi khususnya daging merah, goreng atau daging asap berhubungan dengan resiko terjadinya kanker payudara (Tavassoli et al , 2003) Tetapi banyak penelitian yang mengaitkan antara makanan, khususnya lemak tidak berhasil menghubungkan secara signifikan dengan terjadinya kanker payudara pada perempuan. (Kumar et al , 2005)

2.3.1.4 Alkohol

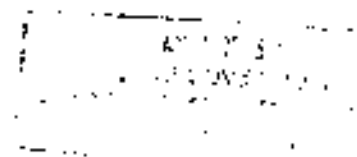
Konsumsi alkohol secara relatif dan terus-menerus sedikit meningkatkan resiko terjadinya kanker payudara, sesuai dengan kadar dan jumlah yang dikonsumsi setiap hari. Pada penggunaan hormon, atau adanya faktor potensial lain, dapat meningkatkan resiko tersebut (Tavassoli, et al., 2003). Kebiasaan minum kopi tidak ada hubungannya dengan terjadinya kanker payudara. Pemakaian alkohol secara sedang maupun berlebihan dapat meningkatkan resiko terjadinya kanker payudara. Hal ini dihubungkan dengan tingginya kadar estrogen dan rendahnya folat dalam tubuh perempuan. (Kumar, et al., 2005)

2.3.1.5 Rokok

Kejadian kanker payudara dan pemakaian rokok, sampai sekarang masih belum ada keputusan akhir (kesepakatan). Tembakau pada pemakaian rokok adalah anti estrogen, dan merupakan faktor protektif yang potensial. (Tavassoli F A., 2003). Rokok tidak dihubungkan dengan terjadinya kanker payudara, tetapi berhubungan dengan terjadinya mastitis periduktal atau abses sub areola (Kumar, et al., 2005)

2.3.1.6 Berat badan

Telah lama diketahui bahwa efek berat badan pada resiko terjadinya kanker payudara tergantung status *menopause* perempuan. Lebih dari seratus studi selama hampir lebih dari tigapuluh tahun di



banyak negara secara mantap telah diketahui bahwa, berat badan yang tinggi meningkatkan resiko terjadinya kanker payudara selama perempuan *postmenopause*. Kebanyakan model studi adalah dengan mengukur *body-mass index (BMI)*, untuk mengetahui resiko kanker payudara. *Body-mass index (BMI)* yang berlebihan meningkatkan resiko terjadinya kanker payudara pada perempuan *postmenopause*. Hubungan *body-mass index (BMI)* dan kanker payudara adalah lebih kuat diantara perempuan yang tidak pernah memakai terapi hormonal waktu *postmenopause*. Hal ini mendukung resiko tersebut, bahwa berat badan yang berlebihan mungkin sebagai mediator peningkatan produksi estrogen endogen diantara perempuan tersebut. Berat badan adalah merupakan prediktor kuat resiko terjadinya kanker payudara pada *postmenopause*, khususnya diantara perempuan yang tidak pernah mendapatkan terapi hormon pengganti. Di dalam populasi dengan kejadian kanker payudara yang tinggi, keseluruhan hubungan antara *body-mass index (BMI)* dan resiko kanker payudara diantara perempuan *premenopause*, adalah sebaliknya. Menurunkan resiko dengan mengurangi berat badan yang berlebihan adalah usaha yang kurang sesuai dan tidak diamati. (Tavassoli, et al., 2003) Laporan lain menyebutkan bahwa obesitas dan pemakaian hormon estrogen meningkatkan resiko terhadap terjadinya karsinoma payudara. (Cotran et al., 1999; Kumar, et al., 2005) Ditaporkan bahwa terjadi penurunan resiko kanker payudara pada perempuan obesitas yang lebih muda dari 40 tahun yang mempunyai siklus anovulatoir dan kadar

progesteron rendah dalam siklus. Terdapat peningkatan resiko pada perempuan obesitas *postmenopause*, dimana terjadi sintesis estrogen pada jaringan adiposit lemak. (Kumar , et al., 2005)

2.3.1.7 Aktivitas fisik

Hubungan antara aktivitas fisik dan resiko kanker payudara adalah secara independen pada perempuan menopause. Penurunan resiko kanker payudara pada perempuan dengan aktivitas fisik aktif adalah 20 sampai 40%. Aktivitas fisik harus dilakukan terus-menerus selama hidup, atau minimum ditunjukkan setelah menopause, yang memungkinkan ada hasilnya Hal ini tampak pada berbagai populasi yang berbeda Meskipun aktivitas fisik patut dilakukan selama hidup, tetapi aktivitas rekreasi setelah masa menopause memungkinkan berhasil dapat mengontrol berat badan dan resiko kanker payudara. (Tavassoli F A , 2003) Walaupun banyak penelitian yang tidak konsisten, tetapi beberapa menunjukkan bahwa terjadi penurunan resiko terjadinya kanker payudara pada perempuan premenopause yang melakukan latihan fisik. (Kumar , et al., 2005)

2.3.1.8 Hormonal endogen

Studi epidemiologi menunjukkan bahwa hormon steroid seksual (androgen, estrogen dan progesteron) mempunyai peran penting dalam pertumbuhan tumor payudara Kejadian kanker payudara lebih rendah pada usia sebelum menopause daripada sesudahnya, ketika sintesis

estrogen dan progesteron ovarium dihentikan dan produksi androgen ovarium dilurunkan secara nyata. Hipotesis akibat pengaruh estrogen yang tinggi telah menjadi perhatian utama pada resiko kanker payudara. Pada studi *in vitro*, hal tersebut menunjukkan peningkatan proliferasi dan penghambatan proses apoptosis sel epitel payudara. Percobaan binatang menunjukkan bahwa terjadi peningkatan pertumbuhan tumor pada pemberian estrogen. Resiko terjadi lebih tinggi diantara perempuan postmenopause dengan peningkatan dalam plasma yang mengandung testosteron dan androstenedion, menurunnya kadar *sex hormon-binding globulin* (SHGB), dan peningkatan kadar oestron, oestradiol, serta bioavailabilitas oestradiol yang tidak terikat dengan *sex hormon-binding globulin* (SHGB). Teori yang kedua adalah hipotesis estrogen dan progesteron, dimana resiko kanker payudara meningkat pada perempuan *menopause* dengan peningkatan kadar plasma dan jaringan yang mengandung estrogen dengan progesteron. Teori ini didukung dengan pengamatan bahwa terjadi peningkatan proliferasi sel epitel payudara selama fase luteal pada siklus menstruasi dibandingkan dengan fase folikuler. Beberapa studi tidak menunjukkan secara nyata hubungan antara resiko kanker payudara dengan kadar androgen, estrogen atau progesteron dalam darah pada perempuan premenopause. Kelebihan berat badan dan kurangnya aktivitas fisik, menyebabkan menurunnya kepekaan terhadap insulin. Peningkatan kadar insulin menyebabkan terjadinya sintesis hormon seksual dari ovarium dan adrenal tinggi.

khususnya androgen, dan menurunkan kadar *sex hormone-binding globulin* (SHBG) dalam darah maupun produksinya dalam hati. Khususnya pada perempuan postmenopause, peningkatan kadar androgen dalam plasma, meningkatkan jumlah estrogen dalam jaringan adipose, dan memicu peningkatan kadar oestron oestradiol. Hipotesis yang menyatakan bahwa hiperinsulinemia kronis, yang menjelaskan hubungan antara resiko kanker payudara dengan kadar *sex hormone-binding globulin* (SHBG) plasma yang rendah, peningkatan androgen dan estrogen diantara perempuan postmenopause, telah diterima meskipun hanya mendapat dukungan yang terbatas. *Insulin growth factor-1* (IGF-1) dan *IGF-binding proteins* (IGFBP), tampak menjadi prediktor yang signifikan terhadap terjadinya resiko kanker payudara (*nsk predictors*) (Tavassoli FA., 2003)

2.3.1.9 Paparan bahan spesifik

Dari data yang terbatas diperoleh penjelasan bahwa paparan terhadap bahan tertentu berhubungan dengan terjadinya kanker payudara. Pengamatan yang cukup lama pada ledakan bom atom di Nagasaki dan Hiroshima, menyatakan bahwa terdapat indikasi peningkatan resiko terjadinya kanker payudara, khususnya diantara perempuan pubertas yang mendapatkan efek radasi. Pengamatan yang sistematis pada pekerjaan, diketahui bahwa resiko terjadinya kanker payudara berhubungan dengan paparan terhadap bahan fisika maupun kimia spesifik. Data tersebut berbeda dengan observasi yang cukup lama, yang

menyatakan bahwa resiko kanker payudara berkaitan dengan kelas sosial. Resiko mendapatkan kanker payudara lebih tinggi terjadi pada pada perempuan eksekutif. Hipotesis terbaru menyatakan bahwa resiko kanker payudara meningkat pada perempuan yang bekerja waktu malam hari. Lebih dari sepuluh tahun terakhir fokus pengamatan pada resiko kanker payudara tidak hanya pada hormon, tetapi juga produk buatan yang mempunyai aktivitas menyerupai hormon. Konsep ini dikenal dengan *xeno-hormonal*, khususnya *xeno-estrogen*, yang perannya secara pasti belum diketahui. Kebanyakan studi epidemiologi menemukan beberapa pestisida, khususnya organoklorin yang terdapat di lingkungan dalam waktu sangat lama dan residunya yang mungkin ditemukan pada jaringan adipose berbagai spesies termasuk manusia. Studi tersebut memberikan beberapa konklusi, sebagian merupakan resiko, sebagian lain tidak, dan yang lain memberikan efek negatif. Dengan hewan coba, ditemukan adanya peran retrovirus pada resiko kanker payudara. Virus retrovirus penyebab tumor payudara, dipindahkan melalui air susu induk kepada anaknya. Dugaan lain adalah bahwa virus Epstein-Barr, meskipun data dari Amerika belum sepenuhnya mendukung. (Tavassoli F.A. 2003) Laporan lain menyatakan bahwa terjadi peningkatan resiko terjadinya kanker payudara pada paparan radiasi ion, khususnya bila terjadi pada waktu perkembangan payudara (Rossi J., 2004) Kejadian kanker payudara yang tinggi didapatkan pada perempuan dengan pengobatan sinar radiasi dan paparan setelah ledakan bom atom. Resiko meningkat

terjadi pada usia muda dengan paparan radiasi dosis tinggi. Perempuan usia 10 – 20 tahun dengan pengobatan sinar radiasi pada penderita penyakit Hodgkin mempunyai resiko 20 - 30% terjadinya kanker payudara setelah 10 – 30 tahun pengobatan. (Kumar , et al.. 2005)

2.3.2 Karsinoma duktal payudara

Merupakan jenis terbanyak yang ditemukan dari karsinoma payudara. Kanker ini dibedakan dalam dua kelompok, yaitu . karsinoma duktal insitu dan karsinoma duktal invasif. Pada klasifikasi histologis tumor payudara dari WHO tahun 2003, karsinoma duktal insitu dimasukkan dalam golongan tersendiri, yaitu *intraductal proliferative lesions* (termasuk *Usual ductal hyperplasia*, *Flat epithelial atypia*, dan *Atypical ductal hyperplasia*). Karsinoma duktal invasif, tipe tidak spesifik (*ductal NST*) dikenal juga sebagai karsinoma duktal infiltratif (*infiltrating ductal carcinoma*). Banyak nama digunakan untuk mendefinisikan bentuk kanker jenis ini. Beberapa nama yang dipakai adalah seperti *scirrhous carcinoma*, *carcinoma simplex* dan *spheroidal cell carcinoma*. Nama *infiltrating ductal carcinoma* digunakan oleh *Armed Forces Institute of Pathology*, dan penamaan tersebut diadopsi pada klasifikasi yang pertama oleh WHO. Tumor tersebut secara konsep tradisional merupakan derivat dari epitel duktal payudara, berbeda dari *lobular carcinoma* yang berasal dari sel epitel lobulus. Karsinoma payudara terbanyak berasal dari satu tempat dalam payudara, yaitu *terminal duct-lobular unit* (TDLU). Variasi dari

karsinoma duktal invasif adalah *Mixed type carcinoma*, *Pleomorphic carcinoma*, *Carcinoma with osteoclastic giant cell*, *Carcinoma with choriocarcinomatous features* dan *Carcinoma with melanotic features*

2.3.2.1 Karsinoma duktal insitu

Awal abad 20 karsinoma intraduktal terdiskripsi secara patologis oleh para ahli bedah yang tertarik dengan studi mikroskopis. J.C. Warren seorang praktisi bedah Boston menyatakan bahwa karsinoma payudara mungkin berkembang dari perubahan lesi duktus yang hiperplastik. Penelitian klinis dan patologis yang fundamental pada awal abad 20 dilakukan oleh 2 orang ahli bedah lain, yaitu Sir G. Lenthal Cheate (King College Hospital, London) dan Joseph Colt Bloodgood (Johns Hopkins University Hospital, Baltimore, Maryland) Pada tahun 1920 Cheate dan 1921 Bloodgood mempelajari tentang karsinoma mikropapiler, tetapi pendapat keduanya tidak diterima dan dipakai oleh para ahli lain Bloodgood juga meneliti cara membedakan antara lesi hiperplasia *borderline* dengan *intraductal carcinoma*. Chealte mempelajari lesi mikropapiler proliferasif dengan bentukan *cartwheel* dalam duktus yang menyerupai karsinoma, yang sekarang dikenal dengan *cubiform* Bentukan *comedo* dan *cubiform intraductal carcinoma* adalah istilah yang diberikan oleh Bloodgood. Ia menuliskan bahwa pada tahun 1893, menemukan tumor payudara yang secara klinis adalah jinak pada penderita usia 67 tahun dengan nodul kecil sejak 11 bulan lamanya,

dengan makroskopis berwarna putih keabu-abuan, granuler, silindris diberi nama komedo. Karena dari gambaran makroskopis tumor tersebut ganas, maka dilakukan operasi radikal. Tidak ditemukan kelenjar getah bening yang terkena dan penderita hidup sampai 19 tahun kemudian dan meninggal pada usia 86 tahun. (Rosen PT., 1997) Karsinoma insitu merupakan lesi yang jarang ditemukan, karena sulit dideteksi. Tetapi dengan adanya alat pemeriksaan penunjang yang lebih akurat, maka lesi tersebut diharapkan dapat dengan mudah terdeteksi. Tumor tumbuh dengan ditandai oleh adanya sel epitel anaplastik yang mengisi dan menyumbat duktus. Secara histopatologis tersusun dari sel epitel anaplastik yang terbatas pada duktus dan belum menembus basal membran. Terdapat beberapa varian gambaran morfologi mikroskopis, yaitu bentuk papiler, solid, kribiformis, mikropapiler, *clinging*, *cystic hypersecretory* dan komedo karsinoma. Bentuk karsinoma papiler adalah sangat berbeda karena berasal dari transformasi sel epitel duktus besar. Sedangkan tipe lain merupakan derivat dari epitel *terminal duct-lobular unit* (TDLU), meskipun biasanya meluas ke duktus yang lebih besar. Tumor tersebut secara tradisional dibagi menjadi *comedo carcinoma* (dengan gambaran spesifik berupa sel besar pleomorfik dan area nekrosis di tengahnya), *solid*, *cribriform*, *mikropapillary* (tersusun dari sel kecil uniform dan tidak berhubungan dengan area nekrosis) dan *clinging lesions* yang mempunyai gambaran sitologis berbeda (Rosai J., 1996 dan 2004). Karsinoma duktal insitu (*ductal carcinoma in situ / DCIS*) disebut

juga dengan intraductal carcinoma atau *ductal intraepithelial neoplasia*. Tumor ini merupakan lesi neoplastik intraduktal dengan gambaran spesifik proliferasi sel epitel atipikal yang nyata, tetapi tidak selalu tumbuh menjadi kanker payudara invasif (Tavassoli, et al., 2003). Karsinoma komedo bisa mencapai ukuran diameter 2 – 5 cm, dan dapat diraba. Tempat tumor sering terdapat di sentral: multipel, multi sentris, dan bilateral. Secara makroskopis tumor tumbuh pada duktus berdinding tebal, dipisahkan oleh jaringan yang normal. Jika duktus tersebut ditekan, akan keluar bahan nekrotik, sehingga disebut karsinoma komedo. Sedangkan jika dinding duktus tidak tebal, tumor terlihat hanya secara mikroskopis, yaitu dengan ditemukannya sel anaplastik yang tersusun padat, inti sel epitel pleomorfik, banyak ditemukan sel yang mitosis, dan tidak ditemukan sel stroma di antaranya. Tanda penting dari tumor ini adalah terdapat daerah nekrosis di tengah dan kadang dengan kalsifikasi. Sel mioepitel biasanya tidak ditemukan pada duktus yang telah berubah ganas, termasuk karsinoma duktal insitu dan karsinoma komedo. Stroma sering di sekitar duktus tersebut menunjukkan fibrosis (Cotran, 1999; Rosai J., 1996). Karsinoma duktal in situ mempunyai resiko relatif (*relative risk/RR*) untuk berkembang menjadi karsinoma payudara invasif sebesar 0 sampai 11%. Tetapi apabila dilakukan terapi konservatif dengan *complete local eradication*, akan sembuh dengan baik. Meningkatnya jumlah kasus karsinoma duktal payudara yang terdeteksi adalah hasil dari tersebar luasnya alat diagnostik mamografi dan meningkatnya kesadaran

masyarakat sejak tahun 1983. Data dari Amerika Serikat, yang dikumpulkan oleh National Cancer Institutes Surveillance, Epidemiology and Result (SEER), menyebutkan bahwa ditemukan kasus karsinoma duktal payudara 2.8% pada tahun 1973 menjadi 14.4% pada tahun 1995. Kenaikan kejadian per tahun dalam satu dekade adalah sebagai berikut dari tahun 1973 sampai 1983 sebesar 3.9% dan dari tahun 1983 sampai 1992 sebesar 17.5%. Meningkat dari 2,4 per 100.000 perempuan pada tahun 1973 menjadi 15.8 per 100.000 perempuan pada tahun 1992 untuk semua ras, sehingga secara keseluruhan meningkat sebesar 557% (Tavassoli F A, et al, 2003).

Di negara dengan sistem skrining sudah berjalan dengan baik sebagian besar kasus karsinoma duktal payudara insitu terdeteksi hanya dengan *imaging* saja (lebih dari 85%). Hanya sekitar 10% saja yang ditemukan dengan gejala klinis, dan lebih dari 5% ditemukan dengan pembedahan karena kasus lain. Secara klinis karsinoma duktal payudara insitu ditemukan dengan (i) perabaan abnormal, (ii) *pathological nipple discharge*, (iii) kelainan papila berhubungan dengan penyakit Paget.

Dari pemeriksaan ulang sekitar 1000 perempuan yang berobat di *Memorial Sloan-Kettering Cancer Center* pada akhir tahun 1970 diperoleh keterangan bahwa 5 % adalah karsinoma intraduktal. Penelitian dari Danish Women tahun 1980 diperoleh informasi bahwa telah dideteksi adanya karsinoma intraduktal baru sebanyak 4 %. Tahun 1988 didapatkan keterangan berdasarkan data dari *Connecticut Tumor Registry* yang

menunjukkan bahwa setiap tahun kejadian kasus karsinoma intraduktal meningkat. Tahun 1979 sebanyak 33 kasus (1,8 %), dan tahun 1988 terdapat 200 penderita (7,4 %) dari kejadian karsinoma payudara. Mamografi adalah prosedur diagnosis yang sangat sensitif untuk kasus karsinoma intraduktal, yang pada dasarnya merupakan lesi yang tidak teraba (Rosen PT, 1997). Mamografi merupakan alat paling penting dalam deteksi karsinoma duktal insitu. Data dari Amerika menyebutkan bahwa pada program skrining ditemukan 10% sampai 30% kasus keganasan, yang kesemuanya adalah karsinoma duktal insitu. Pada mamografi secara signifikan kasus karsinoma duktal insitu adalah ditemukannya kalsifikasi mikro.

Karsinoma duktal insitu dibedakan menurut derajat keganasannya, secara tradisional berdasarkan arsitektur histologis. Kebanyakan sistem klasifikasi moderen berdasarkan pada inti sel, nekrosis dan polarisasi sel. Disamping itu dapat diperoleh informasi juga mengenai status tepi operasi, ukuran tumor dan adanya kalsifikasi. Kesepakatan internasional sekarang merekomendasikan dengan melihat hubungan variabel patologi dengan keadaan klinis. Sekarang ini karsinoma duktal insitu dibedakan dalam tiga gradasi keganasan, yaitu karsinoma duktal in situ derajat keganasan rendah (*Low grade DCIS*), sedang (*Intermediate grade DCIS*), dan tinggi (*High grade DCIS*). *Low grade DCIS* terdiri dari satu macam bentuk sel, ukuran sel kecil, ukuran inti sama, kromatin halus, anak inti tidak jelas, jarang mitosis dan tumbuh dalam saluran duktus, menyusun bentukan

micropapillae, cribriform atau *solid*. *Intermediate grade DCIS* mempunyai gambaran sama dengan *low grade DCIS*, tetapi ditemukan beberapa nekrosis dalam lumen, dan ditambah tampak anak inti serta kromatin kasar. *High grade DCIS* biasanya tersusun atas duktus tunggal dengan diameter lebih dari 5 mm tetapi dapat pula kurang dari 1 mm, ditapisi sel epitel sangat pleomorfis, proliferasi rendah, polarisasi rendah, kromatin kasar bergerombol, anak inti sel jelas, mitosis biasanya sering ditemukan dengan tanda khusus terdapat *comedo necrosis* dalam lumen dikelilingi sel tumor yang proliferasi padat ukuran besar dan pleomorfis. Bentuknya adanya kalsifikasi mikro yang amorf adalah sangat sering ditemukan pada karsinoma duktal insitu derajat keganasan yang tinggi. (Rosai J, 1996 dan 2004, Tavassoli FA, 2003) Penelitian terakhir menyebutkan bahwa 33% dari *ductal carcinoma in situ* (DCIS) memberikan informasi overekspresi protein c-erbB2 pada permukaan sel kanker. Overekspresi c-erbB2 pada DCIS dilaporkan berkorelasi dengan gradasi keganasan tinggi dan inti sel kanker. (Tsuda H., et al., 2005)

2.3.2.2 Karsinoma duktal invasif

Karsinoma duktal invasif, tipe tidak spesifik (*ductal NST*) dikenal juga sebagai karsinoma duktal infiltratif (*infiltrating ductal carcinoma*). Banyak nama digunakan untuk bentuk kanker jenis ini, seperti *scirrhous carcinoma, carcinoma simplex* dan *spheroidal cell carcinoma*. Nama *infiltrating ductal carcinoma* digunakan oleh *Armed Forces Institute of*

Pathology dan penamaan tersebut diadopsi pada klasifikasi yang pertama oleh WHO. Tumor tersebut secara konsep tradisional merupakan derivat dari epitel duktus payudara, berbeda dari *lobular carcinoma* yang berasal dari sel epitel lobulus. Karsinoma payudara terbanyak berasal dari satu tempat dalam jaringan payudara, yaitu pada *terminal duct-lobular unit* (TDLU). Variasi dari karsinoma duktal invasif adalah sebagai berikut, *Mixed type carcinoma*, *Pleomorphic carcinoma*, *Carcinoma with osteoclastic giant cell*, *Carcinoma with chondrocarcinomatous features* dan *Carcinoma with melanotic features* (Favassoli, et al., 2003)

Secara epidemiologis karsinoma duktal payudara invasif tidak berbeda dengan epidemiologi kanker payudara secara keseluruhan. Pada beberapa publikasi disebutkan bahwa jenis tumor ini adalah paling banyak ditemukan dari seluruh karsinoma payudara, yaitu antara 40% sampai 75%. Hal ini disebabkan karena tidak ada kriteria khusus yang tegas untuk membatasi jenis tumor ini atau kombinasi dengan yang lain, sehingga semua dimasukkan dalam tipe yang tidak spesifik (*invasive ductal carcinoma, no specific type, NST* atau *not otherwise specified, NOS*). Jenis tumor ini jarang ditemukan pada usia dibawah 40 tahun. Kasus kanker payudara familial sering ditemukan adanya mutasi gen *BCRA1* dengan bentuk *medullary carcinoma like*, sedangkan mutasi *BCRA2* dengan bentuk banyak tubulus (Cotran, et al., 1999; Favassoli, et al., 2003). Karsinoma invasif (*non specific type, NOS* atau *invasive ductal carcinoma*) merupakan mayoritas dari seluruh kanker payudara

(70 sampai 80 %), karena sudah tidak dapat di bagi lagi. (Kumar , et al., 2005)

Tumor karsinoma duktal invasif (*ductal NST*) tidak mempunyai bentuk makroskopis yang spesifik. Ukuran tumor bervariasi, dari yang kecil, kurang dari 10 mm sampai lebih dari 100 mm. Tepi tumor tidak reguler, batas tidak jelas, terdapat nodul statelit. pada perabaan padat kenyal sampai keras. Kalau dipotong dengan pisau, permukaan irisan tampak putih keabu-abuan dengan bercak-bercak kekuningan. (Tavassoli, et al., 2003) Pertumbuhan tumor secara makroskopis pada palpasi adalah padat, tidak berbatas jelas, konsistensi rapuh, berwarna putih keabu-abuan, pada irisan memberikan gambaran *chalky streaks* (Cotran RS., 1999; Rosai J., 1996)

Pada gambaran mikroskopis, tumor tersusun atas sel epitel anaplastik, bentuk dan ukuran bervariasi, ukuran relatif besar, inti sel pleiomorfik, anak inti tampak jelas, dan banyak sel tumor yang mitosis. Sel tumor sudah menembus basal membran duktus, menyusup dalam stroma jaringan ikat, dan tersusun dalam kelompok, sarang, lembaran atau dalam bentukan tubuli. Bentuk lainnya adalah karsinoma tubuler, karsinoma kribiform, karsinoma papiler, karsinoma meduler, karsinoma musinus, karsinoma apokrin, dan karsinoma metaplastik. (Rosai J., 1996; Kumar , et al., 2005) Sel tumor tersusun dalam bentukan *cards*, *clusters*, dan *trabeculae*. *solid* atau *syncytial infiltrative pattern* pada jaringan stroma, yang kadang- kadang tampak struktur tubuler dengan lumen di tengah

Tumor tersusun dari sel dengan sitoplasma cukup luas eosinofilik, inti dari reguler uniform sampai sangat pleomorfik, multipel, anak inti prominen dan banyak mitosis. Pada lebih dari 80% diantara jaringan tumor, ditemukan fokus karsinoma duktal in situ yang biasanya adalah *high grade comedo type*. Komponen stroma sangat bervariasi, berupa sel fibroblas proliferatif, sedikit elemen jaringan ikat, atau jaringan hialin yang luas. Nekrosis fokal mungkin juga dapat ditemukan, dengan sedikit kasus didapatkan infiltrasi sel limfoplasmasitoid. (Tavassoli F A., 2003)

2.3.2.3 Karsinoma duktal metastasis

Dalam klasifikasi histologis tumor payudara WHO yang dipublikasikan tahun 2003, karsinoma duktal metastasis tidak digolongkan tersendiri, tetapi dimasukkan dalam kelompok karsinoma duktal invasif. Tetapi karena perilaku klinis dan prognosis yang berbeda, maka dalam penelitian ini dikelompokkan tersendiri. Secara klinis, makroskopis dan histopatologis, tumor karsinoma duktal metastasis tidak dapat dibedakan dengan karsinoma duktal invasif. Perbedaan terjadi pada lokasi tumor yang menyebar ke luar dari jaringan payudara, baik ke kelenjar getah bening atau ke organ tubuh lain. Ekspresi yang berlebihan dari gen c-erbB2 dijumpai pada 20% sampai 30% karsinoma payudara dan mempunyai korelasi positif dengan proses invasi dan metastasis sel karsinoma. Disamping itu juga menunjukkan jumlah peningkatan sekresi protein MMP yang mempunyai peran kunci pada proses invasi dan

metastasis sel tumor payudara. (L' et al., 2000, Cook . et al' , 2001) Kanker payudara menyebar dapat melalui invasi langsung, lewat saluran limfe atau pembuluh darah. Kasus metastasis dapat ditemukan pada saat diagnosis ditegakkan, atau terjadi beberapa bulan, tahun bahkan dekade setelah pengobatan pertama dilakukan (Rosai J 2004) Sebagian besar dan hampir mayoritas perempuan dengan karsinoma duktal insitu akan terobati dan sembuh. Berbeda dengan karsinoma duktal invasif dimana setengah dari jumlah penderita akan berkembang menjadi karsinoma invasif yang metastasis ke kelenjar getah bening regional atau metastasis jauh (Kumar . et al' 2005)

2.3.3 Grading histopatologis dan stadium klinis

Karsinoma duktal payudara invasif secara rutin dibedakan derajat keganasannya berdasarkan gambaran tubulus atau kelenjar, pleomorfisitas atau diferensiasi sel dan jumlah mitosis. Banyak studi menunjukkan adanya hubungan secara signifikan antara gradasi histologis dan ketahanan hidup (*survival*) pada karsinoma payudara invasif. Penetapan gradasi histologis telah menjadi lebih obyektif dengan modifikasi dari Patiey dan Scarff. Modifikasi gradasi histologis tersebut pertama kali dipublikasikan oleh Blomm dan Richardson kemudian diperbarui dan dilaporkan oleh Elston dan Ellis.

Metode untuk menentukan gradasi histologis adalah dengan mengevaluasi tiga kriteria tumor yang karakteristik yaitu formasi tubulus

(bentukan kelenjar), pleomorfisitas (diferensiasi) sel kanker dan jumlah mitosis. Kemudian ditentukan angka 1 sampai 3 untuk masing - masing kriteria di atas. Evaluasi tubulus atau asinus kelenjar adalah kalau tampak secara nyata adanya lumen di tengah, dan dihitung jumlahnya. *Cut off points* adalah 75% dan 10%. Pleomorfisitas inti ditetapkan berdasarkan regularitas ukuran dan bentuk inti sel epitel kelenjar payudara. Peningkatan regularitas inti dan anak inti menentukan skor pleomorfisitas. Jumlah mitosis ditentukan dengan pembesaran standar yang telah ditetapkan per 10 *high power fields*. Penghitungan jumlah mitosis dilakukan pada tumor bagian tepi, atau kalau tumor heterogen dipilih tempat dengan jumlah mitosis terbanyak, secara random di beberapa tempat. Gradasi adalah ditentukan dengan menjumlah skor ketiga nilai tersebut, yaitu berjumlah 3 sampai 9. *Grade I* adalah tumor dengan *grading* histopatologis rendah (*low grade*), total skor 3 sampai 5. *Grade II* adalah tumor dengan *grading* histopatologis sedang (*moderately grade*), total skor 6 sampai 7. *Grade III* adalah tumor dengan *grading* histopatologis tinggi (*high grade*), total skor 8 sampai 9. (Tavassoli, et al 2003)

Sedangkan berdasarkan kriteria dari *Nottingham Modification of the Bloom Richardson System*, karsinoma duktal payudara dikelompokkan secara *grading histologis* tidak jauh berbeda dari yang tersebut di atas. (Rosai J., 1996 dan 2004) Kriteria ini disusun berdasarkan gambaran mikroskopis atas tiga parameter, yaitu: (a) **pleomorfisitas sel**, dengan

ketentuan skor 1: ukuran inti sel kecil, benang kromatin relatif halus, anak inti tidak jelas; skor 2: ukuran inti sedang dan pleomorfik kromatin kasar, anak inti jelas; skor 3: ukuran dan bentuk inti bervariasi, ukuran besar, kromatin sangat kasar, anak inti jelas dapat lebih dari satu. (b). **jumlah mitosis dalam 10 HPF (*high power field*)** dengan ketentuan skor 1: jumlah mitosis 1-9, skor 2: 10-19, skor 3: 20 ke atas. (c). **susunan sel dalam bentukan kelenjar**, dengan ketentuan skor 1: lebih dari 75 % sel tumor tersusun dalam bentukan kelenjar. skor 2: 10-75 %, skor 3: kurang dari 10 % *Grading* histopatologis ada tiga tingkatan, yaitu *grading* histopatologis rendah, dengan ketentuan skor 3-5 sedang, dengan ketentuan skor 6-7, dan tinggi, dengan ketentuan skor 8-9 (Rosai J. 1996 dan 2004) Pada karsinoma duktal payudara invasif dengan *grading* histopatologis sedang dan tinggi. lebih sering didapatkan ekspresi protein gen Ki67 dan c-erbB2 (Leal . et al . 2001)

Stadium mempunyai beberapa kegunaan penting yaitu untuk penelitian dan pengobatan tumor (payudara) Dapat juga dipakai untuk stratifikasi pengobatan penderita dan menentukan prognosis penyakit. Stadium penting untuk membandingkan hasil dari pengobatan yang berbeda atau hasil pengobatan dari kelompok yang berbeda dengan terapi yang sama (*National Cancer Data Base oleh American Cancer Society and The American College of Surgeons*)

Permulaan diperkenalkan oleh Steintal (1905) dengan mengelompokkan penderita berdasarkan 3 kategori, yang sampai sekarang masih dipakai.

Ketiga kategori tersebut adalah tumor, kelenjar regional dan metastasis jauh. Dekade berikutnya penentuan stadium lebih terperinci dengan didasarkan pada kondisi klinis dan gambaran patologis. Akhirnya muncullah *TNM system* oleh *International Union Against Cancer (UICC)* dan *American Joint Committee for Cancer Staging and End-Result Reporting (AJC)* yang dipublikasi tahun 1978 sebagai *Manual for Staging of Cancer* oleh AJC. *TNM staging* didasarkan pada tumor primer (T), metastasis kelenjar getah bening regional axilla (N) dan metastasis jauh (M). *TNM staging* didasarkan pada kondisi klinis, sedangkan pTNM adalah stadium patologis yang berdasarkan morfologis. Terakhir *staging system* direkomendasikan pada *Manual for Staging of Cancer* edisi ke 4 yang dipublikasikan tahun 1991 oleh American Joint Committee on Cancer (AJCC) yang hampir identik dengan *TNM Classification of Malignant Tumors* edisi ke 4 yang dipublikasi oleh UICC tahun 1987. Klasifikasi tersebut dapat diterapkan apabila sudah ada pemeriksaan histopatologis. Penentuan tumor tergantung tempatnya di payudara yaitu puting (nipel), sub areolar, 4 kuadran dan axilla. Jika multipel, yang terpenting adalah tumor yang paling lama. Stadium klinis masih banyak dipakai walaupun kurang akurat dibandingkan dengan stadium patologis. Ukuran tumor primer paling akurat untuk menentukan kasus, dengan menggunakan diagnosis fisik atau mamografi. Kekurangan stadium klinis adalah *over estimate* ukuran tumor primer dan pemeriksaan kelenjar getah bening yang tidak akurat. Positif dan negatif palsu pada stadium klinis untuk

pemeriksaan kelenjar getah bening axilla terjadi 30 sampai 40 %. Rosen dkk. menemukan bahwa kesalahan tersebut mencapai 33 sampai 38 % (T1 dan T2). Khusus kekurang tepatan pemeriksaan stadium klinis T2N0, setelah operasi menjadi T2N1 (negatif palsu) adalah 48 %, sedangkan T1N1 setelah operasi menjadi T1N0 (positif palsu) sebesar 41 %.

Stadium patologis (pTNM) tidak hanya berdasarkan makroskopis, tetapi juga mikroskopis termasuk tepi irisan tumor primer. Penentuan tumor primer sama dengan pemeriksaan stadium klinis, yaitu dengan pemeriksaan dan pengukuran fisik dengan menggunakan 1, 2 dan 3. Jika ada pengukuran lain seperti mamografi atau morfologi patologi, maka dapat lebih rinci dengan membagi lagi penentuan tumor primer. Demikian juga pada penentuan metastasis kelenjar getah bening regional (N) dan metastasis jauh (M). (Rosen PT., 1997)

Stadium klinis karsinoma duktal payudara, didasarkan pada ukuran tumor, infiltrasi sel tumor pada kelenjar getah bening, dan metastasis pada organ lain. Di seluruh dunia ada dua macam sistem yang secara umum dipakai, yaitu *International Union Against Cancer (UICC)* dan *American Joint Commission on Cancer Staging and End Result Reporting (AJC)*. Kedua sistem penggolongan stadium klinis tersebut berdasarkan pada *TNM system* (*T, tumor; N, nodes; M, metastases*). (Rosai J, 1996 dan 2004)

2.4 Sinyal Transduksi

Sel mamalia pada umumnya berada dalam keadaan istirahat sampai ia menerima sinyal dari luar yang mengubah perilaku biologisnya secara spesifik sesuai sinyal yang diterimanya. Karena itu pertumbuhan, diferensiasi dan survival sel normal sangat bergantung pada sinyal eksternal tersebut. Proses ini dimulai apabila salah satu sel menghasilkan molekul pemberi sinyal. Sinyal tersebut kemudian berikatan dengan reseptor pada permukaan sel sasaran yang spesifik, sehingga tidak memberikan dampak biologis pada sel yang tidak menampilkan reseptor yang relevan. Pengikatan pada reseptor merangsang berbagai fungsi biokimiawi intrinsik dari reseptor. Selanjutnya reseptor yang teraktivasi kemudian memodifikasi jalur intraseluler yang mengendalikan ekspresi gen, mengontrol siklus sel, metabolisme sel, arsitektur sitoskeleton, adhesi sel maupun migrasi sel. Dengan demikian berbagai molekul pemberi sinyal dapat mengatur berbagai aspek perilaku biologis sel termasuk pertumbuhannya. Proses tersebut terjadi secara berurutan dalam sel sebagai respon terhadap rangsangan. Hal ini berlangsung dalam suatu kaskade biokimiawi yang sangat teralir dimulai dari reseptor pada membran sel sampai nukleus dan mengaktifkan berbagai faktor transkripsi. Telah diketahui bahwa siklus dan pertumbuhan sel dikendalikan oleh berbagai onkogen dan gen supresor, yang memproduksi berbagai protein dan berfungsi sebagai komponen dalam sinyal transduksi yang memungkinkan sel memberikan respon terhadap

stimulasi dari luar. Karena itu dapat dimengerti bahwa kelainan pada onkogen dan atau gen supresor dapat menghasilkan protein abnormal dengan fungsi transduksi sinyal abnormal, yang menyebabkan transformasi keganasan. (Krisno B., 2003) Penting untuk diketahui bahwa sinyal ekstraseluler diinterpretasikan oleh sel dengan respon pertumbuhan atau proliferasi. Peran diatas dilakukan oleh reseptor tirosin kinase. Salah satunya adalah golongan protein c-erbB yang memiliki empat anggota famili, yaitu c-erbB1, 2, 3 dan 4. Seluruh anggota keluarga reseptor tirosin kinase tersebut mempunyai *extracellular ligand-binding domain*, *membrane-spanning region* dan *cytoplasmic protein tyrosine kinase domain*. Famili ligan *EGF-related peptide growth factors*, berikatan dengan *extracellular domain* reseptor c-erbB dan membentuk susunan homo dan heterodimer. Proses dimerisasi mempunyai konsekuensi untuk menstimulasi aktivitas instrinsik tirosin kinase dan reseptor dan memulai proses autofosforilasi residu tirosin spesifik dalam *cytoplasmic domain*. Residu yang terfosforilasi bertindak sebagai *docking sites* untuk molekul sinyal yang termasuk dalam pengaturan kaskade sinyal intra seluler. Efek dari proses tersebut adalah pada ekspresi gen yang dimaksudkan dengan respon biologis pada aktivasi reseptor. Ekspresi protein reseptor c-erbB pada berbagai jaringan epitelial, mesenkimal dan saraf, berperan mendasar pada pertumbuhan, proliferasi dan diferensiasi. Dereglulasi dari ekspresi protein reseptor c-erbB, khususnya c-erbB1 dan c-erbB2 berdampak pada pertumbuhan dan keganasan dan berbagai tipe kanker

pada manusia (Olayoye . et a' , 2000) Fragmen: larut yang merupakan domain ekstraseluler dari protein onkogen c-erbB2 mungkin dilepaskan dari permukaan sel, dan dapat terdeteksi pada penderita karsinoma ductal payudara. Dilaporkan bahwa telah ditemukan adanya protein onkogen c-erbB2 dalam saliva dan serum penderita karsinoma ductal payudara dengan jumlah lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan pada perempuan normal atau penderita tumor jinak payudara (Streectus , et al 2000)

2.4.1 Reseptor dan faktor pertumbuhan

Fungsi seluruh faktor pertumbuhan (*growth factor*) adalah kemampuannya mengikatkan diri pada reseptor yang spesifik untuk menghantarkan sinyal kepada sel target. Sinyal yang dihantarkan tersebut mempunyai efek umum, yaitu merangsang transkripsi pada banyak gen yang diam pada sel dalam keadaan istirahat, dan beberapa gen tersebut kemudian memasuki fase siklus pembelahan sel. Proses siklus pembelahan sel diatur dan dipengaruhi oleh banyak molekul dan jalur sinyal yang saling berhubungan. Dimulai dari proses terjadinya ikatan ligan (GF dan ECM) dengan vas ligan reseptor spesifik. Terjadinya ikatan spesifik tersebut, dapat terjadi pada tempat yang berbeda yaitu di tempat sel yang sama, berdekatan atau berjauhan (berbeda sel) antara penghasil ligan dan sel target yang spesifik. Autokrin adalah terjadinya respon sel terhadap molekul sinyalnya sendiri (GF dan sitokin). Kondisi

demikian dapat terjadi pada pertumbuhan beberapa tumor yang memproduksi faktor pertumbuhan dan reseptornya secara berlebihan yang dapat menstimuli proliferasi sel yang tidak terkendali. Parakrin adalah terjadinya respon sel terhadap molekul sinyal yang diproduksi oleh sel lain (GF diproduksi sel makrofaq dengan reseptor sel fibroblas) atau sel tetangga (juxtakrin) seperti TNF dan TGF- α . Kondisi demikian dapat terjadi pada perbaikan berbagai jaringan ikat (*healing wounds*) yang mengalami kerusakan. Endokrin terjadinya respon sel terhadap molekul sinyal yang diproduksi oleh sel lain yang berbeda yang letaknya jauh dan melalui aliran darah untuk menuju sel target (hormon dan sitokin). Setelah reseptor mengikat ligan yang spesifik, akan mengalami proses dimerisasi. Trimerisasi atau pada reseptor tunggal akan mengikat protein adaptor sitoplasma. Selanjutnya reseptor akan meneruskan sinyal dari membran melewati sitoplasma menuju inti sel. Ikatan kompleks ligan-reseptor tersebut kemudian merangsang sel untuk memberikan respon yang spesifik atau multipel. (Cooper et al., 2004 ; Kumar , et al. 2005)

Sampai sekarang dikenal beberapa macam reseptor yang berperan pada kelangsungan hidup sel mamalia, termasuk juga manusia.

Reseptor dengan kinase tirosin intrinsik mempunyai *extracellular ligand-binding domain*, *transmembrane region* dan *cytoplasmic tail* yang berperan sebagai kinase tirosin intrinsik. Reseptor tersebut mampu mengikat banyak ligan terutama golongan GF, yaitu EGF, TGF- α , HGF, PDGF, VEGF, FGF, c-KIT *ligand* dan insulin. Setelah mengikat ligan,

reseptor akan terangsang untuk melakukan dimerisasi, fosforilasi dan aktivasi kinase tirosin. yang selanjutnya reseptor mengaktifkan banyak molekul efektor. Kalau reseptor mengaktifkan molekul efektor PLC γ , maka akan terjadi aktivasi *serin-threonin kinase*, *protein kinase C (PKC)* yang selanjutnya meningkatkan aktivitas faktor transkripsi. Sedangkan apabila reseptor tersebut mengaktifkan proses fosforilasi membran fosfolipid dan aktivitas protein Ras dengan mengubah GDP menjadi GTP terus mengaktifkan faktor transkripsi yang pada akhirnya mempengaruhi kontrol siklus sel untuk berlanjut. Reseptor tanpa kinase tirosin intrinsik setelah mengikat ligan sitokin (IL-2,3, $\text{IL-}\alpha,\beta,\gamma$, *erythropoetin*, GCSF, GH dan *prolactin*), kemudian mengaktifkan protein JAK. Protein JAK tersebut kemudian mengaktifkan faktor transkripsi sitoplasma STAT yang kemudian akan menghantarkan sinyal ke nukleus untuk mengaktifkan gen transkripsi. Reseptor 7 membran (GPCRs) yang mempunyai 1500 klas. mampu mengikat ligan (vasopresin, serotonin, histamin, epinefrin, norepinefrin, calcitonin, glucagon, hormon paratiroid, corticotropin, rhodopsin dan obat-obatan), kemudian akan mengikat protein G untuk mengubah GDP menjadi GTP dan merangsang c-AMP yang selanjutnya akan mengaktifkan faktor transkripsi. Reseptor hormon steroid yang sebagian besar terdapat dalam inti sel, setelah mengikat ligan akan mengaktifkan faktor transkripsi. Reseptor (PPARs) tersebut dapat mengikat berbagai ligan seperti estrogen, hormon tiroid, vitamin D dan retinoid (Kumar, et al. 2005)

2.4.2 Aktivasi reseptor dan autofosforilasi

Banyak faktor pertumbuhan dan reseptornya yang telah diketahui, sebagian besar diantaranya adalah golongan protein *tyrosine kinase* (PTK). Reseptor PTK biasanya diaktivasi melalui pengikatan ligand pada domain ekstraseluler. Aktivasi protein *tyrosine kinase* menginduksi dimerisasi reseptor protein *tyrosine kinase*, kemudian terjadi fosforilasi silang antar residu *tyrosine* masing-masing (autofosforilasi). Pengikatan ligand pada reseptornya mengubah reseptor dari keadaan dorman menjadi aktif dengan merangsang berbagai fungsi intrinsik biokimiawi reseptor yang bersangkutan. Berbagai ligand, seperti *epidermal growth factor* (EGF), dapat bertindak sebagai mitogen untuk merangsang proliferasi. Pada embrio aktivitas faktor-faktor tersebut mengakibatkan perkembangan sel induk (*stem cell*) yang belum berdiferensiasi menjadi sel yang lebih matang, seperti *nerve growth factor* dan *macrophage colony stimulating factor* (M-CSF) yang mendorong berlangsungnya diferensiasi sel dan diperlukan untuk kelangsungan hidup (*survival*) sel neuron dan sel hematopoetik sasaran. Pada orang dewasa faktor-faktor itu diperlukan untuk mengontrol metabolisme, respon terhadap infeksi dan trauma serta produksi dan diferensiasi berbagai jenis sel. Tanpa adanya stimuli faktor pertumbuhan (GF), dalam keadaan normal proliferasi sel akan terhenti pada fase G1 dan masuk dalam fase G0 siklus sel. Paparan terhadap mitogen yang sesuai, menginduksi sel pada fase G0 untuk kembali memasuki siklus sel, dan mulai mensintesis DNA. Stimuli yang dihasilkan

dari pengikatan faktor pertumbuhan oleh reseptor pada permukaan sel akan ditransmisikan melalui sitoplasma ke inti dan merupakan komitmen jangka panjang dari sel untuk berproliferasi. Perubahan struktur reseptor yang menyerupai pengikatan ligan diduga dapat menghasilkan aktivasi reseptor secara terus menerus, yang selanjutnya merangsang jalur mitogenik Ras-Map kinase. Perubahan struktur reseptor dapat disebabkan oleh mutasi gen, interaksi dengan retrovirus, *rearrangement* kromosom, amplifikasi gen, sehingga mengubah reseptor menjadi onkoprotein. Contoh dalam hal ini adalah produk gen *c-erbB* mutant yang menghasilkan reseptor EGF yang kehilangan sebagian dari domain ekstraseluler dan *carboxy-terminal*, sehingga reseptor tetap aktif walaupun tidak ada rangsangan dari EGF. Hal yang sama ditimbulkan oleh onkogen *neu* yang dikenal sebagai *c-erbB2* atau HER2, yang menghasilkan reseptor PTK dalam bentuk dimer yang terus menerus aktif sekalipun tidak ada stimulasi oleh faktor pertumbuhan. (Krisno B, 2003 : Ferdinal F, 2003)

HER2 atau yang dikenal dengan *neu / c-erbB2* adalah anggota dari *epidermal growth factor receptor (EGFR / c-erbB)* yang merupakan famili dari reseptor *tyrosine kinase*, di mana pada manusia terdiri dari HER1 (EGFR / ErbB1), HER2, HER3 (ErbB3), dan HER4 (ErbB4). Reseptor *c-erbB2* adalah mediator esensial untuk proliferasi dan diferensiasi sel pada perkembangan embrio dan jaringan dewasa, serta aktivasi yang berlebihan terdapat pada perkembangan dan peningkatan derajat keganasan pada beberapa kanker. Ekspresi HER2 yang berlebihan

ditemukan pada 20 sampai 30% kanker payudara, dan hal tersebut berhubungan dengan tingkat agresivitas dan prognosis tumor yang jelek. (Haris, et al., 2001; Pous, et al., 2000; Birner, et al., 2001)

Penelitian yang dilakukan lebih dari satu dekade terakhir menunjukkan bahwa ligan fisiologis dari reseptor protein c-erbB2 belum teridentifikasi. Hal ini memberikan pemahaman bahwa protein reseptor c-erbB2 tidak mempunyai ligan ekstraseluler yang spesifik, dan aktivitasnya berlangsung secara heterodimer bersamaan dengan anggota keluarga dari famili *epidermal growth factor receptor* (EGFR) yang lain (Fleishman et al., 2002; Nagi, et al., 1999)

Domain transmembran reseptor c-erbB2 mempunyai peran yang menentukan pada proses dimerisasi dan aktivasi reseptor permukaan c-erbB2. Mutasi titik pada gen pengenal domain transmembran pada hewan coba tikus yang homolog dengan gen *neu / HER2 / c-erbB2* pada manusia (Val 664 menjadi Glu) akan merangsang aktivasi protein *tyrosine kinase* (PTK), dan terjadi transformasi onkogenik (Fleishman et al., 2002)

2.4.3 Cytoplasmic tyrosine kinase

Protein *tyrosine kinase* (PTK) dibedakan dalam dua kelompok besar yaitu reseptor transmembran dan kinase intraseluler yang berperan sebagai subunit pemberi sinyal untuk reseptor lain yang lebih kompleks dan terdiri atas banyak rantai (*multi chain*). Reseptor untuk faktor pertumbuhan seperti EGF, PDGF, M-CSF dan insulin merupakan protein transmembran

dengan domain PTK sitoplasmik. Reseptor untuk antigen dan sitokin mempunyai dua struktur, yaitu rantai yang bereaksi dengan sinyal ekstrasel dan rantai PTK intrasel. Reseptor tersebut menduduki membran sel dan berhubungan langsung dengan protein G dalam sitoplasma, dalam jarak tertentu untuk arus sinyal transduksi menuju inti sel. (Krisno B, 2003 ; Asikin N, 2003) Ligan untuk reseptor dengan aktivitas tirosin kinase terbanyak adalah golongan *growth factor*. Termasuk di dalamnya adalah EGF, TGF- α , HGF, PDGF, VEGF, PGF, dan insulin. Reseptor dalam famili tersebut, mempunyai *extracellular ligand-binding domain*, *transmembrane region*, dan *cytoplasmic tail* yang mempunyai aktivitas tirosin kinase. Ikatan dengan ligan akan menginduksi proses dimerisasi, fosforilasi tirosin dan aktivasi dari reseptor tirosin kinase. Proses tersebut berlanjut sampai mengaktifkan faktor transkripsi, yang selanjutnya menstimulasi kembali produksi berbagai *growth factor*, reseptor, dan protein yang langsung mengendalikan sel masuk dalam siklus pertumbuhan. Kerusakan jalur reseptor tirosin kinase tersebut dapat ditemukan pada berbagai penyakit manusia, termasuk di dalamnya adalah kanker. Reseptor yang tidak mempunyai aktivitas tirosin kinase intrinsik, dapat pula meneruskan signal ekstrasel ke dalam inti sel dengan cara mengaktifkan famili protein JAK, yang selanjutnya mengaktifasi faktor transkripsi sitoplasmik STAT dan secara langsung mengaktifkan gen dalam nucleus. Ligan untuk reseptor ini termasuk di dalamnya adalah IL-2, IL-3, IF α , IF β , dan IF γ , erythropoitin, G-CSF, *growth hormone*, dan *prolactin* (Kumar et al., 2005)

2.4.4 Kaskade protein kinase ke nukleus

Suatu kaskade protein penerus sinyal, meneruskan sinyal yang berasal dari rangsangan faktor pertumbuhan kepada protein lain dalam jalur MAP kinase. Protein tersebut memfosforilasi protein kinase lain dan mengaktifkannya. Protein kinase tersebut berperan mengaktifkan protein kinase lain, yaitu MAP kinase, sehingga disebut sebagai MAP kinase kinase (MAPKK) yang terletak dalam sitoplasma jauh dari inti sel selama transmisi sinyal berlangsung dalam keadaan normal. Keberadaan MAPKK yang jauh dari nukleus diatur oleh *nuclear export signal* (NES) yang terletak pada N-terminal region protein yang bersangkutan. Keberadaan MAP kinase jauh dari nukleus diperlukan, karena bila berada pada nukleus akan menginduksi proliferasi sel yang berlebihan, dan bersifat onkogenik. MAP-kinase merupakan sasaran kunci pada jalur mitogenik yang secara langsung mempengaruhi ekspresi gen dan pertumbuhan sel. (Krisno B, 2003, Asikin N, 2003) Sinyal eksternal seperti ligan famili *growth factor* yang terikat dengan reseptor sel target akan mengaktifasi berbagai jalur sinyal transduksi. Jalur tersebut akan mensintesis dan menstabilkan *cyclin D*, dimana terdapat berbagai macam *cyclin D*. Kemudian *cyclin D* membentuk kompleks dengan CDK4, yang mempunyai aktivitas enzim. Komplek *cyclin D*-CDK4 kemudian memfosforilasi protein Rb yang berada dalam ikatan kompleks E2F-Rb di dalam nukleus. Rb yang terdapat dalam ikatan kompleks E2F-Rb bersifat aktif. Dengan terfosforilasinya Rb, protein E2F yang merupakan famili faktor transkripsi

menjadi terlepas dari ikatan kompleks E2F-Rb, dan menjadi aktif. Protein E2F yang aktif membuat terjadi proses transkripsi pada *cyclin E*, *cyclin A* dan protein lain yang diperlukan oleh sel untuk dapat melewati fase G1, sehingga siklus sel dapat berjalan. Siklus sel dapat pula dihambat oleh aktivitas protein p21 dan p27. Siklus sel juga dapat berhenti sebagai respon terhadap kerusakan DNA atau pada kondisi sel yang mengalami gangguan lain, yang diperankan oleh protein p53 (Kumar et al., 2005). Disregulasi dari interaksi *cyclin D*-CDK 4 adalah target kritis dari fungsi c-erbB2 pada kanker payudara manusia dan tikus. Overekspresi c-erbB2 dikatakan cukup untuk mendisregulasi aktivitas *cyclin D*-CDK4 pada kanker payudara (Yang et al., 2004).

2.5 Proliferasi Sel

Pertumbuhan jaringan maupun organ terjadi karena penambahan ukuran dan jumlah sel dari populasi sel yang aktif melakukan siklus sel atau aktivitas proliferasi. Keseimbangan dalam pertumbuhan ini harus terkontrol. Setelah manusia dewasa, maka jumlah sel relatif tetap dan tidak terjadi pembelahan sel (mitosis). Pembelahan sel pada orang dewasa bertujuan untuk menggantikan sel yang mati, yang diakibatkan oleh proses apoptosis atau nekrosis. Bila jumlah sel yang mati lebih banyak, maka akan terjadi penyusutan jaringan atau organ, dan sebaliknya bila sel yang diproduksi lebih banyak dari yang seharusnya digantikan maka akan terjadi pertumbuhan jaringan atau organ.

Kegagalan kontrol mekanisme ini, dapat mengakibatkan siklus sel yang tidak terkendali (Kumar, et al, 2005, Rosai J, 2004)

Proses siklus sel dipertahankan dengan mekanisme waktu tertentu melalui jaras yang saling berkaitan. Dalam hal ini yang penting adalah setiap tahap reaksi tersebut diatur oleh suatu petunjuk waktu internal, yaitu aktivasi periodik kompleks *cyclin-CDK* yang dikendalikan pada fase tertentu dalam siklus sel yang disebut *checkpoint*, yang dapat dihentikan secara reversibel sebagai respons terhadap sinyal eksternal maupun internal tertentu (Murray, 2000). Faktor ekstraseluler yang berpengaruh dalam pengaturan mekanisme proliferasi, termasuk faktor pertumbuhan (*growth factors, GF*). *Growth factors (GF)* adalah suatu molekul yang terdapat pada ekstraseluler. Faktor-faktor tersebut dapat mempengaruhi proliferasi maupun diferensiasi sel sasaran. Molekul faktor pertumbuhan akan dapat berfungsi kalau dikenal reseptor spesifik yang terdapat pada permukaan sel, yang disebut reseptor faktor pertumbuhan (*growth factor receptor, GFR*). Berbagai penelitian membuktikan bahwa GFR merupakan protein yang terdiri dari beberapa komponen, yaitu komponen di luar sel yang akan berikatan dengan GF, komponen transmembran, dan protein kinase di bagian dalam membran sel, serta komponen ekor yang berupa karboksi terminal (Krisno B, 2003). Aktivasi GFR sebagai akibat terikatnya dengan GF merupakan rangsangan awal dari serangkaian proses kaskade biokimiawi yang merupakan suatu jaringan aktivitas (*network*) sampai pengikatan protein tertentu pada DNA dalam inti sel, yang akan

mengakibatkan diaktifkan atau dinonaktifkan beberapa gen spesifik pengontrol proses proliferasi sel. Dengan demikian mudah dimengerti bahwa mutasi proto-onkogen yang berperan aktif dalam proses sinyal transduksi, dapat mengganggu keteraturan keseimbangan siklus sel dalam berproliferasi. Ekspresi yang berlebihan dari gen *c-erbB2* dijumpai pada 20% sampai 30% karsinoma payudara dan mempunyai korelasi positif dengan proses invasi dan metastasis sel karsinoma (Li, et al., 2000, Cook, et al., 2001). Progresivitas pertumbuhan secara biologis suatu karsinoma adalah dimaksudkan dengan proliferasi sel tumor yang prominen. Proliferasi sel pada keadaan seperti dapat dievaluasi dengan mendeteksi protein yang diproduksi oleh sel pada saat memelah diri. (Ito, et al., 2004)

2.6 Siklus Sel

Siklus suatu sel terdiri dari empat fase yang terjadi secara berurutan dan sangat beraturan. Keempat fase tersebut adalah *G1 (gap 1)*, *S (sintesis DNA)*, *G2 (gap 2)* dan *M (mitosis atau meiosis)*. Replikasi DNA terjadi dalam fase S, separasi kromosom (*karyokinesis*) dan pembelahan sel (*sitokinesis*) terjadi dalam fase M, sedangkan fase *G1* dan *G2* adalah *gap* yang merupakan fase persiapan. Dalam fase *G1* terjadi persiapan yang diperlukan untuk sintesis DNA yang akan terjadi dalam fase S. Dalam fase *G2* terjadi persiapan untuk segregasi kromosom dan pembelahan sel yang akan terjadi pada fase M. Fase *G1* ini ternyata

penting di dalam regulasi siklus sel. Sel mamalia yang sedang tidak aktif membelah diri, masuk ke dalam fase G₀. Faktor yang mempengaruhi dan mengatur suatu sel keluar dari fase G₀ dan masuk ke dalam fase G₁, adalah sangat penting dalam menentukan kecepatan pertumbuhan sel secara umum. Proliferasi sel meliputi replikasi DNA dan pembelahan sel yang mengikuti siklus tersebut di atas secara berurutan dan beraturan. Replikasi DNA merupakan proses enzimatik yang melibatkan *copying* (penyalinan) kedua rantai pada untai ganda DNA menjadi dua molekul anak. Istilah pembelahan sel dan mitosis menunjukkan proses pemisahan kedua molekul DNA yang kemudian menjadi dua sel anak (Tahija, 2001). Pada siklus pembelahan sel terdapat dua *check point* yang menentukan berlangsungnya proses proliferasi sel yang telah teridentifikasi, yaitu pada fase G₁-S dan G₂-M. (Ito, et al., 2000) Siklus sel dimulai dengan aktivasi proto-onkogen oleh ligan (GF atau ECM) yang selanjutnya akan mengaktifkan protein *cyclin D* untuk menjadi stabil dan mengikat serta mengaktifkan CDK4 (membentuk kompleks *cyclin D*-CDK 4) pada pertengahan fase G₁ yang kemudian memfosforilasi Rb dalam kompleks E2F-Rb. Proses fosforilasi Rb oleh kompleks *cyclin D*-CDK4 merupakan *critical rate*, sehingga siklus sel dalam posisi *on*, yang menyebabkan hipofosforilasi menjadi hiperfosforilasi dan E2F terbebas dari hambatan dan menjadi aktif, menyebabkan siklus berjalan dari fase G₁ menjadi S. Setelah melewati fase S terjadi replikasi DNA yang dirangsang oleh kompleks *cyclin E*-CDK2. Aktivasi E2F meningkatkan transkripsi *cyclin E*

dan replikasi DNA (sintesis DNA) untuk masuk fase G2-M. E2F merangsang cyclin A aktif dan membentuk kompleks *cyclin A-CDK2* yang merangsang siklus sel masuk fase profase. Kompleks *cyclin B-CDK1* memicu sel *break down* untuk mitosis. Kompleks CDKs dan *cyclin A* (A1, 2 dan 3) dan *cyclin B* memicu fase G2 menjadi M dengan cara menurunkan stabilitas mikrotubuli, pemisahan sentromir dan kondensasi kromosom. Setelah mitosis akan terjadi inaktivasi *cyclin B-CDK1*. Sel yang baru memisahkan diri tersebut masuk pada posisi G1 untuk melakukan siklus sel kembali atau istirahat (*quiescence cell*). (Kumar et al., 2005) Siklus sel merupakan suatu proses yang kompleks dan rumit, dimulai dengan kehadiran sinyal rangsang pertumbuhan, yang kemudian direspon dengan serangkaian aktivitas yang menghasilkan duplikasi DNA dan diikuti dengan pembelahan inti dan membran sel. Aktivitas siklus sel dikendalikan oleh sekelompok gen dan proteinnya. Kegagalan dalam pengendalian siklus sel akibat perubahan berbagai gen yang terjadi secara beruntun, mengakibatkan aktifitas proliferasi sel yang tidak terkendali dan merupakan awal suatu karsinogenesis. (Suryohudoyo P., 1998)

2.7 Karsinogenesis

Karsinogenesis adalah suatu proses perubahan sekelompok sel normal menjadi sel kanker akibat pengaruh karsinogen. Sedangkan karsinogen adalah bahan yang dapat menyebabkan pertumbuhan kanker

atau perubahan sekelompok sel normal menjadi kanker. Karsinogenesis bersifat *multifaktor*, *multihit*, dan *multistage*, maksudnya untuk berlangsungnya proses karsinogenesis diperlukan berbagai faktor baik internal maupun eksternal yang secara bersama dan terus menerus memberikan tekanan pada sel sasaran sehingga secara bertahap menimbulkan lesi mulai dari tingkat molekuler, seluler, sampai jaringan dan organ. Karsinogenesis merupakan proses multistep dari dua kondisi, yaitu fenotif dan tingkat genetik. Kerusakan dari gen non letal adalah pangkal dari proses karsinogenesis. Tumor terbentuk dari ekspansi secara klonal dari sel precursor tunggal yang mengalami kerusakan genetik. Target kerusakan genetik adalah gen regulasi pada sel normal yang terdiri dari 4 kelompok, yaitu gen pemicu pertumbuhan (*proto-oncogenes*), gen penghambat pertumbuhan (*tumor suppressor genes*), gen pengendali apoptosis (*programmed cell death*) dan gen yang termasuk dalam perbaikan DNA (*DNA repair genes*). Lebih dari 2 dekade ratusan gen yang berhubungan dengan kanker telah ditemukan. Masing-masing mempunyai fungsi spesifik. Disregulasi dari masing-masing gen tersebut, menyebabkan awal terjadinya atau progresivitas dari pertumbuhan tumor. (Kumar et al., 2005) Karsinogenesis dapat terjadi akibat pengaruh salah satu atau gabungan karsinogen, seperti bahan kimia, radiasi, dan agen biologik termasuk virus. Perubahan akibat pengaruh karsinogen tersebut mengenai sejumlah gen dari calon sel kanker atau sel yang mengalami transformasi. Perubahan gen tersebut pada hakekatnya berupa berbagai

bentuk mutasi atau lesi pada gen yang mengendalikan pertumbuhan sel (Cotran R S , 1999; Kumar . et al., 2005; Suryahudoyo P., 1998) Perubahan gen pengendali pertumbuhan menyebabkan sel yang telah berubah sifat tadi, mengalami proliferasi yang tidak terkendali, kegagalan diferensiasi, dan mampu menyebar ke tempat lain (metastasis) Kondisi tersebut menyebabkan kanker tumbuh cepat, tidak mengikuti norma pertumbuhan sel normal dan sering mengganggu jaringan lain. Kelompok gen yang berperan dalam proses karsinogenesis, adalah (a) proto-onkogen – onkogen, (b). gen supresor tumor (*tumor suppressor genes* dan *programmed cell death*), dan gen perbaikan DNA (*DNA repair genes*) (Kumar . et al , 2005)

2.7.1 Protoonkogen – onkogen

Onkogen adalah gen yang dapat menyebabkan terjadinya pertumbuhan sel kanker. Disebut juga sebagai gen sel kanker, yang merupakan gen sel normal (proto-onkogen) yang telah mengalami proses aktivasi. Onkogen menyandi informasi pertumbuhan berlebihan, dan menghasilkan protein, yang disebut dengan onkoprotein yang berperan dalam mempengaruhi proses proliferasi dan diferensiasi. Aktivasi onkogen melibatkan perubahan struktur dan ekspresi proto-onkogen sehingga menjadi onkogen yang aktif, dan menyebabkan sel mengalami transformasi ganas. Ada tiga mekanisme aktivasi onkogen yang utama dalam neoplasma manusia, yaitu mutasi, amplifikasi gen, dan

chromosome re-arrangements (Ferdinal, 2003) Kerusakan genetik pada gen tersebut adalah salah satu target pada proses terjadinya dan pertumbuhan keganasan, sehingga gen tersebut disebut juga sebagai gen pemicu pertumbuhan. Saat ini telah diidentifikasi lebih dari seratus jenis proto-onkogen, yang dapat dikelompokkan dalam lima golongan, yaitu faktor pertumbuhan reseptor faktor pertumbuhan, faktor transkripsi, protein sinyal, dan golongan siklin. (Kumar, et al. 2005)

2.7.1.1 Protein gen c-erbB2

c-erbB2 yang disebut juga HER-2 atau neu, merupakan suatu proto-onkogen yang menyandi suatu protein reseptor transmembran dengan berat molekul 185 kDa, dan termasuk famili *epidermal growth factor receptor*. Pada kondisi normal, sel tubuh manusia mengekspresikannya dalam jumlah sedikit. Amplifikasi atau ekspresi yang berlebihan dari c-erbB2 ditemukan pada 30-50 % kasus karsinoma payudara yang invasif, yang meningkatkan proliferasi sel dengan aktivasi reseptor yang menetap. (Yasasever et al., 2000) HER2 (neu / c-erbB2) merupakan anggota keluarga epidermal growth factor receptor (EGFR) adalah termasuk famili dari reseptor *tyrosine kinase*, khususnya pada spesies manusia terdiri dari HER1 (EGFR / erbB1), HER2 (erbB2 / neu), HER3 (erbB3) dan HER4 (erbB4) yang terdapat pada membran plasma sel. (Cho, et al. 2003; Moulder, et al., 2001) Semua protein tersebut mengandung *extracellular ligand binding domain*, *membrane-spanning*

region, dan *cytoplasmic domain* dengan aktivitas tirosin kinase. Sampai sekarang ligan hanya ditemukan pada reseptor HER1, HER3, dan HER4, sedang belum diketahui adanya ligan yang berikatan langsung dengan reseptor HER2 (*c-erbB2*). Walaupun demikian HER2 mendapat signal dari proses heterodimerisasi dengan anggota famili HER lain sebagai partner dari heterodimerisasi di atas. Setelah proses heterodimerisasi, kompleks HER2 menginisiasi *intracellular signalling*. (Duffy MJ, 2005) Dikatakan bahwa ligan EGF, AR, dan TGF α berikatan secara spesifik pada *c-erbB1*, BTC, HB-EGF dan EPR berikatan secara spesifik pada reseptor *c-erbB1* dan *c-erbB4*. Ligan NRG-1 dan NRG-2 berikatan pada reseptor *c-erbB3* dan *c-erbB4*, sedangkan NRG-3 dan NRG-4 hanya berikatan dengan reseptor *c-erbB4* saja. Disregulasi dari ekspresi reseptor *c-erbB*, khususnya *c-erbB1* dan *c-erbB2*, berdampak pada pertumbuhan dan keganasan dari berbagai tipe kanker pada manusia. Fakta menunjukkan bahwa *c-erbB2* adalah menjadi *heterodimerization partner* untuk semua anggota famili *c-erbB2* yang lain dan memainkan peran pada potensiasi dari signal reseptor *c-erbB*. (Olayioye, et al., 2000) Ekspresi yang tinggi dari *c-erbB2* berhubungan dengan tampilan klinis yang jelek dan karsinoma payudara, dan semakin tahan terhadap terapi hormonal. (Cook et al., 2001) Kalau terjadi mutasi atau ekspresi yang berlebihan gen *c-erbB2*, maka menimbulkan aktivasi yang menetap, dan kondisi tersebut berpartisipasi dalam fenotip, termasuk pertumbuhan sel, angiogenesis, *survival* dan proses metastasis. Sehingga HER-2 atau neu

merupakan indikator prognostik pada awal diagnosis penyakit karsinoma payudara. (Hait, 2001) HER2 adalah anggota dari EGFR disebut juga c-erbB2 merupakan famili dari reseptor tirosin kinase. yang pada manusia terdiri dari empat macam, yaitu HER1 (EGFR, c-erbB1), HER2, HER3 (c-erbB3), dan HER4 (c-erbB4). (Cho et al., 2003) Peningkatan regulasi dan ekspresi yang berlebihan dari c-erbB2, sangat ditentukan oleh gen p53 yang mutasi atau terdapatnya kelainan dari gen supresor tumor yang lain. (Huang et al., 2002) Ekspresi c-erbB2 dan Ki-67 lebih sering pada DCIS yang *intermediate* dan *high histologic grade* (Leaf et al., 2001) Onkogen HER2 terletak pada kromosom manusia nomor 17 pada q21, menyandi suatu glikoprotein transmembran yang homolog dengan reseptor EGF dan mempunyai tirosin kinase. Ekspresi berlebihan dari protein HER2 pertama kali terdeteksi pada karsinoma payudara dan ovarium manusia. Kemudian ditemukan juga pada sel karsinoma paru dan lambung. Hal ini menunjukkan bahwa ekspresi berlebihan protein HER2 / neu adalah faktor penting pada pertumbuhan dan progresivitas sel pada keganasan. (Kuroda et al., 2004) Onkogen HER2 (c-erbB2 atau neu) menyandi protein transmembran 185 kDa (p185HER2) yang merupakan famili reseptor EGF, yang memiliki aktivitas kinase tirosin. Amplifikasi atau ekspresi berlebihan relatif sering (30 %) ditemukan pada kanker payudara invasif, yang berhubungan dengan kekambuhan penyakit, prognosis klinis yang jelek, dan metastases kelenjar aksila. (Asikin, 2003) Onkoprotein HER2 (c-erbB2) merupakan petanda tumor yang menunjukkan prognosis

jelek apabila terjadi ekspresi berlebihan dan ditemukan pada 30% kanker payudara dan ovarium. (Menendez et al., 2004) Umumnya ekspresi Her2 / neu yang berlebihan ditandai dengan sifat kemoresisten terhadap obat yang merusak DNA. Mungkin hal ini disebabkan perubahan pada *checkpoint* siklus sel dan mekanisme perbaikan DNA serta disregulasi jalur apoptosis. Produk gen c-erbB2 mutan menghasilkan reseptor EGF yang kehilangan sebagian dari domain ekstraseluler dan carboxy terminalnya, sehingga reseptor ini tetap aktif walaupun tidak ada rangsang dari EGF. Hal yang sama ditimbulkan oleh onkogen neu yang dikenal sebagai c-erbB2 atau HER2 yang menghasilkan reseptor protein tirosin kinase dalam bentuk dimer yang terus menerus aktif, sekalipun tidak ada stimulasi oleh faktor pertumbuhan, sehingga akan terjadi pertumbuhan sel yang terus menerus, tanpa ada kontrol yang mengatur proliferasi sel. Dari sini dapat dimengerti, bahwa ekspresi c-erbB2 pada karsinoma duktal payudara adalah sangat penting, dan memegang peran kunci karena merupakan awal dari proses pertumbuhan sel. Amplifikasi dan overekspresi onkogen ErbB2 pada karsinoma payudara berhubungan dengan manifestasi klinis yang buruk (Kauraniemi et al., 2001; Iris et al., 2003). Pada jenis karsinoma payudara yang tidak diterapi, prognosis yang buruk terdapat hubungan dengan ekspresi protein gen HER2 / neu yang berlebihan (Moliterni et al., 2003). Ekspresi protein c-erbB2 ditentukan dengan menghitung jumlah sel tumor yang bereaksi positif. Apabila didapatkan lebih dari 10% sel karsinoma duktal payudara

menunjukkan reaksi lemah, sedang atau kuat pada seluruh pulasan membran sel, hal tersebut dapat dianggap dengan ekspresi protein c-erbB2 yang positif tinggi. (Kuroda , et al., 2004 : Ito , et al., 2004) Interpretasi pemeriksaan imunohistokimia dalam hal ini didasarkan pada estimasi visual dengan prosentasi pulasan pada membran sel tumor. Diperoleh data bahwa terdapat hubungan yang sangat kuat antara hasil pemeriksaan imunohistokimia (IHC) dengan *fluorescent insitu hybridization* (FISH) untuk c-erbB2. (Di Giovanna . et al , 2005)

Disamping onkoprotein reseptor c-erbB, terdapat onkoprotein jenis yang lain, yaitu Ras yang termasuk protein proto-onkogen yang dapat berperan sebagai protein sinyal, yaitu proses penghantaran sinyal dari ekstrasel masuk ke dalam sel. Protein ini terlibat pada jalur utama sinyal mitogenik pada banyak jenis sel yang mengalami transformasi. Protein tirosin kinase yang merupakan domain aktif reseptor faktor pertumbuhan berikatan dengan Ras melalui adaptor SH2-SH3 dari Grb2 yang berhubungan dengan protein Sos mengaktifkan Ras, dengan menginduksi perubahan GDP menjadi GTP. Ada tiga jenis onkogen Ras, yaitu H-ras, K-ras, dan N-ras, yang secara biokimiawi produk mereka serupa dan ketiganya dapat bersifat onkogenik. (Krisno, 2003) Dalam keadaan inaktif protein Ras terikat pada GDP. Kondisi ini diperankan oleh GTPase intrinsik dan protein *GTPase activating protein (GAP)*, yang merupakan regulator negatif. Sedangkan yang bertindak sebagai regulator positif terhadap protein Ras adalah protein Sos, molekul adaptor Grb2 yang

menimbulkan dugaan bahwa protein itu suatu regulator transkripsi yang mampu menginduksi ekspresi gen yang terlibat dalam pengendalian siklus sel. Penemuan terakhir menunjukkan bahwa protein Myc berpartisipasi dalam mengatur transkripsi. Protein Myc mengaktifasi ekspresi gen bila membentuk dimer dengan Max, dan meningkatkan proliferasi. Dalam keadaan bergabung dengan Max, protein Myc dapat berikatan pada elemen CACGTG dari DNA dan meningkatkan ekspresi gen sasaran. Sintesis Myc yang tinggi pada peningkatan proliferasi sel, mendorong Max untuk berpasangan dengan Myc, dan mengaktifasi gen sasaran. Karena itu kadar protein Myc merupakan hal yang penting dalam mengendalikan pertumbuhan sel. Hal ini terbukti dengan penurunan kadar c-Myc pada saat proliferasi sel berhenti dan sel memasuki proses diferensiasi. c-Myc diketahui berperan sebagai transkripsi promoter gen yang diperlukan untuk sintesa DNA, maupun yang diperlukan untuk keluar dari fase G1 siklus sel. (Kumar et al., 2005) c-Myc terdapat pada semua sel eukariotik. Fungsi c-Myc pada replikasi sel belum sepenuhnya diketahui. Diduga berperan dengan menurunkan ikatan sel, meningkatkan motilitas sel, meningkatkan sintesa protein dan menurunkan fungsi protease. Amplifikasi protein Myc terjadi pada kanker payudara, kolon dan paru. (Kumar et al., 2005)

2.7.2 Gen supresor (penghambat) tumor

Gen supresor tumor (*tumor suppressor gene*) adalah golongan gen yang lebih baru ditemukan setelah gen onkogen, dan lebih dikenal sebagai anti-onkogen. Karena berfungsi melakukan kontrol negatif terhadap pertumbuhan dan perkembangan sel. (Lee et al, 1993) Aktivasi onkogen seluler hanya satu dari dua tipe kelainan atau gangguan genetik yang terlibat dalam pembentukan kanker, disamping apoptosis. Tipe yang lain adalah inaktivasi gen supresor tumor (GST). Gen supresor tumor memberikan efek yang berlawanan dengan aktivasi onkogen. Dalam keadaan normal kerja gen supresor tumor adalah menghambat proliferasi sel dan perkembangan tumor. Dalam banyak tumor gen supresor tumor mengalami inaktivasi, perannya sebagai regulasi negatif dari proliferasi sel menjadi hilang, sehingga menimbulkan transformasi ganas pada sel.

2.7.2.1 Protein Rb

Produk gen pRb adalah fosfoprotein inti dengan BM sekitar 105 kDa, sehingga lebih dikenal p105 Rb atau sebagai pRb. Protein ini berperan dalam siklus sel, khusus dalam menahan lajunya proliferasi sel. Kehilangan atau inaktivasi gen Rb akan menimbulkan terjadinya pembentukan tumor. Mutasi atau inaktivasi gen Rb terdapat pada berbagai kanker, seperti retinoblastoma dan karsinoma payudara. Dalam kondisi normal, Rb akan mengikat E2F, sehingga menghambat fungsi E2F sebagai faktor transkripsi, dan kompleks E2F-Rb bertindak sebagai

represor. Onkogen virus E1A mengikat Rb pada region yang sama dengan region pengikatan E2F, sehingga pengikatan E1A pada Rb menyebabkan E2F bebas untuk melakukan transkripsi gen sasaran. Inaktivasi gen Rb karena tersebut di atas, dapat menyebabkan aktivasi transkripsi gen sasaran yang mengatur siklus sel pada fase G1 / S secara terus-menerus sehingga menyebabkan proliferasi sel tidak terkendali (Cotran., 1999 dan 2004; Krisno., 2003) Protein supresor (penghambat) tumor Retinoblastoma (pRb) memainkan peran penting dalam mengatur jalannya siklus sel mamalia. Fosforilasi pRb akan membuka pintu masuk terjadinya siklus sel pada fase S (sintesis). Rb yang terfosforilasi akan terlepas dari ikatan kompleks Rb-E2F setelah mendapat stimulasi *growth factors* (GF) pada sel (Dasguptal , et al., 2004) Sinyal ekstrasel seperti famili *growth factors* (GF) yang berikatan dengan reseptornya akan mengaktifasi jalur signal transduksi Ras. Jalur tersebut mensintesis dan menjaga stabilitas *cyclin D* yang akan berikatan CDK4 dan membentuk kompleks *cyclin D*-CDK4 yang mempunyai kemampuan aktivitas enzim. Kompleks *cyclin D*-CDK4 memfosforilasi Rb yang berikatan dan membentuk kompleks E2F-Rb di dalam inti sel. Dengan terfosforilasinya Rb membuat E2F lepas dari ikatan kompleks E2F-Rb, dan menjadi faktor transkripsi yang aktif. E2F yang aktif mendorong terjadinya transkripsi pada *cyclin E*, *cyclin A* dan protein lain yang diperlukan oleh sel untuk melewati *restriction point* pada akhir fase G1, sehingga siklus sel dapat berlangsung (Kumar ,et al., 2005) Protein Rb diekspresikan oleh

semua sel. Protein Rb merupakan gen supresor (penghambat) tumor yang pertama kali ditemukan. Protein ini aktif pada keadaan hipofosforilasi dalam sel istirahat (*quiescent*) dan menjadi inaktif pada keadaan hiperfosforilasi dalam transisi fase G1-S siklus sel. Hilangnya kontrol normal siklus sel adalah hal terpenting pada terjadinya transformasi malignansi. Telah ditemukan mutasi somatik Rb terjadi pada kanker paru, payudara dan kandung kemih. (Kumar , et al., 2005)

2.7.3 Gen perbaikan DNA (*DNA repair gene*)

Gen perbaikan DNA berperan pada perbaikan DNA yang rusak akibat pengaruh berbagai macam karsinogen. Ini merupakan mekanisme pertahanan tubuh yang terjadi diawal terjadinya perubahan sel. Tanpa adanya mekanisme perbaikan DNA, manusia akan menghadapi masalah kesehatan yang kompleks dan rumit, khususnya penyakit neoplasma dan penyakit degeneratif yang lain. Perbaikan DNA sangat penting sebagai proses untuk mengatasi mutasi sel, kesalahan replikasi, kerusakan DNA yang menetap dan ketidakstabilan genom. (Kumar , et al., 2005)

Mutasi yang terjadi pada gen perbaikan DNA berbentuk *loss of function mutation*, seperti pada gen supresor tumor, tetapi mekanisme kerjanya berbeda . Inaktivasi gen perbaikan DNA tidak mempengaruhi secara langsung kontrol pertumbuhan sel, tetapi menyebabkan peningkatan mutasi gen lainnya, termasuk proto-onkogen dan gen supresor tumor. Sehingga dapat dimengerti bahwa inaktivasi gen

perbaikan DNA (*DNA repair gene*) akan mempercepat proses pertumbuhan tumor. (Tahija, 2001)

2.7.3.1 Protein p53

Gen p53 menyandi asam amino inti 393 fosfoprotein dengan berat 53 kDa. yang berfungsi sebagai faktor transkripsi yang mengandung beberapa domain yang berbeda. Daerah amino terminal dikenal menjadi bagian dalam *transactivation*, bagian sentral sebagai *sequence specific DNA binding*, dan karboksil terminal adalah untuk proses oligomerisasi. p53 yang aktif adalah dalam bentuk tetramer. p53 adalah paling sering ditemukan mengalami mutasi pada kanker manusia. Mutasi tersering ditemukan dalam bentuk *missense type* pada daerah *DNA-binding domain*, yang berakibat pada kehilangan kemampuan dari p53 untuk berikatan pada sekuen DNA yang spesifik. p53 mengendalikan berbagai fungsi, yaitu hambatan siklus sel, promosi apoptosis, mengontrol stabilitas gen, dan sebagai penghambat angiogenesis. (Duffy MJ., 2005) Protein p53 adalah termasuk *tumor suppressor gene*, yang terletak pada kromosom 17 lengan pendek (17p) dan mempunyai 11 ekson serta memiliki tiga domain struktural, yang diekspresikan pada semua jaringan tubuh. Protein p53 terletak dalam inti sel dan berfungsi menghambat mitosis dengan jalan memblok siklus sel pada fase G1. Pada kondisi tertentu seperti adanya kerusakan DNA akibat radiasi, rangsangan sinar ultraviolet bahan kimia mutagenik, hipoksia, hiperoksia dan aktivasi onkogen, dapat

menyebabkan protein p53 menjadi teraktivasi. Protein p53 menginduksi berhentinya siklus sel pada fase G1, melalui ikatannya dengan faktor transkripsi E2F. Faktor transkripsi E2F yang terikat dengan p53, melalui aktivasi serangkaian jalur yang mengekspresikan protein p21, sehingga protein E2F tidak mampu berikatan dengan c-Myc yang sangat diperlukan untuk terjadinya mitosis. Pada siklus sel, dimana sel mengalami gangguan, terjadi aktivasi p53 yang mengakibatkan siklus sel terhenti pada fase G1, sehingga dapat memberi kesempatan *DNA repair gene* memperbaiki gen yang rusak sebelum siklus sel berlanjut. Oleh karena itu p53 dianggap sebagai *molecular policeman*, yang menjaga agar hanya sel yang sehat saja yang mengalami siklus pembelahan diri, sehingga produknya berupa sel yang tidak cacat. Tetapi apabila selama berhentinya siklus sel, kerusakan DNA tidak dapat diperbaiki, maka p53 akan merangsang gen yang menginduksi apoptosis, yaitu Bax dan IGF- BP3. Apoptosis merupakan suatu proses penghilangan sel yang terkontrol dalam berbagai jaringan dan terjadi pada keadaan fisiologis maupun patologis (Cotran R.S., 1999; Rosa J., 2004). Dilaporkan bahwa terdapat hubungan antara ekspresi protein p53 dengan diferensiasi inti dan aktivitas proliferasi sel pada kanker payudara. Tetapi implikasi prognosis ekspresi protein p53 dalam hubungannya dengan diferensiasi inti sel dan aktivitas proliferasi pada kanker payudara masih diperdebatkan. Ekspresi protein p53 positif dilaporkan terdapat pada 26-44% kanker payudara. Kanker dikatakan positif mengekspresikan protein p53, kalau 10% atau

lebih inti sel menunjukkan imunoreaktif. Dilaporkan pula bahwa terdapat hubungan antara ekspresi protein p53 dengan gradasi histologi yang merupakan kombinasi dari tiga parameter, yaitu formasi tubuler, pleomorfisitas sel dan mitosis. Mutasi gen p53 berdampak kontrol negatif pada siklus sel, dan menyebabkan proliferasi sel lebih cepat. (Tsutsui S., et al., 2004) p53 mempunyai kemampuan *surveillance* dan *check point control* menurunkan dan menghentikan siklus sel yang mengalami kerusakan DNA dan memicu apoptosis, dengan cara mengendalikan p21. Protein p21 (bersama p27 dan p57), merupakan inhibitor siklus sel adalah famili dari Cip / Kip. Protein p21 mengikat dan membuat kompleks *cyclins*-CDK menjadi inaktif. Gen supresor (penghambat) tumor p53 mengalami mutasi pada sebagian besar tumor manusia. (Kumar, et al., 2005)

2.8 Kematian Sel

2.8.1 Apoptosis

Apoptosis adalah suatu proses fisiologis dengan eliminasi sel secara individual melalui *endonuklease* secara endogen. (Goepel J.R., 1994) Apoptosis merupakan kematian sel yang diprogram sebagai respons terhadap rangsangan tertentu. Berbagai rangsangan misalnya radiasi, kemoterapi, infeksi virus, gangguan hormonal, dan faktor pertumbuhan, dapat menyebabkan proses ini berfungsung. Apoptosis merupakan hal yang penting dalam perkembangan sel normal maupun

homeostasis jaringan normal. Berbagai perubahan morfologi terjadi pada proses ini, misalnya kondensasi dan fragmentasi nukleus, pengkisan sel, dan fragmentasi DNA. (Krisno, 2003, Willie, 1998) Berbagai gen pengatur proliferasi sel juga berperan dalam mengontrol proses apoptosis, misalnya p53, pRb, dan c-myc. Gen anti apoptotis Bcl-2, yang bergabung dengan Bax dapat mencegah proses apoptosis, dan sel akan tumbuh tak terkendali yang dapat menghancurkan suatu terjadinya keganasan. (Lowe, 2000, Krisno, 2003)

Gen pengendali apoptosis diantaranya adalah famili Bcl-2, yang terdiri dari dua kelompok yang berbeda fungsi, yaitu gen penghambat apoptosis (Bcl-2 dan Bcl-xl), dan gen pemicu apoptosis (Bax dan Bad) serta gen p53. Kerusakan pada gen ini akan menyebabkan gangguan pengaturan apoptosis (Suryohudoyo P., 1998) Protein gen Bcl2 yang berperan menghambat proses apoptosis secara normal diekspresikan oleh beberapa *adult progenitor cells*, seperti sel darah dan sel epitel kriptus usus. Pada jaringan payudara protein gen Bcl2 juga diekspresikan pada sel epitel normal *non pregnant* dan selama awal kehamilan, tetapi tidak terdeteksi pada saat menyusui atau kelenjar payudara yang resolusif. (Park, et al., 2002) Keseimbangan antara ekspresi gen penghambat apoptosis (misalnya Bcl2) dan gen pemicu apoptosis (misalnya Bax) adalah indikator yang baik untuk aktivitas apoptosis sel tumor. Ekspresi protein gen Bcl2 dan Bax juga berperan secara individual pada prognosis kanker payudara (Arricás, et al., 2003) Induksi apoptosis

intraseluler dikendalikan oleh beberapa macam gen seperti Bcl2 dan Bax. Bcl2 berfungsi menekan proses apoptosis. Dominasi peran protein Bax dari Bcl2 akan meningkatkan proses apoptosis (Li . et al., 2000). Proses apoptosis melalui jalur intrinsik seperti tersebut di atas dimulai dengan meningkatnya permeabilitas mitokondria, yang menyebabkan lepasnya molekul pro-apoptosis ke dalam sitoplasma (tanpa melalui jalur *death receptor*). Faktor pertumbuhan dan *survival signal* merangsang produksi molekul anti apoptosis (Bcl2 dan Bclx) yang pada keadaan normal terdapat di membran mitokondria dan sitoplasma. Apabila terjadi stres maka permeabilitas mitokondria meningkat, Bcl2 dan Bclx hilang dari membran mitokondria dan diganti oleh famili pro apoptosis (Bax, Bak dan Bim), dan beberapa protein seperti cytochrome c akan keluar dari mitokondria masuk ke dalam sitoplasma mengikat Apaf-1 (Apoptosis activating factor-1). Apaf-1 kemudian mengaktifkan pro caspase 9 menjadi caspase 9 aktif dan merangsang terjadinya apoptosis. Disamping jalur intrinsik, apoptosis juga dapat terjadi melalui jalur ekstrinsik. Jalur ini dimulai dengan aktivasi *death receptor* (famili TNF reseptor) yang mengandung *death domain (cytoplasmic domain)*, yang dikenal dengan TNF reseptor type 1 (TNFR1) dan disebut dengan Fas (CD95). Apabila Fas mengikat Fas L, maka 3 atau lebih molekul Fas secara bersama pada bagian *cytoplasmic death domain* akan mengikat adaptor protein FADD (*Fas-associated death domain*). Ikatan Fas dan FADD tersebut akan mengaktifkan pro-caspase 8 menjadi caspase 8 aktif.

yang kemudian mengaktifkan caspase lain untuk merangsang terjadinya apoptosis. (Kumar , et al , 2005)

2.8.2 Nekrosis

Nekrosis adalah istilah yang sangat umum untuk menamakan suatu kematian sel atau sekelompok sel. Nekrosis pada karsinoma payudara sering didapatkan pada jenis komedo atau intraduktal. Pada jenis karsinoma jenis ini terdapat pertumbuhan sel ganas yang padat dengan inti sangat pleomorfis dan banyak mitosis. Nekrosis terjadi di daerah sentral. Hal ini disebabkan oleh terbalasnya aliran darah di bagian tengah dari duktus yang berisi sel ganas, sehingga sel-sel di daerah tersebut kekurangan salah satu zat penting untuk kehidupannya, yaitu oksigen, yang menyebabkan sel tersebut mengalami kematian. Nekrosis yang terjadi pada karsinoma duktal komedo, tidak didapatkan atau hanya sedikit terdapat sel radang. Tidak adanya vaskularisasi di bagian sentral dari jenis keganasan ini, menyebabkan sel ganas tersebut menjadi resisten terhadap terapi dan cenderung menjadi kambuh setelah dilakukan terapi. Pada karsinoma duktal payudara ditemukan nekrosis sering terjadi pada *poorly differentiated intraductal carcinoma* dengan nekrosis sentral atau nekrosis sel secara individual, sedang pada jenis *well differentiated* sedikit atau tidak didapatkan nekrosis. (Holland et al , 1995)

2.9 Parameter Proliferasi Sel

2.9.1 Protein MIB-1

Penilaian aktivitas proliferasi sel merupakan hal penting dalam menentukan status populasi sel dan potensi keganasan suatu neoplasma yang dapat digunakan sebagai salah satu cerminan tingkat keganasan suatu neoplasma

Aktivitas proliferasi sel dapat dinilai secara dinamik dengan menggunakan ukuran waktu atau secara aspek fraksi yang merupakan penilaian statis. Parameter aktivitas proliferasi statis merupakan nilai perbandingan fraksi jumlah sel yang berproliferasi dalam suatu populasi sel. Parameter dalam kelompok ini adalah nilai indeks mitosis (*MI*, *mitotic index*), nilai fraksi pertumbuhan (*GFr*), dan fraksi sel dalam fase siklus S (*SPF*, *S-phase fraction*). Fase mitosis dalam siklus sel adalah salah satu kondisi yang dapat diidentifikasi dengan pemeriksaan morfologi sederhana secara konvensional memakai mikroskop cahaya. Penilaian dengan menghitung jumlah mitosis berdasar pada gambaran morfologi yang ditemukan. Banyaknya mitosis merupakan informasi yang bermanfaat untuk menentukan derajat keganasan neoplasma, terutama pada limfoma maligna, melanoma maligna, sarkoma jaringan lunak dan karsinoma payudara (Cotran et al., 1999; Kumar et al., 2005)

Pendekatan lain dalam upaya untuk menilai aktivitas proliferasi sel adalah pemanfaatan proses sintesis DNA. Pada siklus sel selama fase S

akan terjadi *doubling*, sehingga kondisi *diploid genom* menjadi *tetraploid genom* saat fase mitosis. Proses ini dapat diukur berbagai cara, antara lain *thymidin labelling*, *bromodeoxyuridine incorporation*, dan *flowcytometry*.

Metode imunohistokimia sekarang ini banyak dipakai dalam hal ini. Prinsip metode ini adalah dengan dipakainya antibodi terhadap antigen Ki67, termasuk untuk menganalisa pola ekspresi berbagai gen yang berperan dalam pengendalian siklus sel. Pembelahan sel secara aktif akan memproduksi sejumlah protein yang khas. Hal ini dapat dimanfaatkan sebagai petanda antigen untuk kepentingan studi proliferasi sel. Telah dilaporkan bahwa suatu antibodi monoklonal tikus dapat mengenal antigen inti sel yang terekspresi pada semua fase siklus sel kecuali pada fase G₀. Antibodi monoklonal ini disebut dengan MIB-1, yang bereaksi terhadap ekspresi protein antigen inti. Protein lain yang diekspresikan dalam proses ini adalah PCNA, yang merupakan suatu protein pembantu DNA polimerase delta. PCNA merupakan protein inti sel non histon yang tingkat sintesisnya mempunyai korelasi langsung dengan proliferasi sel pada sintesis DNA. Kadar PCNA meningkat dalam inti sepanjang fase G₁ akhir menjelang terjadinya sintesis DNA, menjadi maksimal pada fase S, kemudian menurun pada fase G₂ dan M. Agresivitas pertumbuhan secara biologis suatu karsinoma adalah dimaksudkan dengan proliferasi sel tumor yang prominen. Parameter yang paling sering dipakai untuk menggambarkan hal ini adalah label Ki-67.

sebab antigen ini diekspresikan oleh semua sel, kecuali pada fase G0. Pada karsinoma payudara, progresivitas siklus sel adalah parameter penting untuk menilai agresivitas biologis. (Ito Y., et al., 2004) Aktivitas proliferasi dapat ditentukan dengan menghitung gambaran mitosis pada pulasan HE, penilaian dengan analisis *flowcytometri* pada *S-phase fraction* atau pemeriksaan IHC ekspresi protein Ki-67 dan PCNA. Epitop antigen protein Ki67 sangat menyerupai dengan antigen protein MIB-1, yang dapat diperiksa dari sediaan fiksasi formalin pada blok parafin. Sampai sekarang belum dapat diterima secara umum batasan (*cut off point*) untuk penghitungan MIB-1. Tetapi terdapat 6 batasan yang ada, yaitu 5%, 10%, 15%, 20%,25%, dan 30%. Nilai batasan MIB-1 untuk prognosis yang paling kuat (baik) adalah ditunjukkan ketika dipakai batasan 10%. (Tsutsui , et al., 2004)

2.10 Imunohistokimia

Metode pemeriksaan imunofloresen dengan memakai antibodi berlabel untuk mendeteksi berbagai antigen yang berada dalam jaringan, telah dimulai oleh Coons dan kawan - kawan pada tahun 1941. Kemudian Taylor dan Burns pada tahun 1974, mendemonstrasikan kemungkinan manfaat pemeriksaan imunohistokimia secara rutin dengan pengacatan imunoglobulin pada sel plasma. Kohler dan Milstein pada tahun 1975 mulai memperkenalkan tehnik hibridoma untuk menghasilkan monoklonal antibodi, yang dianggap merupakan suatu langkah besar dibidang

imunohistokimia. Menurut Desai Imunohistokimia merupakan suatu pemeriksaan imunologik dengan menggunakan antibodi sebagai *probe* yang sifatnya spesifik, bertujuan untuk mendeteksi suatu antigen dan letaknya di dalam jaringan biopsi. Prinsip dasar pemeriksaan imunohistokimia sama dengan imunofloresen, yaitu berdasarkan terjadinya kompleks antigen dan antibodi yang dapat dideteksi apabila antibodi pengikatnya diberi label. Pada imunohistokimia labelisasi menggunakan aktivitas enzim, yang akan menghasilkan warna setelah diberi kromogen. Warna akan tampak pada daerah kompleks enzim dan antibodi di dalam jaringan yang terlihat dengan pemeriksaan mikroskop cahaya. Menurut Wasito, sebagai saran diagnosis, beberapa keuntungan yang dapat diperoleh dari pemeriksaan imunohistokimia adalah dengan teknik monoklonal antibodi dan teknik hibridoma dapat ditinggalkan sensitifitas dan spesifisitasnya, dan pemeriksaan ini dapat dilakukan dengan berbagai teknik pewarnaan, antara lain metode peroksidase - biotin anti peroksidase, alkali fosfatase anti alkali fosfatase, kompleks avidin biotin, dan streptavidin (Mudigdo A, 2002) Tujuan dari pemeriksaan ini adalah untuk mengenali jenis antigen atau bahan yang terkandung dalam suatu sel atau jaringan. Sedangkan manfaat pemeriksaan metode imunohistokimia adalah mempertajam diagnostik patologi (memastikan histogenetik tumor, menentukan subklasifikasi tumor, menentukan lesi neoplastik atau non neoplastik, mendeteksi petanda tumor mendeteksi petanda mikroba mendeteksi ekspresi

onkogen), membantu meramalkan perangai biologik dan prognosis suatu tumor, menentukan pilihan pengobatan dan mengenali jenis mikroorganisme atau jenis infeksi. (Alsagaf JH , 1998)

2.10.1 Metode kompleks avidin biotin

Avidin adalah suatu glikoprotein dasar dengan berat molekul 68 000, berasal dari putih telur yang mempunyai afinitas tinggi terhadap biotin. Sedangkan biotin merupakan suatu vitamin yang larut dalam air dengan berat molekul yang rendah, yaitu 244, yang dapat bergabung dengan berbagai protein, termasuk reseptor imunoglobulin. Avidin mempunyai daerah ikatan dengan molekul biotin, sedangkan biotin sendiri mudah sekali berikatan dengan protein termasuk antibodi, dan kemudian bereaksi dengan *fluorochrome-coupled avidin*. Setelah reaksi antigen dengan *untabalad antibody*, maka ditambah dengan *biotin-labeled second antibody*. Karena banyak molekul biotin dapat bergabung dengan avidin, maka penambahan *fluochrome labeled avidin* akan menghasilkan ikatan kuat dengan membentuk warna yang jelas. Metode pemeriksaan kompleks avidin biotin mempunyai ikatan dengan afinitas lebih kuat bila dibandingkan dengan PAP (peroksidase anti peroksidase) (Mudigdo A , 2002)

2.10.2 Metode peroksidase anti peroksidase (PAP)

Metode ini merupakan variasi dari metode imunoperoksidase dengan prinsip kerjanya sama dengan pemeriksaan imunofloresen. Hanya pada pemeriksaan imunohistokimia, pemberian antibodi berlabel-enzim tidak secara langsung, dimana antibodi yang terikat terdeteksi melalui labeled antiglobulin. Cara imunoperoksidase lebih menguntungkan daripada imunofloresen karena cara pembacaannya dengan mikroskop medan gelap, dan sediaan terwarnai sedemikian rupa, sehingga hubungan struktur jaringan atau struktur sel lebih mudah diamati. Keuntungan lain adalah sediaan yang sudah jadi dapat disimpan secara permanen dan sediaan dapat diadaptasikan untuk pemeriksaan dengan mikroskop elektron. Sedangkan kerugiannya adalah resolusi mikroskop medan gelap sangat terbatas, sehingga bila terdapat hanya sebagian kecil yang terwarnai positif, maka akan sulit diamati. Kerugian lain peroksidase endogen tidak tereliminasi secara sempurna, dan berbagai produk dari reaksi enzim dapat berdifusi keluar dari jaringan, yang merupakan tempat antigen terlokalisasi. Prosedur tehnik PAP memerlukan 3 tahap, yaitu pertama kali jaringan diinkubasikan dengan *rabbit antibody* yang akan bereaksi dengan antigen jaringan. Selanjutnya diberi *anti rabbit globulin* dan dilanjutkan dengan pemberian kompleks imun yang terdiri dari *rabbit anti peroxidase* yang terikat pada *peroxidase*. Kompleks imun tersebut terikat pada bagian ikatan bebas antiglobulin yang kemudian dapat dideteksi dengan menggunakan substrat yang telah tersedia

2.10.3 Metode alkalifosfatase anti alkalifosfatase

Prinsip dasar adalah ditemukannya *aryl amines primer*, yang jika direaksikan dengan *alkyl nitrit* dalam media asam akan membentuk senyawa azo. Senyawa tersebut dapat bereaksi dengan *substitued naphthol* menghasilkan pewarnaan yang tidak larut dan bersifat *chromogenic*. Pada prosedur imunohistokimia, alkalifosfatase anti alkalifosfatase tersebut, phosphate ester 6-bromo-2-3-naphthoic acid digunakan sebagai substrat. Hidrolisis enzimatis dengan menggunakan *diazotised 4 amino-2 diethoxybenzanilide*.

2.10.4 Metode streptavidin biotin

Metode ini banyak digunakan dalam bidang imunologi, karena berbagai kelebihannya, antara lain bahwa biotin yang mudah berikatan dengan berbagai protein, dan ikatan antara streptavidin dan biotin yang sangat kuat. Keuntungan lain adalah dapat mengeliminasi ikatan lain yang non spesifik karena mempunyai kandungan karbohidrat rendah dan titik isoelektrik yang mendekati netral, sehingga tidak terjadi berbagai reaksi non spesifik yang sering terjadi pada ikatan dengan avidin. Oleh karena itu streptavidin biotin dianggap lebih bagus bila dibandingkan dengan kompleks avidin biotin, karena streptavidin mempunyai kemampuan mengikat biotin lebih banyak dan kuat, sehingga hasil pewarnaan menjadi lebih jelas. Streptavidin biotin juga lebih menguntungkan dibandingkan dengan PAP, karena pada metode ini menggunakan *reagensia labelling*

tunggal umum, yaitu berupa *conjugated streptavidin anzyme* sebagai ganti kompleks PAP yang berbeda untuk seliap sistem organ.

2.11 Fluoresence In Situ Hybridization (FISH)

FISH adalah metode yang dapat dipakai untuk menentukan aktivitas genetik khususnya ampifikasi pada gen *HER2 / neu*. Metode ini menggunakan *Path Vysion Gene Detection System (Vysis, Inc, Downers Grove, IL)*. Caranya adalah dengan memfiksasi sediaan spesimen jaringan operasi atau biopsi dalam larutan formalin, kemudian diproses dalam blok parafin dan dipotong tipis dengan ketebalan 6 μm , selanjutnya disimpan pada suhu 56°C selama 1 malam (*over night*). Kemudian slide dilakukan deparafinisasi dalam *xytene*, rehidrasi dalam alkohol dan udara kering. Potongan sediaan tersebut selanjutnya ddicelupkam dalam HCl / *Triton X-100* selama 20 menit, diletakkan dalam air murni selama 3 menit, dan dicelupkan dalam 2x SSC selama 5 menit. Berkutnya slide ditempatkan dalam *Sodium Thiocyanate* pada suhu 80°C selam 10 menit dan dicuci dalam air murni selama 1 menit dan dua kali dalam 2x SSC selama 5 menit. Kelebihan atau sisa air pada sediaan dapat dihilangkan dengan menempelkan kertas hisap. Setelah dilakukan inkubasi dalam larutan pepsin 0,4% (diatur pada pH 1,5 dan 2N HCl) pada suhu 37°C selama 15 menit dan reaksi enzim dihentirkan dengan meletakkan dua kali dalam 2x SSC masing- masing selama 5 menit. Setelah slide dikeringkan dalam udara kering, kemudian dicelupkan dalam larutan formalin bufer 4%

selama 10 menit, diikuti dengan dua kali dalam 2xSSC, kemudian dilakukan dehidrasi dengan resapan dalam etanol 70%, 80% dan 100%, masing-masing selama 2 menit, dan udara kering selama 1 sampai 3 menit pada suhu hangat 45°C.

Campuran probe *Path Vysion* HER2 DNA sebanyak 10 μ l (Vysis, Inc.) yang berisi probe HER2 DNA (probe DNA label langsung spektrum orange 190 kb) dan probe DNA CEP 17 (probe DNA label langsung fluoresen spektrum hijau 5,4 kb untuk sekuen α satelit DNA) dipakai untuk target area dalam sel. Setelah permukaan tertutup rata, tepi slide diberi segel dan ditempatkan dalam unit *Hy Brite* (Vysis, Inc). Denaturasi dilakukan pada suhu 85°C selama 5 menit dan hibridisasi pada suhu 37°C selama 16 sampai 20 jam.

Untuk mengangkat ikatan probe non spesifik, slide dilewatkan dalam tiga tempat yang berbeda, yaitu formalin 50% / 2x SSC masing-masing 2x 7 menit dan dalam 2x SSC, 2x SSC / 0, dan NP 40 1% masing-masing 4 menit, yang semuanya pada suhu 46°C dan digerakkan. Slide diletakkan pada udara kering dalam kamar gelap dan diberi counterstain berupa DAPI 10 μ l dalam *phenylene diamine dihydrochloride* / *Antifade counterstain*. Akhirnya polongan sediaan ditutup dan disegel. Sebelum dilakukan pemeriksaan sinyal, slide disimpan di dalam kamar gelap pada suhu 5°C. (Bilous M., et al., 2002; Birner P., et al , 2001; Onody P., et al. 2001)

Interpretasi HER2 / neu untuk setiap slide dilakukan oleh seorang observer dengan memakai alat mikroskop fluoresen (merek *Olympus BX60*). Pada kasus tertentu dimana terjadi keraguan, dilakukan pemeriksaan slide oleh seorang *second reviewer* untuk dibuat diagnosis akhir. Masing- masing slide dianalisis dengan menggunakan DAPI, alur pita tunggal *single bandpass* (orange-hijau) dan filter alur pita kombinasi tiga. Selanjutnya slide dilakukan *scanning* pada pembesaran rendah (obyektif 10) menggunakan filter DAPI untuk mengidentifikasi area dengan penyerapan jaringan yang optimal dan area dengan tumor. Dihitung 100 sampai 200 sel dari area tumor dalam lapang pandang disesuaikan dengan petunjuk penghitungan yang ada dalam kemasan. Semua kasus dengan lebih dari jumlah rata- rata 4 sinyal fluoresen per 2 sinyal pada sentromer kromosom 17 adalah mengalami amplifikasi. Spesimen negatif adalah kalau kurang dari 10% sel tumor menunjukkan amplifikasi dari HER2 / neu, sesuai dengan gambaran imunohistokimia (Bimer P., et al , 2001)

2.12 Ekspresi Genetik

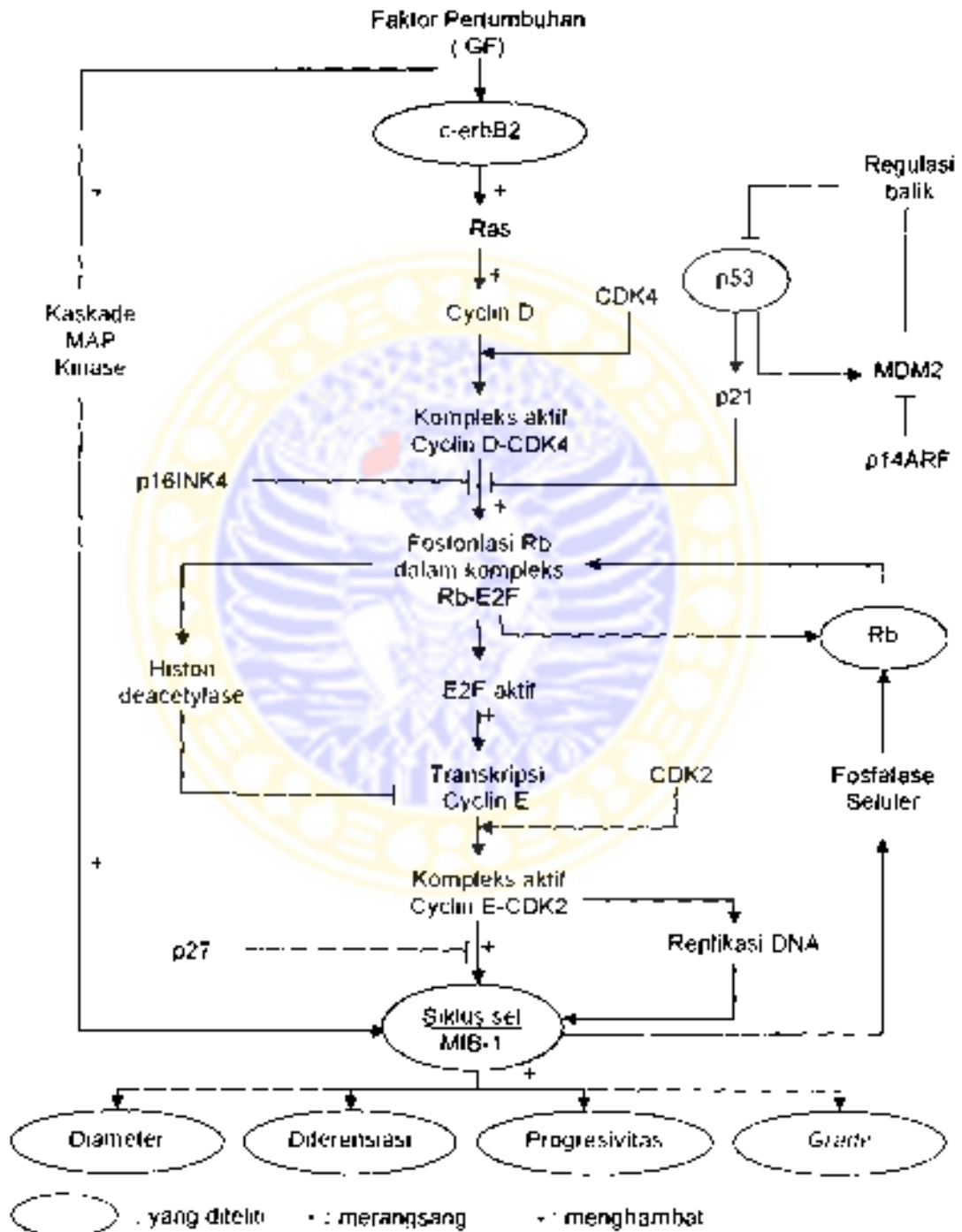
Menurut Moelyoprawiro ekspresi genetik merupakan proses kegiatan yang esensial dalam kehidupan organisme, karena proses ini merupakan pengungkapan (ekspresi) oleh gen dalam bentuk protein, baik protein struktural maupun protein enzim. Protein struktural menunjang komponen seluler untuk melakukan fungsinya dan protein enzim

mengkatalisis perubahan berbagai senyawa, termasuk proses ekspresi genetik itu sendiri. Dengan demikian ekspresi genetik merupakan proses "penerjemahan" gen dalam bentuk urutan basa-N dan DNA menjadi urutan asam amino protein, atau dengan kata lain ekspresi genetik merupakan proses "pengungkapan" gen menjadi fenotip. Dari segi molekuler ekspresi genetik, mengikuti dogma sentral, yang merupakan proses transkripsi gen tertentu pada rentangan DNA yang diikuti proses translasi mRNA menjadi suatu urutan asam amino (Mudigdo A., 2002)



BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konseptual



Keterangan Bagan Kerangka Konseptual

Rangsangan dari luar sel golongan ligan famili *growth factor* (GF) yang berikatan dengan reseptornya (c-erbB2) akan mengaktifasi berbagai "signal transduction pathways" termasuk didalamnya adalah jalur Ras. Jalur tersebut mensintesis dan menjaga stabilitas *cyclinD* (di dalam sel terdapat beberapa macam *cyclinD*). *CyclinD* berikatan dengan CDK4 membentuk kompleks aktif *cyclinD*-CDK4 yang mempunyai kemampuan aktivitas enzim (*cyclinD* dapat juga membentuk komplek dengan CDK6 dan mempunyai peran sama). Kompleks *cyclinD*-CDK4 akan memfosforilasi pRb yang berikatan dengan protein E2F (membentuk kompleks E2F-Rb) di dalam inti sel. Protein Rb yang terdapat dalam kompleks E2F-Rb bersifat aktif tetapi protein E2F pada posisi inaktif. Protein E2F merupakan salah satu faktor transkripsi di dalam sel.

Setelah pRb terfosforilasi dan menjadi tidak aktif, protein E2F terlepas dari ikatan kompleks E2F-Rb. Protein E2F yang terlepas dari kompleks E2F-Rb (E2F merupakan famili dari faktor transkripsi) menjadi aktif. E2F yang aktif tersebut mendorong terjadinya transkripsi *cyclinE*, *cyclinA* dan protein lain yang diperlukan oleh sel untuk melewati "restriction point" pada akhir fase G1, sehingga siklus sel dapat berjalan. Siklus sel dapat dihambat oleh "*cup / kip inhibitors*" yaitu p21 dan p27 atau "*INK4A / ARF inhibitors*" yaitu p16INK4A atau p14ARF.

Siklus sel dapat berhenti sebagai respons terhadap kerusakan DNA dan stres sel lain yang dipicu oleh aktivitas p53, sehingga sel mempunyai

kesempatan untuk memperbaiki kerusakannya. Apabila fungsi tersebut gagal, sel akan dirangsang untuk melakukan proses apoptosis (kematian yang terprogram), supaya sel yang mengalami kerusakan DNA tersebut (mempunyai cacat genetik) tidak terus melakukan siklus pembelahan diri. Aktivitas p53 sendiri dibawah pengaruh regulasi negatif MDM2, yang fungsi regulasi negatifnya dapat dihambat oleh p14ARF. Pada sel kanker ekspresi p53 (gen penghambat tumor) mengalami inaktivasi, yang menyebabkan fungsinya menurun atau hilang sama sekali.

Selanjutnya dapat dimengerti bahwa kalau terjadi rangsangan yang berlebihan yang ditandai dengan meningkatnya ekspresi protein reseptor c-erbB2 dan menurun atau hilangnya fungsi supresi p53, maka akan menyebabkan peningkatan jumlah pRb yang terfosforilasi dan terlepas dari ikatan kompleks E2F-Rb, yang mengakibatkan faktor transkripsi E2F menjadi aktif. Sehingga akan terjadi proliferasi sel yang berlebihan yang ditandai dengan meningkatnya ekspresi protein MIB-1. Secara morfologis proses tersebut di atas ditandai dengan meningkatnya ukuran diameter, diferensiasi progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis tumor karsinoma duktal payudara.

Stimulasi *growth factors* (GF) pada reseptor dapat juga mengakibatkan kompleks Ras-GDP yang inaktif menjadi kompleks Ras-GTP yang aktif. Ras yang aktif tersebut dapat mengikat RAF dan menstimulasi jalur MAP-kinase untuk meneruskan sinyal ke dalam inti sel

melalui aktivitas kaktor transknpsi, yang selanjutnya terjadi siklus sel berjalan progresif

3.2 Hipotesis

1. Ada perbedaan ekspresi protein c-erbB2 (gen pemicu tumor atau *oncogene*) pada berbagai diameter, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis pada karsinoma duktal payudara
2. Ada perbedaan ekspresi protein p53 (gen apoptosis atau perbaikan DNA) pada berbagai ukuran diameter tumor, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis pada karsinoma duktal payudara.
3. Ada perbedaan ekspresi protein pRb (gen penghambat tumor atau *suppressor gene*) pada berbagai ukuran diameter, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis pada karsinoma duktal payudara.
4. Ada perbedaan ekspresi protein MIB-1 (gen aktivitas proliferasi sel) pada berbagai ukuran diameter, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis pada karsinoma duktal payudara

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan ini menggunakan jenis penelitian analisis observasional, dengan memakai sampel berupa jaringan tumor penderita karsinoma duktal payudara yang terdapat di Bagian / SMF / Instalasi Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Pada penelitian yang dilakukan ini akan diidentifikasi berbagai ekspresi protein, yang mencerminkan perilaku biologis dari karsinoma duktal payudara, yaitu : ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 dan morfologis tumor, yaitu: ukuran diameter tumor, diferensiasi (baik, sedang dan buruk), progresivitas pertumbuhan (insitu, invasif dan metastasis) dan *grading* histopatologis (rendah, sedang dan tinggi) karsinoma duktal payudara.

4.2 Rancangan Penelitian

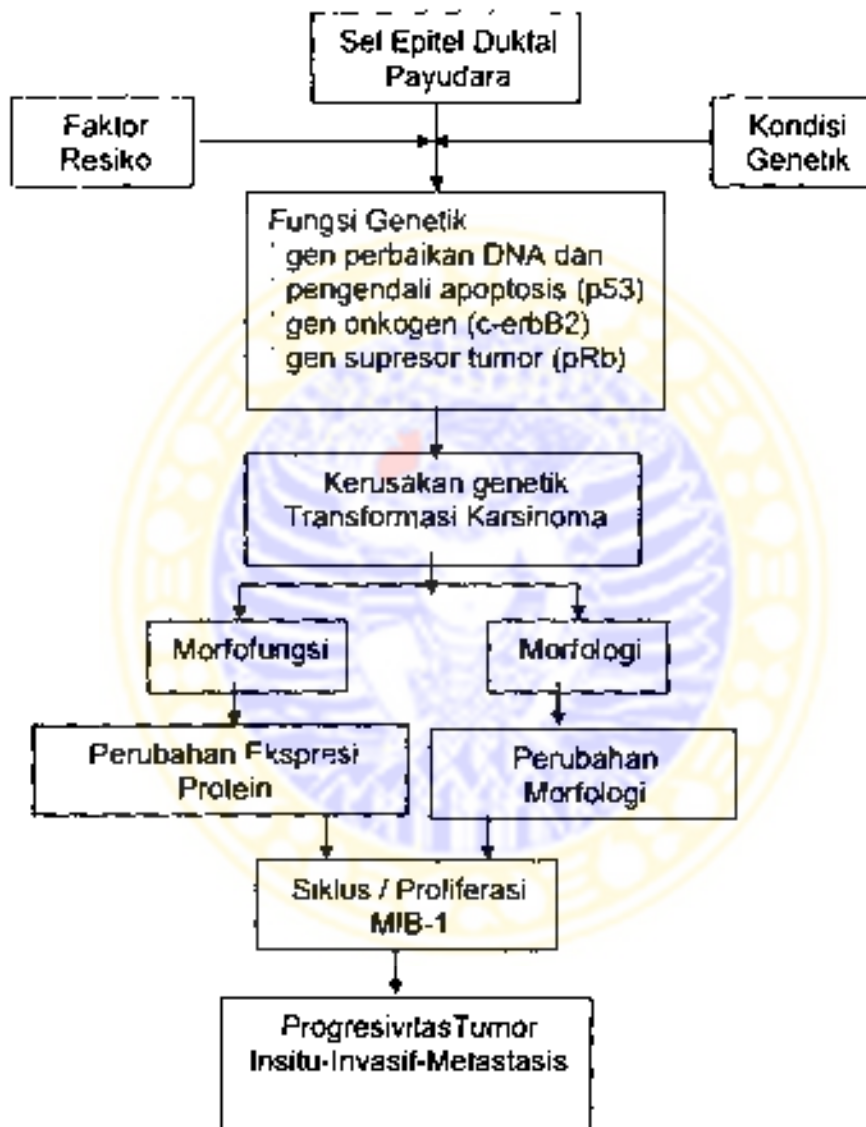
Penelitian ini menggunakan rancangan *cross sectional study*. Obyek penelitian adalah sel dan jaringan tumor karsinoma duktal payudara yang telah dilakukan operasi di Bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Supaya sampel dapat mewakili populasi, maka pengambilan sampel dilakukan dengan cara *purpose sampling*. Sedangkan untuk mendapatkan sampel

yang homogen, pada penelitian ini dilakukan *matching* dalam hal umur, jenis kelamin dan uji homogenitas

Diagnosis karsinoma duktal payudara dinilai secara rutin dengan menggunakan prosedur pemeriksaan pulasan histopatologi memakai pengecatan Hematoksin-Eosin, dengan cara memeriksa morfologi sel, struktur, susunan histopatologis jaringan dan jumlah mitosis sel, yang dilakukan oleh dua orang ahli (spesialis) patologi senior, dimana pemeriksa tidak mengetahui identitas subyek yang sedang diperiksa untuk membuat diagnosis karsinoma duktal payudara dengan menentukan ukuran diameter tumor, diferensiasi tumor, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis tumor karsinoma duktal payudara, di Bagian / SMF / Instalasi Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSU. Dr. Soetomo Surabaya. Penilaian ekspresi protein c-erbB2 (protein onkogen reseptor), p53 (protein apoptosis – perbaikan DNA), pRb (protein supresor tumor) dan MIB-1 (protein aktivitas proliferasi sel) dilakukan di Divisi Imunohistokimia Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / SMF / Inst Patologi Anatomi RSU. Dr. Soetomo Surabaya, oleh ahli (spesialis - konsultan) Patologi senior yang mempunyai kompetensi di bidang tersebut. Penilaian ekspresi protein gen c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 dilakukan dengan pemeriksaan menggunakan metode imunohistokimia memakai antibodi monoklonal terhadap masing-masing protein tersebut di atas. Perubahan label

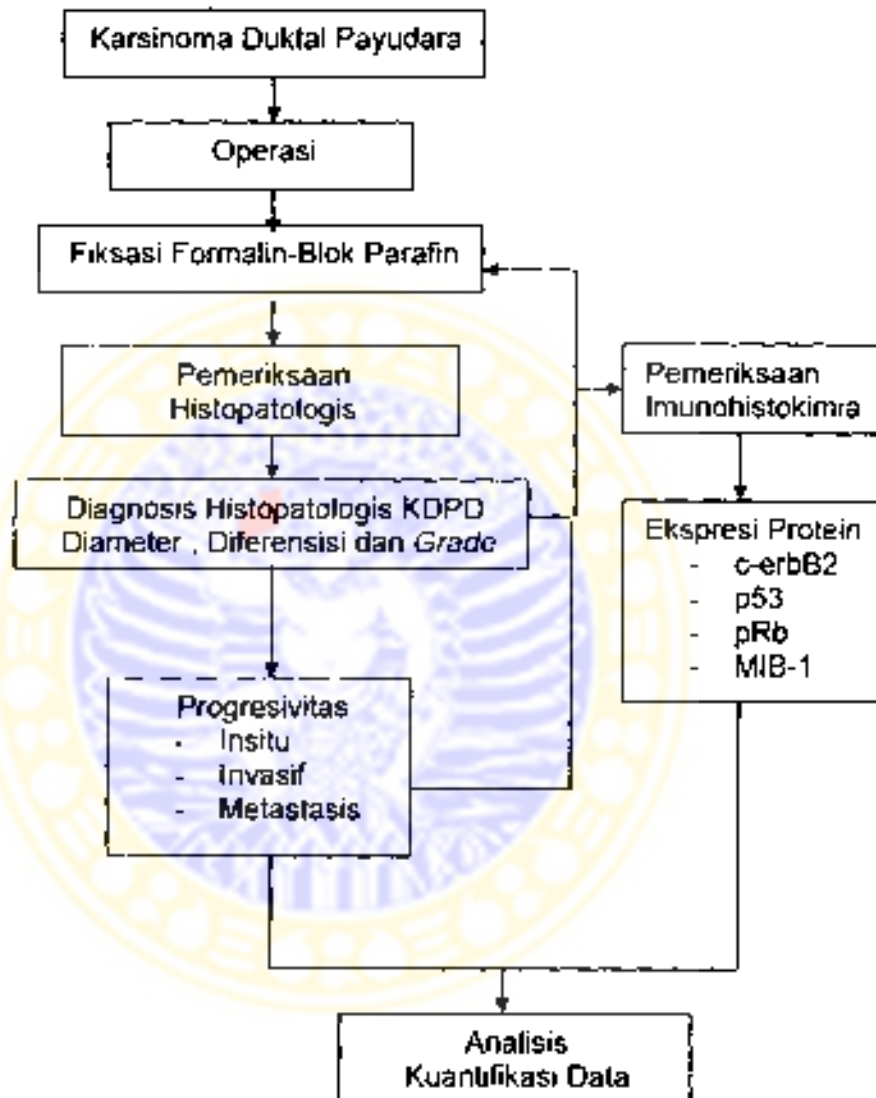
petanda warna yang terjadi pada pulasan yang timbul selanjutnya dinilai secara semi kuantitatif.

4.3 Bagan Rancangan Penelitian



Gambar 4.3 Bagan Rancangan Penelitian

4. 4 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 4.4 Bagan Kerangka Operasional Penelitian

4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

- 1 Pengumpulan sampel penelitian yang berupa jaringan operasi dari penderita karsinoma duktal payudara di Bagian / SMF / Instalasi Patologi Anatomi FK Unair / RSUD Dr Soetomo Surabaya
- 2 Jaringan sampel yang berupa blok parafin dipilih dan dievaluasi di Bag / SMF / Inst. Patologi Anatomi FK Unair / RSUD. Dr. Soetomo
- 3 Pemeriksaan histopatologis dengan pulasan H-E dilakukan di Bagian / SMF / Instalasi Patologi Anatomi FK Unair / RSUD Dr Soetomo Surabaya
- 4 Penentuan diagnosis, ukuran, diferensiasi, progresivitas dan *grading* histopatologis tumor dan pulasan Hematoksin – Eosin dilakukan di Bagian / SMF / Instalasi Patologi Anatomi FK. Unair / RSUD. Dr Soetomo Surabaya
- 5 Pemeriksaan ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 dengan metode imunohistokimia, menggunakan antibodi monoklonal terhadap protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 dilakukan di Divisi Imunohistokimia Bagian / SMF / Instalasi Patologi Anatomi FK. Unair / RSUD Dr Soetomo Surabaya
- 6 Penilaian dan penghitungan ekspresi c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 dengan metode imunohistokimia, yang menggunakan antibodi monoklonal terkait, dilakukan di Divisi Imunohistokimia Bagian / SMF / Instalasi Patologi Anatomi FK. Unair / RSUD Dr. Soetomo

4.6 Bahan Penelitian

Bahan sampel penelitian ini adalah semua jaringan tumor karsinoma duktal payudara yang terdapat dalam blok parafin di Bagian / SMF / Instalasi Patologi Anatomi FK Unair / RSUD Dr. Soetomo Surabaya, yang berasal dari penderita KDPD yang dilakukan operasi kanker payudara di Bagian / SMF / Instalasi Bedah Onkologi FK Unair / RSUD Dr. Soetomo Surabaya pada periode tahun 2003 sampai 2005.

4.7 Unit Analisis

Unit analisis penelitian berupa jaringan tumor payudara hasil operasi penderita dengan diagnosis karsinoma duktal payudara secara klinis dan histopatologis. Presentasi dan penjelasan mengenai maksud dan tujuan penelitian dilakukan sebelum penelitian dilaksanakan, di depan Panitia Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Soetomo Surabaya, kemudian dengan dibantu oleh beberapa orang yang bertugas membantu pelaksanaan proses penelitian. Untuk mendapatkan sampel penelitian yang representatif ditentukan ukuran sampel spesimen operasi minimal adalah 8x6x6 mm dan dipilih yang representatif untuk pemeriksaan histopatologis dan imunohistokimia.

4. 8 Penentuan Besar Sampel

Besar sampel ditentukan dengan menggunakan rumus Higgins (1985), dengan dasar penelitian pendahuluan sebelumnya, yang membandingkan antara ekspresi protein c-erbB2 positif dan negatif pada masing-masing 5 orang penderita, yaitu .

$$n = \frac{2 (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \times S_c}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Keterangan :

n : besar sampel

Z_{α} : 2,594

Z_{β} : 0,845

S_c : standar deviasi kelompok ekspresi c-erbB2 negatif : 44, 22

μ_1 : rerata kelompok ekspresi protein c-erbB2 negatif : 12, 625

μ_2 : rerata kelompok ekspresi protein c-erbB2 positif : 68, 5

Besar sampel yang didapat dari perhitungan di atas adalah 10. Mengingat pada penelitian ini menggunakan 3 kelompok maka sampel yang dibutuhkan adalah 30 jaringan karsinoma duktal payudara penderita.

4. 9 Variabel Penelitian

Pada penelitian ini, karena desain yang digunakan adalah "cross sectional study", maka tidak dicantumkan variabel bebas dan variabel tergantung. Tetapi variabel morfofungsi yang berupa ekspresi protein c-erbB2 (protein onkogen, pemicu tumor), p53 (protein apoptosis dan perbaikan DNA), pRb (protein supresor, penghambat tumor) dan MIB-1 (protein aktivitas proliferasi sel) dapat dianggap sebagai variabel bebas, sedangkan variabel morfologi (makroskopis dan mikroskopis) yang berupa diameter tumor diferensiasi (baik, sedang dan buruk), progresivitas pertumbuhan (karsinoma insitu, invasif dan metastasis) dan *grading* histopatologis (rendah, sedang dan tinggi) dianggap sebagai variabel tergantung, karena dipercaya terjadi jauh setelah variabel morfofungsi muncul.

Pada penelitian ini, variabel yang diteliti adalah:

- 1 ekspresi protein pemicu tumor, c-erbB2
- 2 ekspresi protein apoptosis dan perbaikan DNA sel tumor, p53
- 3 ekspresi protein penghambat tumor, pRb
- 4 ekspresi protein aktivitas proliferasi sel tumor, MIB-1
- 5 ukuran terbesar diameter tumor
- 6 diferensiasi tumor
- 7 progresivitas pertumbuhan tumor
- 8 *grading* histopatologis tumor karsinoma duktal payudara

4. 10 Batasan Operasional

- 1 Karsinoma duktal payudara: Merupakan keganasan epitel duktal payudara jenis karsinoma duktal (NOS / NST) dengan ukuran diameter tumor, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis yang ditentukan dengan pemeriksaan histopatologis, memakai mikroskop cahaya
- 2 Diameter tumor(Kriteria American Joint Committee on Cancer/AJCC)
Merupakan ukuran diameter terbesar karsinoma duktal payudara yang diukur secara tiga dimensi dalam satuan cm
- 3 Diferensiasi (Kriteria Nottingham Modification of The B.R.System)
Baik: Sel tumor sedikit lebih besar dari ukuran sel epitel duktal payudara normal. membran inti regular, kromatin inti rata.
Sedang: Sel tumor mempunyai ukuran dan bentuk dengan variasi sedang, vesikuler, dan anak inti tampak jelas
Buruk. Sel tumor mempunyai ukuran dan bentuk yang sangat bervariasi atau ada sel dengan ukuran sangat besar.
- 4 Progresivitas (Kriteria IUCC dan AJC-TNM System)
Pertumbuhan karsinoma duktal payudara yang berlangsung dari tahap insitu, invasif dan metastasis (Kumar,2005 ; Rosar J., 2004)
- 5 *Grading* histopatologis(Kriteria Nottingham Modification System)
 - i Bentuk duktus (kelenjar)
Skor 1 : > 75%
Skor 2 . 10 -75%

Skor 3 : < 10%

ii. Diferensiasi sel tumor

Skor 1 . baik

Skor 2 : sedang

Skor 3 : buruk

iii. Jumlah mitosis (obyektif 40X,dalam 10 lap. pandang)

Skor 1 . 0 -9

Skor 2 . 10 – 19

Skor 3 : > 20

Grade I (low grade) : jumlah nilai skor 3 – 5

Grade II (moderately grade) :jumlah nilai skor 6 – 7

Grade III (high grade) : jumlah nilai skor 8 – 9 (Kumar V., et al., 2005 ; Rosai J., 2004)

6. Ekspresi protein c-erbB2 (Kriteria *United States Food and Drug Administration (FDA)*)

Penilaian dan gradasi positifitas pemeriksaan imunohistokimia dengan menggunakan antibodi monoklonal terhadap protein c-erbB2, yang didasarkan pada Cara ukur: Dinilai secara semi kuantitatif , visual dengan memakai mikroskop cahaya yang berwarna coklat merah nyata pada membran sel epitel karsinoma duktal payudara.

Skor 0: Membran sel tumor tidak terwarnai atau terwarnai lemah kurang dari 10% dari sel tumor.

Skor 1: Membran sel tumor terwarnai lemah secara fokal pada lebih dari 10% sel tumor.

Skor 2: Seluruh membran sel tumor terwarnai secara lemah sampai sedang pada lebih dari 10% sel tumor

Skor 3: Seluruh membran sel terwarnai secara kuat pada lebih dari 10% sel tumor.

Hasil . Negatif : Skor 0 dan 1

Positif : Skor 2 dan 3 (Kuroda H . 2004)

7. Ekspresi protein p53 (Kriteria Tsutsui S., et al . 2004)

Penilaian positività pemeriksaan imunohistokimia dengan menggunakan antibodi monoklonal terhadap protein p53.

Skor 0: Inti sel tumor tidak ada yang terwarnai (tidak imunoreaktif)

Skor 1: Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) kurang dari 10%

Skor 2: Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) pada 10 – 50 %

Skor 3: Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) pada lebih dari 50%.

Hasil . Negatif : Skor 0 dan 1

Positif . Skor 2 dan 3 (Yamashita et al . 2004)

Kanker dikatakan positif untuk ekspresi protein p53. bila mana 10% atau lebih dari sel tumor intinya menunjukkan imunoreaktif

8. Ekspresi protein pRb (Kriteria Yamashita et al . 2004)

Penilaian positività pemeriksaan imunohistokimia dengan menggunakan antibodi monoklonal terhadap protein pRb

Skor 0: Inti sel tumor tidak ada yang terwarnai (tidak imunoreaktif)

Skor 1: Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) kurang dari 10%

Skor 2: Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) pada 10 – 50 %.

Skor 3: Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) pada lebih dari 50%.

Hasil : Negatif . Skor 0 dan 1

Positif Skor 2 dan 3 (Yamashita et al , 2004)

Kanker dikatakan positif untuk ekspresi protein pRb, bilamana 10% atau lebih dari sel tumor intinya menunjukkan imunoreaktif

9 Ekspresi protein MIB-1 (Kriteria Tsutsui S . et al . 2004)

Penilaian positivitas pemeriksaan imunohistokimia dengan menggunakan antibodi monoklonal terhadap protein MIB-1

Skor 0 Inti sel tumor tidak ada yang terwarnai (tidak imunoreaktif)

Skor 1: Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) kurang dari 10%.

Skor 2: Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) pada 10 – 50 %

Skor 3: Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) pada lebih dari 50%.

Hasil . Negatif . Skor 0 dan 1

Positif Skor 2 dan 3 (Derenzini et al , 2004)

Kanker dikatakan positif untuk ekspresi protein MIB-1, bilamana 10% atau lebih dari sel tumor intinya menunjukkan imunoreaktif. yang berarti bahwa sel kanker mengalami proliferasi atau pembelahan sel secara berlebihan (Tsutsui S et al , 2004)

10. Ekspresi gen: Merupakan kontribusi ekspresi gen dalam menentukan perbedaan kondisi karsinoma duktal payudara pada

berbagai diameter, diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis tumor

11. Proliferasi sel: Merupakan keadaan sel dengan ekspresi gen pengendali siklus sel, yang menunjukkan sel memperbanyak diri dengan cara membelah diri

4. 11 Kriteria Sampel dan Kriteria Inklusi

4. 11. 1 Kriteria sampel

1. Umur 30 sampai 70 tahun
2. Jenis kelamin perempuan
3. Tidak menderita neoplasma atau keganasan lain
4. Tidak menderita penyakit infeksi secara klinis
5. Penderita dari poliklinik Bedah Onkologi RSUD Dr Soetomo Surabaya dengan diagnosis karsinoma duktal payudara secara klinis dan morfologis

4.11.2 Kriteria inklusi kelompok kasus

Penderita dengan pemeriksaan histopatologis karsinoma duktal payudara yang dilakukan operasi untuk pertama kali.

Jenis kanker secara histopatologis adalah karsinoma duktal payudara (NOS / NST) insitu, invasive dan metastasis

4.12 Cara Kerja

1. Pengambilan sampel penelitian yang berupa blok parafin karsinoma duktal payudara dilakukan di Bagian/SMF/Instalasi Patologi Anatomi FK Unair / RSUD Dr Soetomo Surabaya, Pengambilan sampel berdasarkan data di Bagian / SMF/ Instalasi Patologi Anatomi FK. Unair / RSUD. Dr. Soetomo, kemudian berdasarkan rekam medik status penderita tersebut, ditentukan variabel morfologis penelitian karsinoma duktal payudara.
2. Pemeriksaan histopatologis dilakukan di Bag / SMF/ Inst Patologi Anatomi FK. Unair / RSUD. Dr. Soetomo, sesuai dengan data yang tersedia.
3. Potong dalam (ulang) blok paraffin untuk *slide unstain* dan dibuat sebanyak 6 buah, 4 *slide* untuk pemeriksaan imunohistokimia terhadap ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1, serta 2 *slide* untuk kontrol negatif dan positif.
4. Penilaian *grading* histopatologis berdasarkan pada kriteria *Nottingham Modification System*). Dengan 3 unsur penilaian, yaitu:
 - A. Bentuk duktus (kelenjar)
Skor 1 : > 75%
Skor 2 : 10 - 75%
Skor 3 : < 10%
 - B Diferensiasi sel tumor
Skor 1 : baik

Skor 2 sedang

Skor 3 . buruk

C. Jumlah mitosis (obyektif 40X,dalam 10 lap pandang)

Skor 1 : 0 -9

Skor 2 : 10 – 19

Skor 3 : > 20

Disamping itu juga diukur diameter terbesar dari tumor secara tiga dimensi

5. Pemeriksaan imunohistokimia

Sampel yang memenuhi kriteria penelitian dilakukan pemeriksaan imunohistokimia dengan menggunakan tehnik imunoperoksidase terhadap ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada blok yang sama dengan blok parafin yang telah dipulasi dengan metode rutin Hematoksilin-Eosin pada pemeriksaan histopatologis. Pemeriksaan imunohistokimia dilakukan di Divisi Imunohistokimia Bagian / SMF / Inst. Patologi Anatomi FK Unair / RSUD Dr. Soetomo Surabaya, dengan langkah- langkah sebagai berikut :

- a. Jaringan dipotong 4 mikron pada *slide* yang sudah di-coated dengan poly L-lysin, preparasi sedfaan dilakukan inkubasi pada suhu ruang (37°C) selama semalam (*over night*) atau pada suhu 60°C selama 15 menit

- b. Sediaan dibiarkan pada suhu kamar sampai dingin, selama 10 – 15 menit
- c. Sediaan direparafinisasi dengan dimasukkan dalam cairan xylol I, II, dan III, masing- masing selama 5 menit. dan selanjutnya dilakukan rehidrasi dengan alkohol absolut alkohol 95%, dan 80%, masing- masing selama 5 menit
- d. Sediaan dicuci dengan larutan Tris.
- e. Sediaan dimasukkan dalam larutan hidrogen peroksidase metanol 0.5% selama 10 menit
- f. Sediaan dicuci dengan aquadest
- g. Sediaan dimasukkan ke dalam larutan antigen retrieval (*citrate buffer* – pH 6), kemudian dimasukkan ke dalam microwave dengan temperatur tinggi sampai mendidih, lalu diturunkan pada temperatur medium, masing- masing selama 10 menit. Kemudian didinginkan selama sekitar 10 menit
- h. Kemudian sediaan dicuci dengan larutan Tris, sebanyak 3 kali masing- masing selama 3 menit.
- i. Dilakukan *blocking* terhadap aktivitas non spesifik dengan serum normal (3% NHS) selama 10 menit. untuk mengurangi pewarnaan latar belakang yang tidak spesifik
- j. Selanjutnya dilakukan inkubasi dengan antibodi primer, pada suhu kamar selama 1 malam. Prosedur dilakukan untuk

setiap antibodi primer yang berupa *mouse antibody monoclonal*, yaitu c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1. Demikian juga selanjutnya, dilakukan untuk setiap antibodi.

- k. Cuci sediaan dengan larutan Tris sebanyak 3 kali, setiap kali selama 3 menit.
- l. Inkubasi dengan antibodi sekunder (*biotinylated secondary antibody*) BGRA (*Biotinylated Goat Anti- Rabbit*) pada suhu kamar selama 30 menit.
- m. Cuci sediaan dengan larutan Tris sebanyak 3 kali masing-masing selama 3 menit.
- n. Inkubasi dengan Streptavidin-Biotin Peroxidase (reagensia pembawa label enzim yang belum berwarna), selama 10 menit.
- o. Cuci dengan larutan Tris sebanyak 3 kali, masing-masing selama 3 menit.
- p. Inkubasi dengan larutan *chromogen* DAB selama 10 menit. Pada prosedur ini terjadi reaksi enzimatik, dimana H_2O_2 melepaskan O_2 , dan DAB akan teroksidasi menjadi presipitat yang berwarna coklat.
- q. Cuci sediaan dengan air mengalir.
- r. Dilakukan *counter stain* dengan Hematoxylin Lillie Mayer, selama 2 menit.
- s. Cuci dengan air mengalir atau *aquadest*.

- t. Dehidrasi dengan alkohol 80%, 95% dan absolut, masing-masing selama 3 menit
- u. *Clearing* dalam 3 kali cara xylol, masing-masing selama 3 menit
- v. Dikeringkan pada suhu kamar atau pengering, sampai kering.
- w. *Mounting* dengan entelan dan kaca penutup.

Pada setiap pemeriksaan, disertakan kontrol dengan menggunakan jaringan karcinoma duktal payudara, sebagai prosedur pulasan dan standar penelitian

6. Penilaian ekspresi protein c-erbB2

Dinilai secara semi kuantitatif visual dengan mikroskop cahaya, terhadap sel yang terpulas berwarna coklat merah nyata pada membran sel tumor

Skala penilaian adalah

Skor 0. Membran sel tumor tidak terwarnai atau terwarnai lemah < 10% dari sel tumor

Skor 1: Membran sel terwarnai lemah secara fokal pada > 10% dari sel tumor.

Skor 2: Seluruh membran sel terwarnai secara lemah sampai sedang pada > 10% dari sel tumor

Skor 3: Seluruh membran sel terwarnai secara kuat pada > 10% dari sel tumor

Hasil penilaian disebut negatif kalau skor 0 dan 1, sedangkan positif kalau skor 2 atau 3. (Kuroda H., 2004)

Pada penelitian ini semua sampel jaringan karsinoma duktal payudara, dimana sel yang terwarnai pada seluruh permukaannya dihitung dan dijumlah per 200 sel tumor

7. Penilaian ekspresi protein p53

Dinilai secara semi kuantitatif visual dengan mikroskop cahaya, terhadap sel yang terpulas berwarna coklat perak nyata pada inti sel tumor

Skala penilaian adalah :

Skor 0: Inti sel tumor tidak ada yang terwarnai (tidak imunoreaktif)

Skor 1: Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) kurang dari 10%.

Skor 2: Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) pada 10 – 50 %

Skor 3: Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) pada lebih dari 50%.

Hasil : Negatif . Skor 0 dan 1

Positif : Skor 2 dan 3 (Yamashita et al., 2004)

Kanker dikatakan positif untuk ekspresi protein p53, kalau 10% atau lebih dari sel tumor intinya menunjukkan imunoreaktif. (Tsutsu S., 2004) Inti sel yang imunoreaktif tampak terpulas berwarna coklat merah nyata

8 Penilaian ekspresi protein pRb

Dinilai secara semi kuantitatif visual dengan mikroskop cahaya, terhadap sel yang terpulas berwarna coklat perak nyata pada inti sel tumor

Skala penilaian adalah .

Skor 0. Inti sel tumor tidak ada yang terwarnai (tidak imunoreaktif)

Skor 1. Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) kurang dari 10%

Skor 2. Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) pada 10 – 50 %.

Skor 3. Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) pada lebih dari 50%.

Hasil : Negatif : Skor 0 dan 1

Positif . Skor 2 dan 3 (Yamashita et al., 2004)

Kanker dikatakan positif untuk ekspresi protein pRb. kalau 10% atau lebih dari sel tumor intinya menunjukkan imunoreaktif. (Tsutsui S. 2004) Inti sel yang imunoreaktif tampak terpulas berwarna coklat merah nyata

9 Penilaian ekspresi protein MIB-1

Dinilai secara semi kuantitatif visual dengan mikroskop cahaya, terhadap sel yang terpulas berwarna coklat perak nyata pada inti sel tumor

Skala penilaian adalah :

Skor 0. Inti sel tumor tidak ada yang terwarnai (tidak imunoreaktif)

Skor 1. Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) kurang dari 10%

Skor 2. Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) pada 10 – 50 %

Skor 3: Inti sel tumor terwarnai (imunoreaktif) pada lebih dari 50%.

Hasil . Negatif : Skor 0 dan 1

Positif : Skor 2 dan 3. (Derenzini et al., 2004)

Kanker dikatakan positif untuk ekspresi protein MIB-1, kalau 10% atau lebih dari sel tumor intinya menunjukkan imunoreaktif, dan dikatakan bahwa sel kanker mengalami proliferasi yang berlebihan. (Tsutsui S., 2004) Inti sel yang imunoreaktif tampak terpulsa berwarna coklat merah nyata.

4.13 Analisis Data

Terhadap data yang diperoleh, dilakukan analisis statistik dengan menggunakan metode multivariat (Manova).

4.14 Etik Penelitian

Etik penelitian dilakukan dengan mengacu pada kaidah yang berlaku. *Ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya, dapat dilihat pada lembar lampiran

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Data Penelitian

Dari hasil pengumpulan sampel yang diperoleh dari laporan hasil pemeriksaan histopatologis di Bagian / SMF / Instalasi Patologi Anatomi: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya, dengan dasar kriteria inklusi yang telah ditetapkan dan perhitungan besar sampel, diperoleh 30 sampel untuk diteliti.

Dari 30 sampel yang diteliti, didapatkan usia penderita karsinoma duktal payudara bervariasi dari 32 sampai 64 tahun, dengan rerata (mean) adalah 45,3 tahun. Kasus karsinoma duktal payudara (KDPD) terbanyak terjadi pada kelompok usia antara 40 sampai 49 tahun.

Dari 30 sampel yang diteliti, didapatkan lokasi tumor pada penderita KDPD kanan sebanyak 18 orang atau 60 %, sedangkan penderita KDPD kiri sebanyak 14 orang atau 40 %.

Tabel 5.1 Ekspresi c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada Berbagai Diameter, Diferensiasi, Progresivitas dan Grading Histopatologi KDPD Insitu

No	Diameter (cm)	Diferensiasi (1-3)	Progresivitas	Grade (1-3)	c-erbB2	Ekspresi Protein p53	pRb	MIB-1
1	10	3	Insitu		154	7	8	4
2	15	3	Insitu		18	4	4	6
3	1,5	3	Insitu		108	72	62	52
4	5,5	1	Insitu		8	10	16	5
5	10	3	Insitu		14	4	38	27
6	1	3	Insitu		17	6	6	7
7	1	3	Insitu		118	28	32	12
8	18	3	Insitu		137	6	12	17
9	3,5	3	Insitu		15	5	5	4
10	4	3	Insitu		19	26	12	44

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan usia penderita KDPD Insitu bervariasi dari 35 sampai 64 tahun, dengan rerata (mean) adalah 49,7 tahun. Kasus KDPD Insitu terbanyak terjadi pada kelompok usia antara 40 sampai 49 tahun.

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ukuran diameter besar tumor penderita KDPD Insitu bervariasi dari 1 cm sampai 18 cm, dengan rerata (mean) adalah 5,6 cm. Kasus KDPD Insitu terbanyak terjadi pada kelompok ukuran diameter tumor ≤ 2 cm dan > 5 cm.

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa diferensiasi tumor penderita KDPD Insitu 9 kasus atau 90% adalah buruk dan 1 kasus atau 10% berdiferensiasi baik dari seluruh kasus KDPD Insitu.

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 sel tumor penderita KDPD Insitu bervariasi dari negatif sampai positif. Kasus KDPD Insitu yang menunjukkan reaksi positif adalah 4 kasus, atau sebesar 40 %.

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein p53 sel tumor penderita KDPD Insitu bervariasi dari negatif sampai positif. Kasus KDPD Insitu yang menunjukkan reaksi positif sebanyak 3 kasus atau sebesar 30 %.

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein pRb sel tumor penderita KDPD Insitu bervariasi dari negatif sampai positif. Kasus KDPD Insitu yang menunjukkan ekspresi positif sebanyak 3 penderita atau sebesar 30 %.

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein MIB-1 sel tumor penderita KDPD Insitu bervariasi dari negatif sampai positif. Kasus KDPD Insitu yang menunjukkan ekspresi positif sebanyak 3 penderita atau sebesar 30 %.

Tabel 6.2 Ekspresi c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada Berbagai Diameter, Diferensiasi, Progresivitas dan Grading Histopatologi KDPD Invasif

No	Diameter (cm)	Diferensiasi (1-3)	Progresivitas	Grade (1-3)	Ekspresi Protein			
					c-erbB2	p53	pRb	MIB-1
1	3	2	Invasif	2	120	58	9	12
2	2,5	3	Invasif	3	18	46	12	10
3	4	3	Invasif	3	19	64	10	68
4	1,5	2	Invasif	1	116	4	56	24
5	3	2	Invasif	2	120	5	8	14
6	4	2	Invasif	2	6	22	14	23
7	4,5	3	Invasif	3	14	18	10	8
8	6	3	Invasif	3	16	16	48	11
9	10	2	Invasif	3	96	5	8	7
10	2	2	Invasif	2	158	9	12	6

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan usia penderita KDPD Invasif bervariasi dari 33 sampai 56 tahun, dengan rerata (mean) adalah 45,5 tahun. Kasus KDPD Invasif terbanyak terjadi pada kelompok usia antara 40 sampai 49 tahun.

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ukuran diameter tumor penderita KDPD Invasif bervariasi dari 1,5 cm sampai 10 cm, dengan rerata (mean) adalah 4,05 cm. Kasus KDPD Invasif terbanyak terjadi pada kelompok ukuran antara >2 cm sampai ≤ 5 cm.

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa diferensiasi tumor penderita KDPD Invasif bervariasi dari sedang sampai buruk. Kasus KDPD Invasif terbanyak terjadi pada kelompok diferensiasi sedang, yaitu 6 penderita atau sebanyak 60% dari seluruh kasus KDPD Invasif.

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 sel tumor penderita KDPD Invasif bervariasi dari negatif sampai positif. Kasus KDPD Invasif yang menunjukkan ekspresi positif, yaitu 6 penderita atau sebesar 60 %.

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein p53 sel tumor penderita KDPD Invasif bervariasi dari negatif sampai positif. Kasus KDPD Invasif yang menunjukkan ekspresi positif sebanyak 4 penderita atau sebesar 40 %.

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein pRb sel tumor penderita KDPD Invasif bervariasi dari negatif sampai positif. Kasus KDPD Invasif yang menunjukkan ekspresi positif sebanyak 2 penderita atau sebesar 20 %.

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein MIB-1 sel tumor penderita KDPD Invasif bervariasi dari negatif sampai positif. Kasus KDPD Invasif yang menunjukkan ekspresi positif sebanyak 3 penderita atau sebesar 30 %.

Tabel 5.3 Ekspresi c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada Berbagai Diameter, Diferensiasi, Progresivitas dan Grading Histopatologi KDPD Metastasis

No	Diameter (cm)	Diferensiasi (1-3)	Progresivitas	Grade (1-3)	Ekspresi Protein			
					c-erbB2	p53	pRb	MIB-1
1	3,5	3	Metastasis	3	86	32	7	26
2	1	2	Metastasis	2	18	28	4	19
3	2	3	Metastasis	3	164	44	8	14
4	2	3	Metastasis	3	12	86	98	142
5	7	3	Metastasis	3	170	18	18	6
6	8	3	Metastasis	3	19	86	62	5
7	2	3	Metastasis	3	86	12	22	6
8	4	3	Metastasis	3	18	18	18	24
9	2,5	3	Metastasis	3	102	108	100	178
10	1,5	3	Metastasis	3	48	102	38	26

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan usia penderita KDPD Metastasis bervariasi dari 32 sampai 50 tahun, dengan rerata (mean) adalah 40,7 tahun. Kasus KDPD Metastasis terbanyak terjadi pada kelompok usia antara 30 sampai 39 tahun.

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ukuran diameter tumor penderita KDPD Metastasis bervariasi dari 1 sampai 8 cm, dengan rerata (mean) adalah 3,35 cm. Kasus KDPD Metastasis terbanyak terjadi pada kelompok ukuran ≤ 2 cm

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa diferensiasi tumor penderita KDPD Metastasis bervariasi dari sedang sampai buruk. Kasus KDPD Metastasis terbanyak terjadi pada kelompok diferensiasi buruk, yaitu 9 penderita atau sebanyak 90%.

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 sel tumor penderita KDPD Metastasis bervariasi dari negatif sampai positif. Kasus KDPD Metastasis yang menunjukkan ekspresi positif, yaitu sebanyak 6 penderita atau sebesar 60 %.

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein p53 sel tumor penderita KDPD Metastasis bervariasi dari negatif sampai positif. Kasus KDPD Metastasis yang menunjukkan ekspresi positif, yaitu 7 penderita atau sebesar 70 %

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein pRb sel tumor penderita KDPD Metastasis bervariasi dari negatif sampai

positif. Kasus KDPD Metastasis yang menunjukkan ekspresi positif sebanyak 5 penderita atau sebesar 50 %.

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein MIB-1 sel tumor penderita KDPD Metastasis bervariasi dari negatif sampai positif. Kasus KDPD Metastasis yang menunjukkan ekspresi positif, yaitu sebanyak 5 penderita atau sebesar 50 %.

5.2 Data Ekspresi Protein pada Berbagai Variabel Penelitian

5.2.1 Ekspresi c-erbB2 pada berbagai ukuran diameter KDPD insitu

Tabel 5.4 Ekspresi Protein c-erbB2 Pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD Insitu

Diameter Tumor (cm)	Ekspresi c-erbB2				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
≤ 2	2	-	-	2	4 (40 %)
$2 < x \leq 5$	2	-	-	-	2 (20 %)
> 5	2	-	-	2	4 (40 %)
Total	6	-	-	4	10 (100 %)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 sel jaringan tumor penderita KDPD Insitu bervariasi dari 0 sampai 3+ pada berbagai ukuran diameter tumor. Kasus KDPD Insitu dengan ekspresi protein c-erbB2 positif terdapat pada kelompok ukuran tumor kurang dari atau sama dengan 2 cm (3+) dan lebih dari 5 cm (3+), yaitu masing-masing sebanyak 2 penderita atau 20 %. Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein c-erbB2 nilai 0 terjadi pada semua kelompok ukuran diameter tumor, yaitu masing-masing 2 penderita atau sebesar 20

%. Didapatkan kesan bahwa ekspresi c-erbB2 yang berlebihan tidak terdapat pada kelompok ukuran diameter besar tumor tertentu.

5.2.2 Ekspresi c-erbB2 pada berbagai ukuran diameter KDPD invasif

Tabel 5.5 Ekspresi Protein c-erbB2 Pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD Invasif

Diameter Tumor (cm)	Ekspresi c-erbB2				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
≤ 2	-	-	-	2	2 (20 %)
$2 < x \leq 5$	4	-	-	2	6 (60 %)
> 5	-	-	1	1	2 (20 %)
Total	4	-	1	5	10 (100 %)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 sel tumor penderita KDPD Invasif bervariasi dari nilai 0 sampai 3+ pada berbagai ukuran diameter tumor. Kasus KDPD Invasif dengan ekspresi protein c-erbB2 positif terdapat pada semua kelompok ukuran tumor, yaitu masing-masing sebanyak 2 penderita atau 20 % pada kelompok diameter ≤ 2 dan $2 < x \leq 5$, dengan nilai 3+, dan kelompok diameter > 5 cm sebanyak 2 penderita atau 20 % dengan nilai 2+ dan 3+. Pada penelitian ini KDPD dengan ekspresi protein c-erbB2 nilai 0 terjadi pada kelompok ukuran tumor $2 < x \leq 5$, yaitu sebanyak 4 penderita atau sebesar 40 %. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi c-erbB2 yang berlebihan tidak terdapat pada kelompok ukuran diameter besar tumor tertentu.

5.2.3 Ekspresi c-erbB2 pada berbagai diameter KDPD metastasis

Tabel 5.6 Ekspresi Protein c-erbB2 Pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD

Diameter Tumor (cm)	Metastasis				Jumlah (%)
	Ekspresi c-erbB2				
	0	1	2	3	
≤ 2	1	1	1	2	5 (50%)
2 < x ≤ 5	1	-	1	1	3 (30%)
> 5	1	-	-	1	2 (20%)
Total	3	1	2	4	10 (100%)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 sel jaringan tumor penderita KDPD metastasis bervariasi dari nilai 0 sampai 3+ pada berbagai ukuran diameter tumor. Kasus KDPD metastasis dengan ekspresi protein c-erbB2 positif terdapat pada kelompok ukuran diameter tumor kurang dari atau sama dengan 2 cm sebanyak 3 kasus (30%) dengan rincian 2 penderita dengan nilai 1+ dan 2+ serta 1 penderita dengan nilai 3+, 2 < x ≤ 5 cm sebanyak 2 kasus (20%) dengan nilai 2+ dan 3+ masing-masing 1 penderita dan lebih dari 5 cm sebanyak 1 kasus penderita atau 10% dengan nilai 3+. Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein c-erbB2 nilai 0 terjadi pada semua kelompok ukuran tumor, yaitu masing-masing 1 penderita (10%). Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi c-erbB2 yang berlebihan terdapat pada kelompok ukuran diameter besar tumor tertentu, yaitu ukuran besar KDPD ≤ 2 cm

5.2.4 Ekspresi p53 pada berbagai ukuran diameter KDPD insitu

Tabel 5.7 Ekspresi Protein p53 Pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD Insitu

Diameter Tumor (cm)	Ekspresi p53				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
≤ 2	-	2	2	-	4 (40%)
$2 < x \leq 5$	-	1	1	-	2 (20%)
> 5	-	4	-	-	4 (40%)
Total	-	7	3	-	10 (100%)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein p53 sel tumor penderita KDPD Insitu bervariasi dari 1+ sampai 2+ pada berbagai ukuran diameter jaringan tumor. Kasus KDPD Insitu dengan ekspresi protein p53 positif terdapat pada kelompok ukuran diameter jaringan tumor kurang dari atau sama dengan 2 cm (nilai 1+ dan 2+, masing-masing 2 kasus penderita), $2 < x \leq 5$ cm (nilai 1+ dan 2+, masing-masing 1 kasus penderita). Sedangkan KDPD kelompok dengan diameter tumor > 5 cm mengekspresikan protein p53 dengan nilai 1+ terjadi pada 4 penderita atau sebesar 40%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi p53 yang berlebihan tidak terdapat pada kelompok ukuran diameter besar tumor tertentu.

5.2.5 Ekspresi p53 pada berbagai ukuran diameter KDPD invasif

Tabel 5.8 Ekspresi Protein p53 Pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD Invasif

Diameter Tumor (cm)	Ekspresi p53				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
≤ 2	-	2	-	-	2 (20%)
$2 < x \leq 5$	-	2	4	-	6 (60%)
> 5	-	2	-	-	2 (20%)
Total	-	6	4	-	10 (100%)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein p53 sel tumor penderita KDPD Invasif bervariasi dari 1+ sampai 2+ pada berbagai ukuran diameter jaringan tumor. Kasus KDPD Invasif dengan ekspresi protein p53 dengan nilai 2+ terdapat hanya pada kelompok ukuran tumor $2 < x \leq 5$ cm, yaitu sebanyak 4 penderita (40 %). Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein p53 dengan nilai 1+ terjadi pada semua kelompok ukuran diameter tumor, yaitu masing- masing 2 penderita atau sebesar 20%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi p53 yang berlebihan terdapat pada kelompok ukuran diameter besar tumor tertentu, yaitu pada kelompok ukuran $2 < x \leq 5$ cm

5.2.6 Ekspresi p53 pada berbagai ukuran diameter KDPD metastasis

Tabel 5.9 Ekspresi Protein p53 Pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD Metastasis

Diameter Tumor (cm)	Ekspresi p53				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
≤ 2	-	1	3	1	5 (50 %)
$2 < x \leq 5$	-	1	1	1	3 (30 %)
> 5	-	1	1	-	2 (20 %)
Total	-	3	5	2	10 (100 %)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein p53 sel tumor penderita KDPD Metastasis bervariasi dari nilai 1+ sampai 3+ pada berbagai ukuran diameter tumor. Ekspresi protein p53 pada KDPD Metastasis terdapat pada kelompok ukuran diameter ≤ 2 cm dengan nilai 1+ sebanyak 1 kasus (10 %), nilai 2+ sebanyak 3 kasus (30 %) dan nilai 3+ sebanyak 1 kasus (10 %). Kelompok ukuran diameter $2 < x \leq 5$ cm pada nilai 1+, 2+ dan 3+ masing- masing 1 kasus (10 %),

sedangkan kelompok > 5 cm pada nilai 1+ dan 2+ masing- masing 1 kasus (10 %). Kasus KDPD Metastasis dengan ekspresi protein p53 positif terdapat pada semua kelompok ukuran diameter tumor yaitu ≤ 2 cm (4 penderita atau 40%), $2 < x \leq 5$ cm (2 penderita atau 20%), dan > 5 cm yaitu sebanyak 1 penderita (10 %). Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein p53 negatif terjadi pada semua kelompok ukuran diameter tumor, yaitu masing- masing 1 penderita atau sebesar 10%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi p53 yang berlebihan terdapat pada kelompok ukuran diameter besar tumor tertentu, yaitu pada kelompok ukuran ≤ 2 cm.

5.2.7 Ekspresi pRb pada berbagai ukuran diameter KDPD insitu

Tabel 5.10 Ekspresi Protein pRb Pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD Insitu

Diameter Tumor (cm)	Ekspresi pRb				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
≤ 2	-	2	2	-	4 (40 %)
$2 < x \leq 5$	-	2	-	-	2 (20 %)
> 5	-	3	1	-	4 (40 %)
Total	-	7	3	-	10 (100 %)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein pRb sel tumor penderita KDPD Insitu bervariasi dari 1+ sampai 2+ pada berbagai ukuran diameter tumor. Ekspresi protein pRb pada KDPD Insitu terdapat pada kelompok ukuran diameter ≤ 2 cm dengan nilai 1+ sebanyak 2 kasus (20 %) dan nilai 2+ sebanyak 2 kasus (20 %). Kelompok ukuran diameter $2 < x \leq 5$ cm pada nilai 1+ sebanyak 2 kasus (20 %), sedangkan kelompok > 5 cm pada nilai 1+ dan 2+ masing-

masing 3 kasus (30 %) dan 1 kasus (10 %). Kasus KDPD Insitu dengan ekspresi protein pRb positif terdapat pada kelompok ukuran tumor kurang dari atau sama dengan 2 cm dan $2 < x \leq 5$ cm, yaitu masing-masing sebanyak 2 penderita (20 %) dan 1 penderita (10%). Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein pRb negatif terjadi pada semua kelompok ukuran diameter tumor (≤ 2 cm, $2 < x \leq 5$ cm dan > 5 cm), yaitu masing-masing 2 dan 3 penderita atau sebesar 20 %, 20% dan 30%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi pRb yang berlebihan terdapat pada kelompok ukuran besar tumor tertentu, yaitu pada ukuran diameter besar tumor ≤ 2 cm.

5.2.8 Ekspresi pRb pada berbagai ukuran diameter KDPD invasif

Tabel 5.11 Ekspresi Protein pRb Pada Berbagai Besar Tumor KDPD Invasif

Diameter Tumor (cm)	Ekspresi pRb			Jumlah (%)
	0	1	2	
≤ 2	-	1	1	2 (20 %)
$2 < x \leq 5$	-	6	-	6 (60 %)
> 5	-	1	1	2 (20 %)
Total	-	8	2	10 (100 %)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein pRb sel tumor penderita KDPD invasif bervariasi dari 1+ sampai 2+ pada berbagai ukuran diameter tumor. Ekspresi protein pRb pada KDPD Invasif terdapat pada kelompok ukuran diameter ≤ 2 cm dengan nilai 1+ sebanyak 1 kasus (10 %) dan nilai 2+ sebanyak 1 kasus (10 %). Kelompok ukuran diameter $2 < x \leq 5$ cm pada nilai 1+ sebanyak 6 kasus (60 %). sedangkan kelompok > 5 cm pada nilai 1+ dan 2+ masing-

masing 1 kasus (10 %). Kasus KDPD Invasif dengan ekspresi protein pRb positif terdapat pada kelompok ukuran diameter tumor kurang dari atau sama dengan 2 cm dan $2 < x \leq 5$ cm, yaitu masing-masing sebanyak 1 penderita (10 %). Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein pRb negatif terjadi pada semua kelompok ukuran tumor (≤ 2 cm, $2 < x \leq 5$ cm dan > 5 cm), yaitu masing-masing 1, 6 dan 1 penderita atau sebesar 10 %, 60% dan 10%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi pRb yang berlebihan tidak terdapat pada kelompok ukuran diameter besar tumor tertentu, tetapi ekspresi protein pRb negatif terbanyak didapatkan pada ukuran $2 < - \leq 5$ cm.

5.2.9 Ekspresi pRb pada berbagai ukuran diameter KDPD metastasis

Tabel 5.12 Ekspresi Protein pRb Pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD Metastasis

Diameter Tumor (cm)	Ekspresi pRb				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
≤ 2	-	2	3	-	5 (50 %)
$2 < x \leq 5$	-	2	1	-	3 (30 %)
> 5	-	1	1	-	2 (20 %)
Total	-	5	5	-	10 (100 %)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein pRb sel tumor penderita KDPD Metastasis bervariasi dari 1+ sampai 2+ pada berbagai ukuran diameter tumor. Ekspresi protein pRb pada KDPD Metastasis terdapat pada kelompok ukuran diameter ≤ 2 cm dengan nilai 1+ sebanyak 2 kasus (20 %) dan nilai 2+ sebanyak 3 kasus (30 %). Kelompok ukuran diameter $2 < x \leq 5$ cm pada nilai 1+ sebanyak 2 kasus (20 %) dan nilai 2+ sebanyak 1 kasus (10 %), sedangkan kelompok > 5

cm pada nilai 1+ dan 2+ masing- masing 1 kasus (10 %). Kasus KDPD Metastasis dengan ekspresi protein pRb positif terdapat pada kelompok ukuran tumor kurang dari atau sama dengan 2 cm, $2 < x \leq 5$ cm, dan lebih dari 5 cm, yaitu masing- masing sebanyak 3 penderita (30 %), 1 penderita (10%), dan 1 penderita (10%). Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein p53 negatif terjadi pada semua kelompok ukuran tumor (≤ 2 cm, $2 < x \leq 5$ cm dan > 5 cm), yaitu masing- masing 2, 2 dan 1 penderita atau sebesar 20 %, 20% dan 10%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi protein pRb yang berlebihan terdapat pada kelompok ukuran besar tumor tertentu, pada ukuran besar tumor ≤ 2 cm.

5.2.10 Ekspresi MIB-1 pada berbagai ukuran diameter KDPD insitu

Tabel 5.13 Ekspresi Protein MIB-1 Pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD Insitu

Diameter Tumor (cm)	Ekspresi MIB-1				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
≤ 2	-	3	1	-	4 (40 %)
$2 < x \leq 5$	-	1	1	-	2 (20 %)
> 5	-	3	1	-	4 (40 %)
Total	-	7	3	-	10 (100 %)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein MIB-1 sel tumor penderita KDPD Insitu bervariasi dari nilai 1+ sampai 2+ pada berbagai ukuran diameter tumor. Ekspresi protein MIB-1 pada KDPD Insitu terdapat pada kelompok ukuran diameter ≤ 2 cm dengan nilai 1+ sebanyak 3 kasus (30 %) dan nilai 2+ sebanyak 1 kasus (10 %). Kelompok ukuran diameter $2 < x \leq 5$ cm pada nilai 1+ sebanyak 1 kasus (10 %) dan nilai 2+ sebanyak 1 kasus (10 %), sedangkan kelompok > 5

cm pada nilai 1+ dan 2+ masing- masing 3 kasus (10 %) dan 1 kasus (10 %). Kasus KDPD Insitu dengan ekspresi protein MIB-1 positif terdapat pada semua kelompok ukuran tumor yaitu kurang dari atau sama dengan 2 cm, $2 < x \leq 5$ cm dan > 5 cm, yaitu masing- masing sebanyak 1 penderita (10%). Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein MIB-1 negatif terjadi pada semua kelompok ukuran tumor (≤ 2 cm, $2 < x \leq 5$ cm dan > 5 cm), yaitu masing- masing 3, 1 dan 3 penderita atau sebesar 30 %, 10% dan 30%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi MIB-1 yang berlebihan tidak terdapat pada kelompok ukuran besar tumor tertentu.

5.2.11 Ekspresi MIB-1 pada berbagai ukuran diameter KDPD invasif

Tabel 5.14 Ekspresi Protein MIB-1 Pada Berbagai Ukuran Diameter KDPO Invasif

Diameter Tumor (cm)	Ekspresi MIB-1				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
< 2	0	1	1	0	2 (20 %)
$2 < x \leq 5$	0	4	2	0	6 (60 %)
> 5	0	2	0	0	2 (20 %)
Total	0	7	3	0	10 (100 %)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein MIB-1 sel tumor penderita KDPD Invasif bervariasi dari nilai 1+ sampai 2+ pada berbagai ukuran diameter tumor. Ekspresi protein MIB-1 pada KDPD Invasif terdapat pada kelompok ukuran diameter ≤ 2 cm dengan nilai 1+ dan 2+ sebanyak 1 kasus (10 %). Kelompok ukuran diameter $2 < x \leq 5$ cm pada nilai 1+ sebanyak 4 kasus (40 %) dan nilai 2+ sebanyak 2 kasus (20 %) sedangkan kelompok > 5 cm pada nilai 1+ sebanyak 2 kasus (20 %). Kasus KDPD Invasif dengan ekspresi protein MIB-1 positif

terdapat pada kelompok ukuran tumor kurang dari atau sama dengan 2 cm dan $2 < x \leq 5$ cm, yaitu masing-masing sebanyak 1 penderita (10%) dan 2 penderita (20%). Sedangkan KOPD dengan ekspresi protein MIB-1 negatif terjadi pada semua kelompok ukuran tumor (≤ 2 cm, $2 < x \leq 5$ cm dan > 5 cm), yaitu masing-masing 1, 4 dan 2 penderita atau sebesar 10 %, 40% dan 20%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi MIB-1 yang berlebihan tidak terdapat pada kelompok ukuran besar tumor tertentu

5.2.12 Ekspresi MIB-1 pada berbagai diameter KOPD metastasis

Tabel 5.15 Ekspresi Protein MIB-1 Pada Berbagai Ukuran Diameter KOPD

Diameter Tumor (cm)	Metastasis				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
≤ 2	1	2	1	1	5 (50 %)
$2 < x \leq 5$	-	-	2	1	3 (30 %)
> 5	-	2	-	-	2 (20 %)
Total	-	4	3	2	10 (100 %)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein MIB-1 sel tumor penderita KOPD Metastasis bervariasi dari nilai 0 sampai 3+ pada berbagai ukuran diameter tumor. Ekspresi protein MIB-1 pada KOPD Metastasis terdapat pada kelompok ukuran diameter ≤ 2 cm dengan nilai 0, 1+, 2+ dan 3+ masing-masing sebanyak 1 (10 %), 2 (20 %), 1 (10 %) dan 1 (10 %) kasus. Kelompok ukuran diameter $2 < x \leq 5$ cm pada nilai 2+ sebanyak 2 kasus (20 %) dan nilai 3+ sebanyak 1 kasus (10 %), sedangkan kelompok > 5 cm pada nilai 1+ sebanyak 2 kasus (20 %). Kasus KOPD Metastasis dengan ekspresi protein MIB-1 positif

terdapat pada kelompok ukuran tumor kurang dari atau sama dengan 2 cm dan $2 < x \leq 5$ cm, yaitu masing-masing sebanyak 2 penderita (20%) dan 3 penderita (30%). Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein MIB-1 negatif terjadi pada kelompok ukuran tumor kurang dari atau sama dengan 2 cm dan > 5 cm, yaitu masing-masing 3 dan 2 penderita atau sebesar 30 % dan 20%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi MIB-1 yang berlebihan tidak terdapat pada kelompok ukuran besar tumor tertentu.

5.2.13 Ekspresi c-erbB2 pada berbagai diferensiasi KDPD insitu

Tabel 5.16 Ekspresi Protein c-erbB2 Pada Berbagai Diferensiasi KDPD Insitu

Diferensiasi	Ekspresi c-erbB2				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
Baik	1	-	-	-	1 (10 %)
Sedang	-	-	-	-	-
Buruk	5	-	-	4	9 (90 %)
Total	6	-	-	4	10 (100 %)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 sel tumor penderita KDPD Insitu bervariasi dari nilai 0 sampai 3+ pada berbagai diferensiasi. Ekspresi protein c-erbB2 pada KDPD Insitu terdapat pada kelompok diferensiasi baik dengan nilai 0 sebanyak 1 penderita atau 10 % kasus. Kelompok KDPD dengan diferensiasi buruk terdapat 5 kasus dengan nilai 0 (50 %) dan nilai 3+ sebanyak 4 kasus (40 %). Kasus KDPD Insitu dengan ekspresi protein c-erbB2 positif terdapat pada kelompok tumor dengan diferensiasi buruk, yaitu sebanyak 4 penderita (40%). Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein c-erbB2

negatif terjadi pada kelompok tumor dengan diferensiasi baik dan buruk. yaitu masing- masing 1 dan 5 penderita atau sebesar 10 % dan 50%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi c-erbB2 yang berlebihan terdapat pada kelompok tumor tertentu, yaitu pada kelompok dengan diferensiasi buruk.

5.2.14 Ekspresi c-erbB2 pada berbagai diferensiasi KDPD invasif

Tabel 5.17 Ekspresi Protein c-erbB2 Pada Berbagai Diferensiasi KDPD Invasif

Diferensiasi	Ekspresi c-erbB2				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
Baik					
Sedang	1		1	4	6 (60%)
Buruk	3		1		4 (40%)
Total	4		2	4	10 (100%)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 sel tumor penderita KDPD Invasif bervariasi dari nilai 0 sampai 3+ pada berbagai diferensiasi tumor. Ekspresi protein c-erbB2 pada KDPD Invasif terdapat pada kelompok diferensiasi sedang dengan nilai 0 sebanyak 1 penderita atau 10% kasus, nilai 2+ (1 penderita atau 10%) dan nilai 3+ sebanyak 4 kasus (40%). Kelompok KDPD dengan diferensiasi buruk terdapat 4 kasus dengan nilai 0 (40%) dan nilai 2+ sebanyak 1 kasus (10%). Kasus KDPD Invasif dengan ekspresi protein c-erbB2 positif terdapat pada kelompok tumor dengan diferensiasi sedang dan buruk yaitu masing- masing sebanyak 5 penderita (50%) dan 1 penderita (10%). Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein c-erbB2 negatif terjadi pada kelompok tumor yang sama yaitu masing- masing 1

dan 3 penderita atau sebesar 10 % dan 30%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi protein c-erbB2 yang berlebihan terdapat pada kelompok tumor tertentu, yaitu pada diferensiasi sedang.

5.2.15 Ekspresi c-erbB2 pada berbagai diferensiasi KDPD metastasis

Tabel 5.18 Ekspresi Protein c-erbB2 Pada Berbagai Diferensiasi KDPD Metastasis

Diferensiasi	Ekspresi c-erbB2				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
Baik					
Sedang		1			1 (10 %)
Buruk	2	1	2	4	9 (90 %)
Total	3	2	1	4	10 (100 %)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 sel tumor penderita KDPD Metastasis bervariasi dari nilai 0 sampai 3+ pada berbagai diferensiasi tumor. Ekspresi protein c-erbB2 pada KDPD Metastasis terdapat pada kelompok diferensiasi sedang dengan nilai 1+ sebanyak 1 penderita atau 10 % kasus. Kelompok KDPD dengan diferensiasi buruk terdapat 2 kasus dengan nilai 0 (20 %), nilai 1+ sebanyak 1 penderita (10 %) kasus dan nilai 2+ sebanyak 2 kasus (20 %) dan nilai 3+ sebanyak 4 kasus (40 %). Kasus KDPD Metastasis dengan ekspresi protein c-erbB2 positif terdapat pada kelompok tumor dengan diferensiasi buruk, yaitu sebanyak 6 penderita (60%) Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein c-erbB2 negatif terjadi pada kelompok tumor dengan diferensiasi sedang dan buruk yaitu masing-masing 1 dan 3 penderita atau sebesar 10 % dan 30%.

Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi c-erbB2 yang berlebihan terdapat pada kelompok tumor tertentu, yaitu diferensiasi sel buruk

5.2.16 Ekspresi p53 pada berbagai diferensiasi KDPD insitu

Tabel 5.19 Ekspresi Protein p53 Pada Berbagai Diferensiasi KDPD Insitu

Diferensiasi	Ekspresi p53				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
Baik	-	1	-	-	1 (10%)
Sedang	-	-	-	-	-
Buruk	-	6	3	-	9 (90%)
Total	-	7	3	-	10 (100%)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein p53 sel tumor penderita KDPD Insitu bervariasi dari nilai 1+ sampai 2+ pada berbagai diferensiasi sel tumor. Ekspresi protein c-erbB2 pada KDPD Insitu terdapat pada kelompok diferensiasi baik dengan nilai 1+ sebanyak 1 penderita atau 10% kasus. Kelompok KDPD dengan diferensiasi buruk terdapat 6 kasus (60%) dengan nilai 1+ dan nilai 2+ sebanyak 3 kasus (30%). Kasus KDPD Insitu dengan ekspresi protein p53 positif terdapat pada kelompok tumor dengan diferensiasi sel buruk, yaitu sebanyak 3 penderita (30%). Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein p53 negatif terjadi pada kelompok tumor dengan diferensiasi sel baik dan buruk, yaitu masing-masing 1 dan 6 penderita atau sebesar 10% dan 60%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi protein p53 yang berlebihan terdapat pada kelompok tumor tertentu, yaitu diferensiasi sel buruk.

5.2.17 Ekspresi p53 pada berbagai diferensiasi KDPD invasif

Tabel 5.20 Ekspresi Protein p53 Pada Berbagai Diferensiasi KDPD Invasif

Diferensiasi	Ekspresi p53				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
Baik	-	-	-	-	
Sedang	-	4	2	-	6 (60%)
Buruk	-	2	2	-	4 (40%)
Total	-	6	4	-	10 (100%)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein p53 sel tumor penderita KDPD Invasif bervariasi dari nilai 1+ sampai 2+ pada berbagai diferensiasi tumor. Ekspresi protein c-erbB2 pada KDPD Invasif terdapat pada kelompok diferensiasi sedang dengan nilai 1+ sebanyak 4 penderita atau 40 % kasus dan nilai 2+ sebanyak 2 kasus (20 %). Kelompok KDPD dengan diferensiasi buruk terdapat 2 kasus dengan nilai 1+ (20 %) dan nilai 2+ sebanyak 2 kasus (20 %). Kasus KDPD Invasif dengan ekspresi protein p53 positif terdapat pada kelompok tumor dengan diferensiasi sedang dan buruk, yaitu masing-masing sebanyak 2 penderita (20%) dan 2 penderita (20%). Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein p53 negatif terjadi pada kelompok tumor yang sama, yaitu masing-masing 4 dan 2 penderita atau sebesar 40 % dan 20 %. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi protein p53 yang berlebihan tidak terdapat pada kelompok tumor tertentu.

5.2.18 Ekspresi p53 pada berbagai diferensiasi KDPD metastasis

Tabel 5.21 Ekspresi Protein p53 Pada Berbagai Diferensiasi KDPD Metastasis

Diferensiasi	Ekspresi p53				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
Baik	-	-	-	-	-
Sedang	-	-	1	-	1 (10 %)
Buruk	-	3	4	2	9 (90 %)
Total	-	3	5	2	10 (100 %)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein p53 sel tumor penderita KDPD Metastasis bervariasi dari nilai 1+ sampai 3+ pada berbagai diferensiasi tumor. Ekspresi protein c-erbB2 pada KDPD Metastasis terdapat pada kelompok diferensiasi sedang dengan nilai 2+ sebanyak 1 penderita atau 10 % kasus. Kelompok KDPD dengan diferensiasi buruk terdapat 3 kasus dengan nilai 1+ (30 %) dan nilai 2+ sebanyak 4 kasus (40 %) dan nilai 3+ sebanyak 2 kasus (20 %). Kasus KDPD Metastasis dengan ekspresi protein p53 positif terdapat pada kelompok tumor dengan diferensiasi sedang dan buruk, yaitu masing-masing sebanyak 1 penderita (10%) dan 6 penderita (60%). Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein p53 negatif terjadi pada kelompok tumor dengan diferensiasi buruk, yaitu 3 penderita atau sebesar 30 %. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi p53 yang berlebihan terdapat pada kelompok tumor tertentu, yaitu diferensiasi buruk.

5.2.19 Ekspresi pRb pada berbagai diferensiasi KDPD insitu

Tabel 5.22 Ekspresi Protein pRb Pada Berbagai Diferensiasi KDPD Insitu

Diferensiasi	Ekspresi pRb			Jumlah (%)
	0	1	2	
Baik	0	1	0	1 (10%)
Sedang	0	0	0	0
Buruk	0	6	3	9 (90%)
Total	0	7	3	10 (100%)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein pRb sel tumor penderita KDPD Insitu bervariasi dari nilai 1+ sampai 2+ pada berbagai diferensiasi tumor. Ekspresi protein pRb pada KDPD Insitu terdapat pada kelompok diferensiasi baik dengan nilai 1+ sebanyak 1 penderita atau 10% kasus. Kelompok KDPD dengan diferensiasi buruk terdapat 6 kasus (60%) dengan nilai 1+ dan nilai 2+ sebanyak 3 kasus (30%). Kasus KDPD Insitu dengan ekspresi protein pRb positif terdapat pada kelompok tumor dengan diferensiasi buruk yaitu sebanyak 3 penderita (30%). Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein pRb negatif terjadi pada kelompok tumor dengan diferensiasi baik dan buruk yaitu masing-masing 1 dan 6 penderita atau sebesar 10% dan 60%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi pRb yang berlebihan terdapat pada kelompok tumor tertentu, yaitu diferensiasi sel buruk.

5.2.20 Ekspresi pRb pada berbagai diferensiasi KDPD invasif

Tabel 5.23 Ekspresi Protein pRb Pada Berbagai Diferensiasi KDPD Invasif

Diferensiasi	Ekspresi pRb				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
Baik	-	-	-	-	-
Sedang	-	5	1	-	6 (60%)
Buruk	-	3	1	-	4 (40%)
Total	-	6	2	-	10 (100%)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein pRb sel tumor penderita KDPD Invasif bervariasi dari nilai 1+ sampai 2+ pada berbagai diferensiasi tumor. Ekspresi protein pRb pada KDPD Invasif terdapat pada kelompok diferensiasi sedang dengan nilai 1+ sebanyak 5 penderita atau 50 % kasus dan nilai 2+ sebanyak 1 kasus (10 %). Kelompok KDPD dengan diferensiasi buruk terdapat 3 kasus dengan nilai 1+ (30 %) dan nilai 2+ sebanyak 1 kasus (10 %). Kasus KDPD Invasif dengan ekspresi protein pRb positif terdapat pada kelompok tumor dengan diferensiasi sedang dan buruk, yaitu masing-masing sebanyak 1 penderita (10%) dan 1 penderita (10%). Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein pRb negatif terjadi pada kelompok tumor dengan diferensiasi sedang dan buruk, yaitu masing-masing 5 dan 3 penderita atau sebesar 50 % dan 30%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi pRb yang berlebihan tidak terdapat pada kelompok diferensiasi sel tumor tertentu.

5.2.21 Ekspresi pRb pada berbagai diferensiasi KDPD metastasis

Tabel 5.24 Ekspresi Protein pRb Pada Berbagai Diferensiasi KDPD Metastasis

Diferensiasi	Ekspresi pRb				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
Baik	-	-	-	-	
Sedang	-	1	-	-	1 (10 %)
Buruk	-	4	5	-	9 (90 %)
Total	-	5	5	-	10 (100 %)

Dan 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein pRb sel tumor penderita KDPD Metastasis bervariasi dari nilai 1+ sampai 2+ pada berbagai diferensiasi tumor. Ekspresi protein pRb pada KDPD Metastasis terdapat pada kelompok diferensiasi sedang dengan nilai 1+ sebanyak sebanyak 1 kasus (10 %). Kelompok KDPD dengan diferensiasi buruk terdapat 4 kasus dengan nilai 1+ (40 %) dan nilai 2+ sebanyak 5 kasus (15 %). Kasus KDPD Metastasis dengan ekspresi protein pRb positif terdapat pada kelompok tumor dengan diferensiasi buruk, yaitu sebanyak 5 penderita (50%). Sedangkan KDPD dengan ekspresi protein pRb negatif terjadi pada kelompok tumor dengan diferensiasi sedang dan buruk, yaitu masing-masing 1 dan 4 penderita atau sebesar 10 % dan 40%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi protein pRb yang berlebihan terdapat pada kelompok tumor tertentu, yaitu diferensiasi sel buruk.

5.2.22 Ekspresi MIB-1 pada berbagai diferensiasi KDPD insitu

Tabel 5.25 Ekspresi Protein MIB-1 Pada Berbagai Diferensiasi KDPD Insitu

Diferensiasi	Ekspresi MIB-1				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
Baik	-	1	-	-	1 (10%)
Sedang	-	-	-	-	-
Buruk	-	6	3	-	9 (90%)
Total	-	7	3	-	10 (100%)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein MIB-1 sel tumor penderita KDPD Insitu bervariasi dari nilai 1+ sampai 2+ pada berbagai diferensiasi tumor. Ekspresi protein MIB-1 pada KDPD Insitu terdapat pada kelompok diferensiasi baik dengan nilai 1+ sebanyak 1 penderita atau 10% kasus. Kelompok KDPD dengan diferensiasi buruk terdapat 6 kasus (60%) dengan nilai 1+ dan nilai 2+ sebanyak 3 kasus (30%). Kasus KDPD Insitu dengan ekspresi protein MIB-1 positif terdapat pada kelompok tumor dengan diferensiasi buruk, yaitu sebanyak 3 penderita (30%). Sedangkan KDPD Insitu dengan ekspresi protein MIB-1 negatif terjadi pada kelompok tumor dengan diferensiasi baik dan buruk, yaitu masing-masing 1 dan 6 penderita atau sebesar 10% dan 60%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi protein MIB-1 yang berlebihan terdapat pada kelompok tumor tertentu, yaitu diferensiasi sel buruk.

5.2.23 Ekspresi MIB-1 pada berbagai diferensiasi KDPD invasif

Tabel 5.26 Ekspresi Protein MIB-1 Pada Berbagai Diferensiasi KDPD Invasif

Diferensiasi	Ekspresi MIB-1			Jumlah (%)
	0	1	2	
Baik	-	-	-	-
Sedang	-	4	2	6 (60%)
Buruk	-	3	1	4 (40%)
Total	-	7	3	10 (100%)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein MIB-1 sel tumor penderita KDPD Invasif bervariasi dari nilai 1+ sampai 2+ pada berbagai diferensiasi tumor. Ekspresi protein MIB-1 pada KDPD Invasif terdapat pada kelompok diferensiasi sedang dengan nilai 1+ sebanyak 4 penderita atau 40% kasus dan nilai 2+ sebanyak 2 kasus (20%). Kelompok KDPD dengan diferensiasi buruk terdapat 3 kasus dengan nilai 1+ (30%) dan nilai 2+ sebanyak 1 kasus (10%). Kasus KDPD Invasif dengan ekspresi protein MIB-1 positif terdapat pada kelompok tumor dengan diferensiasi sedang dan buruk, yaitu masing-masing sebanyak 2 penderita (20%) dan 1 penderita (10%). Sedangkan KDPD Invasif dengan ekspresi protein MIB-1 negatif terjadi pada kelompok tumor dengan diferensiasi sel sedang dan buruk, yaitu masing-masing 4 dan 3 penderita atau sebesar 40% dan 30%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi MIB-1 yang berlebihan tidak terdapat pada kelompok tumor tertentu.

5.2.24 Ekspresi MIB-1 pada berbagai diferensiasi KDPD metastasis

Tabel 5.27 Ekspresi Protein MIB-1 Pada Berbagai Diferensiasi KDPD Metastasis

Diferensiasi	Ekspresi MIB-1				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
Baik	-	-	-	-	-
Sedang	-	1	-	-	1 (10%)
Buruk	-	4	3	2	9 (90%)
Total	-	5	3	2	10 (100%)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein MIB-1 sel tumor penderita KDPD Metastasis bervariasi dari nilai 1+ sampai 3+ pada berbagai diferensiasi tumor. Ekspresi protein MIB-1 pada KDPD Metastasis terdapat pada kelompok diferensiasi sedang dengan nilai 1+ sebanyak 1 penderita atau 10% kasus. Kelompok KDPD dengan diferensiasi buruk terdapat 4 kasus dengan nilai 1+ (40%) dan nilai 2+ sebanyak 3 kasus (30%) dan nilai 3+ sebanyak 2 kasus (20%). Kasus KDPD Metastasis dengan ekspresi protein MIB-1 positif terdapat pada kelompok tumor dengan diferensiasi sel buruk, yaitu 5 penderita (50%). Sedangkan KDPD Metastasis dengan ekspresi protein MIB-1 negatif terjadi pada kelompok tumor dengan diferensiasi sel sedang dan buruk, yaitu masing-masing 1 dan 4 penderita atau sebesar 10% dan 40%. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi MIB-1 yang berlebihan terdapat pada kelompok tumor tertentu, yaitu diferensiasi sel buruk.

5.2.25 Ekspresi c-erbB2 pada berbagai *grading* KDPD invasif

Tabel 5.28 Ekspresi c-erbB2 Pada Berbagai *Grading* Histopatologis KDPD Invasif

Grading Histopatologis	0	Ekspresi c-erbB2			Jumlah (%)
		1	2	3	
Grade I	-	-	-	1	1 (10%)
Grade II	1	-	-	3	4 (40%)
Grade III	4	-	1	-	5 (50%)
Total	5	-	1	4	10 (100%)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 sel tumor penderita KDPD Invasif bervariasi dari nilai 0 sampai 3+ pada berbagai *grade* tumor. Ekspresi protein c-erbB2 pada KDPD Invasif terdapat pada *grade* I dengan nilai 3+ sebanyak 1 kasus (10%), *grade* II dengan nilai 0 sebanyak 1 penderita (10%) kasus dan nilai 3+ sebanyak 3 kasus (30%). Kelompok KDPD *grade* III terdapat 4 kasus dengan nilai 0 (40%) dan nilai 2+ sebanyak 1 kasus (10%) Kasus KDPD Invasif dengan ekspresi protein c-erbB2 positif terdapat pada kelompok tumor *grade* I, II dan III masing-masing 1 (10%), 3 (30%) dan 1 (10%) kasus. Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi c-erbB2 yang berlebihan terdapat pada kelompok tumor tertentu, yaitu *grade* II.

5.2.26 Ekspresi c-erbB2 pada berbagai *grading* KDPD metastasis

Tabel 5.29 Ekspresi c-erbB2 Pada Berbagai *Grading* Histopatologis KDPD

Grading Histopatologis	0	Ekspresi c-erbB2			Jumlah (%)
		1	2	3	
Grade I	-	-	-	-	-
Grade II	-	1	-	-	1 (10%)
Grade III	3	1	1	-	9 (90%)
Total	3	2	1	4	10 (100%)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 sel tumor penderita KDPD bervariasi dari nilai 0 sampai 3+ pada berbagai *grade* tumor. Ekspresi protein c-erbB2 pada KDPD Metastasis terdapat pada *grade* II dengan nilai 1+ sebanyak 1 penderita atau 10 % kasus. Kelompok KDPD dengan *grade* III terdapat 3 kasus dengan nilai 0 (30 %), nilai 1+ sebanyak 1 penderita (10 %) kasus dan nilai 2+ sebanyak 1 kasus (10 %) dan nilai 3+ sebanyak 4 kasus (40 %). Kasus KDPD Metastasis dengan ekspresi protein c-erbB2 positif terdapat pada kelompok tumor *grade* III, yaitu 5 penderita (50%). Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi c-erbB2 yang berlebihan terdapat pada kelompok tumor tertentu, yaitu KDPD *grade* III.

5.2.27 Ekspresi protein p53 pada berbagai *grading* KDPD invasif

Tabel 5.10 Ekspresi p53 Pada Berbagai *Grading* Histopatologis KDPD Invasif

Grading Histopatologis	Ekspresi p53				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
Grade I	-	1	-	-	1 (10 %)
Grade II	-	2	2	-	4 (40 %)
Grade III	-	3	2	-	5 (50 %)
Total	-	6	4	4	10 (100 %)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein p53 sel tumor penderita KDPD bervariasi dari nilai 1+ sampai 2+ pada berbagai *grade* tumor. Ekspresi protein p53 pada KDPD Invasif terdapat pada kelompok *grade* I dengan nilai 1+ sebanyak 1 kasus (10 %), *grade* II dengan nilai 1+ dan nilai 2+ sebanyak masing-masing 2 kasus (20 %). Kelompok KDPD *grade* III terdapat 3 kasus dengan nilai 1+ (30 %)

dan nilai 2+ sebanyak 2 kasus (20 %). Kasus KDPD Invasif dengan ekspresi protein p53 positif terdapat pada kelompok tumor *grade* II, yaitu 2 penderita (20%) dan *grade* III sebanyak 2 penderita (20 %). Didapatkan kesan bahwa tidak terjadi ekspresi protein p53 yang berlebihan terdapat pada kelompok tumor tertentu.

5.2.28 Ekspresi protein p53 pada berbagai *grading* KDPD metastasis

Tabel 5.31 Ekspresi p53 Pada Berbagai *Grading* Histopatologis KDPD Metastasis

Grading Histopatologis	Ekspresi p53				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
<i>Grade I</i>	-	-	-	-	-
<i>Grade II</i>	-	-	1	-	1 (10 %)
<i>Grade III</i>	-	3	4	2	9 (90 %)
Total	-	3	5	2	10 (100 %)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 sel tumor penderita KDPD bervariasi dari nilai 1+ sampai 3+ pada berbagai *grading* histopatologis tumor. Ekspresi protein p53 pada KDPD Metastasis terdapat pada kelompok *grade* II dengan nilai 2+ sebanyak 1 penderita atau 10 % kasus. Kelompok KDPD dengan *grade* III terdapat 3 kasus dengan nilai 1+ (30 %) dan nilai 2+ sebanyak 4 kasus (40 %) dan nilai 3+ sebanyak 2 kasus (20 %). Kasus KDPD Metastasis dengan ekspresi protein p53 positif terdapat pada kelompok tumor *grade* II, yaitu 1 penderita (10%) dan *grade* III sebanyak 6 penderita (60 %). Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi protein p53 yang berlebihan terdapat pada kelompok tumor *grade* III

5.2.29 Ekspresi pRb pada berbagai *grading* KDPD invasif

Tabel 5.32 Ekspresi pRb Pada Berbagai *Grading* Histopatologis KDPD Invasif

Grading Histopatologis	Ekspresi pRb				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
Grade I	-	-	1	-	1 (10)
Grade II	-	4	-	-	4 (40)
Grade III	-	4	1	-	5 (50)
Total	-	8	2	-	10 (100)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 sel tumor penderita KDPD bervariasi dari nilai 1+ sampai 2+ pada berbagai *grade* tumor. Ekspresi protein pRb pada KDPD Invasif terdapat pada kelompok *grade* I dengan nilai 2+ sebanyak 1 kasus (10%), *grade* II dengan nilai 1+ sebanyak 4 kasus (40%). Kelompok KDPD dengan *grade* III terdapat 4 kasus dengan nilai 1+ (40%) dan nilai 2+ sebanyak 1 kasus (10%). Kasus KDPD Invasif dengan ekspresi protein pRb positif terdapat pada kelompok tumor *grade* I dan III yaitu masing-masing 1 penderita (10%). Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi protein pRb yang berlebihan tidak terdapat pada kelompok *grade* tumor tertentu.

5.2.30 Ekspresi protein pRb pada berbagai *grading* KDPD metastasis

Tabel 5.33 Ekspresi pRb Pada Berbagai *Grading* Histopatologis KDPD Metastasis

Grading Histopatologis	Ekspresi pRB				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
Grade I	-	-	-	-	-
Grade II	-	1	-	-	1 (10%)
Grade III	-	4	5	-	9 (90%)
Total	-	5	5	-	10 (100%)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 sel tumor penderita KDPD bervariasi dari nilai 1+ sampai 2+ pada berbagai grading histopatologis tumor. Ekspresi protein pRb pada KDPD Metastasis terdapat pada kelompok *grade II* dengan nilai 1+ sebanyak 1 kasus (10 %). Kelompok KDPD *grade III* terdapat 4 kasus dengan nilai 1+ (40 %) dan nilai 2+ sebanyak 5 kasus (50 %). Kasus KDPD Metastasis dengan ekspresi protein p53 positif terdapat pada kelompok tumor dengan *grade III*, yaitu 5 penderita (50%). Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi protein pRb yang berlebihan terdapat pada kelompok KDPD Metastasis tertentu, yaitu tumor *grade III*.

5.2.31 Ekspresi protein MIB-1 pada berbagai *grading* KDPD invasif

Tabel 5.34 Ekspresi MIB-1 Pada Berbagai Grading Histopatologis KDPD Invasif

Grading Histopatologis	Ekspresi MIB-1				Jumlah (%)
	0	1	2	3	
<i>Grade I</i>	-	-	1	-	1 (10 %)
<i>Grade II</i>	-	3	1	-	4 (40 %)
<i>Grade III</i>	-	4	1	-	5 (50 %)
Total	-	7	3	-	10 (100 %)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein MIB-1 sel tumor penderita KDPD bervariasi dari nilai 1+ sampai 2+ pada berbagai *grade* tumor. Ekspresi protein MIB-1 pada KDPD Invasif terdapat pada kelompok *grade I* dengan nilai 2+ sebanyak 1 kasus (10 %), *grade II* dengan nilai 1+ dan nilai 2+ sebanyak masing-masing 3 kasus (30 %) dan 1 kasus (10 %). Kelompok KDPD *grade III* terdapat 4 kasus (40 %) dengan nilai 1+ dan nilai 2+ sebanyak 1 kasus (10 %).

Kasus KDPD Invasif dengan ekspresi protein MIB-1 positif terdapat pada kelompok tumor *grade I, II* dan *III*, yaitu masing- masing 1 penderita (10%) Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi MIB-1 yang berlebihan tidak terdapat pada kelompok tumor KDPD Invasif tertentu.

5.2.32 Ekspresi MIB-1 pada berbagai *grading* KDPD Metastasis

Tabel 5.35 Ekspresi MIB 1 Pada Berbagai *Grading* Histopatologis KDPD Metastasis

Grading Histopatologis	Ekspresi MIB-1			Jumlah (%)	
	0	1	2		3
<i>Grade I</i>	-	-	-	-	
<i>Grade II</i>	-	1	-	1 (10 %)	
<i>Grade III</i>	-	5	2	2	9 (90 %)
Total	-	6	2	2	10 (100 %)

Dari 10 sampel yang diteliti, didapatkan bahwa ekspresi protein MIB-1 sel tumor penderita KDPD bervariasi, dari nilai 1+ sampai 3+ pada berbagai *grading* histopatologis tumor. Ekspresi protein MIB-1 pada KDPD Metastasis terdapat pada kelompok *grade II* dengan nilai 1+ sebanyak 1 penderita (10 %) kasus. Kelompok KDPD dengan *grade III* terdapat 5 kasus (50 %) dengan nilai 1+ dan nilai 2+ dan 3+ masing-masing sebanyak 2 kasus (20 %) Kasus KDPD Metastasis dengan ekspresi protein MIB 1 positif terdapat pada kelompok tumor *grade III*, yaitu 5 penderita (50%). Didapatkan kesan bahwa terjadi ekspresi MIB-1 yang berlebihan pada kelompok tumor KDPD Metastasis *grade III*

5.3 Analisis Data Penelitian

5.3.1 Uji normalitas data penelitian

Dengan menggunakan *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test*, diperoleh informasi bahwa data penelitian ekspresi protein c-erbB2 ($p=0,81 > \alpha=0,05$), data ekspresi protein p53 ($p=797 > \alpha=0,05$), data ekspresi protein pRb ($p=0,428 > \alpha=0,05$) dan ekspresi protein MIB-1 ($p=0,81 > \alpha=0,05$), yang menunjukkan bahwa semua data penelitian berada dalam sebaran distribusi normal.

5.3.2 Analisis ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai ukuran diameter KDPD

5.3.2.1 Uji homogenitas data

Sebagai syarat analisis statistik selanjutnya maka data harus dilakukan uji homogenitas untuk setiap variabel penelitian yang akan diuji. Dengan menggunakan *Box's Test of Equality of Covariance Matrices* terhadap data ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai ukuran diameter KDPD, menunjukkan bahwa $Box's M= 40,297$ dengan $\sigma= 0,055 > \alpha=0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa matriks varians-kovarians pada seluruh variabel ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 adalah sama untuk setiap kelompok diameter tumor, yang berarti bahwa semua data penelitian adalah homogen.

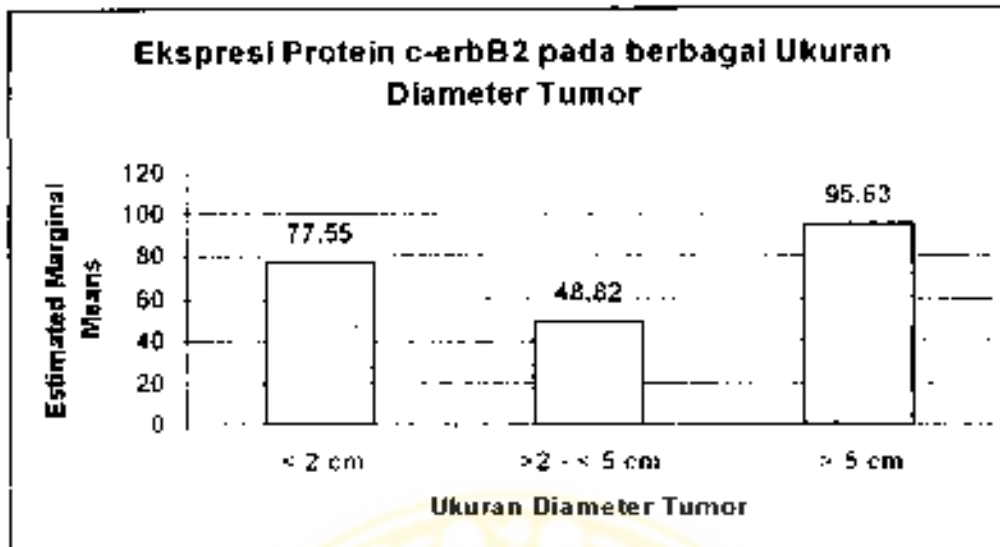
5.3.2.2 Analisis variabel data

Tabel di bawah ini menunjukkan perbedaan rerata (*mean*) ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada kelompok tumor KDPD dengan berbagai ukuran diameter, yaitu ≤ 2 cm, $>2 - \leq 5$ cm, dan > 5 cm.

Tabel 5.36 Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD

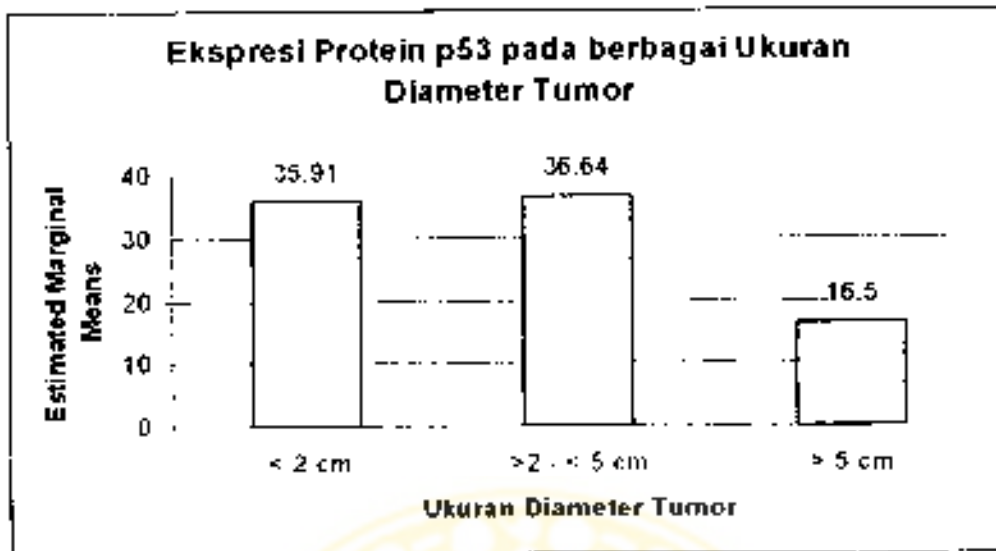
Ekspresi Protein	Ukuran Diameter Tumor		
	≤ 2 cm	$>2 - \leq 5$ cm	> 5 cm
	Mean	Mean	Mean
c-erbB2	77,55	48,82	95,63
p53	35,91	36,64	16,50
pRb	31,09	18,64	26,25
MIB-1	28,73	37,36	8,38

Dari table 5.36 menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai kelompok ukuran diameter KDPD secara bersama adalah berbeda, dengan dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Wilks' Lambda ($p=0,000 < \alpha=0,05$).



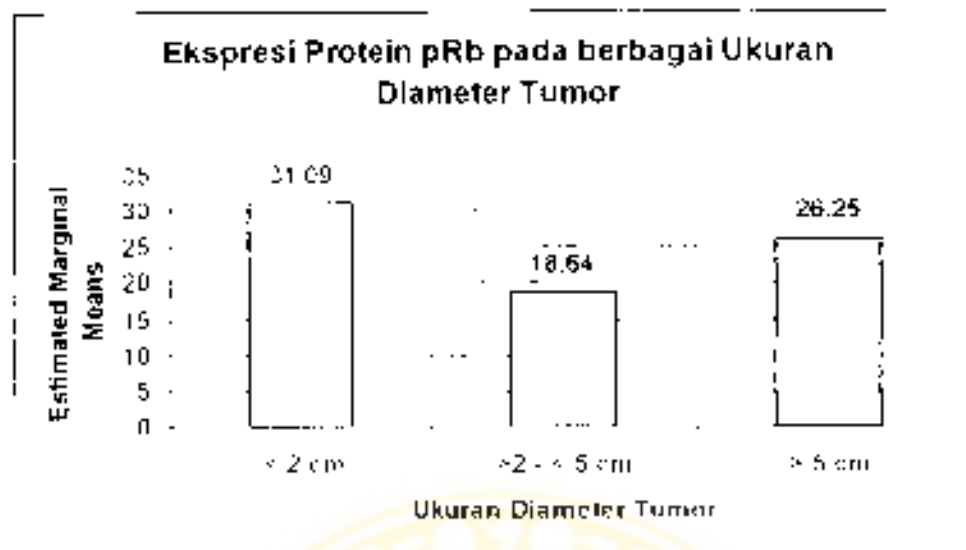
Gambar 5.1 Ekspresi Protein c-erbB2 pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD

Dari tabel 5.36 dan gambar 5.1 menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 pada berbagai kelompok ukuran diameter KDPD (≤ 2 cm, $>2 - \leq 5$ cm, dan > 5 cm) secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Hotelling's Trace ($p=0,000 < \alpha=0,05$). Tabel dan gambar di atas menunjukkan perbedaan rerata (*mean*) ekspresi protein c-erbB2 pada kelompok tumor KDPD pada berbagai ukuran diameter, yaitu ≤ 2 cm (77,55), $>2 - \leq 5$ cm (48,82), dan > 5 cm (95,63).



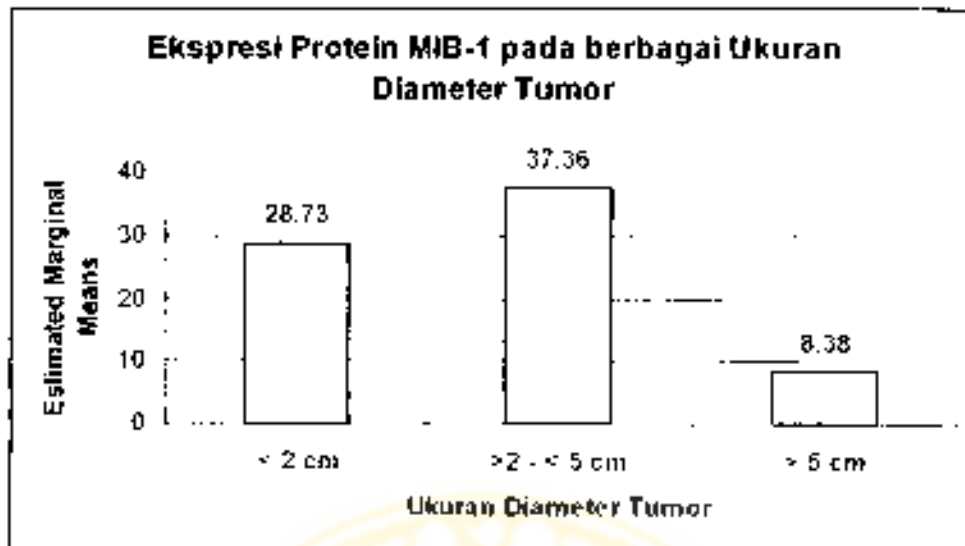
Gambar 5.2 Ekspresi Protein p53 pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD

Dari tabel 5.36 dan gambar 5.2 menunjukkan bahwa ekspresi protein p53 pada berbagai kelompok ukuran diameter KDPD (≤ 2 cm, $>2 - \leq 5$ cm, dan > 5 cm) secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Hotelling's Trace, dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$. Tabel dan gambar di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein p53 pada kelompok tumor KDPD pada berbagai ukuran diameter, yaitu ≤ 2 cm (35,91), $>2 - \leq 5$ cm (36,64), dan > 5 cm (16,50).



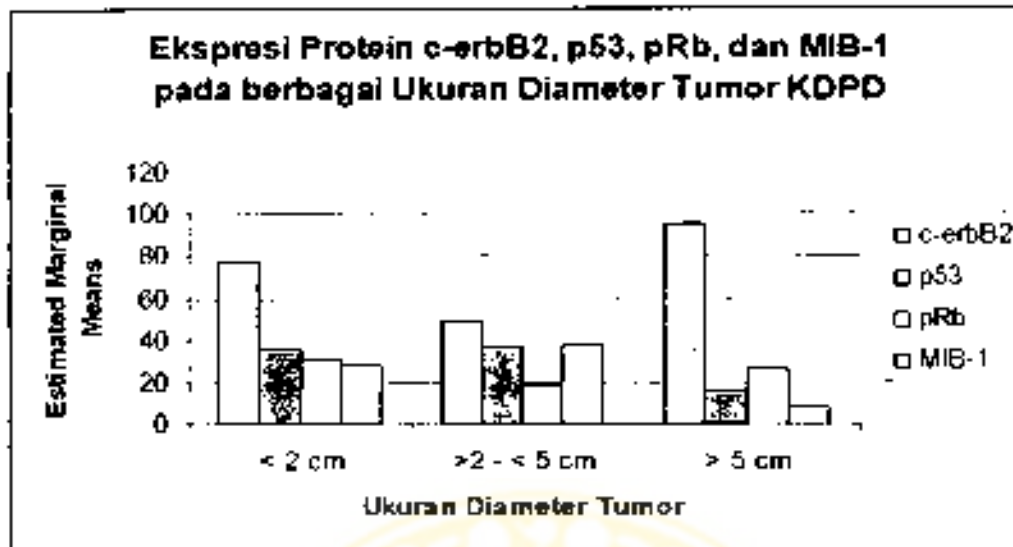
Gambar 5.3 Ekspresi Protein pRb pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD

Dari tabel 5.36 dan gambar 5.3 menunjukkan bahwa ekspresi protein pRb pada berbagai kelompok ukuran diameter KDPD (≤ 2 cm, $>2 - \leq 5$ cm, dan > 5 cm) secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Hotelling's Trace, dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$. Tabel dan gambar di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein pRb pada kelompok tumor KDPD pada berbagai ukuran diameter, yaitu < 2 cm (31,09), $>2 - < 5$ cm (18,64), dan > 5 cm (26,25).



Gambar 5.4 Eksresi Protein MIB-1 pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD

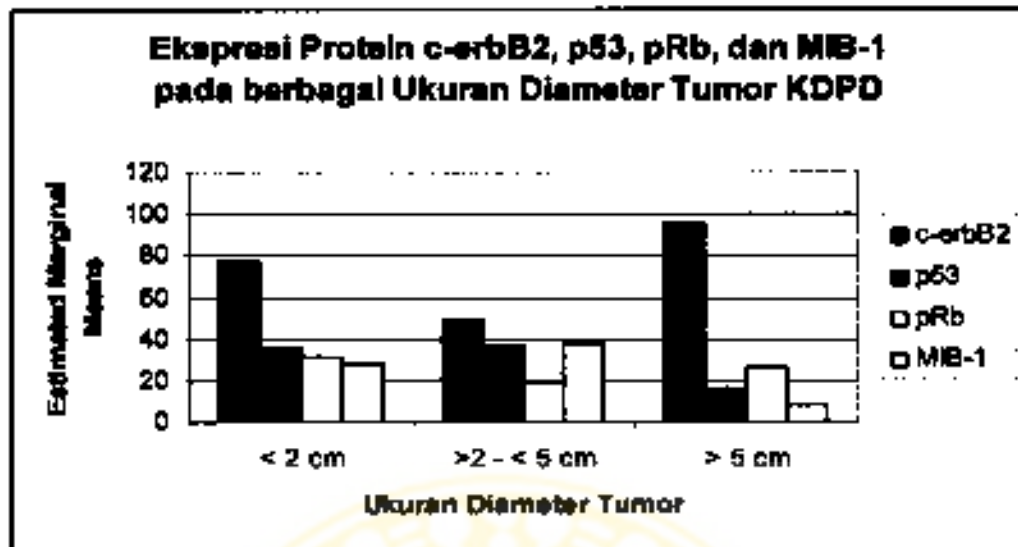
Dari tabel 5.36 dan gambar 5.4 menunjukkan bahwa ekspresi protein MIB-1 pada berbagai kelompok ukuran diameter KDPD (≤ 2 cm, $>2 - \leq 5$ cm, dan > 5 cm) secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Hotelling's Trace, dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$. Tabel dan gambar di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein MIB-1 pada kelompok tumor KDPD pada berbagai ukuran diameter, yaitu ≤ 2 cm (28,73), $>2 - \leq 5$ cm (37,36), dan > 5 cm (8,38)



Gambar 5.5 Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD

Dari tabel 5.36 dan gambar 5.5 menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai kelompok ukuran diameter tumor KDPD (≤ 2 cm, $>2 - \leq 5$ cm, dan > 5 cm) secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Wilks' Lambda (dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$).

Tabel 5.36 dan gambar 5.4 di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada kelompok tumor KDPD pada berbagai ukuran diameter, yaitu ≤ 2 cm, $>2 - \leq 5$ cm, dan > 5 cm.



Gambar 5.5 Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada Berbagai Ukuran Diameter KDPD

Dari tabel 5.36 dan gambar 5.5 menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai kelompok ukuran diameter tumor KDPD (≤ 2 cm, $>2 - \leq 5$ cm, dan > 5 cm) secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Wilks' Lambda (dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$).

Tabel 5.36 dan gambar 5.4 di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada kelompok tumor KDPD pada berbagai ukuran diameter, yaitu ≤ 2 cm, $>2 - \leq 5$ cm, dan > 5 cm.

5.3.3 Analisis ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai diferensiasi KDPD

5.3.3.1 Uji homogenitas data

Sebagai syarat analisis statistik selanjutnya maka data harus dilakukan uji homogenitas untuk setiap variabel penelitian yang akan diuji. Dengan menggunakan *Box's Test of Equality of Covariance Matrices* terhadap data ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai diferensiasi sel KDPD, menunjukkan bahwa *Box's M* = 13,998 dengan $\sigma = 0,426 > \alpha = 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa matriks varians-kovarians pada seluruh variabel ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 adalah sama untuk setiap kelompok diferensiasi sel tumor, yang berarti bahwa semua data penelitian adalah homogen. Walaupun terdapat satu variabel yaitu ekspresi protein c-erbB2 yang mempunyai nilai $p > \alpha = 0,05$ namun secara keseluruhan *Box's M* = 13,998 dengan $\sigma = 0,426 > \alpha = 0,05$, maka berarti bahwa matriks varians-kovarians pada seluruh variabel ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 secara individu adalah sama (homogen) untuk setiap kelompok diferensiasi tumor, yang berarti semua data penelitian adalah homogen.

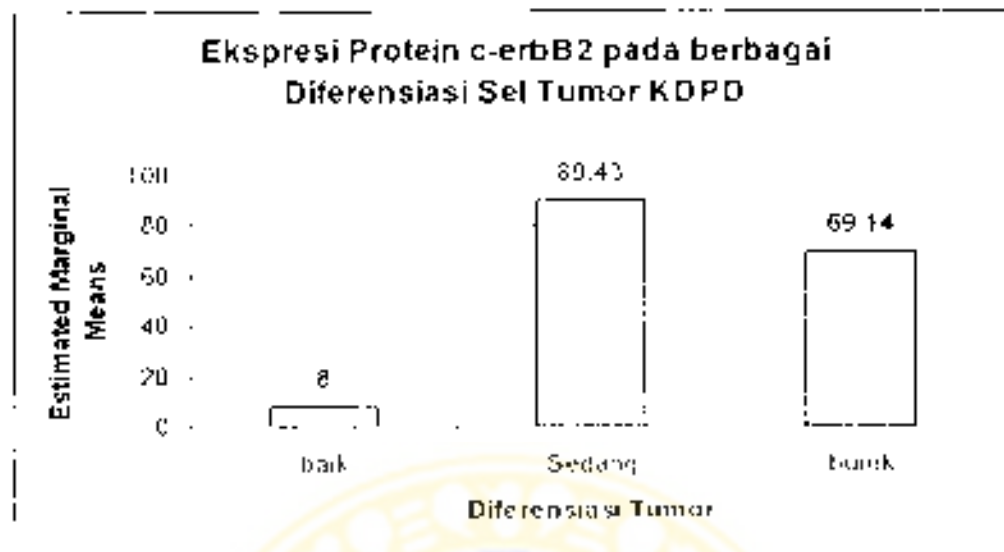
5.3.3.2 Analisis variabel data

Tabel di bawah ini menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada kelompok tumor KDPD dengan berbagai diferensiasi sel tumor, yaitu diferensiasi baik, sedang dan buruk.

Tabel 5.37 Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada Berbagai Diferensiasi Sel KDPD

Ekspresi protein	Diferensiasi tumor		
	baik Mean	Sedang mean	buruk mean
c-erbB2	8,00	89,43	69,14
p53	10,00	18,71	35,86
pRb	16,00	15,86	28,84
MIB-1	5,00	15,00	31,09

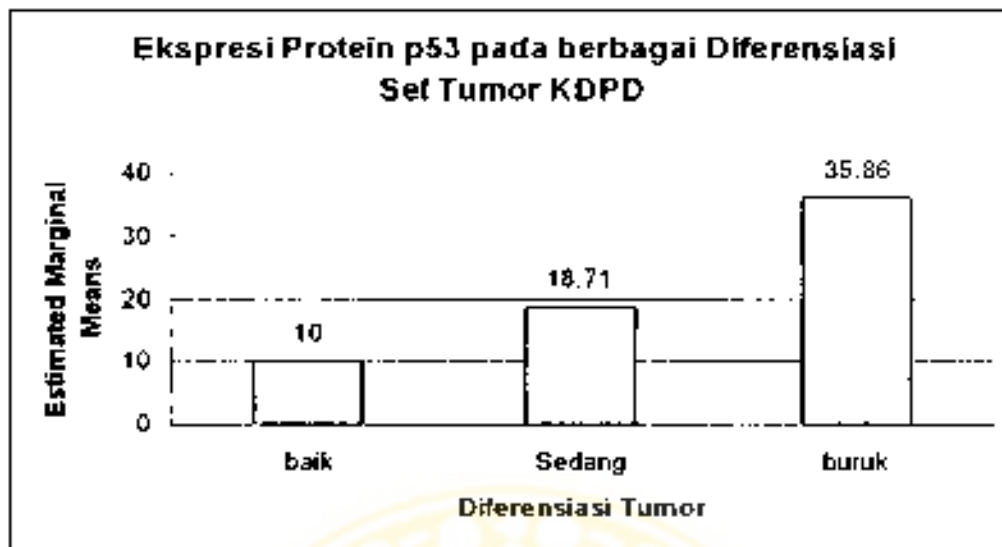
Dari tabel 5.37 menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai kelompok diferensiasi sel tumor KDPD secara bersama adalah berbeda, dengan dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Wilks' Lambda (dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$).



Gambar 5.6 Ekspresi Protein c-erbB2 pada Berbagai Diferensiasi KDPD

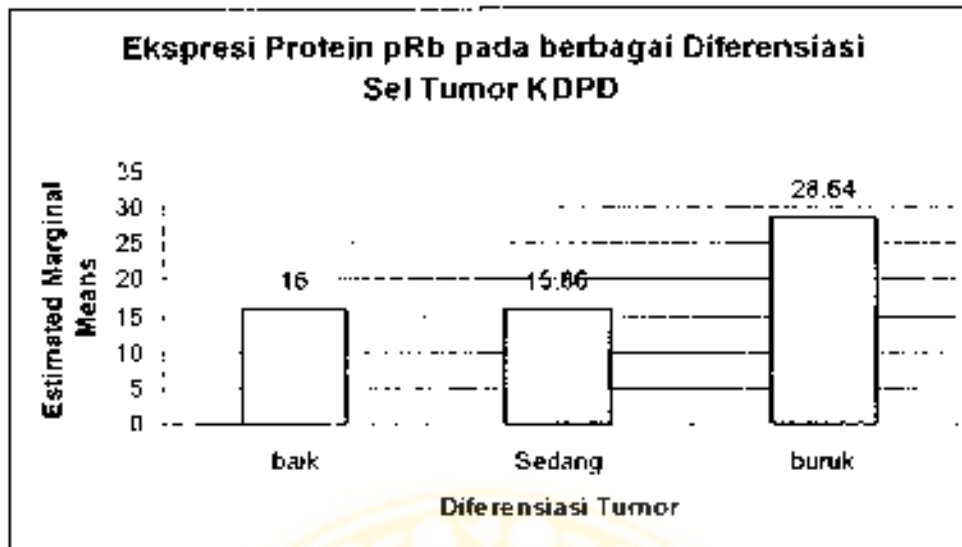
Dari tabel 5.37 dan gambar 5.6 menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 pada berbagai kelompok diferensiasi sel tumor KDPD, secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Hotelling's Trace dengan $p=0.000 < \alpha=0.05$.

Tabel dan gambar di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein c-erbB2 pada kelompok tumor KDPD pada berbagai diferensiasi, yaitu diferensiasi baik (8.00), diferensiasi sedang (89.43), dan diferensiasi buruk (69.14)



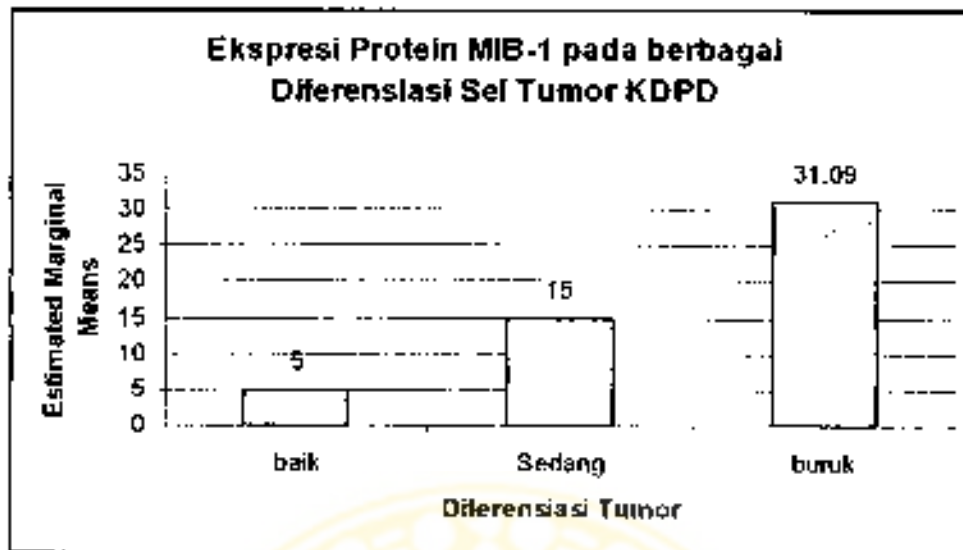
Gambar 5.7 Ekspresi Protein p53 pada Berbagai Diferensiasi KDPD

Dari tabel 5.37 dan gambar 5.7 menunjukkan bahwa ekspresi protein p53 pada berbagai kelompok diferensiasi sel tumor KDPD (baik, sedang dan buruk) secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Hotelling's Trace dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$. Tabel dan gambar di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein p53 pada kelompok tumor KDPD dengan berbagai diferensiasi sel, yaitu diferensiasi baik (10,00), diferensiasi sedang (18,71), dan diferensiasi buruk (35,86).



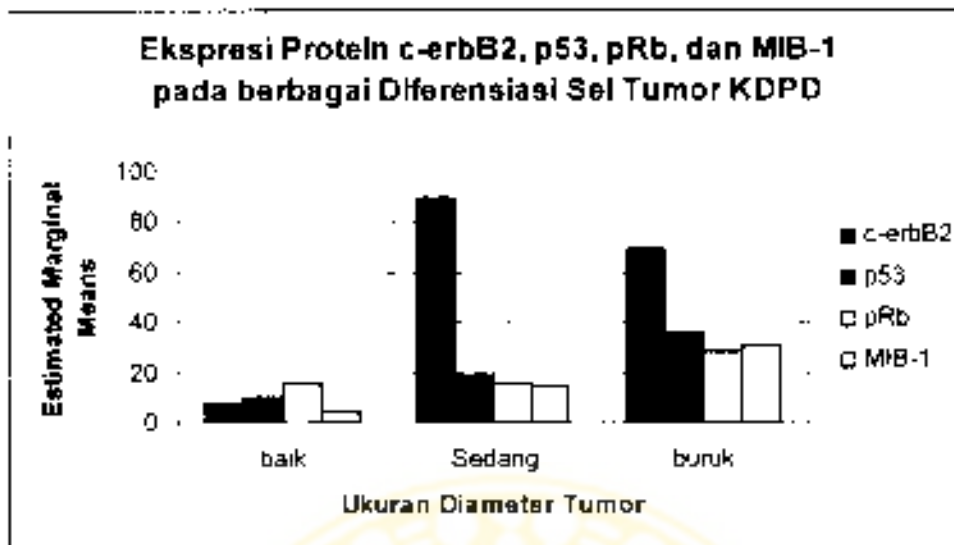
Gambar 5.8 Ekspresi Protein pRb pada Berbagai Diferensiasi KDPD

Dari tabel 5.37 dan gambar 5.8 menunjukkan bahwa ekspresi protein pRb pada berbagai kelompok diferensiasi sel tumor KDPD (baik, sedang dan buruk) secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Hotelling's Trace dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$ Tabel dan gambar di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein pRb pada kelompok tumor KDPD dengan berbagai diferensiasi sel, yaitu diferensiasi baik (16,00), diferensiasi sedang (15,86), dan diferensiasi buruk (28,64).



Gambar 5.9 Ekspresi Protein MIB-1 pada Berbagai Diferensiasi KDPD

Dari tabel 5.37 dan gambar 5.9 menunjukkan bahwa ekspresi protein MIB-1 pada berbagai kelompok diferensiasi sel tumor KDPD (baik, sedang dan buruk) secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Hotelling's Trace, dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$. Tabel dan gambar di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein MIB-1 pada kelompok tumor KDPD dengan berbagai diferensiasi sel, yaitu diferensiasi baik (5,00), diferensiasi sedang (15,00), dan diferensiasi buruk (31,09).



Gambar 5.10 Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada Berbagai Diferensiasi KDPD

Dari tabel 5.37 dan gambar 5.10 menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB 1 pada berbagai kelompok diferensiasi sel tumor KDPD (diferensiasi baik, sedang dan buruk) secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Wilks' Lambda ($p=0,000 < \alpha=0,05$).

Tabel 5.37 dan gambar 5.10 di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada kelompok tumor KDPD pada berbagai diferensiasi sel tumor, yaitu diferensiasi baik, sedang dan buruk.

5.3.4 Analisis ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai progresivitas KDPD

5.3.4.1 Uji homogenitas data

Sebagai syarat analisis statistik selanjutnya maka data harus dilakukan uji homogenitas untuk setiap variabel penelitian yang akan diuji. Dengan menggunakan *Box's Test of Equality of Covariance Matrices* terhadap data ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai progresivitas pertumbuhan KDPD, menunjukkan bahwa *Box's M* = 17,604 dengan $\text{sigma} = 0,843 > \alpha = 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa matriks varians-kevarians pada seluruh variabel ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 adalah sama untuk setiap kelompok progresivitas pertumbuhan tumor, yang berarti bahwa semua data penelitian adalah homogen.

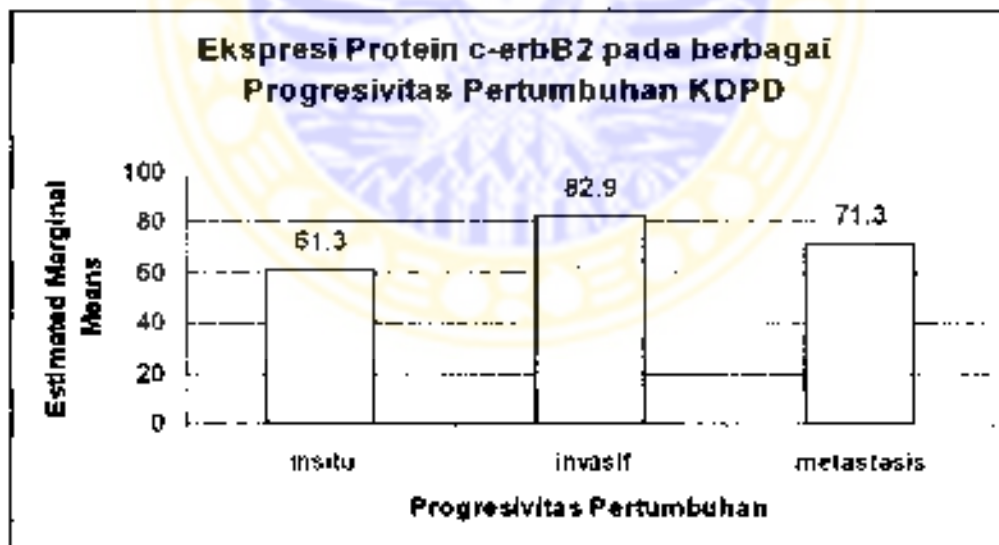
5.3.3.2 Analisis variabel data

Tabel di bawah ini menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada kelompok tumor KDPD dengan berbagai progresivitas pertumbuhan tumor, yaitu insitu, invasif dan metastasis.

Tabel 5.38 Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada Berbagai Progresivitas KDPD

Ekspresi Protein	Progresivitas Tumor		
	Insitu	Invasif	Metastasis
	Mean	Mean	Mean
c-erbB2	61,30	82,90	71,30
p53	16,80	24,70	51,50
pRb	19,50	18,70	37,50
MIB-1	16,30	18,30	44,80

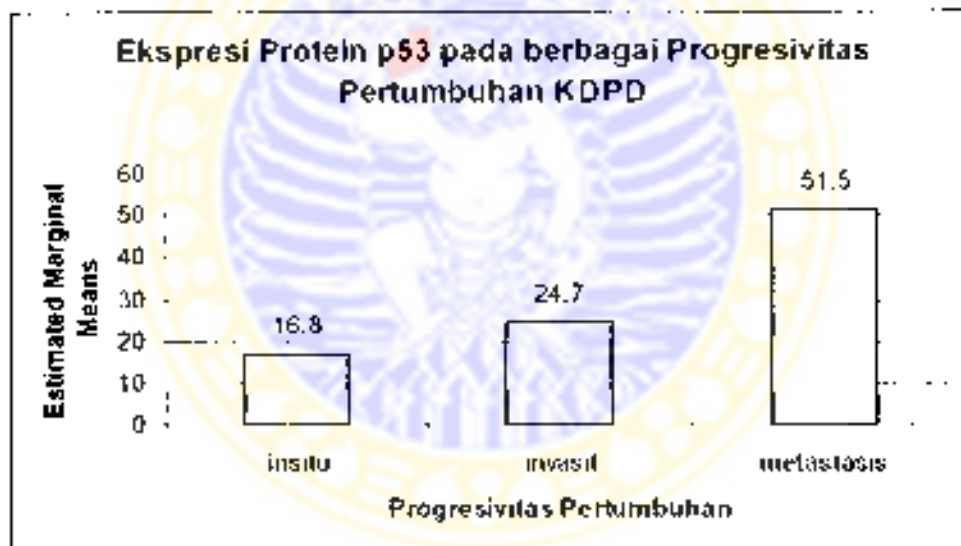
Dari tabel 5.38 menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai kelompok progresivitas pertumbuhan tumor KDPD secara bersama adalah berbeda, dengan dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Wilks' Lambda ($p=0,000 < \alpha=0,05$).



Gambar 5.11 Ekspresi Protein c-erbB2 pada Berbagai Progresivitas Pertumbuhan KDPD

Dari tabel 5.38 dan gambar 5.11 menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 pada berbagai kelompok progresivitas pertumbuhan tumor KDPD, secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Hotelling's Trace dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$

Tabel dan gambar di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein c-erbB2 pada kelompok tumor KDPD pada berbagai progresivitas pertumbuhan tumor, yaitu karsinoma duktal payudara insitu (61.30), KDPD invasif (82.90), dan KDPD metastasis (71.30).



Gambar 5.12 Ekspresi Protein p53 pada Berbagai Progresivitas Pertumbuhan KDPD

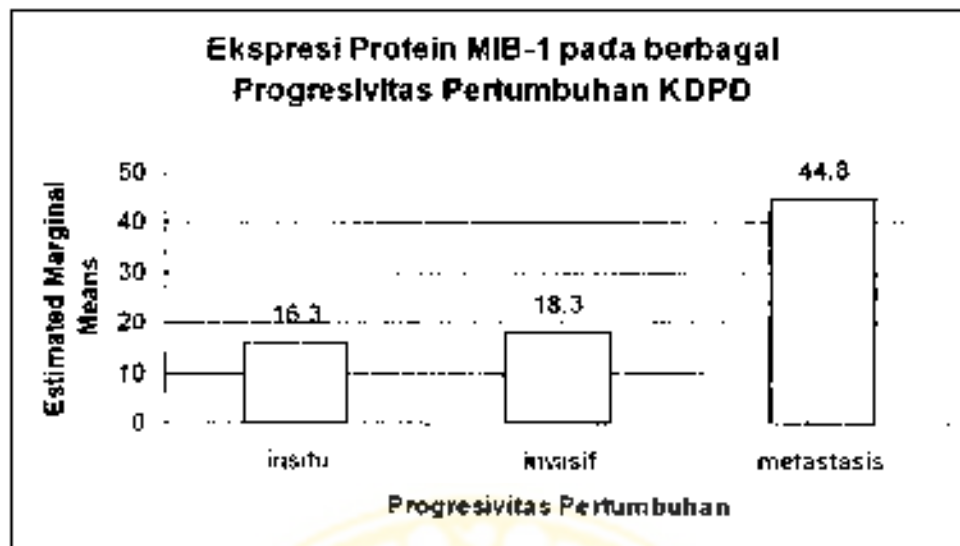
Dari tabel 5.38 dan gambar 5.12 menunjukkan bahwa ekspresi protein p53 pada berbagai kelompok progresivitas tumor KDPD (insitu, invasif dan metastasis) secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Hotelling's Trace dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$ Tabel dan gambar di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean)

ekspresi protein p53 pada kelompok tumor KDPD pada berbagai progresivitas tumor, yaitu karsinoma duktilal payudara insitu (16,80), KDPD invasif (24,70), dan KDPD metastasis (51,50).



Gambar 5.13 Ekspresi Protein pRb pada Berbagai Progresivitas Pertumbuhan KDPD

Dari tabel 5.38 dan gambar 5.13 menunjukkan bahwa ekspresi protein pRb pada berbagai kelompok progresivitas tumor KDPD (insitu, invasif dan metastasis) secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat, Hotelling's Trace dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$. Tabel dan gambar di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein pRb pada kelompok tumor KDPD pada berbagai progresivitas pertumbuhan tumor, yaitu KDPD insitu (19,50), KDPD invasif (18,70), dan KDPD metastasis (37,50).



Gambar 5.14 Eksresi Protein MIB-1 pada Berbagai Progresivitas Pertumbuhan KDPD

Dari tabel 5.38 dan gambar 5.14 menunjukkan bahwa ekspresi protein MIB-1 pada berbagai kelompok progresivitas pertumbuhan tumor KDPD (insitu, invasif dan metastasis) secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat, Hotelling's Trace dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$.

Tabel dan gambar di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein MIB-1 pada kelompok tumor KDPD pada berbagai progresivitas pertumbuhan tumor, yaitu KDPD insitu (16,30), KDPD invasif (18,30), dan KDPD melastasis (44,80)

5.3.5 Analisis ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai *grading* histopatologis KDPD

5.3.5.1 Uji homogenitas data

Sebagai syarat analisis statistik selanjutnya maka data harus dilakukan uji homogenitas untuk setiap variabel penelitian yang akan diuji. Dengan menggunakan *Box's Test of Equality of Covariance Matrices* terhadap data ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai *grading* histopatologi KDPD, menunjukkan bahwa *Box's M* = 28.232 dengan $\text{sigma} = 0.099 > \alpha = 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa matriks varians-kovarians pada seluruh variabel ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 adalah sama untuk setiap kelompok *grading* histopatologis tumor, yang berarti bahwa semua data penelitian adalah homogen. Maka berarti bahwa matriks varians-kovarians pada seluruh variabel ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 secara individu adalah sama (homogen) untuk setiap kelompok diferensiasi sel tumor, yang berarti bahwa semua data penelitian adalah homogen.

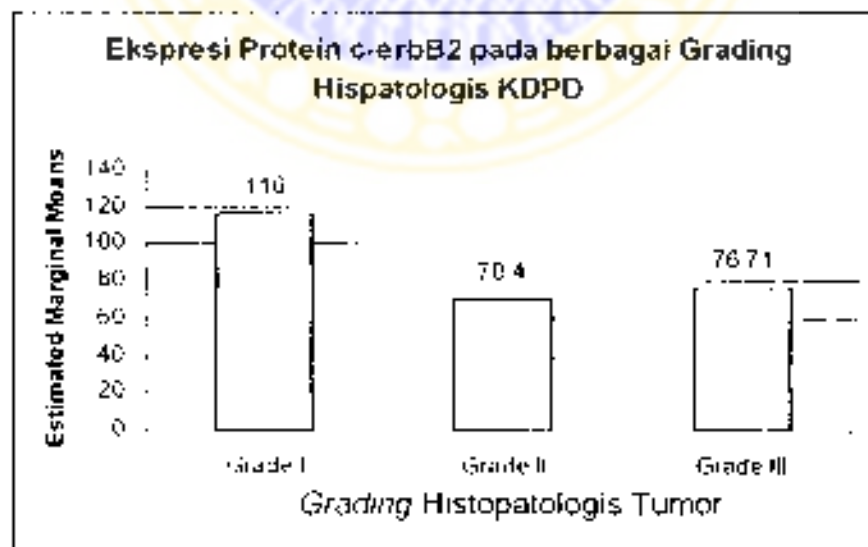
5.3.3.2 Analisis variabel data

Tabel di bawah ini menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada kelompok tumor KDPD dengan berbagai *grading* histopatologi tumor, yaitu *grade* I, II dan III

Tabel 5.39 Ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada Berbagai Grading Histopatologis KDPD

Ekspresi Protein	Grading Histopatologis Tumor		
	Grade I	Grade II	Grade III
	Mean	Mean	Mean
c-erbB2	116,00	70,40	76,71
p53	4,00	23,60	45,71
pRb	56,00	8,60	33,07
MIB-1	24,00	15,00	38,00

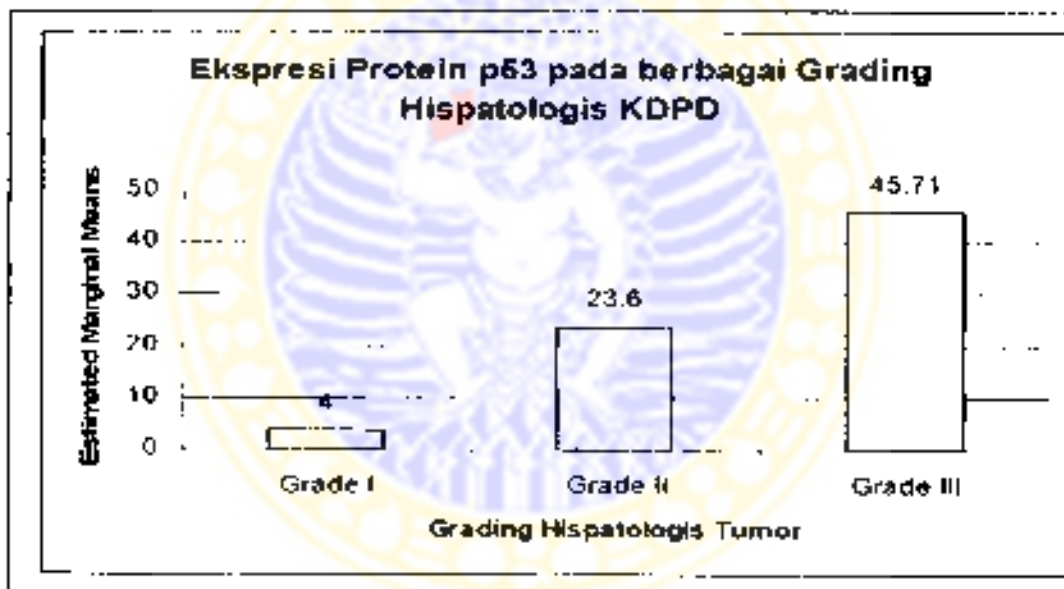
Dari tabel 5.39 menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2, p53, dan pRb pada berbagai kelompok *grading* histopatologis tumor KDPD secara bersama adalah berbeda, dengan dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Wilks' Lambda (dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$), sedangkan ekspresi protein MIB-1 tidak ($p=0,051 > \alpha=0,05$)



Gambar 5.16 Ekspresi Protein c-erbB2 pada Berbagai Grading Histopatologis KDPD

Dari tabel 5.39 dan gambar 5.16 menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 pada berbagai kelompok *grading* histopatologis tumor KDPD, secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat, Hotelling's Trace ($p=0,000 < \alpha=0,05$).

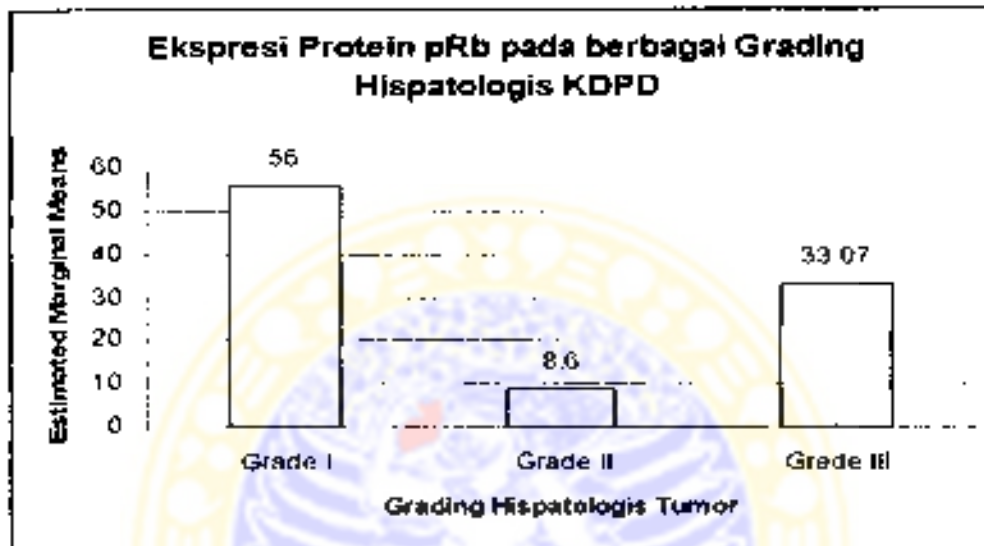
Tabel dan gambar di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein c-erbB2 pada kelompok tumor KDPD pada berbagai *grading* histopatologis tumor, yaitu karsinoma duktal payudara *grade* I (116,00), KDPD *grade* II (70,40) dan KDPD *grade* III (76,71)



Gambar 5.17 Ekspresi Protein p53 pada Berbagai Grading Histopatologis KDPD

Dari tabel 5.39 dan gambar 5.17 menunjukkan bahwa ekspresi protein p53 pada berbagai kelompok *grading* histopatologis tumor KDPD secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Hotelling's Trace dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$.

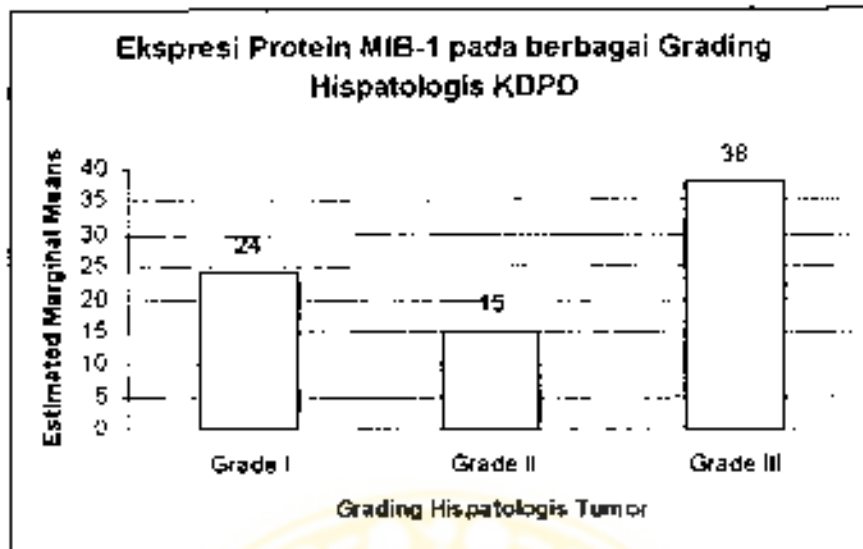
Tabel dan gambar di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein p53 pada kelompok tumor KDPD pada berbagai *grading* histopatologis tumor, yaitu karsinoma duktal payudara *grade I* (4,00), KDPD *grade II* (23,60) dan KDPD *grade III* (45,71).



Gambar 5.18 Ekspresi Protein pRb pada Berbagai Grading Histopatologis KDPD

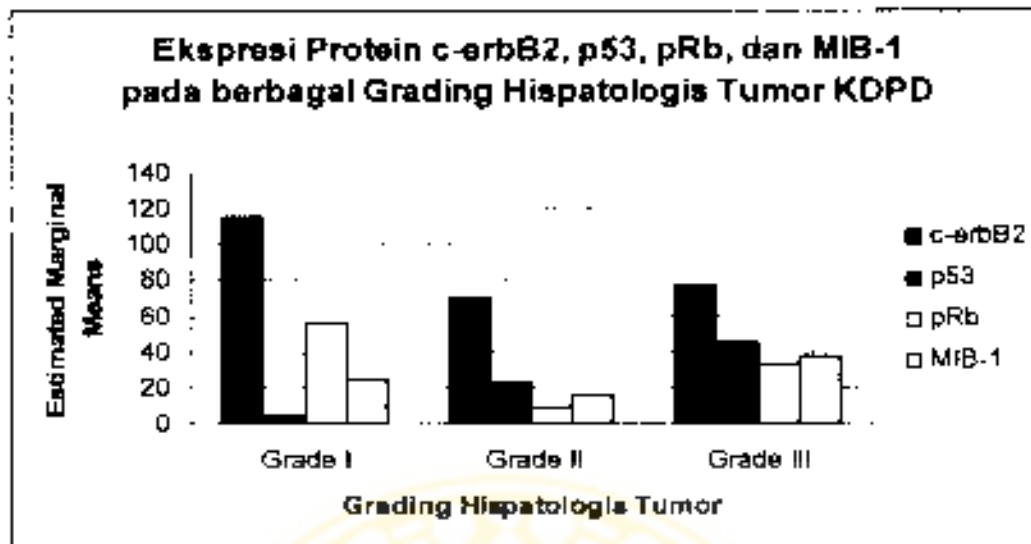
Dari tabel 5.39 dan gambar 5.18 menunjukkan bahwa ekspresi protein pRb pada berbagai kelompok *grading* histopatologis tumor KDPD secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat, Hotelling's Trace dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$.

Tabel dan gambar di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein pRb pada kelompok tumor KDPD pada berbagai *grading* histopatologis tumor, yaitu KDPD *grade I* (56,00), KDPD *grade II* (8,60) dan KDPD *grade III* (33,07)



Gambar 5.19 Ekspresi Protein MIB-1 pada Berbagai Grading Histopatologis KDPD

Dari tabel 5.39 dan gambar 5.19 menunjukkan bahwa ekspresi protein MIB-1 pada berbagai kelompok *grading* histopatologis tumor KDPD secara nyata adalah tidak berbeda secara nyata. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat, Hotelling's Trace dengan $p=0,051 > \alpha=0,05$. Tabel dan gambar di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein MIB-1 pada kelompok tumor KDPD pada berbagai *grading* histopatologis tumor, yaitu KDPD *grade* I (24,00), KDPD *grade* II (15,00), dan KDPD *grade* III (38,00).




Gambar 5.20 Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada Berbagai Grading Histopatologi KDPD

Dari tabel 5.39 dan gambar 5.20 menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2, p53, dan pRb pada berbagai kelompok *grading* histopatologis tumor KDPD secara nyata adalah berbeda. Hal ini dibuktikan secara uji statistik metode multivariat Wilks' Lambda dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$, kecuali ekspresi protein MIB-1 ($p=0,051 > \alpha=0,05$). Tabel 5.39 dan gambar 5.20 di atas menunjukkan perbedaan rerata (mean) ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada kelompok tumor KDPD pada berbagai *grading* histopatologis tumor.


5.4 Analisis Klasifikasi Data pada Berbagai Pengelompokan Penelitian

Karsinoma duktal payudara adalah keganasan epitelial payudara yang memiliki perilaku biologis sangat heterogen. Penentuan prognosis dan pilihan terapi yang tepat, membutuhkan sistem pengelompokan yang baik. Pada penelitian ini karsinoma duktal payudara dibedakan dalam 4 macam sistem pengelompokan, yaitu berdasarkan ukuran diameter (≤ 2 cm, > 2 cm sampai ≤ 5 cm dan > 5 cm), diferensiasi (baik, sedang dan buruk), progresivitas pertumbuhan tumor (insitu invasif dan metastasis) dan *grading* histopatologis (rendah, sedang dan tinggi). Semua sistem pengelompokan tersebut di atas kemudian dilakukan uji statistik dengan data penelitian, untuk menentukan sistem pengelompokan yang baik, dalam menentukan prognosis dan pilihan terapi yang tepat pada karsinoma duktal payudara.

Tabel 5.40 Klasifikasi Data pada Berbagai Pengelompokan Diameter Tumor KDPD

Classification Results 

		DIAGRP	Predicted Group Membership			Total
			1 00	2 00	3 00	
Original	Count	1 00	5	4	2	11
		2 00	7	9	0	11
		3 00	5	0	3	8
	%	1 00	45.5	36.4	18.2	100.0
		2 00	18.2	81.8	0	100.0
		3 00	62.5	0	37.5	100.0

 56.7% of original grouped cases : correctly classified

Dari tabel 5.40 menunjukkan bahwa pengelompokan data penelitian berdasarkan ukuran diameter tumor (≤ 2 cm, > 2 cm sampai ≤ 5 cm dan > 5 cm), diperoleh keterangan yang bahwa, sebanyak 5 kasus

dengan diameter tumor ≤ 2 cm, 9 kasus dengan diameter tumor antara > 2 cm sampai ≤ 5 cm, dan 3 kasus dengan diameter tumor > 5 cm terklasifikasi dengan benar atau sebesar 56,7%.

Tabel 5.41 Klasifikasi Data pada Berbagai Pengelompokan Diferensiasi Tumor KDPD

Classification Results^a

	Diferensiasi	Predicted Group Membership			Total
		1	2	3	
Original	Count	1	0	0	1
		2	0	0	7
		3	0	0	22
	%	1	0	0	100.0
		2	0	0	100.0
		3	0	0	100.0

^a 73.3% of original grouped cases correctly classified

Dari tabel 5.41 menunjukkan bahwa pengelompokan data penelitian berdasarkan diferensiasi tumor (baik, sedang dan buruk), diperoleh keterangan bahwa, sebanyak 22 kasus dengan diferensiasi buruk, terklasifikasi dengan benar atau sebesar 73,3%.

Tabel 5.42 Klasifikasi Data pada Berbagai Pengelompokan Progresivitas Pertumbuhan Tumor KDPD

Classification Results*

		Progresifitas	Predicted Group Membership			Total
			1	2	3	
Original	Count	1	7	2	1	10
		2	6	2	2	10
		3	2	3	5	10
	%	1	70.0	20.0	10.0	100.0
		2	60.0	20.0	20.0	100.0
		3	20.0	30.0	50.0	100.0

* 46.7% of original grouped cases correctly classified

Dari tabel 5.42 menunjukkan bahwa pengelompokan data penelitian berdasarkan progresivitas pertumbuhan tumor (insitu, invasif dan metastasis), diperoleh keterangan bahwa, sebanyak 7 kasus karsinoma duktal payudara insitu, 2 kasus dengan progresivitas invasif, dan 5 kasus dengan progresivitas metastasis, terklasifikasi dengan benar atau sebanyak 46,7 %.

Tabel 5.43 Klasifikasi Data pada Berbagai Pengelompokan Grading Histopatologis Tumor KDPD

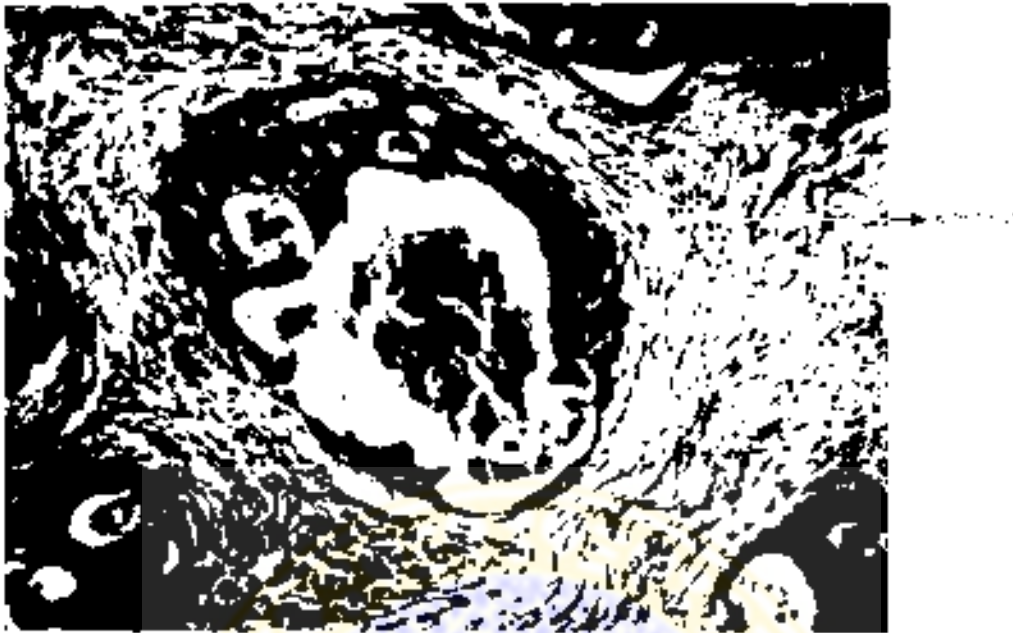
Classification Results*

		GRADE	Predicted Group Membership				Total
			0	1	2	3	
Original	Count	0	7	0	0	3	10
		1	0	1	0	0	1
		2	2	0	0	3	5
		3	6	0	0	8	14
	%	0	70.0	0	0	30.0	100.0
		1	0	100.0	0	0	100.0
		2	40.0	0	0	60.0	100.0
		3	42.9	0	0	57.1	100.0

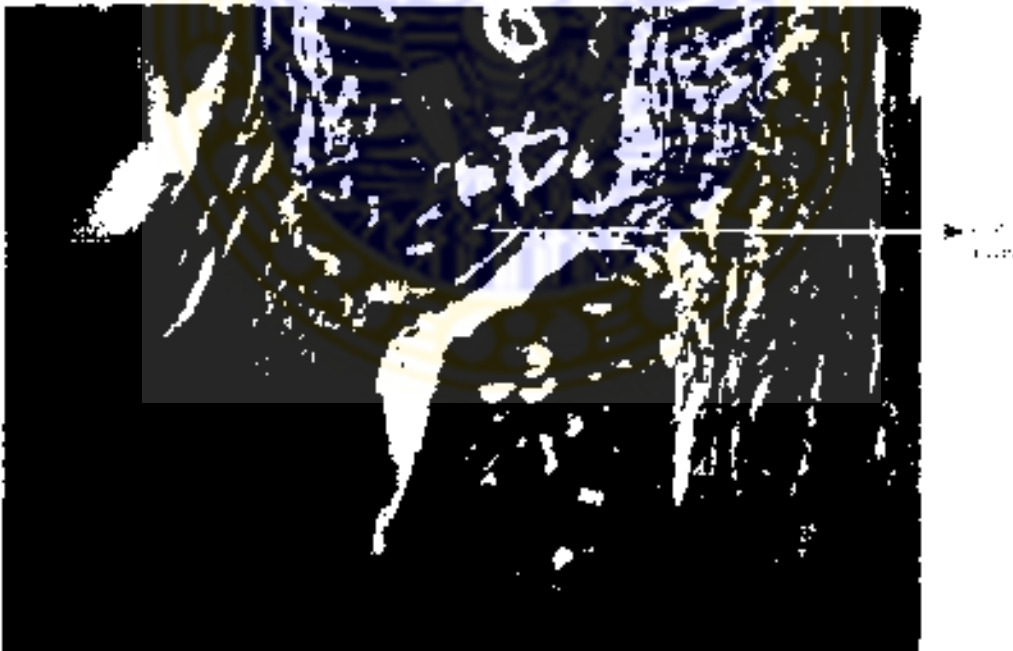
* 53.3% of original grouped cases correctly classified

Dari tabel 5.43 menunjukkan bahwa pengelompokan data penelitian berdasarkan *grading* histopatologis tumor (rendah, sedang dan tinggi), diperoleh keterangan bahwa, sebanyak 7 kasus dengan *grading* histopatologis rendah, 1 kasus dengan *grading* histopatologis sedang, dan 8 kasus dengan *grading* histopatologis tinggi, terklasifikasi dengan benar atau sebanyak 53,3

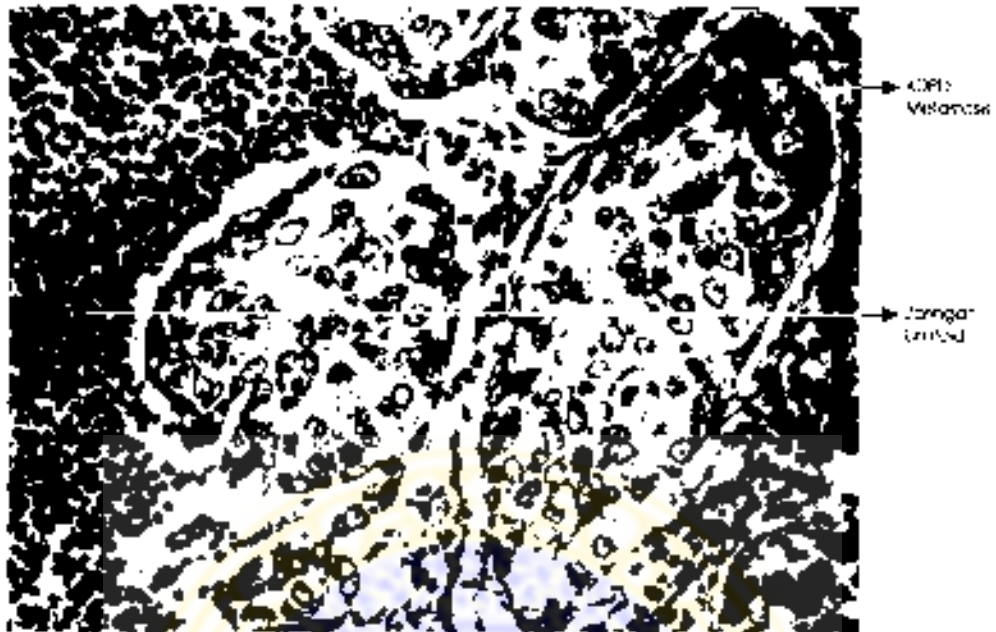




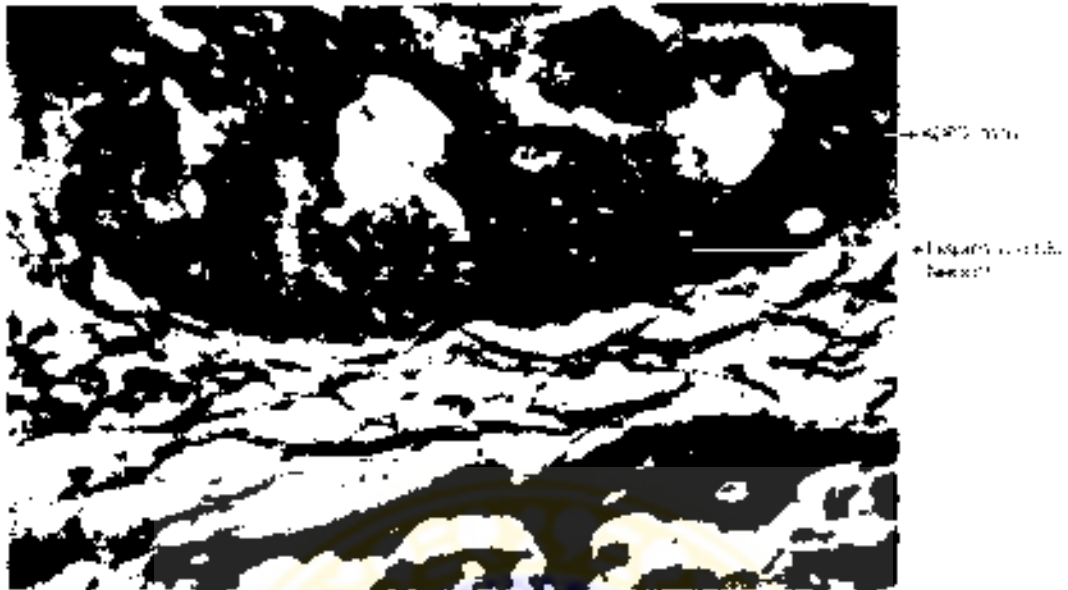
Gambar 5.21 Karsinoma Duktal Payudara (KDPD) Insitu dengan Pulasan HE



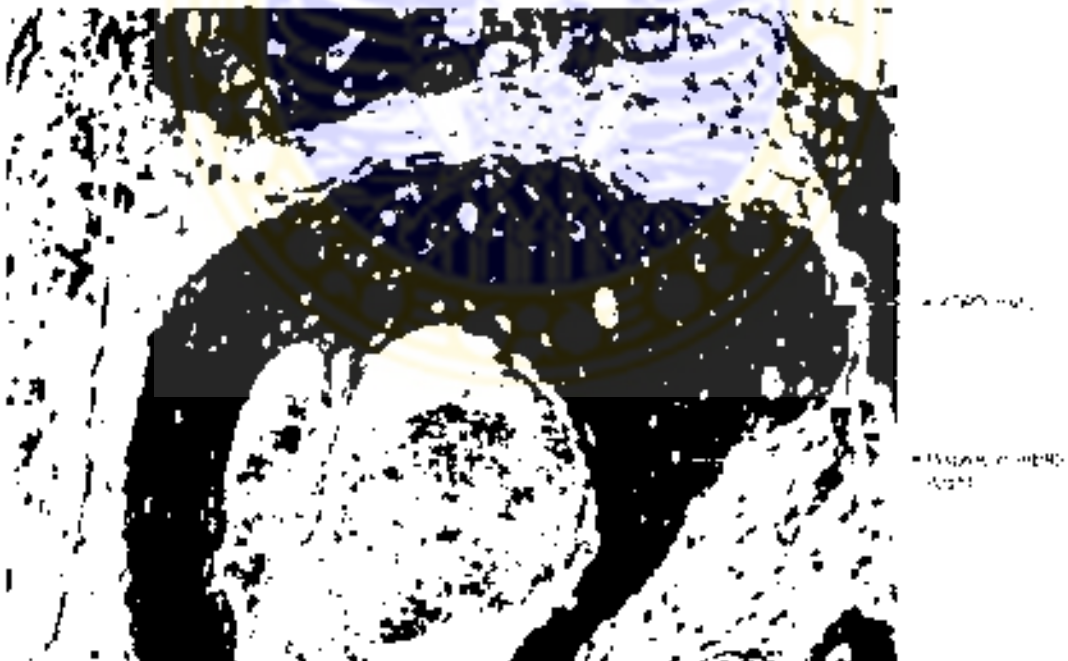
Gambar 5.22 Karsinoma Duktal Payudara (KDPD) Invasif dengan Pulasan HE



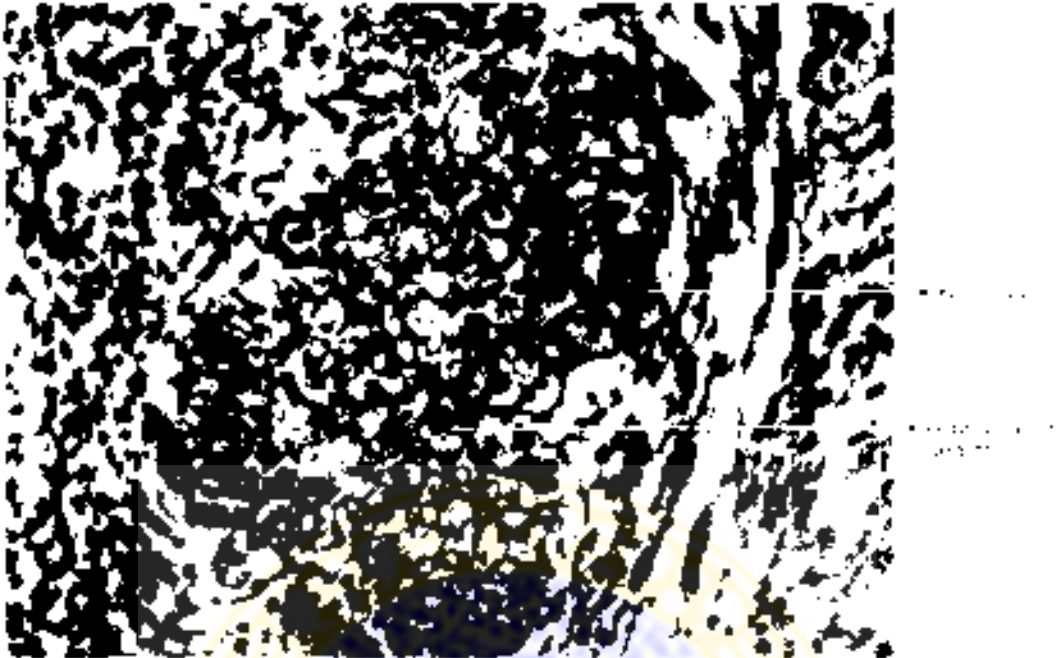
Gambar 5.23 Karsinoma Duktal Payudara (KDPD) Metastasis dengan Pulasan HE



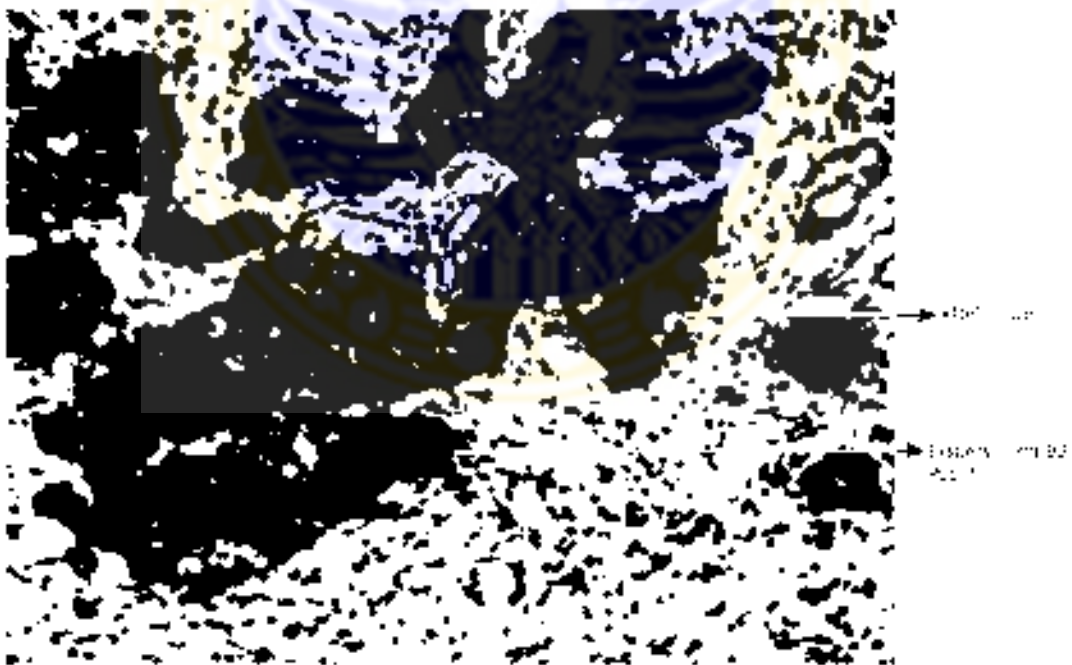
Gambar 5.24 Ekspresi Protein c-erbB2 Kontrol Pulasan Neoplastik KOPD Insitu dengan Pemeriksaan IHK



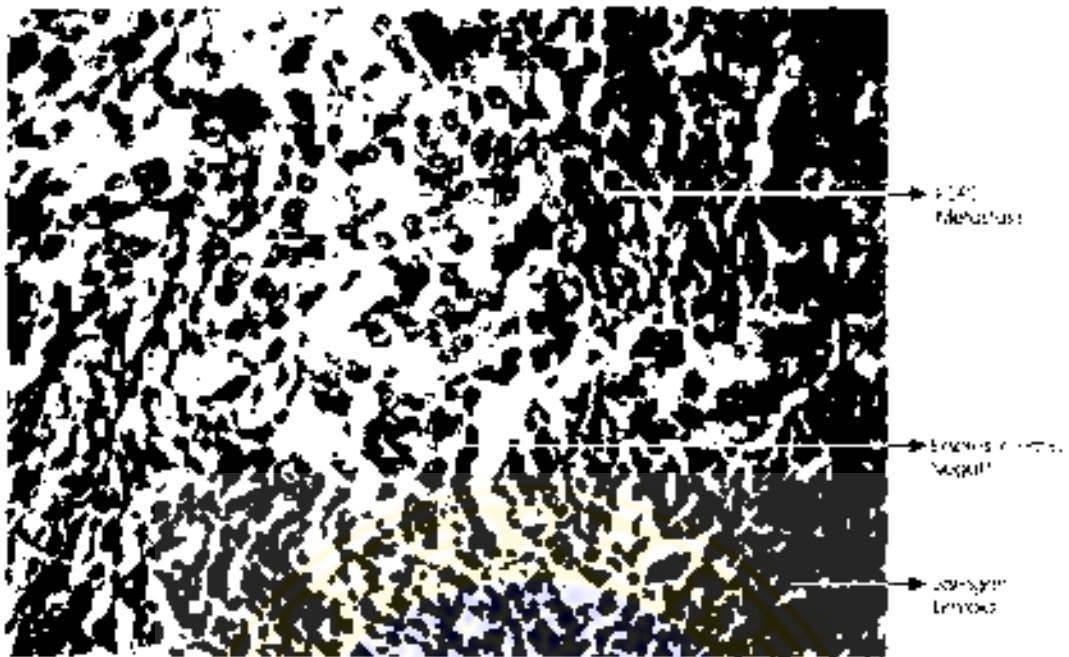
Gambar 5.25 Ekspresi Protein c-erbB2 Positif KOPD Insitu dengan Pulasan IHK



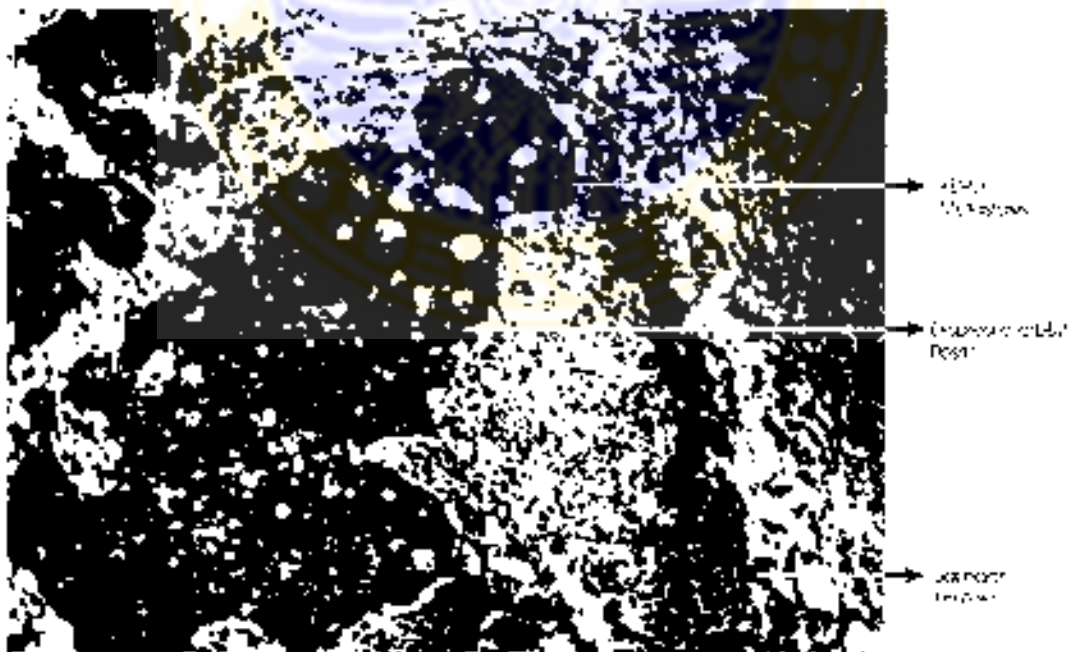
Gambar 5.26 Ekspresi c-erbB2 Kontrol Pulasan Negatif KDPD Invasif dengan IHK



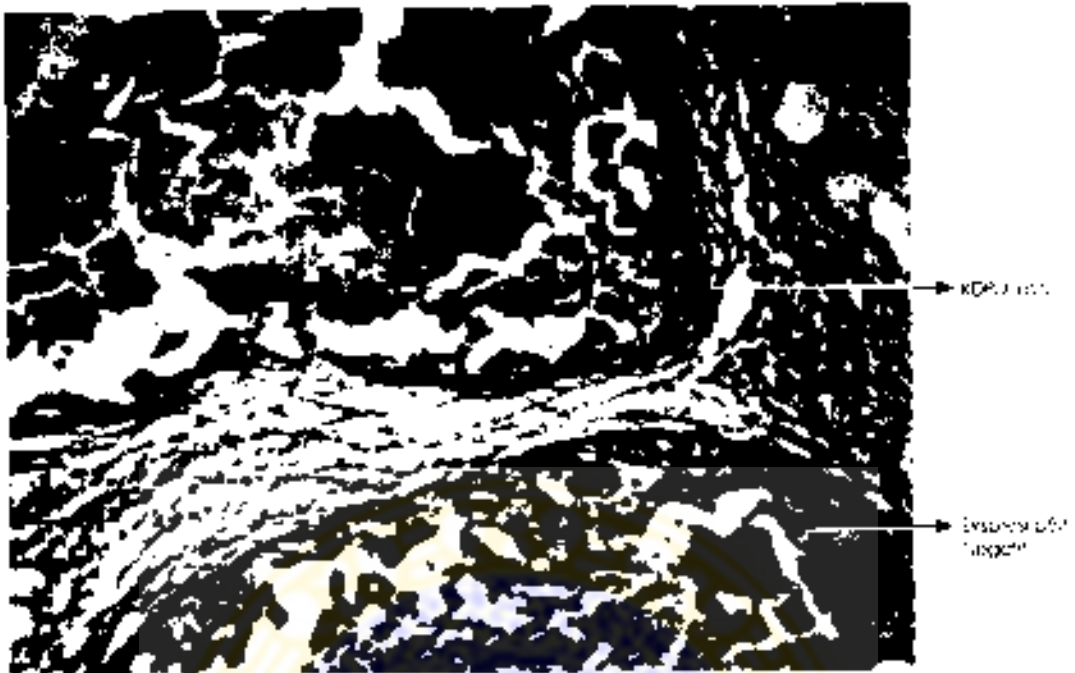
Gambar 5.27 Ekspresi Protein c-erbB2 Positif KDPD Invasif dengan Pemeriksaan IHK



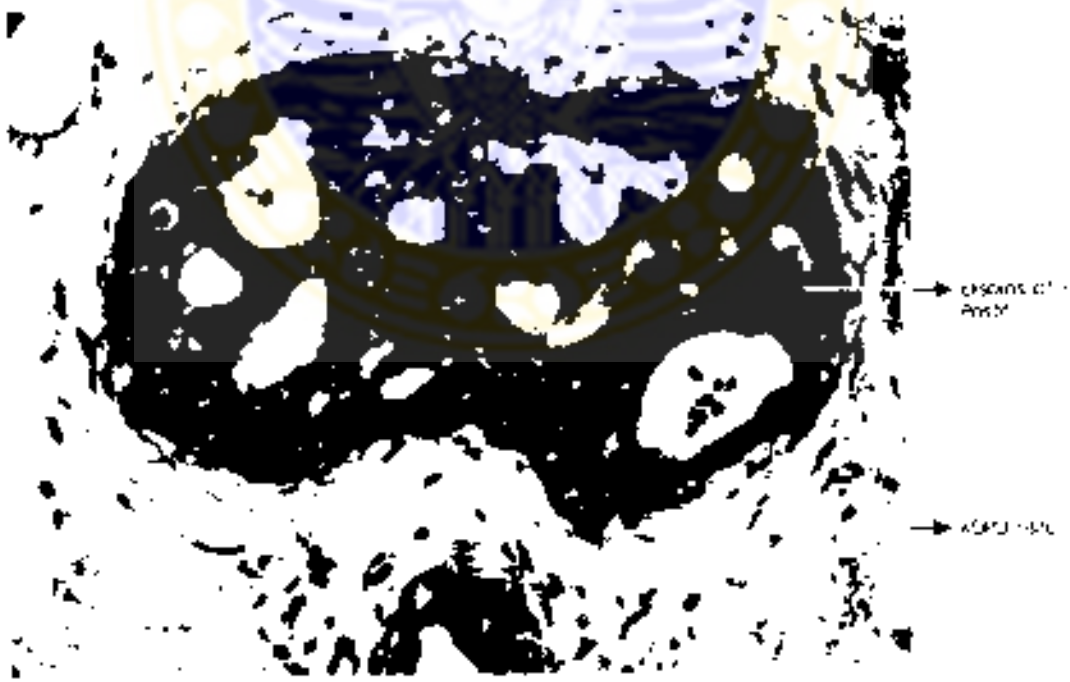
Gambar 5.28 Ekspresi Protein c-erbB2 Kontrol Pulasan Negatif KDPD Metastasis dengan Pemeriksaan IHC



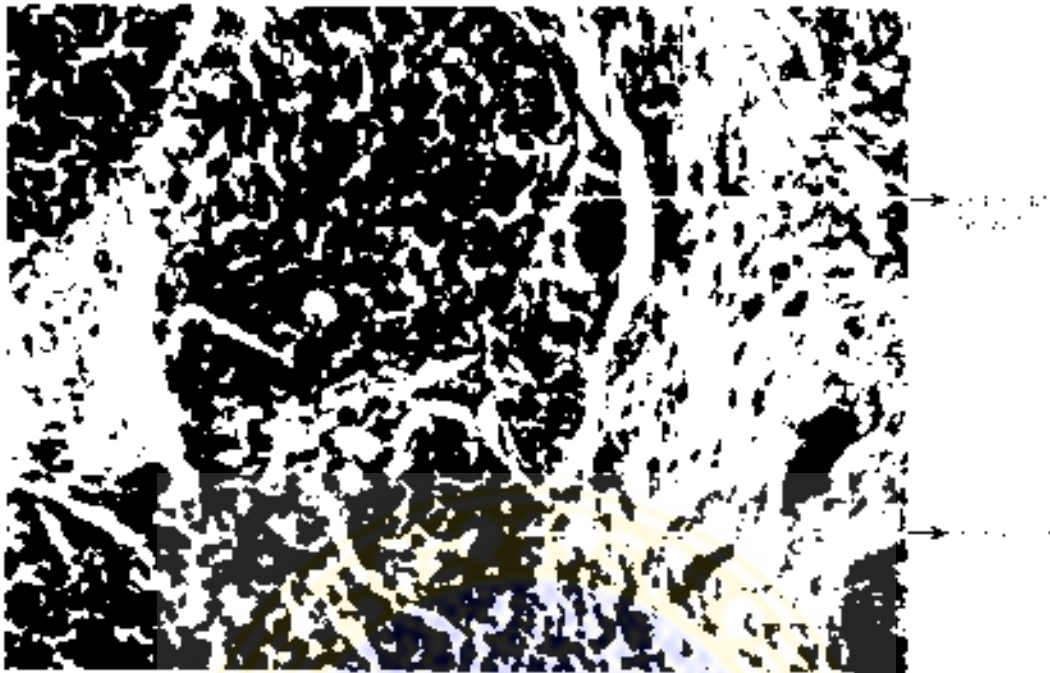
Gambar 5.29 Ekspresi Protein c-erbB2 Positif KDPD Metastasis dengan IHC



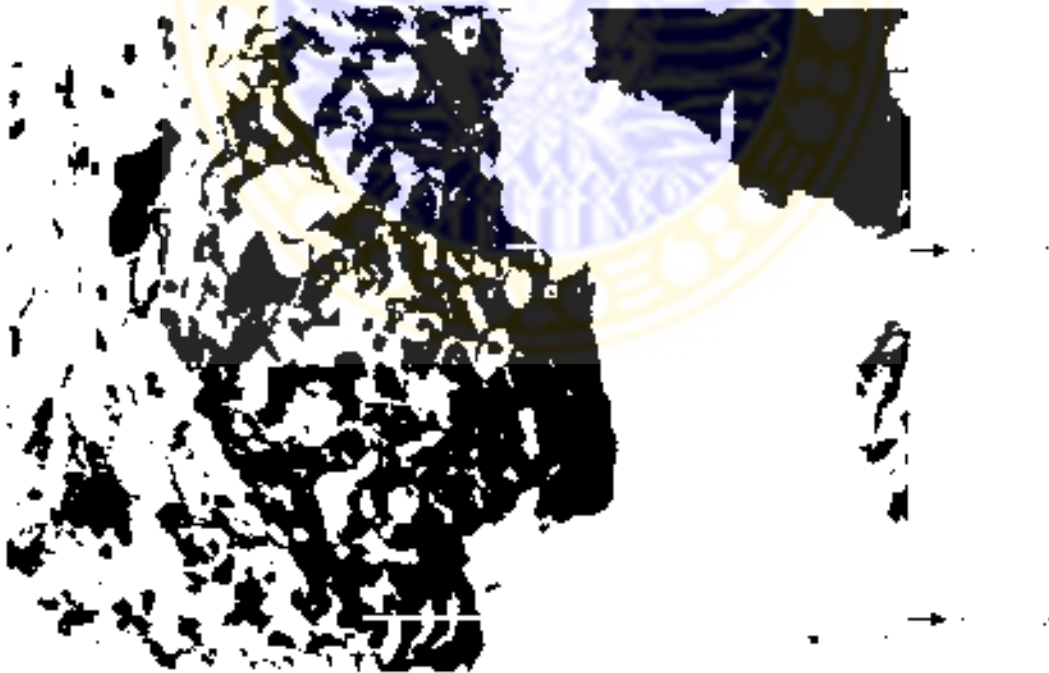
Gambar 5.30 Eksresi Protein p53 Kontrol Pulasan Negatif KDPD Insitu dengan IHK



Gambar 5.31 Ekspresi Protein p53 Positif KDPD insitu dengan Pulasan IHK



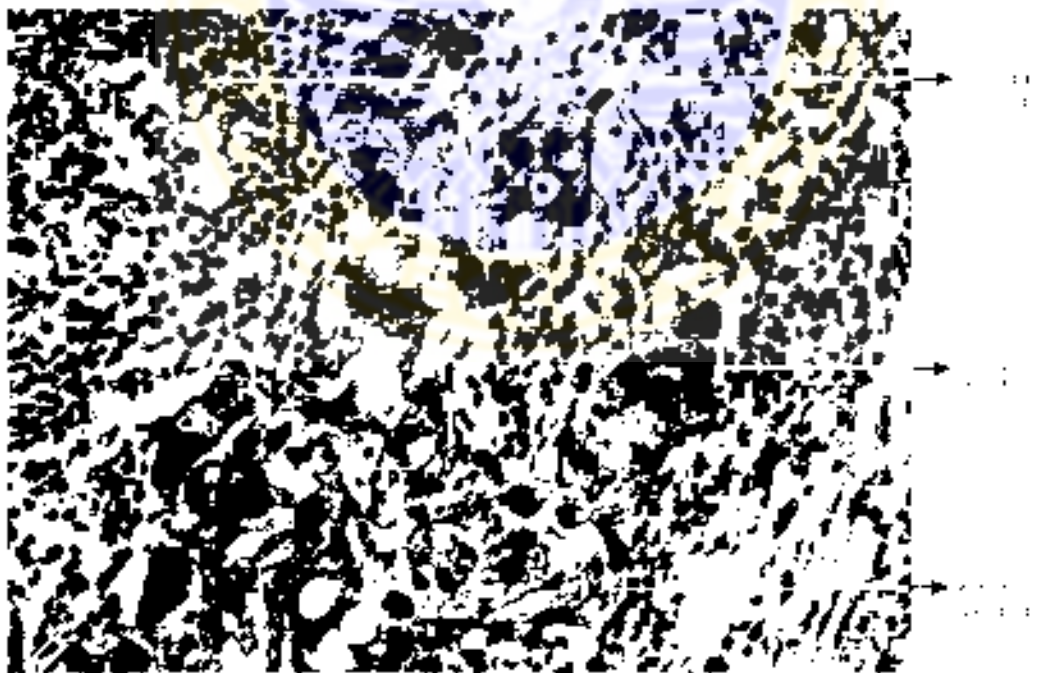
Gambar 5.32 Ekspresi Protein p53 Kontrol Pulasan Negatif KDPD Invasif dengan IHC



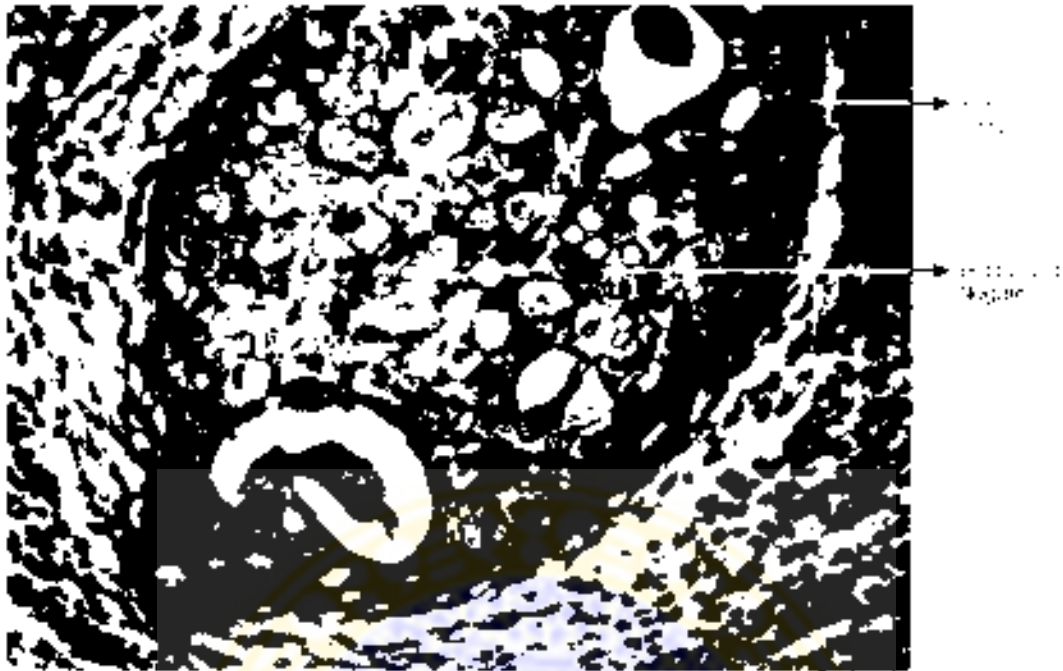
Gambar 5.33 Ekspresi Protein p53 Positif KDPD Invasif dengan Pulasan IHC



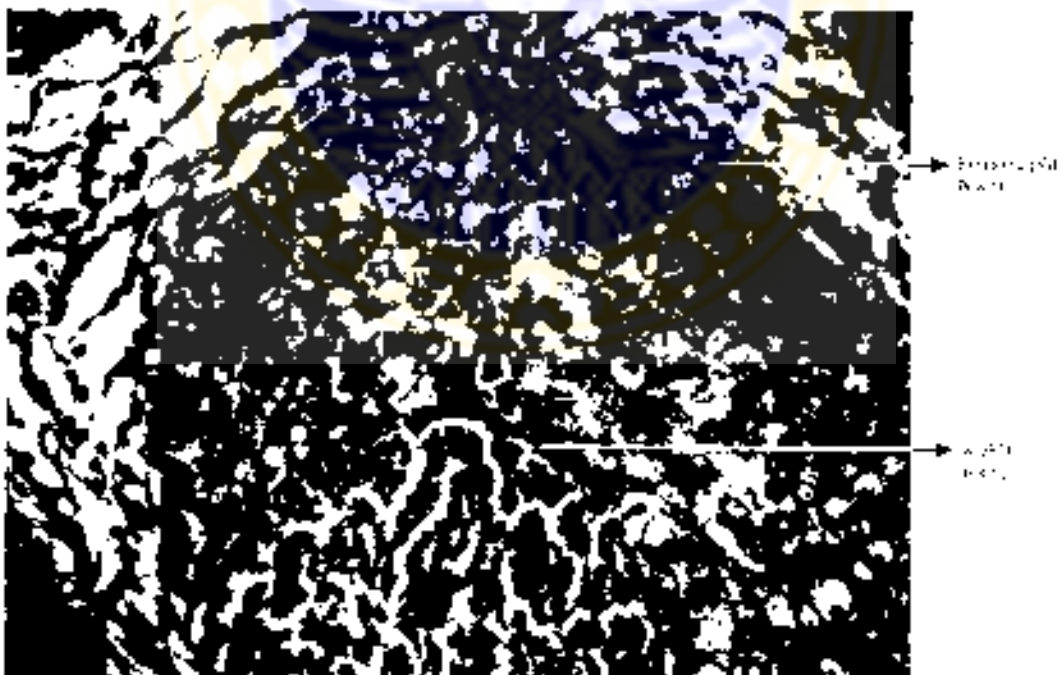
Gambar 5.34 Ekspresi p53 Kontrol Pulasan Negatif KDPD Metastasis dengan IHK



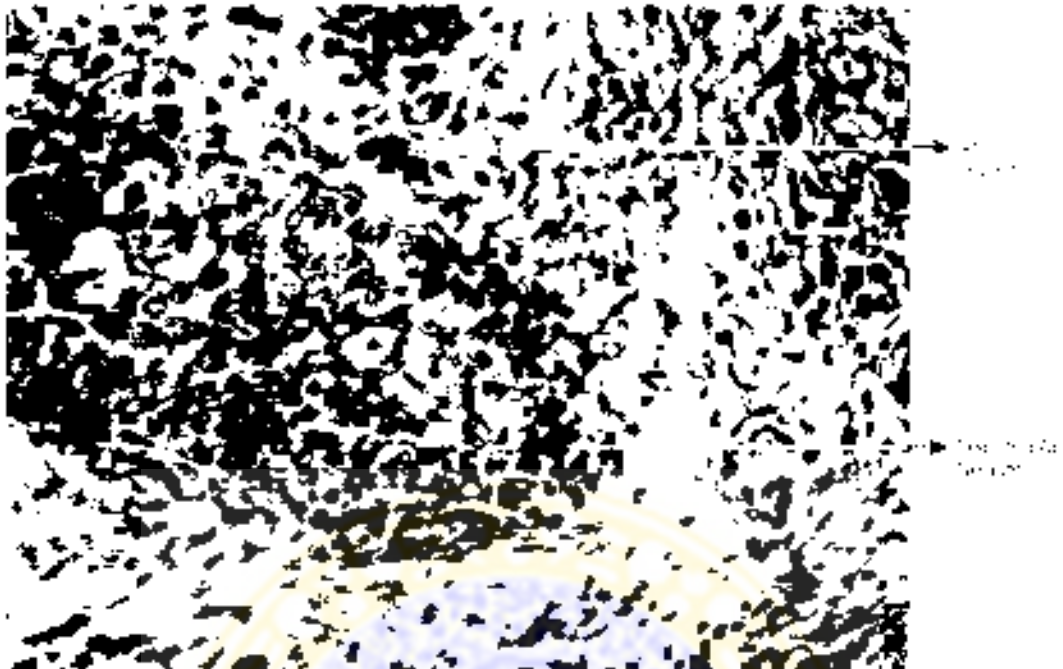
Gambar 5.35 Ekspresi Protein p53 Positif KDPD Metastasis dengan IHK



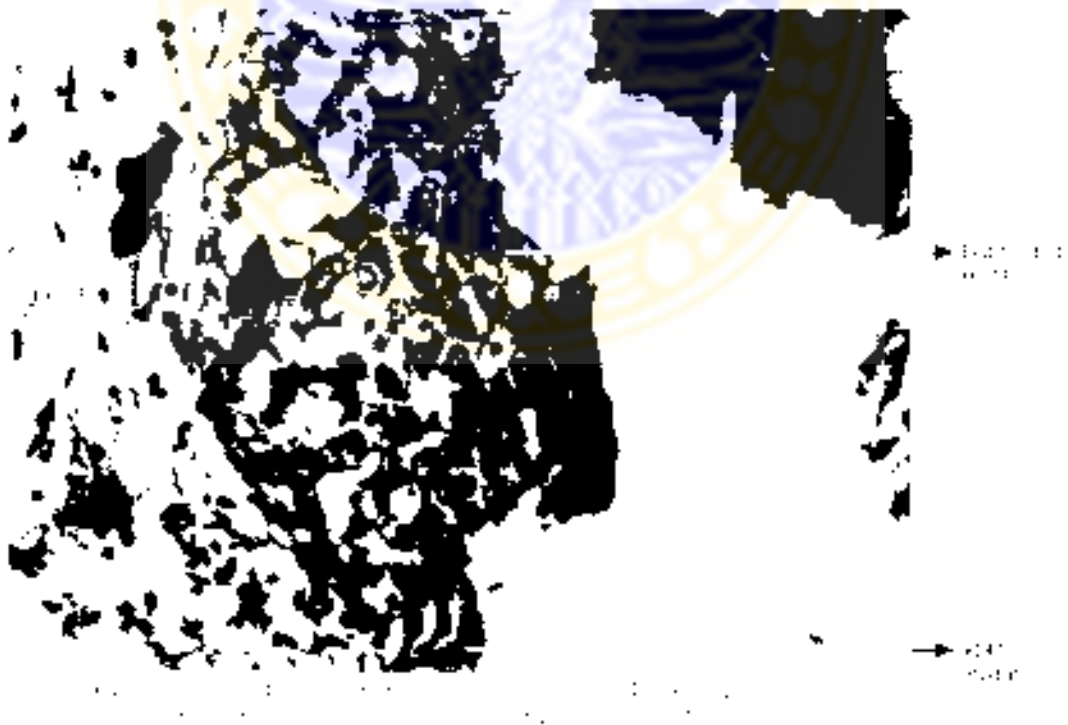
Gambar 5.36 Ekspresi Protein pRb Kontrol Pulasan Negatif KDPD Insitu dengan IHK



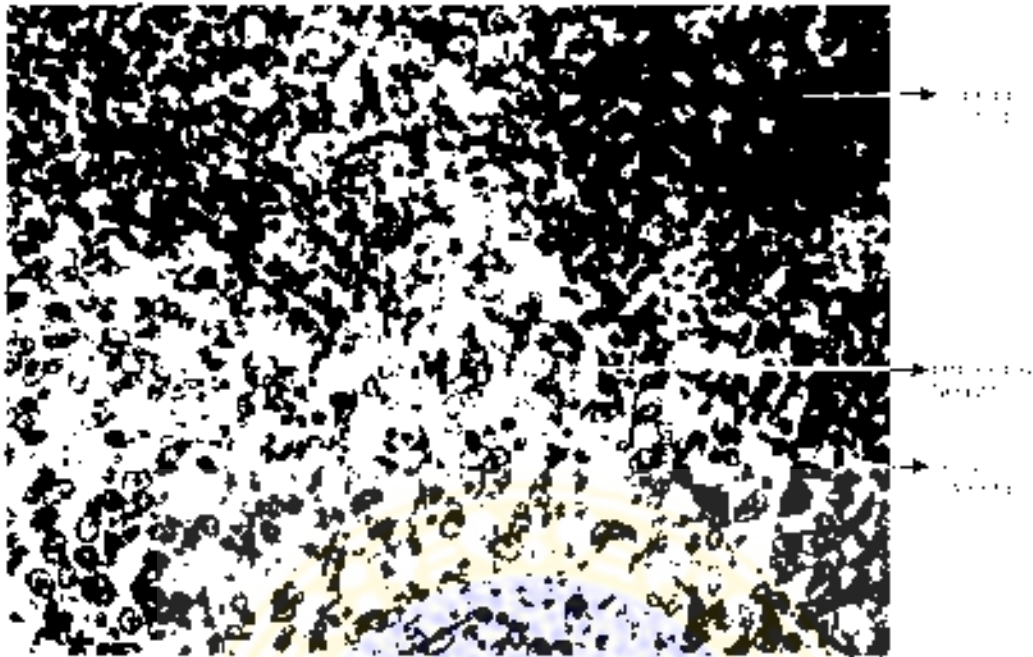
Gambar 5.37 Ekspresi Protein pRb Positif KDPD Insitu dengan Pemeriksaan IHK



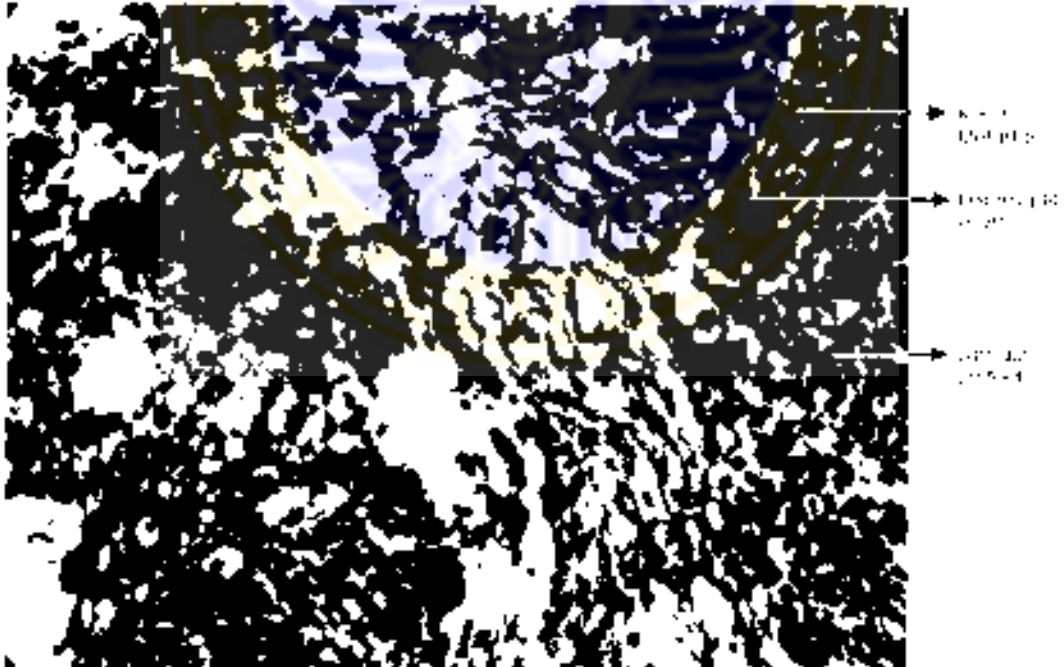
Gambar 5.38 Ekspresi Protein pRb Kontrol Pulasan Negatif KDPD Invasif dengan IHC



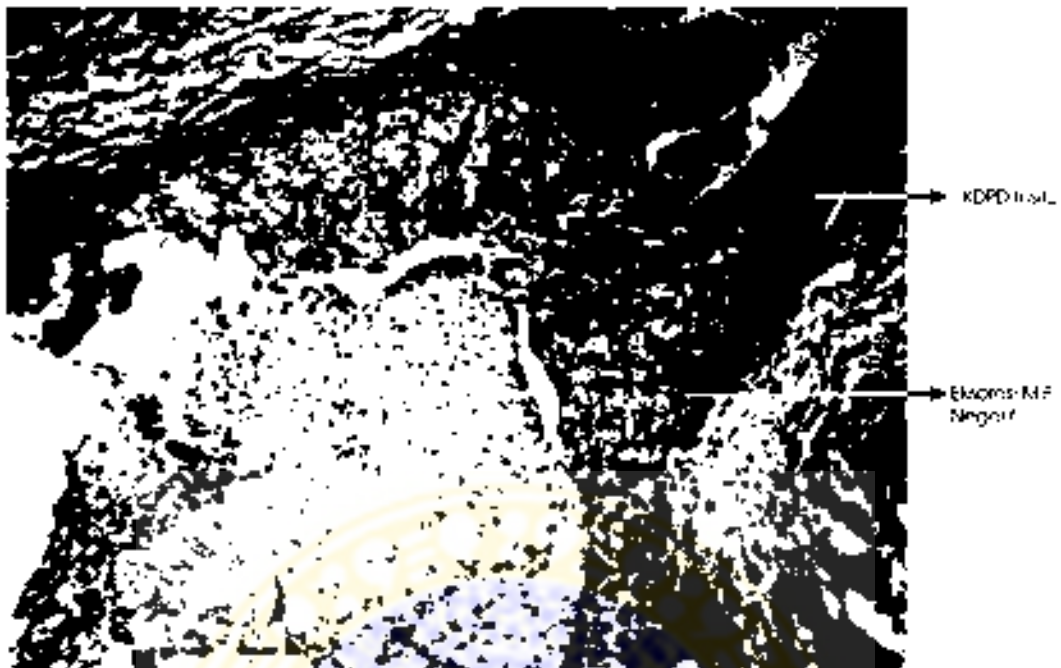
Gambar 5.39 Ekspresi Protein pRb Positif KDPD Invasif dengan Pemeriksaan IHC



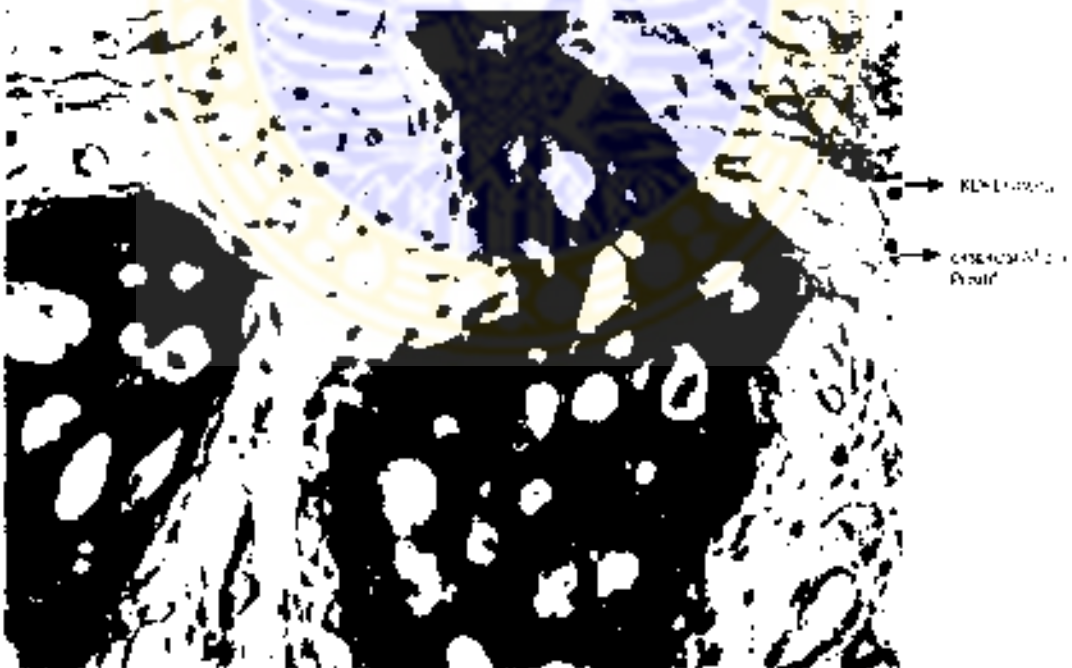
Gambar 5.40 Eksresi pRb Kontrol Pulasan Negatif KDPD Metastasis denoan IHK



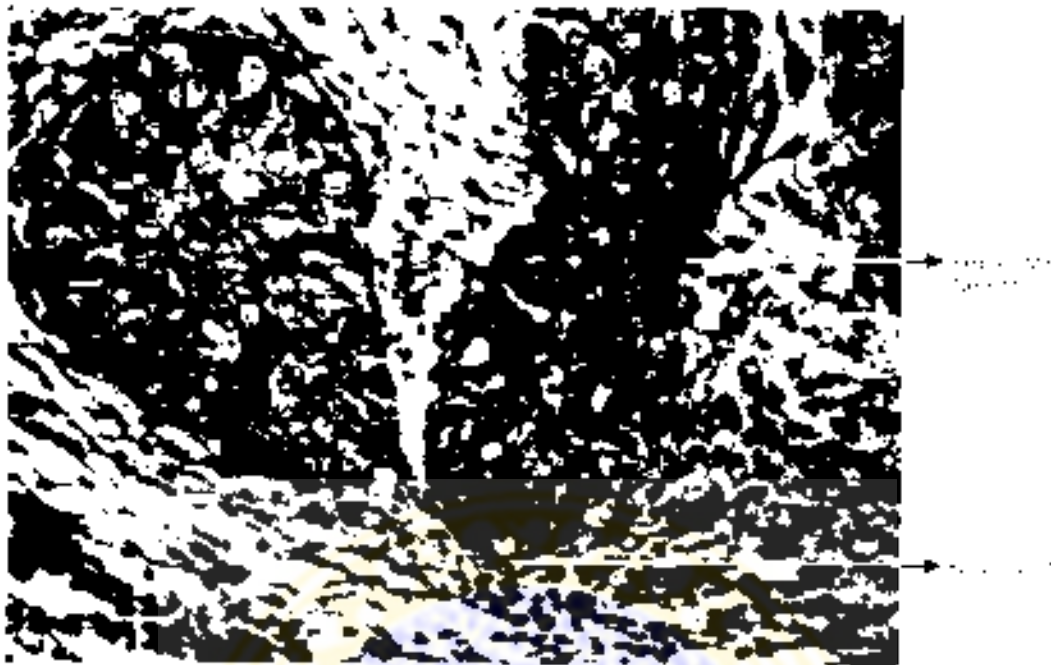
Gambar 5.41 Ekspresi Protein pRb KDPD Metastasis dengan Pulasan IHK



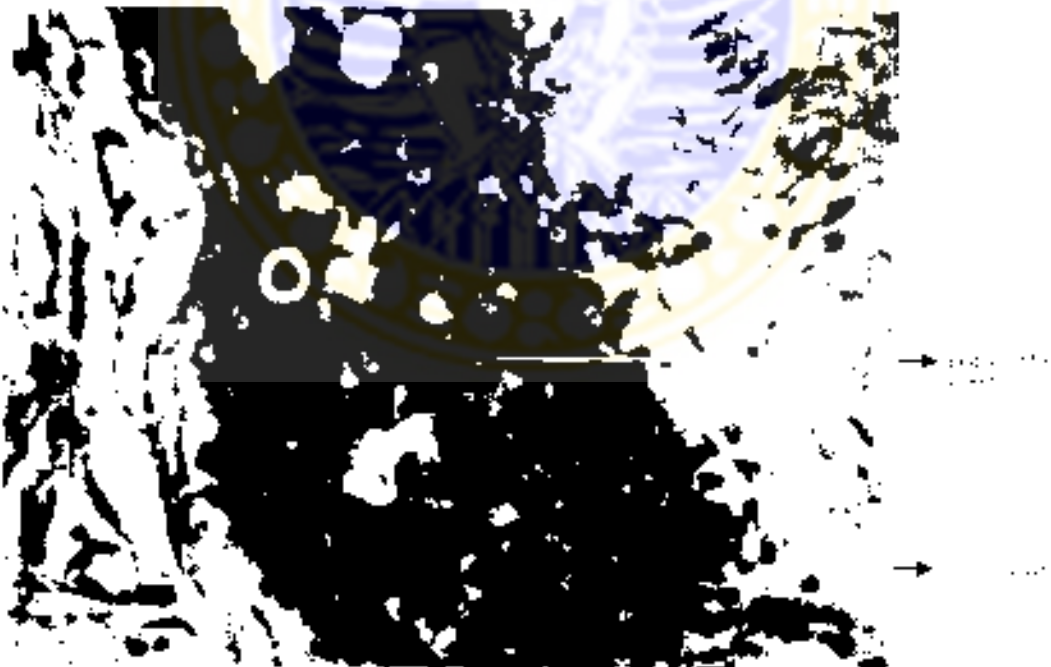
Gambar 5.42 Ekspresi Protein MIB-1 Kontrol Pulasan Negatif KDPD Insitu dengan IHK



Gambar 5.43 Ekspresi Protein MIB-1 Positif KDPD Insitu dengan Pemeriksaan IHK



Gambar 5.44 Eksresi MIB-1 Kontrol Pulasan Neatif KDPD Invasif dengan IHK



Gambar 5.46 Eksresi Protein MIB-1 Positif KDPD Invasif dengan Pemeriksaan IHK

BAB 6

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini diketahui bahwa umur penderita karsinoma duktal payudara (KDPD) berkisar antara 32 sampai 64 tahun (rerata 45,3 tahun), dengan kelompok terbanyak pada usia antara 40 sampai 49 tahun. Karsinoma duktal payudara insitu terbanyak terdapat pada kelompok umur antara 40 sampai 49 tahun, dengan rerata umur 49,7 tahun. Karsinoma duktal payudara invasif terbanyak terdapat pada kelompok umur antara 40 sampai 49 tahun, dengan rerata umur 45,5 tahun. Karsinoma duktal payudara metastasis terbanyak terdapat pada kelompok umur antara 30 sampai 39 tahun, dengan rerata umur 40,7 tahun. Hal ini sesuai dengan laporan sebelumnya yang menyatakan bahwa karsinoma duktal payudara pada perempuan jarang ditemukan sebelum usia 25 tahun, kecuali pada keluarga dengan riwayat penyakit tersebut. Neoplasma yang terjadi pada usia lebih dini telah diketahui bahwa perjalanan penyakitnya lebih progresif dan mempunyai prognosis yang lebih buruk. Penyakit tersebut dilaporkan meningkat dari 1 diantara 323 perempuan pada dekade ke empat menjadi 1 diantara 29 perempuan pada dekade ke tujuh. (Colran et al., 1999 ; Kumar , et al., 2005) Proses modernisasi yang banyak memunculkan stresor fisik maupun psikis, makanan yang tidak sehat karena terkontaminasi dengan bahan berbahaya, pengolahan yang salah, infeksi virus, paparan bahan polutan limbah serta produk industri yang

tidak ramah terhadap kesehatan dan lingkungan, ditambah adanya kerentanan tubuh yang dipicu oleh lesi genetik, menyebabkan kejadian KDPD ditemukan lebih dini dan lebih progresif pertumbuhannya. Kondisi lingkungan, sistem sosial, dan kejiwaan seseorang dapat menyebabkan perubahan perilaku kebiasaan hidup yang tidak sehat. Stimulasi lingkungan dan informasi juga dapat menyebabkan terjadinya perubahan menstruasi yang lebih dini pada perempuan dewasa ini. Menstruasi dini merupakan salah satu faktor meningkatnya kejadian karsinoma payudara. (Kumar, et al., 2005)

Hal menarik juga dapat ditemukan pada data lokasi tumor karsinoma duktal payudara (KDPD), dimana semua kelompok sampel penelitian (KDPD insitu, invasif dan metastasis), menunjukkan informasi yang sama, yaitu bahwa 60 % terjadi pada payudara kanan dan sisanya terjadi pada payudara kiri. Terjadinya kanker payudara banyak dikaitkan dengan perempuan yang tidak punya anak atau tidak adanya aktivitas laktasi. Hal ini sangat mungkin terjadi karena aktivitas fisiologis tidak terjadi pada sel epitel duktus payudara. Pada umumnya menyusui anak dilakukan perempuan Indonesia, kebanyakan lebih sering pada payudara kiri daripada kanan. Hal ini menyebabkan aktivitas fisiologis payudara kanan lebih kurang dibandingkan sebelah kiri. Sehingga dapat dimengerti bahwa terjadinya KDPD lebih sering ditemukan pada payudara kanan. Oleh karena itu aktivitas laktasi sebaiknya dilakukan secara seimbang antara payudara kanan dan kiri. Berkaitan dengan hal ini, pada publikasi

yang dikeluarkan oleh WHO, dikatakan bahwa laktasi mempunyai efek proteksi terhadap terjadinya karsinoma payudara, sehingga sekarang durasi pemberian air susu (laktasi) diperpanjang menjadi sampai 2 tahun (Tavassoli *et al.*, 2003)

Dari data hasil penelitian diperoleh informasi bahwa ukuran diameter tumor sangat bervariasi dari kurang dari 2 cm sampai lebih dari 10 cm. Karsinoma duktal payudara insitu yang ditemukan terbanyak terdapat pada ukuran besar diameter tumor ≤ 2 cm dan > 5 cm, dengan rerata ukuran besar 5,6 cm. KDPD invasif terbanyak terdapat pada ukuran besar diameter tumor lebih dari 2 cm sampai kurang atau sama dengan 5 cm, dengan rerata ukuran besar diameter tumor 4,05 cm. KDPD metastasis terbanyak ditemukan pada ukuran besar diameter tumor kurang atau sama dengan 2 cm, dengan rerata ukuran diameter 3,35 cm. Diduga bahwa karsinoma KDPD insitu mempunyai derajat keganasan lebih rendah dibandingkan dengan KDPD invasif atau metastasis. Daya tahan tubuh penderita karsinoma duktal insitu juga dikatakan lebih kuat dibandingkan dengan karsinoma duktal invasif atau metastasis. Hal ini terbukti bahwa pada sampel penelitian, karsinoma duktal payudara insitu banyak ditemukan adanya proses fibrosis dan infiltrasi sel radang disekitar pertumbuhan tumor. Kondisi yang demikian menyebabkan terjadinya ukuran diameter rata-rata pada karsinoma duktal payudara insitu relatif dapat lebih besar. Informasi tersebut menyebabkan diameter tumor kurang mencerminkan aktivitas biologis karsinoma duktal payudara. Data

dan penelitian menunjukkan kesan bahwa semakin progresif pertumbuhan karsinoma duktal payudara semakin kecil ukuran diameter tumor. Keadaan yang demikian dapat terjadi dimungkinkan juga karena aktivitas biologis sel KDPD tidak hanya satu macam kaskade untuk proses peningkatan proliferasi (siklus sel) saja. Pada sel tumor juga terjadi proses lain, seperti aktivitas biologis untuk menembus dan melewati basal membran, infiltrasi dan invasi melewati stroma jaringan ikat penyangga pada KDPD invasif. Aktivitas biologis juga dapat terjadi pada sel KDPD metastasis, misalnya kemampuan melepaskan diri dari ikatan kelompok sel tumor untuk dapat hidup di organ tubuh lain atau kelenjar getah bening dengan melewati pembuluh dan ikut aliran dalam darah atau limfe menuju ke tempat metastasis yang baru. Oleh karena itu ukuran diameter tumor tidak menunjukkan secara signifikan sebagai penentu prognosis karsinoma payudara (Tsutsui S, 2004)

Diferensiasi tumor yang mencerminkan aktivitas biologis sel, terutama ditunjukkan oleh bentuk dan ukuran sel tumor, khususnya inti sel tumor serta kondisi kromatin inti sel. Dan data penelitian diperoleh keterangan bahwa diferensiasi sel tumor KDPD insitu 10 % adalah baik sedangkan 90 % sel tumor berdiferensiasi buruk. Karsinoma duktal payudara (KDPD) invasif terdiri dari 60 % sel tumor adalah berdiferensiasi sedang dan 40 % buruk. Sedangkan karsinoma duktal payudara (KDPD) metastasis, terdiri dari 10% sel tumor adalah berdiferensiasi sedang dan 90 % berdiferensiasi buruk. Kalau dilihat dengan seksama tampak bahwa

terjadi hal menarik pada dua kelompok KDPD, yaitu pada karsinoma insitu dan metastasis. Keduanya menunjukkan aktivitas sel yang tinggi, yaitu tampak dengan 90 % sel tumor KDPD adalah berdiferensiasi buruk. Hal ini dapat terjadi karena aktivitas biologis sel khususnya dalam inti meningkat berhubungan dengan aktivitas sel tumor melakukan persiapan untuk infiltrasi dan invasi pada KDPD insitu, dan berhubungan dengan aktivitas sel tumor melakukan migrasi ke tempat lain melalui pembuluh darah atau limfe pada KDPD metastasis. Pada karsinoma duktal payudara insitu 90 % tipe komedo yang mempunyai diferensiasi buruk dan 10 % tipe lain (kribiformis) yang mempunyai diferensiasi baik. KDPD insitu tipe komedo mempunyai aktivitas biologis lebih tinggi dari tipe lain, sehingga mempunyai kemampuan berproliferasi yang tinggi. Oleh karena itu terjadi peningkatan jumlah sel yang signifikan, tetapi tidak dimbangi dengan pembentukan neovaskularisasi yang memadai, sehingga terjadi nekrosis sel di bagian tengah tumor. Informasi dari penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa aktivitas biologis KDPD insitu tipe komedo lebih tinggi daripada tipe lainnya. (Tsuda H., 2005) Sedangkan KDPD metastasis mempunyai diferensiasi lebih buruk daripada invasif. Hal ini menunjukkan bahwa diferensiasi tumor yang mencerminkan aktivitas biologis sel tumor tercermin pada progresivitas pertumbuhan KDPD. Telah diketahui bahwa semakin buruk diferensiasi tumor, semakin progresif pertumbuhan KDPD. Oleh karena itu diferensiasi tumor mempunyai korelasi signifikan dengan aktivitas biologis sel, dengan ditunjukkannya

dengan meningkatnya ekspresi onkoprotein oleh sel penyusun tumor (Tsusui S . 2004 ; Tsuda H . 2005)

Grading histopatologis (*grade*) yang mencerminkan gambaran morfologis jaringan tumor, pleomorfisitas sel dan aktivitas mitosis sel, pada penelitian ini menunjukkan bahwa pada KDPD invasif jumlah *grade* I sebanyak 10 %, *grade* II 40 % dan *grade* III 50 % Pada KDPD metastasis jumlah *grade* II sebanyak 10 % dan *grade* III sebanyak 90 %. Data ini menunjukkan bahwa semakin progresif pertumbuhan KDPD, semakin tinggi *grading* histopatologisnya. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa *grading* histopatologis tumor KDPD metastasis lebih tinggi daripada KDPD invasif Hal ini sesuai dengan laporan hasil penelitian sebelumnya, yang menyatakan bahwa aktivitas biologis sel tumor yang ditunjukkan dengan ekspresi berlebihan dari beberapa onkoprotein, terjadi pada KDPD dengan gambaran *grading* histopatologis yang tinggi dan keduanya mempunyai nilai korelasi positif. (Tsuda H . 2005)

Pada penelitian ini, walaupun data sampel ketiga kelompok (karsinoma duktal insitu, invasif dan metastasis) adalah sama, akan tetapi sesungguhnya secara keseluruhan populasi jumlah karsinoma duktal payudara insitu yang merupakan fase awal pertumbuhan kanker, tidak sampai mencapai 10% dari penderita. Bahkan secara mikroskopis didapatkan data bahwa karsinoma duktal payudara dengan diferensiasi sel yang masih baik hanya satu penderita diantara tigapuluh sampel secara keseluruhan (3.33%). Kondisi yang demikian akan menyebabkan

pengelolaan kanker tersebut menjadi semakin sulit dan membutuhkan biaya yang lebih besar, hasil pengobatan dapat lebih jelek dibandingkan dengan apabila penyakit tersebut ditemukan dan diobati secara tepat pada stadium dini. Seperti telah diketahui bahwa penyakit kanker akan memberikan keluhan klinis kalau sudah terjadi gangguan pada tingkat jaringan, organ atau sistem dalam tubuh manusia. Kondisi yang sama juga ditemukan pada laporan penelitian sebelumnya, yaitu diperoleh data bahwa kebanyakan penderita carcinoma duktal payudara ditemukan setelah pada fase lanjut dan berderajat keganasan (*grading* histopatologis) yang tinggi dan diferensiasi buruk. Di Bagian/SMF/Instalasi Patologi Anatomi FK Unair - RSUD. Dr. Soetomo Surabaya, dari seluruh keganasan epitel duktal payudara, dilaporkan bahwa 43 % adalah karsinoma payudara dengan derajat keganasan yang tinggi dan diferensiasi sel kanker yang buruk (Susraini, 2001) Seperti telah diketahui bahwa progresivitas kanker dimulai dari terjadinya perubahan pada tingkat sub sel, sel dan kelompok sel tertentu jaringan, sebelum berlanjut pada organ dan sistem tubuh yang lebih luas. (Kumar , et al., 2005) Timbul pemikiran bahwa seharusnya diagnosis dan penentuan prognosis sudah dapat dilakukan pada waktu sebelum terjadinya gejala dan tanda klinis serta kelainan morfologis. Selanjutnya pilihan terapi sudah dapat dilakukan dengan berdasarkan diagnosis dan penentuan prognosis dari kelainan yang terjadi pada tingkat sub sel, sebelum terjadi gejala dan tanda klinis yang mengakibatkan gangguan fungsi organ dan

sistem dalam tubuh manusia. Peneliti mempunyai pemikiran bahwa sudah saatnya dunia kedokteran sekarang ini menerapkan pendekatan sub sel sebagai dasar dan landasan pikir serta langkah dalam pengambilan keputusan diagnosis, penentuan prognosis dan pilihan terapi kanker, bahkan langkah jauh sebelumnya yaitu pencegahan.

Penelitian ini diharapkan dapat mengungkap mekanisme patologi molekuler jalur kaskade rangsangan yang dimulai dari stimuli ligan golongan *growth factors* (GF) ekstra sel yang selanjutnya berikatan dengan reseptor permukaan sel dan membentuk kompleks ikatan yang akan merangsang dan memicu reaksi yang kompleks dan rumit tetapi teratur dan runtut sampai pada inti sel, dengan target mempengaruhi fungsi gen tertentu dalam inti khususnya dalam hubungannya dengan pertumbuhan atau proliferasi sel tumor. Pada umumnya sel manusia berada dalam keadaan istirahat sampai ia menerima sinyal dari luar yang mengubah perilaku biologisnya secara spesifik sesuai dengan informasi sinyal yang diterimanya. Pertumbuhan, diferensiasi dan *survival* sel normal sangat bergantung pada informasi sinyal eksternal yang diterima. Proses ini dimulai apabila salah satu sel menghasilkan molekul pemberi sinyal informasi. Sinyal tersebut kemudian berikatan dengan reseptor pada permukaan sel sasaran yang spesifik, dan tidak memberikan dampak biologis pada sel yang tidak menampilkan reseptor yang tidak relevan. Pengikatan molekul sinyal ekstra sel pada reseptor akan merangsang berbagai fungsi biokimiawi intrinsik dari reseptor sel

yang bersangkutan. Selanjutnya reseptor yang teraktivasi tersebut, akan memodifikasi jalur intraseluler yang mengendalikan ekspresi gen, mengontrol siklus, metabolisme, arsitektur sitoskeleton, adesi maupun migrasi sel. Dengan demikian dapat dimengerti bahwa berbagai molekul pemberi sinyal dapat mengatur berbagai aspek perilaku biologis sel, termasuk pertumbuhannya. Proses tersebut terjadi secara berurutan dalam sel sebagai respon terhadap rangsangan dan berlangsung dalam suatu kaskade biokimiawi yang sangat teratur yang dimulai dari reseptor pada membran sel sampai nukleus dan mengaktifkan berbagai faktor transkripsi. Siklus pertumbuhan sel dikendalikan oleh berbagai onkogen (gen pemicu) dan gen supresor (gen penghambat), yang memproduksi berbagai protein dan berfungsi sebagai komponen dalam sinyal transduksi yang memungkinkan sel memberikan respon terhadap rangsangan dari luar. Kelainan pada onkogen (gen pemicu) dan atau gen supresor (gen penghambat) tumor dapat menghasilkan protein abnormal dengan fungsi transduksi sinyal abnormal, yang menyebabkan transformasi keganasan. (Krisno B., 2003) Sudah diketahui bahwa salah satu sinyal ekstraseluler diinterpretasikan oleh sel dengan respon pertumbuhan atau proliferasi. Peran di atas dilakukan oleh reseptor tirosin kinase. Salah satunya adalah golongan protein c-erbB yang memiliki empat anggota famili, yaitu c-erbB1, c-erbB2, c-erbB3 dan c-erbB4. Seluruh anggota keluarga reseptor tirosin kinase tersebut mempunyai komponen *extracellular ligand-binding domain*, *membrane-spanning region* dan *cytoplasmic*

protein tyrosine kinase domain. Famili ligan *EGF-related peptide growth factors*, berikatan dengan *extracellular domain* reseptor dan membentuk susunan *homo* dan *heterodimer*. Proses dimerisasi mempunyai konsekuensi untuk merangsang aktivitas *intrinsik tirosin kinase* dari reseptor dan memulai proses autofosforilasi residu tirosin spesifik dalam *cytoplasmic domain*. Residu yang terfosforilasi bertindak sebagai *docking sites* untuk molekul sinyal yang termasuk dalam pengaturan kaskade sinyal intra seluler. Efek dari proses tersebut adalah pada ekspresi gen yang dimaksudkan dengan respon biologis pada aktivasi reseptor. Ekspresi protein reseptor c-erbB pada berbagai jaringan epitelial, mesenkimal dan saraf, berperan secara mendasar pada proses pertumbuhan, proliferasi dan diferensiasi. Disregulasi dari ekspresi protein reseptor c-erbB, khususnya c-erbB1 dan c-erbB2 berdampak pada pertumbuhan dan keganasan dari berbagai tipe kanker pada manusia. (Olayoye, et al., 2000)

Banyak faktor pertumbuhan (GF) dan reseptornya yang telah diketahui. Sebagian besar diantaranya adalah golongan protein *tyrosine kinase* (PTK). Reseptor PTK biasanya diaktivasi melalui pengikatan ligan pada domain ekstraseluler. Aktivasi *protein tyrosine kinase* menginduksi terjadinya dimerisasi reseptor protein *tyrosine kinase*, kemudian terjadi fosforilasi silang antar residu *tyrosine* masing-masing (autofosforilasi). Pengikatan ligan pada reseptornya mengubah struktur dan fungsi reseptor dari keadaan dorman menjadi aktif dan merangsang berbagai fungsi

intrinsik biokimiawi reseptor yang bersangkutan. Berbagai ligan, seperti *epidermal growth factor* (EGF), dapat bertindak sebagai mitogen untuk merangsang proliferasi. Ligan famili *growth factor* (GF) yang bertindak sebagai sinyal eksternal berikatan dengan reseptornya (EGFR atau c-erbB). kemudian reseptor tersebut akan mengaktifasi berbagai "signal transduction pathways" termasuk didalamnya adalah jalur Ras yang akan mensintesis dan menjaga stabilitas *cyclin D*, yang berikatan dengan CDK4 membentuk kompleks *cyclin D-CDK4*. Kompleks *cyclinD-CDK4* akan memfosforilasi Rb yang berikatan dengan protein E2F (membentuk kompleks E2F-Rb) di dalam inti sel. Rb yang terdapat dalam kompleks E2F-Rb bersifat aktif, tetapi sebaliknya dengan protein E2F yang merupakan salah satu faktor transkripsi dalam sel adalah dalam keadaan inaktif Rb yang terfosforilasi menjadi inaktif, menyebabkan protein E2F terlepas dari ikatan kompleks E2F-Rb dan membuat aktivitas transkripsi E2F menjadi aktif. E2F yang aktif tersebut mendorong terjadinya transkripsi *cyclin E*, *cyclin A* dan protein lain yang diperlukan oleh sel untuk melewati "restriction point" pada akhir fase G1, sehingga siklus sel berjalan. Siklus sel dapat berhenti sebagai respons terhadap kerusakan DNA dan stres pada sel yang lain yang dimediasi oleh p53. Ekspresi p53 sendiri dibawah pengaruh regulasi negatif oleh MDM2. yang fungsi regulasi negatifnya dapat dihambat oleh p14ARF. Sel karsinoma sering menunjukkan gangguan peran p53, sehingga terjadi penurunan atau hilangnya fungsi dan protein tersebut.

Secara patologi molekuler hubungan ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 dan pertumbuhan KDPD dapat ditunjukkan dengan adanya peningkatan secara nyata antara ekspresi protein tersebut pada berbagai ukuran diameter besar tumor (yaitu ≤ 2 cm, $>2 - < 5$ cm, dan > 5 cm), diferensiasi (baik, sedang dan buruk), progresivitas KDPD (insitu, invasif dan metastasis), dan *grading* histopatologis tumor (rendah, sedang dan tinggi). Artinya bahwa ekspresi protein tersebut di atas berfungsi pada penentuan berbagai ukuran diameter besar tumor, diferensiasi, progresivitas dan *grading* histopatologis tumor KDPD.

Ekspresi protein c-erbB2 mencerminkan banyak dan besarnya rangsangan sinyal dari ekstra sel yang dapat diterima dan membentuk kompleks dengan reseptor permukaan yang bertindak sebagai protein onkogen (gen pemicu). Protein reseptor onkogen c-erbB2 setelah membentuk kompleks dengan ligan ekstra sel (golongan *growth factors*, GF) berubah menjadi bentuk dimer (heterodimer), dan proses fosforilasi. Ekspresi protein c-erbB2 dalam bentuk terfosforilasi inilah yang menunjukkan reaksi positif pada penelitian.

Protein p53 pada sel normal adalah sebagai pengendali pada proses perbaikan DNA dan pemicu terjadinya rangkaian peristiwa kematian sel yang terprogram (*programmed cell death*). Pada sel tumor KDPD fungsi ekspresi protein p53 menjadi berkurang bahkan menjadi hilang. Sehingga pada sel tumor yang mengalami kerusakan genetik tidak punya kesempatan untuk mendapat perbaikan dan terus berlanjut mengikuti

proses proliferasi dan tidak dapat diprogram kematiannya (apoptosis), sehingga siklus sel tidak terkendali. Dengan demikian dapat dimengerti bahwa terjadinya akumulasi kerusakan genetik pada sel tumor semakin lama semakin luas. Ekspresi protein p53 seperti inilah yang terdeteksi dan bereaksi positif dalam penelitian. Hampir pada semua sel kanker manusia paling sering ditemukan mutasi pada gen p53. (Duffi M., 2005)

Protein pRb mengalami fosforilasi akibat pengaruh rangsangan dan kompleks *cyclinD-CDK4*. Protein pRb dalam sel istirahat, berikatan aktif dengan protein E2F dan membentuk kompleks E2F-Rb di dalam inti sel dan bersifat aktif. Protein E2F yang merupakan salah satu faktor transkripsi dalam kompleks E2F-Rb bersifat inaktif. Dengan terfosforilasinya Rb, protein E2F terlepas dari ikatan kompleks E2F-Rb dan menjadi aktif. Protein E2F yang aktif tersebut mendorong terjadinya transkripsi *cyclinE* dan protein lain yang diperlukan oleh sel untuk melewati "restriction point", sehingga siklus sel dapat berjalan. Protein pRb yang mengalami fosforilasi inilah yang terdeteksi dan bereaksi positif pada penelitian. Protein MIB-1 mencerminkan aktivitas proliferasi sel dalam tubuh manusia. Epitop antigen protein Ki67 sangat menyerupai dengan antigen protein MIB-1. Sampai sekarang belum dapat diterima secara umum batasan (*cut off point*) untuk penghitungan MIB-1. Terdapat 6 batasan yang ada, yaitu 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30%. Nilai batasan MIB-1 untuk prognosis yang paling kuat (baik) adalah ditunjukkan ketika dipakai batasan 10%. (Tsutsui, et al., 2004)

Progresivitas pertumbuhan secara biologis suatu karsinoma adalah dimaksudkan dengan proliferasi sel tumor yang prominen. Parameter yang paling sering dipakai untuk menggambarkan hal ini adalah label Ki-67 (MIB-1), sebab antigen ini diekspresikan oleh semua sel, kecuali pada fase G0. Pada karsinoma payudara, progresivitas siklus sel adalah parameter penting untuk menilai agresivitas biologis. (Ito, et al., 2004). Aktivitas proliferasi dapat ditentukan dengan menghitung gambaran mitosis pada pulasan HE, penilaian dengan analisis *flowcytometri* pada *S-phase fraction* atau pemeriksaan IHK ekspresi protein Ki-67 atau MIB-1 dan PCNA (Tsutsui, et al., 2004). Ekspresi protein MIB-1 inilah yang terdeteksi bereaksi positif pada penelitian

Ekspresi protein gen c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 dinilai secara semi kuantitatif dari pemeriksaan imunohistokimia. Untuk menunjukkan adanya perbedaan ekspresi semua protein tersebut terhadap berbagai kelompok ukuran diameter tumor, diferensiasi, progresivitas dan *grading* histopatologis karsinoma duktal payudara (KDPD) secara bersama dilakukan uji multivariat.

Analisis multivariat ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 terhadap berbagai ukuran diameter tumor karsinoma duktal payudara (KDPD) menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 adalah yang tertinggi pada semua kelompok ukuran besar diameter tumor, yaitu KDPD dengan ukuran < 2 cm (rerata 77,05), KDPD dengan ukuran > 2 - < 5 cm (rerata 48,82) dan KDPD dengan ukuran > 5 cm (rerata 95,63)

Hal ini menunjukkan bahwa fungsi dari ekspresi protein onkogen reseptor c-erbB2 adalah penting, sebab merupakan pintu pertama proses jalur rangsangan dari ekstra sel. Dimana jalur tersebut berperan pada pengendalian pertumbuhan dari sel tumor secara keseluruhan. Tidak ada satupun variabel ekspresi protein yang menunjukkan hubungan secara linier dengan meningkatnya ukuran diameter tumor. Bahkan tampak kesan terdapat hubungan terbalik, dimana ekspresi protein menurun (rerata ekspresi) pada peningkatan ukuran besar diameter tumor KDPD. Kemungkinan hal ini terjadi karena ukuran besar diameter tumor tidak semua mencerminkan aktivitas biologis sel penyusunnya. Bahkan pada tumor KDPD metastasis ditunjukkan dengan ukuran besar diameter yang kecil. Pada KDPD metastasis aktivitas biologis sel tumor adalah paling tinggi. Tetapi aktivitas biologis yang tercermin pada ekspresi protein gen tidak hanya mengendalikan dan mengontrol siklus sel, tetapi juga metabolisme sel, arsitektur sitoskeleton, adesi dan migrasi sel. Dengan demikian dapat dimengerti bahwa walaupun ukuran diameter KDPD metastasis relatif lebih kecil dibandingkan dengan KDPD insitu dan invasif, tetapi tumbuh lebih progresif. Pada penelitian ini diketahui bahwa dari uji statistik yang dapat dilihat dari tabel 5.33 menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai kelompok ukuran besar diameter tumor KDPD secara bersama adalah berbeda, dengan dibuktikan secara uji statistik metode multivariat, Wilks' Lambda, dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$. Hal ini berarti bahwa semua variabel ekspresi

protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 berbeda untuk berbagai ukuran diameter tumor KDPD. Tidak adanya korelasi linier antara berbagai ekspresi onkoprotein dengan ukuran diameter karsinoma duktal payudara telah disampaikan pada laporan penelitian sebelumnya. Pada studi sebelumnya telah dilaporkan bahwa umur, ukuran besar tumor, macam operasi, terapi kemo adjuvan, terapi hormon adjuvan dan terapi radio post operasi, mempunyai nilai p yang tidak bermakna pada prognosis. (Tsutsui .. et al., 2004) Pada pemilihan petanda molekuler (*tumor marker*), ekspresi onkoprotein reseptor c-erbB2 dapat dipakai sebagai parameter biologis karena sudah dapat terdeteksi pada tumor KDPD dengan ukuran diameter tumor yang masih kecil, dan dapat dipakai sebagai petanda morfofungsi prognosis pada tumor yang berukuran masih kecil karena disamping sudah dapat dideteksi sejak tumor masih kecil, juga ekspresi protein reseptor permukaan sel tersebut tetap tinggi pada tumor karsinoma duktal payudara yang mempunyai ukuran yang lebih besar.

Analisis multivariat ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 terhadap berbagai diferensiasi tumor karsinoma duktal payudara (KDPD) menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 adalah yang tertinggi pada hampir semua kelompok diferensiasi tumor dan relatif meningkat secara linier, yaitu KDPD dengan diferensiasi baik (rerata 8,00), KDPD dengan diferensiasi sedang (rerata 89,43) dan KDPD dengan diferensiasi buruk (rerata 69,14). Hal ini menunjukkan bahwa fungsi dari ekspresi protein onkogen reseptor c-erbB2 adalah penting dalam proses penghantaran

sinyal ekstra seluler yang mengatur siklus sel. Dimana jalur tersebut berperan pada pengendalian pertumbuhan dari sel . Aktifitas sel yang tercemrin dari diferensiasi tumor, khususnya aktivitas dalam int sel, menunjukkan bahwa terdapat hubungan dengan ekspresi protein c-erbB2. Diperoleh data dari penelitian sebelumnya, yang menyatakan bahwa ekspresi yang berlebihan dari protein reseptor permukaan c-erbB2 berhubungan dengan *grading* histopatologis dan diferensiasi sel tumor. Dilaporkan bahwa pada studi tersebut ditemukan bahwa ekspresi berlebihan onkoprotein c-erbB2 sebesar 15 sampai 20 % dari kanker payudara primer (Tsuda H., et al., 2005) Terdapat tiga variabel ekspresi protein yang terkesan menunjukkan hubungan secara linier dengan meningkatnya aktivitas biologis sel tumor, yang ditunjukkan dengan semakin memburuknya diferensiasi KDPD. Terdapat kesan bahwa ada korelasi linier positif, dimana ekspresi protein meningkat (rerata ekspresi) pada peningkatan aktivitas biologis sel, yaitu semakin buruk diferensiasi tumor KDPD Ketiga variabel ekspresi protein yang menunjukkan hubungan secara linier dengan meningkatnya aktivitas biologis sel tumor, adalah protein p53, pRb dan MIB-1. Hal ini terjadi karena diferensiasi tumor mencerminkan aktivitas biologis sel tumor KDPD. Walaupun demikian dan uji statistik yang dapat dilihat dari tabel 5.34 menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai kelompok diferensiasi tumor KDPD secara bersama adalah berbeda, dengan dibuktikan secara uji statistik metode multivariat,

Wilks' Lambda dengan $p = 0.000 < \alpha = 0,05$. Pada penelitian ini ekspresi onkoprotein reseptor c-erbB2 dapat dipakai sebagai parameter biologis karena sudah dapat terdeteksi pada tumor KDPD dengan diferensiasi tumor yang masih baik, dan dapat dipakai sebagai petanda (*tumor marker*) untuk menentukan prognosis pada tumor KDPD. Ekspresi protein c-erbB2, disamping sudah dapat terdeteksi sejak tumor masih berdiferensiasi baik, protein reseptor permukaan sel tersebut tetap tinggi pada tumor KDPD berdiferensiasi buruk. Sedangkan ekspresi protein p53 (rerata KDPD diferensiasi baik: 10,00; KDPD diferensiasi sedang: 18,71 dan KDPD diferensiasi buruk: 35,86), pRb (rerata KDPD diferensiasi baik: 16,00; KDPD diferensiasi sedang: 15,86 dan KDPD diferensiasi buruk: 28,64) dan MIB-1 (rerata KDPD diferensiasi baik: 5,00; KDPD diferensiasi sedang: 15,86 dan KDPD diferensiasi buruk: 28,64). Ketiga ekspresi protein tersebut terus meningkat seiring dengan semakin meningkatnya aktivitas biologis sel tumor KDPD yang ditunjukkan dengan semakin buruknya diferensiasi sel tumor, dan dapat dipakai sebagai petanda morfofungsi (*tumor marker*) dalam penentuan prognosis. Walaupun pada ekspresi protein pRb terdapat penurunan sedikit pada kelompok tumor KDPD diferensiasi sedang. Dlaporkan bahwa pada penelitian sebelumnya telah diperoleh keterangan yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara ekspresi protein p53 dengan diferensiasi sel tumor, dengan $p < 0,0001$. Terdapat pula hubungan antara ekspresi protein p53 dengan MIB-1, dengan $p < 0,0001$. Tetapi pada penelitian kali

ini tidak dilakukan uji terhadap kedua variabel tersebut. Laporan tersebut menyatakan bahwa ekspresi protein p53 sebesar 26,4 %. Pada diferensiasi baik dan sedang sebesar 67 % dan diferensiasi buruk 32 %. Sedangkan ekspresi protein MIB-1 yang berlebihan terdapat pada 40,8 % dari kasus penelitian. (Tsutsui , et al., 2004)

Analisis multivariat ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 terhadap berbagai progresivitas pertumbuhan tumor karsinoma duktal payudara (KDPD) menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 adalah yang tertinggi pada hampir semua kelompok progresivitas pertumbuhan tumor, yaitu KDPD insitu (rerata 61,50), KDPD invasif (rerata 82,90) dan KDPD metastasis (rerata 71,30). Hal ini menunjukkan bahwa fungsi protein onkogen reseptor c-erbB2 menentukan dalam proses pengendalian progresivitas pertumbuhan tumor. Dimana protein tersebut terletak pada jalur yang berperan pada pengendalian pertumbuhan dari sel tumor. Aktifitas sel yang tercermin dari progresivitas pertumbuhan tumor, menunjukkan hubungan positif dengan ekspresi protein c-erbB2. Penelitian sebelumnya juga menyatakan bahwa ekspresi yang berlebihan dari onkoprotein c-erbB2 ditemukan pada 33 % karsinoma duktal insitu, dan 60 % dari kejadian tersebut terdeteksi pada karsinoma duktal insitu tipe komedo. Hal yang sama dijumpai seperti pada penelitian ini adalah bahwa ekspresi berlebihan onkoprotein c-erbB2 karsinoma duktal insitu (33 %) lebih tinggi dari pada karsinoma duktal invasif (13 %). Tetapi pada penelitian ini tidak dilakukan pada kelompok karsinoma duktal metastasis.

(Tsuda, et al., 2005) Terdapat tiga variabel ekspresi protein yang terkesan menunjukkan hubungan secara linier dengan meningkatnya aktivitas biologis sel tumor, yang ditunjukkan dengan semakin progresif pertumbuhan tumor KDPD, dimana ekspresi protein meningkat (rerata ekspresi) pada peningkatan aktivitas biologis sel, yaitu semakin meningkatnya progresivitas tumor KDPD. Ketiga variabel ekspresi protein yang menunjukkan hubungan secara linier dengan meningkatnya aktivitas biologis sel tumor, adalah protein p53, pRb dan MIB-1. Kondisi demikian dapat terjadi karena progresivitas pertumbuhan adalah mencerminkan aktivitas biologis sel tumor KDPD. Dengan demikian dapat dimengerti bahwa meningkatnya rangsangan ligan (famili GF) ekstra sel dan ekspresi onkoprotein reseptor c-erbB2, selanjutnya akan meningkatkan proses fosforilasi pRb dan ekspresi protein MIB-1. Hal yang menarik terjadi adalah ekspresi protein p53, dimana pada keadaan normal berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan sel yang mengalami cacat genetik. Ekspresi protein p53 yang meningkat seiring dengan meningkatnya progresivitas pertumbuhan tumor pada penelitian ini, dapat diterangkan bahwa, protein p53 yang diekspresikan oleh sel tumor KDPD bukanlah protein p53 yang masih normal (*wild type*), tetapi protein tersebut sudah berubah dengan menurun atau hilangnya fungsi yang sebenarnya. Sehingga kemampuan untuk menghambat pertumbuhan sel tumor sudah berkurang atau hilang. Hampir semua keganasan yang terjadi pada manusia, ditemukan adanya mutasi pada gen p53. Walaupun demikian

dari uji statistik yang dapat dilihat dari tabel 5.35. menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 pada berbagai kelompok progresivitas pertumbuhan tumor KDPD secara bersama adalah berbeda, dengan dibuktikan secara uji statistik metode multivariat, Wilks' Lambda dengan $p=0,000 < \alpha=0,05$. Protein c-erbB2 yang diekspresikan paling tinggi pada berbagai kelompok progresivitas pertumbuhan, protein p53 dan MIB-1 yang diekspresikan secara linier pada berbagai kelompok progresivitas pertumbuhan, dapat dipakai sebagai faktor prognosis KDPD.

Analisis multivariat ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 terhadap berbagai *grading* histopatologis tumor karsinoma duktal payudara (KDPD) menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2 adalah yang tertinggi pada hampir semua kelompok *grade* tumor. Sekali lagi dapat dikatakan bahwa fungsi ekspresi protein onkogen reseptor c-erbB2 adalah penting dan bertanggung jawab pada jalur pengendalian siklus sel. Jalur tersebut berperan pada pengendalian pembelahan dari sel tumor, dan menunjukkan bahwa terdapat hubungan dengan ekspresi protein c-erbB2. Penelitian sebelumnya juga menyatakan bahwa ekspresi yang berlebihan dan onkoprotein c-erbB2 ditemukan pada karsinoma duktal insitu (33 %) lebih tinggi dari pada karsinoma duktal invasif (13 %). Tetapi pada penelitian ini tidak dilakukan pada kelompok karsinoma duktal metastasis. (Tsuda, et al., 2005) Pada *grade* I dan II sebesar 67 % dan *grade* III sebanyak 32 %. Sedangkan ekspresi protein MIB-1 yang

berlebihan terdapat pada 40,8 % dari kasus penelitian. (Tsutsui , et al , 2004) Ada 2 variabel protein yang terkesan menunjukkan hubungan secara linier dengan meningkatnya aktivitas biologis sel tumor, yang ditunjukkan dengan semakin meningkatnya *grading* histopatologis tumor KDPD. Terdapat hubungan linier positif, dimana ekspresi protein meningkat (rerata ekspresi) pada peningkatan aktivitas biologis sel, yaitu dengan semakin meningkatnya *grade* tumor KDPD. Kedua variabel ekspresi protein yang menunjukkan hubungan secara linier dengan meningkatnya aktivitas biologis sel tumor tersebut, adalah protein p53 dan MIB-1. Hal ini terjadi karena peningkatan *grade* tumor adalah mencerminkan aktivitas biologis tumor KDPD, walaupun dari uji statistik yang dapat dilihat dari tabel 5.50 yang menunjukkan bahwa ekspresi protein c-erbB2, p53 dan pRb (kecuali MIB-1) pada berbagai kelompok *grading* histopatologis tumor KDPD secara bersama adalah berbeda, dengan dibuktikan secara uji statistik metode multivariat, Wilks' Lambda dengan $p=0,00 < \alpha=0,05$. Pada penelitian ini, ekspresi onkoprotein reseptor c-erbB2 dapat dipakai sebagai parameter biologis karena sudah dapat terdefeksi pada derajat keganasan yang rendah dari tumor KDPD, dan dapat dipakai sebagai petanda morfofungsi untuk menentukan prognosis pada tumor. Ekspresi onkoprotein reseptor c-erbB2 sudah dapat dideteksi sejak tumor *grade* rendah, dan ekspresi protein reseptor permukaan sel tersebut tetap tinggi pada tumor dengan *grade* sedang dan tinggi. Ekspresi protein p53 (rerata KDPD *grade* I: 4,00; KDPD *grade* II:

23,60 dan KDPD grade III: 45,71), akan berperan kalau dipakai sebagai petanda morfofungsi (*tumor marker*) dalam penentuan prognosis, karena ekspresi protein tersebut terus meningkat secara linier seiring dengan semakin meningkatnya aktivitas biologis sel tumor KDPD yang ditunjukkan dengan semakin meningkatnya grading histopatologis tumor.

Analisis diskriminan dengan mengklasifikasikan data pada berbagai pengelompokan penelitian untuk menentukan prognosis dan pilihan terapi yang tepat, membutuhkan sistem pengelompokan yang baik dari KDPD. Pada penelitian ini karsinoma duktal payudara dibedakan dalam 4 macam sistem pengelompokan, yaitu berdasarkan ukuran diameter (≤ 2 cm, > 2 cm sampai ≤ 5 cm dan > 5 cm), diferensiasi (baik, sedang dan buruk), progresivitas pertumbuhan tumor (insitu, invasif dan metastasis) dan grading histopatologis (rendah, sedang dan tinggi). Semua sistem pengelompokan tersebut di atas kemudian dilakukan uji statistik dengan data penelitian, untuk menentukan sistem pengelompokan yang paling baik, dalam menentukan prognosis dan pilihan terapi yang tepat pada karsinoma duktal payudara. Dari tabel 5.40, pengelompokan data penelitian berdasarkan ukuran diameter tumor (≤ 2 cm, > 2 cm sampai ≤ 5 cm dan > 5 cm), diperoleh keterangan yang menyatakan bahwa, sebanyak 5 kasus dengan diameter tumor ≤ 2 cm, 9 kasus dengan diameter tumor antara > 2 cm sampai ≤ 5 cm, dan 3 kasus dengan diameter tumor > 5 cm terklasifikasi dengan benar atau sebesar 56,7% dari total sampel penelitian terklasifikasi menurut diameter tumor.

Dari tabel 5.41, diperoleh keterangan bahwa, sebanyak 22 kasus dengan diferensiasi buruk, terklasifikasi dengan benar atau sebesar 73,3% dari total sampel penelitian yang terklasifikasi menurut diferensiasi sel tumor.

Dari tabel 5.42, diperoleh keterangan bahwa, sebanyak 7 kasus karsinoma duktal payudara insitu, 2 kasus karsinoma duktal payudara invasif, dan 5 kasus karsinoma duktal payudara metastasis, terklasifikasi dengan benar atau sebanyak 46,7 % dari total sampel penelitian terklasifikasi menurut progresivitas pertumbuhan tumor.

Dari tabel 5.43, diperoleh keterangan bahwa, sebanyak 7 kasus dengan *grading* histopatologis rendah, 1 kasus dengan *grading* histopatologis sedang, dan 8 kasus dengan *grading* histopatologis tinggi, terklasifikasi dengan benar atau sebanyak 53,3 % dari total sampel penelitian terklasifikasi menurut *grading* histopatologis sel tumor.

Berdasarkan data dan pembahasan pada penelitian ini diperoleh hasil, bahwa diferensiasi sel tumor (morfologis), ekspresi protein c-erbB2 dan p53 (morfofungsi) mempunyai nilai prognosis paling bermakna pada karsinoma duktal payudara, yang selanjutnya dapat dipakai sebagai petanda tumor dalam penentuan prognosis dan pilihan terapi yang tepat pada karsinoma duktal payudara (KDPD).

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

Atas dasar berbagai data dan uraian di atas dapat ditarik kesimpulan dan dikemukakan beberapa saran, sebagai berikut :

7.1 Kesimpulan

- A. Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 diekspresikan berbeda secara bermakna pada berbagai ukuran diameter tumor (≤ 2 cm, > 2 cm sampai ≤ 5 cm dan > 5 cm), diferensiasi (baik, sedang dan buruk), progresivitas pertumbuhan (insitu, invasif dan metastasis) dan *grading* histopatologis (rendah, sedang dan tinggi) pada karsinoma duktal payudara, yang merupakan tampilan morfologis dan manifestasi klinis.
- B. Proses pertumbuhan karsinoma duktal payudara (KDPD), yang ditunjukkan oleh diameter, diferensiasi, progresivitas dan *grading* histopatologis, merupakan akumulasi fungsi dari ekspresi protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1 dalam sel tumor, tetapi terutama ditunjukkan oleh ekspresi protein c-erbB2 dan p53, dengan tampilan morfologis utama adalah diferensiasi tumor.

- C.** Protein c-erbB2 (gen pemicu tumor atau *oncogene*) diekspresikan paling tinggi dan meningkat secara bermakna pada berbagai diameter, diferensiasi, dan progresivitas pertumbuhan pada karsinoma duktal payudara.

Protein c-erbB2 pada karsinoma duktal payudara, disamping diekspresikan secara berlebihan oleh sel tumor, juga dapat terjadi perubahan struktur dan fungsi dari protein tersebut yang mengakibatkan aktifitas biologis sel menjadi meningkat

- D.** Protein p53 (gen apoptosis dan perbaikan DNA) diekspresikan meningkat secara bermakna dan linier pada berbagai diferensiasi, progresivitas pertumbuhan dan *grading* histopatologis pada karsinoma duktal payudara (KDPD).

Protein p53 yang diproduksi dan diekspresikan oleh sel tumor berbeda dengan pada sel normal, yang menyebabkan fungsi protein p53 mengalami penurunan (hipofungsional) atau hilang (afungsional) sama sekali. Hal ini dapat terjadi karena adanya mutasi dari gen p53.

- E.** Protein pRb (gen penghambat tumor atau *suppressor gene*) diekspresikan meningkat secara bermakna pada berbagai

diferensiasi dan progresivitas pertumbuhan pada karsinoma duktal payudara

- F. Protein MIB 1 (gen aktivitas proliferasi sel) diekspresikan meningkat secara bermakna pada berbagai diferensiasi dan progresivitas pertumbuhan pada karsinoma duktal payudara.

7.2 Saran

- A. Ekspresi protein **c-erbB2** dan **p53** dapat dipakai sebagai **petanda morfofungsi** dalam usaha untuk menentukan prognosis dan pilihan terapi yang tepat pada tumor karsinoma duktal payudara (KDPD).
- B. Parameter **diferensiasi** dapat dipakai sebagai **petanda morfologis** dalam usaha untuk menentukan prognosis dan pilihan terapi yang tepat pada tumor karsinoma duktal payudara (KDPD).
- C. Dimasa mendatang perlu dilakukan penelitian terhadap **gen** yang menyandi onko-protein tersebut di atas, untuk mengungkap mekanisme pertumbuhan karsinoma duktal payudara (KDPD).

DAFTAR PUSTAKA

- Alsagaf JH., 1998.** Role of Immunohistochemistry In The Diagnosis of Tumor Pathology Modern Pathology for Service and Research on Cancer. Dutch Foundation for Graduate Course in Indonesia. Airlangga University School of Medicine -- Dr. Soetomo General Hospital Surabaya
- Arribas M, Nunez-Villar MJ, Lucas AR, Sanchez J, Tejerina A, Schneider J, 2003.** Immunofluorometric Study of Bcl-2 and Bax Expression in Clinical Fresh Tumor Samples from Breast Cancer Patients. *Anticancer Research, January, Vol 23, No 1B* 565-568
- Balsari A, Casalini P, Tagliabue E, Greco M, Pilotti S, Agresti R, Giovanazzi R, Alasio R, Rumio C, Cascinelli N, Colnaghi M, Menard S, 1999** Fluctuation of HER2 Expression in Breast Carcinomas during the Menstrual Cycle. *American Journal of Pathology, November Vol 155 No. 5* 1543-1547
- Baselga J, 2002** Combined anti-EGF Receptor and Anti-HER2 Receptor Therapy in Breast Cancer - A Promising Strategy Ready for Clinical Testing. *Annals of Oncology, January, Vol 13, No 1* 1-3
- Bilous M., Dowset M., Hanna W., Isola J., Lebeau A., Moreno A., Llorca F.P., Ruschoff J., Tomasic G., Vijver M. V. D., 2003.** Current Perspectives on HER2 Testing: A Review of National Testing Guidelines. *The United States and Canadian Academy of Pathology Inc. Vol 15 No 2* 173-182

Birne P, Oberhuber G, Stani J, Reithofer C, Samonigg H, Hausmaninger H, Kubista E, Kwasny W, Eckersberger D K, Gnant M, Jakesz R, and the Austrian Breast & Colorectal Cancer Study Group, 2001. Evaluation of the United States Food and Drug Administration-approved Scoring and Test System of HER2 Protein Expression in Breast Cancer. *Clinical Cancer Research*, Juni. Vol 7 . 669- 1675

Carly L.L., Anger K.R., Carpenter C., Duckwoth B., Gaziani A., Kapeller R., and Soltoff S., 1991. Oncogenes and Signal Transductions. 64 281- 302

Cho HS., Mason K., Ramyar KX., Stanley AM., Gabelli SB., Denney Jr DW., Leahy DJ., 2003. Struktur Of The Extra Cellular Region Of HER-2 Alone And In Complex With The Herceptine Fab *Nature*, February Vol. 421: 756-760

Cooper GM., Hausman RE., 2004. *The Cell, A Molecular Approach*, 3rd Sunderland, Massachusetts, pp: 539-673

Cook T, Reeves J, Lanigan, A, Stanton P, 2001, HER2 as a Prognostic and Predictive Marker for Breast Cancer *Annal of Oncology*. Vol 12 Supp 1 23-28

Cotran RS, Kumar V, Collin T, 1996. *Robbins Pathologic Basis of Disease* 6th ed Philadelphia, WB Saunders Co pp 604-607

Dasgupta P., Sun J., Wang S., et al., 2004. Disruption of the Rb – Raf-1 Interactor Inhibits Tumor Growth and Angiogenesis *Molecular and Cellular Biology*. November. Vol. 24, No 21 9527-9542

- Derenzini M., Ceccarelli C., Santini D., Taffureli M., Trere D., 2004.** The Prognostic Value of The AgNOR Parameter in Human Breast Cancer Depends on The pRb and p53 Status, *Journal of Clinical Pathology*, 57: 755-761
- Desai P., 2000,** Immunohistochemical Techniques for Tissue Staining. 1st Pg Course in Clinical Pathology and 2nd Course in Immunology Basic and Clinical Immunopathology in Cancer, Yogyakarta Ind., August 28-Sept 1
- Di Giovanna MP., Stern DF., Edgerton SM., et al., 2005.** Relation of Epidermal Growth Factor Receptor Expression to erbB2 Signaling Activity and Prognosis in Breast Cancer Patients. *Journal of Clinical Oncology*, February Vol 23, No. 6 1152 –1160
- Duffy MJ., 2005.** Predictive Marker in Breast and Other Cancer. A Review. *Clinical Chemistry*, Vol. 51, No 3 494 – 503
- Ferdinal F, 2003,** Kanker Dari Perspektif Biokimia: Onkogen dan Transduksi Sinyal. The 6th Course And Workshop Basic Sciences in Oncology. pp: 1-25
- Fleishman SJ, Schlessinger J, Ben-Tal N, 2002.** A Putative Molecular-Activation switch in the Transmembrane of erbB2 PNAS December, Vol 99, No 25 15937-15940
- Goepel J.R., 1994.** Responses to Cellular Injury. IN *General and Systematic Pathology*. Ed By Underwood J.C.E. Churchill Livingstone pp 71-92

- Gronbaek H., Flyvbjerg A., Mellekjaer L., et al., 2004.** Serum Insulin-Like Growth Factors, Insulin-Like Growth Factor Binding Proteins, and Breast Cancer Risk in Postmenopausal Women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* November, Vol. 13, No. 11. 1759-1763
- Hait WN** 2001 The Prognostic and Predictive Values of ECD- HER2. *Clinical Cancer Research*, September, Vol 7: 2601-2604
- Hanahan D., Weinberg R.A., 2000.** The Hallmarks of Cancer. *Cell.* Vol 100, Jan 7 57-70
- Harris L.N, Yang L, Liotcheva V, Pauli S, Iglehart JD, Colvin OM, Hsieh TS, 2001.** Induction of Topoisomerase II Activity after ErbB2 Activated with a Differential Response to Breast Cancer Chemoterapy. *Clinical Cancer Research*, Juni Vol 7 1497- 1504
- Haryana SM, 2002** Mutagenesis and Transformation. IN: *Course and Workshop Basic in Oncology.* July. Jakarta. 1-14
- Hayes DF., 2005.** Prognostic and Predictive Factor for Breast cancer Translating Technology to Oncology. *Journal of Clinical Oncology* March, Vol 23, NO 8. 1596-1597
- Hayes DF, Yamauchi H, Broadwater G, Cirincione CT, Rodrigue SP, Berry DA, Younger J, Panasci LL, Millard F, Duggan DB, Norton L, Henderson C, 2001.** Circulating HFR2 / erbB2 / c-neu (HFR2) Extracellular Doman as a Procnostis Factor in Patient with Metastatic Breast Cancer *Clinica Cancer Research* September, Vol 7 2703-2711

Huang GC., Hobbs S, Walton M, Epstein RJ, 2002. Dominant Negative Knockout of p53 abolishes ErbB-2 dependent apoptosis and Permits Growth Acceleration in Human Breast Cancer. *Br J Cancer*. April, 8; 86 7: 1104-1109

Indrawati, Ghazali A., Harijadi, Aryandono, 2004. Correlation Between Cell Proliferation Activity (MIB-1), p53 and c-ErbB-2 Expression with Breast Cancer Status. *Majalah Patologi Indonesia- Indonesian Journal of Pathology*, January, Vol. 13, No. 1: 17- 22

Iris, Zemzoum, Kates RE, Ross JS, Deltmar P, Dutta M, Henrichs C, Yurdseven S, Hoffer H, Kiechle M, Schmitt M, Harbeck N, 2003. Invasion Factor uPA/ PAI-1 and HER2 Status Provide Independent and Complementary Information on Patient Outcome in Node- Negative Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, March, Vol. 21, No. 6 :1022-1028

Ito Y., Yoshida H., Urano T., et al., 2004. Expression of cdc 25A and cdc 25B Phosphatase in Breast Carcinoma. *Breast Carcinoma*, August, Vol. 11, No 3 : 295-301

Kauraniem P, Barlund M, Monni O, Kallioniemi A, 2001. New Amplified and Highly Expressed Genes Discovered in the ErbB2 Amplicon in Breast Cancer by cDNA Microarrays. *Cancer Research* November, 61 : 8235-8240

Kumar V., Abbas AK., Fausto N., 2005. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th Ed. Philadelphia, WB Saunders : 287-290

- Kuroda H., Sakamoto G., Ohnisi H., and Hoyam S., 2004.**
Overexpression Of Her2/neu, Estrogen and Progesteron Receptors in Invasive Micropapillary Carcinoma of the Breast, Breast cancer, August, Vol. 11, No. 3: 301 – 305
- Kusumowardoyo, Panuwun T., Lunardi J.H., Yoewarini E., 2004.**
Beberapa Aspek Sitologi dan Histologi Kanker Payudara, Temu Ilmiah, Indonesian Issues on Breast Cancer (HBC)-1,Februari, Surabaya: 1-17
- Leal C, Henrique R, Monteiro P, Lopes C, Bento MJ, De Sousa CP, Olson S, Silva MD, Page DL, 2001.** Apocrine Ductal Carcinoma insitu of the Breast : Histologic Classification and Expression of Biologic Markers, Human Pathology, May, Vol. 32, No. 5 . 487-493
- Lee W.H., 1993,** Tumor Suppresor Genes, The Hope, Faseb: 819-20
- Li Y, Bhuiyan M, Alhasan S, Adrian M, Senderowicz, Sarkar FH, 2000.**
Induction of Apoptosis and Inhibition of c-ErbB2 in Breast Cancer by Flavopiridol. Clinical Cancer Research, January, Vol. 6 : 223-229
- Melody A., Cobleigh, Charles L., Vogel, et al., 1999.** Multinasional Study The Efficasy and Safety of Humanized Anti-HER2 Monodonal Antibody in Woman Who Have HER2 Overexpressing Metastatic Breast Cancer That Has Progressed After Chemotherapy for Metastatic Disease. Journal of Clinical Oncology, September, Vol 17, No 9 2639-2648

Menard S, Casalini P, Tomasic G, Pilotti S, Cascinelli N, Bufalino R, Perrone F, Longhi C, Rilke F, Colnaghi MI, 1999. Pathobiologic Identification of Two Distinct Breast Carcinoma Subsets with Diverging Clinical Behaviors, *Breast Cancer Res Treat*, May. Vol. 55. No 2 : 169-177

Menendez JA., Vellon L, Mehmi I, et al., 2004. Inhibition of Fatty Acid Synthase (FAS) Supresses HER2/ neu (erbB2) Oncogen Overexpression in Cancer Cell *PNAS*, July. Vol 101. No. 29: 10715-10720

Moliterni A, Menard S, Valagusa P, Biganzali E, Baracchi P, Balsari A, Casalini P, Tomasic G, Marubini E, Pilotti S, Bondonna G, 2003. Her2 Overexpression and Doxorubicin in Adjuvant Chemotherapy for Respectable Breast Cancer, *Journal of Clinical Oncology*. February. Vol 21, No. 3. 458-462

Moulder S. L, Yakes FM, Muthuswamy SK, Bianco R, Simson JF, Arteaga CL, 2001. Epidrml Growth Factor Receptor (HER1) Tyrosine Kinase Inhibitor ZD 1839 (Iressa) Inhibits HER2/ neu (erbB2)-Overexpressing Breast Cancer Cells in Vitro and in Vivo *Cancer Research* December, 61 . 8887- 8895

Murray R.K., 2000. Cancer Genes and Growth Factor. IN. Murray R.K . Granner D.K, Mayes P.A, Rodwel V.W (Ed) *Harpers Biochemistry*. 25th ed. Apleton and Lange

- Nagy P., Jenel A., Damjanovich S., Jovin T.M., Szollosi J., 1999.** Complexity of Signal Transduction Mediated by ErbB2 : Clues to the Potential of Receptor – Targeted Cancer Therapy, *Pathology Oncology Research*, Vol. 5, No. 4 : 255-271
- Onody P., Bertrand F., Muzeau F., Bieche I., Lindaeau R., 2001.** Fluorescence In Situ Hybridization and Immunohistochemical Assay for HER2 / neu Status Determination, Application to Node-Negative Breast Cancer. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, Vol. 125: 746-750
- Olayioye MA., Neve RM., Lane HA., and Hynes NE., 2000.** The erbB Signaling Network: Receptor Heterodimerization in Development and Cancer, *The EMBO Journal*, Vol. 19, No 13: 3159-3167
- Park S. H, Kim H, Song BJ, 2002.** Down Regulation of Bcl2 expression in Invasive Ductal Carcinomas Is Both Estrogen and Progesterone Receptor Dependent and Associated with Poor Prognostic Factors, *Pathology Oncology Research*, Vol. 8, No 1 :26-30
- Pous M.F, Hacene K, Bouchet C, Doussal, VL, Hulin MT, Spyrtos F, 2000.** Relationship Between c-ErbB2 and Other Tumor Characteristic in Breast Cancer Prognosis. *Clinical Cancer Research*, December . Vol. 6: 4745-4754
- Rahmah NA., 2005.** Expression C-erbB2 and MDR-1 Protein in some Malignancy Grading of Invasif Ductal Carcinoma of the Breast and Related to Cal Neoadjuvant Chemotherapy Response. 10th National Conference of IAPI. Surabaya. September. 17- 18: 109-128

Rosai J., 1996. Ackerman's Surgical Pathology, 8th ed. Mosby-Year Book, Inc St Louis Missouri

Rosai J., 2004. Ackerman's Surgical Pathology, 9th. Ed, Mosby An affiliated of Elsevier Inc. Printed in China

Streufus C, Bigler L, Dellinger T, Dai X, Kingman A, Thigpen JT, 2000. The Presence of Soluble c- ErbB2 in Saliva and Serum among Women with Breast Carcinoma A Preliminary Study, Clinical Cancer Research. Juni , Vol.6 2363- 2370

Suryohudoyo P., 2003. Kumpulan Materi Kuliah Biologi Molekuler, Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya

Susraini A.A.A., 2001. Ekspresi Gen Bcl-2 Indeks Apoptosis dan Diameter Tumor pada berbagai grading Karsinoma Duktal Klasik Payudara. Karya Akhir PPDS-PA. RSUD Dr. Soetomo-f K Unair Surabaya

Tavassoli F.A., Devilee P., 2003. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. IARC Press- Lyon. pp 13-25

Tsuda H., Morita D., Kimura., et al., 2005. Correlation of KIT and EGFR Overexpression with Invasive Ductal Breast Carcinoma of The Solid Tubular Subtype, Nuclear Grade 3, and Mesenchymal or Myoepithelial Differentiation Cancer Sci. January Vol 96. No 1 48-53

Tsutsui S., Yasuda K., Higashi H., et al., 2004. Prognostic Implication of P53 Protein Expression in Relation to Nuclear Pleomorphism and the MIB-1 Count in Breast Cancer, *Breast Cancer*, April, Vol. 11, No. 2 : 160-168

Underwood J.C.E, 1994. General and Systematic Pathology, 3th ed, Hongkong, Churchill Livingstone, pp: 457-484

Yamashita H., Nishio M., Toyama T., Sugira H., Zhang Z., Kobayashi S., Iwase H., 2004. Coexistence of HER2 Over-expressing and p53 protein Accumulation is a Strong prognostic Molecular Marker in Breast Cancer, *Breast Cancer Res.*, 6: 24-30

Yang C., Tiba VI., Burn K., et al., 2004. The role of The Cyclin D1-Dependent Kinase in erbB2- Mediated Breast Cancer, *American Journal of Pathology*, March, Vol. 164, No. 3: 1031-1038

Yarnold J.R., 1996. What are Cancer Genes and How do They Upset Cell Behavior. IN: *Molecular Biology for Oncologist*, Second Edition, Chapman & Hall- London, pp: 1-15

Yasasever V., Dincer M., Camlica H., Duranyildiz D., Dalay N., 2000. Serum c-ErbB2 Oncoprotein Levels Are Elevated in Recurrent and Metastatic Breast Cancer, *Clinical Biochemistry*. 2000, Vol.33, No 4: 315-317

Lampiran a:



PEMERINTAH PROPINSI JAWA TIMUR
RUMAH SAKIT UMUM Dr. SOETOMO

Jl. Mayjen. Prof. Dr. Moestopo No. 6 - 8 Telp. (031) 5501011 - 5501012
SURABAYA

16 NOV 2005

Komor : 070/ /304.3.X012005
 Sifat :
 Lamp. : 2 (dua) lembar keterangan
 Kelaikan Etik
 Hal : Ethical Clearance o n :
 dr Imam Susilo, SpPA

Kepada Yth.
 Ketua SMF/Bag. Pathologi
 Anatomi FK UNAIR/RSU
 Dr. Soetomo Surabaya
 Surabaya

Menindak lanjuti permintaan Ketua SMF/Bag. Pathologi Anatomi FKUA RSU Dr. Soetomo Surabaya tanggal 11 Oktober 2005 nomor : 116/JD3.1.17/PA/X/2005 perihal permohonan izin untuk penelitian, dengan ini dibentangkan bahwa Panitia Etik Penelitian Kesehatan RSU Dr. Soetomo Surabaya telah mempelajari dengan seksama rancangan penelitian dengan judul

**" Ekspresi Protein e-ErbB-2, Rb, p53, Rb dan MIB-1
 pada Karsinoma Duktal Payudara, Hubungannya
 dengan Progresivitas Tumor "**

dengan ini diberitahukan bahwa rancangan penelitian diatas oleh Panitia Etik Penelitian Kesehatan RSU Dr. Soetomo Surabaya dinyatakan **LAIK ETIK** dan kami mengizinkan kepada yang bersangkutan (Peneliti Utama) untuk melakukan/melaksanakan penelitian dengan syarat :

1. Tidak ada biaya tambahan yang dibebankan kepada pasien maupun pihak RSU Dr. Soetomo Surabaya
2. Sebelum pelaksanaan penelitian, yang bersangkutan (Peneliti Utama) harap menghubungi Bid LITBANG RSU Dr. Soetomo Surabaya.
3. 2 (dua) lembar sertifikat kelaikan etik dimaksud dapat diambil di Bidang LITBANG RSU Dr. Soetomo Surabaya
 1 (satu) lembar sertifikat untuk peneliti utama, sedangkan 1 (satu) lembar sertifikat sebagai lunasannya untuk Ketua SMF/Bag. Pathologi Anatomi FKUA/RSU Dr. Soetomo Surabaya
4. Setelah selesai penelitian, harap kepada yang bersangkutan untuk mengirimkan 2 (dua) eksemplar hasil penelitiannya kepada Bidang LITBANG RSU Dr. Soetomo Surabaya

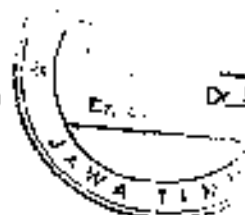
Atas perhatian Ketua SMF/Bag. Patology Anatomi FKUA / RSU Dr. Soetomo Surabaya, kami sampaikan terima kasih.

Tembusan : Kepada Yth

- Dekan FK UNAIR Surabaya
- Ketua Pan. Etik Penelitian Kesehatan RSU Dr. Soetomo
- Kepala Bid. LITBANG RSU Dr. Soetomo Surabaya
- Dr. Imam Susilo, SpPA. Staf pada SMF/Bag. Pathology Anatomi FK UNAIR/RSU Dr. Soetomo Surabaya

A.n Direktur
 Widy. Pendidikan & Penelitian,

Dr. Mardianto, SpOG-KPM
 NIP. 130520447



Lampiran b:



**PANITIA ETIK PENELITIAN KESEHATAN
RSU Dr. SOETOMO SURABAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 52/Panke.KKE/2005

PANITIA KELAIKAN ETIK RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA, TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN BERJUDUL:

" Ekspresi Protein c-ErbB-2, p53, Rb
dan MIB-1 pada Karsinoma Duktal Payudara, Hubungannya
dengan Progresivitas Tumor "

PENELITI UTAMA: Dr. Imam Susilo, SpFA

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN: RSUD Dr. Soetomo Surabaya

DINYATAKAN LAIK ETIK.

SURABAYA, 23 Mei 2005

KETUA I.

(Prof. H. R. Hariadi, dr., SpOG-K)

Lampiran A :**Umur Penderita Karsinoma Duktal Payudara Insitu**

No	Nomor Lab	Umur
1	479/03	42
2	710/03	60
3	1841/03	35
4	1909/03	56
5	2780/03	45
6	1280/04	64
7	1526/04	64
8	1942/04	40
9	2744/04	46
10	287/05	59

Data umur penderita KDPD insitu

Umur (Tahun)	Jumlah	Prosentase (%)
30 – 39	1	10
40 – 49	4	40
50 – 59	3	30
60 – 69	2	20
Total	10	100

Lampiran B :**Umur Penderita Karsinoma Duktal Payudara Invasif**

No	Nomor Lab	Umur
1	444/03	47
2	1047/03	43
3	78/04	33
4	337/04	42
5	1382/04	45
6	1861/04	56
7	2020/04	51
8	319/05	46
9	477/05	45
10	514/05	47

Data umur penderita KDPD invasif

Umur (Tahun)	Jumlah	Prosentase (%)
30 - 39	1	10
40 - 49	7	70
50 - 59	2	20
60 - 69	.	.
Total	10	100

Lampiran C :**Umur Penderita Karsinoma Duktal Payudara Metastasis**

No	Nomor Lab	Umur
1	3496/03	50
2	1747/04	55
3	1863/04	39
4	2720/04	48
5	560/05	41
6	1225/03	45
7	1319/03	35
8	2180/04	32
9	408/05	43
10	497/05	39

Data umur penderita KDPD metastasis

Umur (Tahun)	Jumlah	Prosentase (%)
30 – 39	5	50
40 – 49	4	40
50 – 59	1	10
60 – 69	-	-
Total	10	100

Lampiran D :

**Lokasi dan Besar Tumor Penderita
Karsinoma Duktal Payudara Insitu**

No	Nomor Lab	Lokasi tumor	Diameter tumor terbesar (cm)
1	479/03	Sinistra	10
2	710/03	Sinistra	1
3	1841/03	Sinistra	1.5
4	1909/03	Dekstra	5.5
5	2780/03	Dekstra	10
6	1260/04	Dekstra	1
7	1626/04	Dekstra	1
8	1942/04	Dekstra	18
9	2744/04	Dekstra	3.5
10	287/05	Dekstra	4

Data ukuran besar KDPD

Besar Tumor (cm)	Jumlah	Prosentase (%)
≤ 2	4	40
$2 < x \leq 5$	2	20
> 5	4	40
Total	10	100

Lampiran E :

**Lokasi dan Besar Tumor Penderita
Karsinoma Duktal Payudara Invasif**

No	Nomor Lab	Lokasi tumor	Diameter tumor terbesar (cm)
1	444/03	Dekstra	3
2	1097/03	Sinistra	2.5
3	78/04	Dekstra	4
4	337/04	Dekstra	1.5
5	1382/04	Dekstra	3
6	1861/04	Dekstra	4
7	2020/04	Sinistra	4.5
8	319/05	Sinistra	6
9	477/05	Dekstra	10
10	514/05	Sinistra	2

Data ukuran besar KDPD invasif

Besar Tumor (cm)	Jumlah	Prosentase (%)
≤ 2	2	20
$2 < x \leq 5$	6	60
> 5	2	20
Total	10	100

Lampiran F :

**Lokasi dan Besar Tumor Penderita
Karsinoma Duktal Payudara Metastasis**

No	Nomor Lab	Lokasi tumor	Diameter tumor terbesar (cm)
1	3496/03	Dekstra	3,5
2	1747/04	Sinistra	1
3	1863/04	Sinistra	2
4	2720/04	Dekstra	2
5	560/05	Sinistra	7
6	1225/03	Sinistra	8
7	1319/03	Dekstra	2
8	2180/04	Dekstra	4
9	408/05	Dekstra	2,5
10	497/05	Dekstra	1,4

Data ukuran besar KDPD metastasis

Besar Tumor (cm)	Jumlah	Prosentase (%)
≤ 2	5	50
$2 < x \leq 5$	3	30
> 5	2	20
Total	10	100

Lampiran G :**Diferensiasi Sel Tumor Karsinoma Duktal Payudara Insitu**

No	No Lab	Diferensiasi Sel Tumor
1	479/03	3
2	710/03	3
3	1841/03	3
4	1909/03	1
5	2780/03	3
6	1260/04	3
7	1626/04	3
8	1942/04	3
9	2744/04	3
10	287/05	3

Data diferensiasi sel KDPD Insitu

Diferensiasi Sel	Jumlah	Prosentase (%)
Baik	1	10
Setang	-	-
Buruk	9	90
Total	10	100

Lampiran H :**Diferensiasi Sel Tumor Karsinoma Duktal Payudara Invasif**

No	No Lab	Diferensiasi Sel Tumor
1	444/03	2
2	1097/03	3
3	78/04	3
4	337/04	2
5	1382/04	2
6	1861/04	2
7	2020/04	3
8	319/05	3
9	477/05	2
10	514/05	2

Data diferensiasi sel KDPD invasif

Diferensiasi Sel	Jumlah	Prosentase (%)
Baik	-	-
Sedang	6	60
Buruk	4	40
Total	10	100

Lampiran t :

Diferensiasi Sel Tumor Karsinoma Duktal Payudara Metastasis

No	No Lab	Diferensiasi Sel Tumor
1	3496/03	3
2	1747/04	2
3	1863/04	3
4	2720/04	3
5	560/05	3
6	1225/03	3
7	1319/03	3
8	2180/04	3
9	408/05	3
10	497/05	3

Data diferensiasi sel KDPD metastasis

Diferensiasi Sel	Jumlah	Prosentase (%)
Baik	-	-
Sedang	1	10
Buruk	9	90
Total	10	100

Lampiran J :**Ekspresi Protein c-erbB2 pada Karsinoma Duktal Payudara Insitu**

No	No Lab	c-erbB2	
		Kuantif (200 sel)	Interprestasi
1	479/03	164	+
2	710/03	18	-
3	1841/03	108	+
4	1909/03	8	-
5	2780/03	14	-
6	1260/04	17	-
7	1626/04	118	+
8	1942/04	132	+
9	2744/04	15	-
10	287/05	19	-

Data ekspresi protein c-erbB2 KDPD insitu

Ekspresi Protein c-erbB2	Jumlah	Prosentase (%)
Positif	4	40
Negatif	6	60
Total	10	100

Lampiran K :

Ekspresi Protein c-erbB2 pada Karsinoma Duktal Payudara Invasif

No	No Lab	c-erbB2	
		Kuantif (200 sel)	Interprestasi
1	444/03	120	+
2	1097/03	18	-
3	78/04	19	-
4	337/04	116	+
5	1382/04	120	+
6	1861/04	6	-
7	2020/04	14	-
8	319/05	160	+
9	477/05	98	+
10	514/05	158	+

Data ekspresi protein c-erbB2 KDPD invasif

Ekspresi Protein c-erbB2	Jumlah	Prosentase (%)
Positif	6	60
Negatif	4	40
Total	10	100

Lampiran L :

**Ekspresi Protein c-erbB2 pada Karsinoma Duktal Payudara
Metastasis**

No	No Lab	c-erbB2	
		Kuantif (200 sel)	Interprestasi
1	3496/03	86	+
2	1747/04	8	-
3	1863/04	164	+
4	2720/04	12	-
5	560/05	170	+
6	1225/03	19	-
7	1319/03	86	+
8	2180/04	18	-
9	408/05	102	+
10	497/05	48	+

Data ekspresi protein c-erbB2 KDPD metastasis

Ekspresi Protein c-erbB2	Jumlah	Prosentase (%)
Positif	6	60
Negatif	4	40
Total	10	100

Lampiran M :

Ekspresi Protein p53 pada Karsinoma Duktal Payudara Insitu

No	No Lab	Ekspresi p53	
		Kuantif (200 sel)	Interprestasi
1	479/03	7	-
2	710/03	4	-
3	1841/03	72	+
4	1909/03	10	-
5	2780/03	4	-
6	1260/04	6	-
7	1628/04	28	+
8	1942/04	3	-
9	2744/04	5	-
10	287/05	26	+

Data ekspresi protein p53 KDPD insitu

Ekspresi Protein p53	Jumlah	Prosentase (%)
Positif	3	30
Negatif	7	70
Total	10	100

Lampiran N :**Ekspresi Protein p53 pada Karsinoma Duktal Payudara Invasif**

No	No Lab	Ekspresi p53	
		Kuantif (200 sel)	Interprestasi
1	444/03	58	+
2	1097/03	46	+
3	78/04	64	+
4	337/04	4	-
5	1382/04	2	-
6	1861/04	22	+
7	2020/04	18	-
8	319/05	16	-
9	477/05	5	-
10	514/05	9	-

Data ekspresi protein p53 KDPD invasif

Ekspresi Protein p53	Jumlah	Prosentase (%)
Positif	4	40
Negatif	6	60
Total	10	100

Lampiran O :

Ekspresi Protein p53 pada Karsinoma Duktal Payudara Metastasis

No	No Lab	Ekspresi p53	
		Kuantif (200 sel)	Interprestasi
1	3496/03	32	+
2	1747/04	28	+
3	1863/04	44	+
4	2720/04	86	+
5	560/05	18	-
6	1225/03	66	+
7	1319/03	12	-
8	2180/04	19	-
9	408/05	108	+
10	497/05	102	+

Data ekspresi protein p53 KDPD matastasis

Ekspresi Protein p53	Jumlah	Prosentase (%)
Positif	7	70
Negatif	3	30
Total	10	100

Lampiran P :

Ekspresi Protein pRb pada Karsinoma Duktal Payudara Insitu

No	No Lab	Ekspresi pRb	
		Kuantif (200 sel)	Interprestasi
1	479/03	8	-
2	710/03	4	-
3	1841/03	62	+
4	1909/03	16	-
5	2780/03	38	+
6	1260/04	6	-
7	1626/04	32	+
8	1942/04	12	-
9	2744/04	5	-
10	287/05	12	-

Data ekspresi protein pRb KDPD Insitu

Ekspresi Protein pRb	Jumlah	Prosentase (%)
Positif	3	30
Negatif	7	70
Total	10	100

Lampiran Q :

Ekspresi Protein pRb pada Karsinoma Duktal Payudara Invasif

No	No Lab	Ekspresi pRb	
		Kuantif (200 sel)	Interprestasi
1	444/03	9	-
2	1097/03	12	-
3	78/04	10	-
4	337/04	56	+
5	1382/04	8	-
6	1861/04	14	-
7	2020/04	10	-
8	319/05	48	+
9	477/05	8	-
10	514/05	12	-

Data ekspresi protein pRb KDPD Invasif

Ekspresi Protein pRb	Jumlah	Prosentase (%)
Positif	2	20
Negatif	8	80
Total	10	100

Lampiran R :**Ekspresi Protein pRb pada Karsinoma Duktal Payudara Metastasis**

No	No Lab	Ekspresi pRb	
		Kuantif (200 sel)	Interprestasi
1	3496/03	7	-
2	1747/04	4	-
3	1863/04	8	-
4	2720/04	98	+
5	560/05	18	-
6	1225/03	62	+
7	1319/03	22	+
8	2180/04	18	-
9	408/05	102	+
10	497/05	38	+

Data ekspresi protein pRb KDPD metastasis

Ekspresi Protein pRb	Jumlah	Prosentase (%)
Positif	5	50
Negatif	5	50
Total	10	100

Lampiran S :

Ekspresi Protein MIB-1 pada Karsinoma Duktal Payudara Insitu

No	No Lab	Ekpresi MIB-1	
		Kuantif (200 sel)	Interprestasi
1	479/03	4	-
2	710/03	6	-
3	1841/03	52	+
4	1909/03	5	-
5	2780/03	22	+
6	1260/04	7	-
7	1626/04	12	-
8	1942/04	7	-
9	2744/04	4	-
10	287/05	44	+

Data ekspresi protein MIB-1 KDPD insitu

Ekspresi Protein MIB-1	Jumlah	Prosentase (%)
Positif	3	30
Negatif	7	70
Total	10	100

Lampiran T :

Ekspresi Protein MIB-1 pada Karsinoma Duktal Payudara Invasif

No	No Lab	Ekspresi MIB-1	
		Kuantif (200 sel)	Interprestasi
1	444/03	12	-
2	1097/03	10	-
3	78/04	68	+
4	337/04	24	+
5	1382/04	14	-
6	1861/04	23	+
7	2020/04	8	-
8	319/05	11	-
9	477/05	7	-
10	514/05	6	-

Data ekspresi protein MIB-1 KDPD invasif

Ekspresi Protein MIB-1	Jumlah	Prosentase (%)
Positif	3	30
Negatif	7	70
Total	10	100

Lampiran U :**Ekspresi Protein MIB-1 pada Karsinoma Duktal Payudara Metastasis**

No	No Lab	Ekspresi MIB-1	
		Kuantif (200 sel)	Interprestasi
1	3496/03	26	+
2	1747/04	19	-
3	1863/04	14	-
4	2720/04	142	+
5	560/05	6	-
6	1225/03	5	-
7	1319/03	6	-
8	2180/04	24	+
9	408/05	178	+
10	497/05	28	+

Data ekspresi protein MIB-1 KDPD metastasis

Ekspresi Protein MIB-1	Jumlah	Prosentase (%)
Positif	5	50
Negatif	5	50
Total	10	100

Lampiran V :

**Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb, dan MIB-1
pada Berbagai Ukuran Diameter Besar Tumor Karsinoma Duktal
Payudara Insitu**

No	No Lab	Diameter terbesar tumor (cm)	Ekspresi c-erbB2	Ekspresi p53	Ekspresi pRb	Ekspresi MIB-1
1	479/03	10	+	-	-	-
2	710/03	1	-	-	-	-
3	1841/03	1.5	+	+	+	+
4	1909/03	5.5	-	-	-	-
5	2780/03	10	-	-	+	+
6	1260/04	1	-	-	-	-
7	1626/04	1	+	+	+	-
8	1942/04	18	+	-	-	-
9	2744/04	3.5	-	-	-	-
10	287/05	4	-	+	-	+

Lampiran W :

**Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb dan MIB-1
pada Berbagai Ukuran Diameter Besar Tumor Karsinoma Duktal
Payudara Invasif**

No	No Lab	Diameter terbesar tumor (cm)	Ekspresi c-erbB2	Ekspresi p53	Ekspresi pRb	Ekspresi MIB-1
1	444/03	3	+	+	-	-
2	1097/03	2.5	-	+	-	-
3	78/04	4	-	+	-	+
4	337/04	1.5	+	-	+	+
5	1382/04	3	+	-	-	-
6	1861/04	4	-	+	-	+
7	2020/04	4.5	-	-	-	-
8	319/05	6	+	-	+	-
9	477/05	10	+	-	-	-
10	514/05	2	+	-	-	-

Lampiran X :

**Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb, dan MIB-1
pada Berbagai Ukuran Diameter Besar Tumor Karsinoma Duktal
Payudara Metastasis**

No	No Lab	Diameter terbesar tumor (cm)	Ekspresi c-erbB2	Ekspresi p53	Ekspresi pRb	Ekspresi MIB-1
1	3496/03	3.5	+	+	-	+
2	1747/04	1	-	+	-	-
3	1863/04	2	+	+	-	-
4	2720/04	2	-	+	+	+
5	560/05	7	+	-	-	-
6	1225/03	8	-	+	+	-
7	1319/03	2	+	-	-	-
8	2180/04	4	-	-	-	+
9	408/05	2.5	+	+	+	+
10	497/05	1.4	+	+	+	+

Lampiran Y :

**Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb, dan MIB-1
pada Berbagai Diferensiasi Tumor Karsinoma Duktal
Payudara(KDPD) Insitu**

No	No Lab	Diferensiasi Sel	Ekspresi c-erbB2	Ekspresi p53	Ekspresi pRb	Ekspresi MIB-1
1	479/03	Buruk	+	-	-	-
2	710/03	Buruk	-	-	-	-
3	1841/03	Buruk	+	+	+	+
4	1909/03	Baik	-	-	-	-
5	2780/03	Buruk	-	-	+	+
6	1260/04	Buruk	-	-	-	-
7	1626/04	Buruk	+	+	+	-
8	1942/04	Buruk	+	-	-	-
9	2744/04	Buruk	-	-	-	-
10	287/05	Buruk	-	+	-	+

Lampiran Z :

**Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb, dan MIB-1
pada Berbagai Diferensiasi Tumor Karsinoma Duktal Payudara
Invasif**

No	No Lab	Diferensiasi Sel	Ekspresi c-erbB2	Ekspresi p53	Ekspresi pRb	Ekepresi MIB-1
1	479/03	Sedang	+	+	-	-
2	710/03	Buruk	-	+	-	-
3	1841/03	Buruk	-	+	-	+
4	1909/03	Sedang	+	-	+	+
5	2780/03	Sedang	+	-	-	-
6	1260/04	Sedang	-	+	-	+
7	1626/04	Buruk	-	-	-	-
8	2397/04	Buruk	+	-	+	-
9	2744/04	Sedang	+	-	-	-
10	287/05	Sedang	+	-	-	-

Lampiran AA :

**Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb, dan MIB-1
pada Berbagai Diferensiasi Tumor Karsinoma Duktal Payudara
Metastasis**

No	No Lab	Diferensiasi	Ekspresi c-erbB2	Ekspresi p53	Ekspresi pRb	Ekspresi MIB-1
1	479/03	Buruk	+	+	-	+
2	710/03	Sedang	-	+	-	-
3	1496/03	Buruk	+	+	-	-
4	1909/03	Buruk	-	+	+	+
5	1260/04	Buruk	+	-	-	-
6	1626/04	Buruk	-	+	+	-
7	1942/04	Buruk	+	-	-	-
8	287/05	Buruk	-	-	-	+
9	450/05	Buruk	+	+	+	+
10	560/05	Buruk	+	+	+	+

Lampiran BB

**Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb, dan MIB-1
Pada Berbagai Grading Histopatologis Karsinoma Duktal Payudara
Invasif**

No	No Lab	Grade	Ekspresi c-erbB2	Ekspresi p53	Ekspresi pRb	Ekspresi MIB-1
1	479/03	II	+	+	-	-
2	710/03	III	-	+	-	-
3	1841/03	III	-	+	-	+
4	1909/03	I	+	-	+	+
5	2780/03	II	+	-	-	-
6	1260/04	II	-	+	-	+
7	1626/04	III	-	-	-	-
8	2397/04	III	+	-	+	-
9	2744/04	III	+	-	-	-
10	287/05	II	+	-	-	-

Lampiran CC

**Ekspresi Protein c-erbB2, p53, pRb, dan MIB-1
pada Berbagai Grading Histopatologis Karsinoma Duktal Payudara
Metastasis**

No	No Lab	Grade	Ekspresi c-erbB2	Ekspresi p53	Ekspresi pRb	Ekspresi MIB-1
1	479/03	III	+	+	-	+
2	710/03	II	-	+	-	-
3	1496/03	III	+	+	-	-
4	1909/03	III	-	+	+	+
5	1260/04	III	+	-	-	-
6	1626/04	III	-	+	+	-
7	1942/04	III	+	-	-	-
8	287/05	III	-	-	-	+
9	450/05	III	+	+	+	+
10	560/05	III	+	+	+	+

Lampiran DD :**NPar Tests****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		c-erbB2	pRB	p53	MIB-1
N		30	30	30	30
Normal	Mean	1.6342	1.2094	1.2672	1.1615
Parameters(a,b)	Std. Deviation	.49344	.40385	.46906	.43742
Most Extreme	Absolute	.231	.160	.118	.132
Differences	Positive	.231	.160	.118	.132
	Negative	-.229	-.087	-.089	-.100
Kolmogorov-Smirnov Z		1.265	.875	.647	.723
Asymp. Sig. (2-tailed)		.081	.428	.797	.673

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data

ANALISIS

Untuk c-erbB2 $p=0,81 > \alpha = 0,05$, Data Berdistribusi Normal

Untuk pRB $p=0,428 > \alpha = 0,05$, Data Berdistribusi Normal

Untuk p53 $p=0,797 > \alpha = 0,05$, Data Berdistribusi Normal

Untuk MIB-1 $p=0,81 > \alpha = 0,05$, Data Berdistribusi Normal

ANALISIS UNTUK DIAMETER TUMOR

General Linear Model

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Diameter Tumor	1	Diameter <= 2	11
	2	Diameter >2 - <= 5	11
	3	Diameter > 5	8

Box's Test of Equality of Covariance Matrices(a)

Box's M	40,297
F	1,354
df1	20
df2	2091,519
Sig.	,055

Tests the null hypothesis that the observed covariance matrices of the dependent variables are equal across groups
a Design: DIAMETER

Analisis

Hipotesis

H_0 variabel c-erbB2, pRB, p53, MIB-1 mempunyai matriks varians kovarians yang sama pada Diameter Tumor

H_1 H_0

Dari table terlihat angka BOX'S M adalah 40,297 dengan sig. 0,055 > $\alpha = 0,05$ maka H_0 diterima. Hal ini berarti matrik varians-kovarians pada

variabel c-erbB2, pRB, p53, dan MIB-1 adalah sama (homogen) untuk setiap grup Diameter Tumor.

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

	F	df1	df2	Sig.
c-erbB2	.540	2	27	.589
pRB	2.901	2	27	.072
p53	1.283	2	27	.294
MIB-1	1.566	2	27	.227

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: DIAMETER

Dari table terlihat Signifikansi Levene Test untuk keempat, yaitu variabel c-erbB2 (0,589), pRB(0,072), p53 (0,294), MIB-1 (0,227). Semuanya $> \alpha = 0.05$, maka berarti matrik varians-kovarians pada variabel c-erbB2, pRB, p53, dan MIB-1 secara individu adalah sama (homogen) untuk setiap grup pada Diameter Tumor.

Multivariate Tests (b)

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
DIAMETER	Pillai's Trace	1.426	5.888	12.000	78.000	.000
	Wilks' Lambda	.021	17.395	12.000	63.790	.000
	Hotelling's Trace	24.603	46.851	12.000	68.000	.000
	Roy's Largest Root	23.935	155.580(a)	4.000	26.000	.000

a The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

b Design: DIAMETER

UJI BEDA SECARA BERSAMA-SAMA

H_0 : variabel c-erbB2, pRB, p53, MIB-1 secara bersama-sama tidak menunjukkan perbedaan pada Diameter tumor

$H_1 : \bar{H}_0$

Karena $p=0,000 < \alpha = 0.05$ maka H_0 ditolak, berarti bahwa c-erbB2, pRB, p53, dan MIB-1 secara bersama-sama berbeda pada Diameter Tumor

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	c-erbB2	80.555(a)	3	26.852	109.449	.000
	pRB	44.146(b)	3	14.715	88.973	.000
	p53	48.871(c)	3	16.290	77.344	.000
	MIB-1	41.557(d)	3	13.852	83.769	.000
DIAMETER	c-erbB2	80.555	3	26.852	109.449	.000
	pRB	44.146	3	14.715	88.973	.000
	p53	48.871	3	16.290	77.344	.000
	MIB-1	41.557	3	13.852	83.769	.000
Error	c-erbB2	6.624	27	.245		
	pRB	4.466	27	.165		
	p53	5.687	27	.211		
	MIB-1	4.465	27	.165		
Total	c-erbB2	87.180	30			
	pRB	48.612	30			
	p53	54.558	30			
	MIB-1	46.022	30			

a R Squared = .924 (Adjusted R Squared = .916)

b R Squared = .908 (Adjusted R Squared = .898)

c R Squared = .896 (Adjusted R Squared = .884)

d R Squared = .903 (Adjusted R Squared = .892)

Untuk Faktor Diameter Tumor dan c-erbB2

H_0 Rata-rata c-erbB2 tidak menunjukkan perbedaan pada Diameter Tumor

$H_1 : H_2$

Karena $p=0,000 < \alpha = 0,05$ maka H_0 ditolak berarti bahwa Rata-rata c-erbB2 menunjukkan perbedaan secara nyata pada Diameter Tumor

Untuk Faktor Diameter Tumor dan pRb₁

H_0 Rata-rata pRb tidak menunjukkan perbedaan pada Diameter Tumor

$H_1 : H_2$

Karena $p=0,000 < \alpha = 0,05$ maka H_0 ditolak berarti bahwa Rata-rata pRb menunjukkan perbedaan secara nyata pada Diameter Tumor

Untuk Faktor Diameter Tumor dan p53₁

H_0 Rata-rata p53 tidak menunjukkan perbedaan pada Diameter Tumor

$H_1 : H_2$

Karena $p=0,000 < \alpha = 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti bahwa Rata-rata p53 menunjukkan perbedaan secara nyata pada Diameter Tumor

Untuk Faktor Diameter Tumor dan MIB-1₁

H_0 Rata-rata MIB 1 tidak menunjukkan perbedaan pada Diameter Tumor

$H_1 : H_2$

Karena $p=0,000 < \alpha = 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti bahwa Rata-rata MIB-1 menunjukkan perbedaan secara nyata pada Diameter Tumor

ANALISIS UNTUK DIFERENSIASI SEL

General Linear Model

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Diferensiasi Sel Tumor	1	Baik	1
	2	Sedang	7
	3	Buruk	22

Box's Test of Equality of Covariance Matrices(a)

Box's M	13.998
F	1.019
df1	10
df2	558.759
Sig.	.426

Tests the null hypothesis that the observed covariance matrices of the dependent variables are equal across groups.

a Design: DIFERENSIASI

Analisis

Hipotesis

H_0 : variabel c-erbB2, pRB, p53, MIB-1 mempunyai matriks varians-kovarians yang sama pada diferensiasi sel

H_1 : \bar{H}_0

Dari table terlihat angka BOX'S M adalah 13,998 dengan sig. 0.426 > α = 0.05. maka H_0 diterima. Hal ini berarti matrik varians-kovarians pada variabel c-erbB2p53, pRB, dan MIB-1 adalah sama (homogen) untuk setiap grup Diferensiasi Sel Tumor.

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

	F	df1	df2	Sig.
c-erbB2	4,038	2	27	.029
pRB	1.842	2	27	.178
p53	1.442	2	27	.254
MIB-1	3.259	2	27	.054

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: DIFF

Dari table terlihat Signifikansi Levene Test untuk keempat, yaitu variabel c-erbB2 (0,029), pRB(0,178), p53 (0,254), MIB-1 (0,054). Walaupun hanya satu variable yaitu untuk c-erbB2 $p < \alpha = 0.05$, namun secara keseluruhan (BOX'S M) $> \alpha = 0.05$, maka berarti matrik varians-kovarians pada variabel c-erbB2, p53, pRB, dan MIB-1 secara individu adalah sama (homogen) untuk setiap grup pada Diferensiasi Sel Tumor.

Multivariate Tests (b)

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
DIFERENSIASI	Pillai's Trace	1,149	4,035	12,000	78,000	.000
	Wilks' Lambda	.030	14,673	12,000	63,790	.000
	Hotelling's Trace	26,364	49,799	12,000	68,000	.000
	Roy's Largest Root	26,141	169,918(a)	4,000	26,000	.000

a The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

b Design: DIFERENSIASI

UJI BEDA SECARA BER SAMA-SAMA

H_0 : variabel c-erbB2, pRB, p53, MIB-1 secara bersama-sama tidak menunjukkan perbedaan pada diferensiasi sel

$H_1 : \bar{H}_0$

Karena $p=0,000 < \alpha = 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti bahwa c-erbB2, pRB, p53, dan MIB-1 secara bersama-sama berbeda pada Diferensiasi Sel Tumor.

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	c-erbB2	80.714(a)	3	26.905	112.362	.000
	pRB	44.123(b)	3	14.708	88.470	.000
	p53	48.635(c)	3	16.212	73.906	.000
	MIB-1	40.720(d)	3	13.573	69.131	.000
DIFERENSIASI	c-erbB2	80.714	3	26.905	112.362	.000
	pRB	44.123	3	14.708	88.470	.000
	p53	48.635	3	16.212	73.906	.000
	MIB-1	40.720	3	13.573	69.131	.000
Error	c-erbB2	6.485	27	.239		
	pRB	4.489	27	.166		
	p53	5.923	27	.219		
	MIB-1	5.301	27	.196		
Total	c-erbB2	87.180	30			
	pRB	48.612	30			
	p53	54.558	30			
	MIB-1	46.022	30			

a R Squared = .926 (Adjusted R Squared = .918)

b R Squared = .908 (Adjusted R Squared = .897)

c R Squared = .891 (Adjusted R Squared = .879)

d R Squared = .885 (Adjusted R Squared = .872)

Untuk Faktor Diferensiasi Sel dan c-erbB2

H_0 : Rata-rata c-erbB2 tidak menunjukkan perbedaan pada Diferensiasi Sel Tumor

H_1 : \bar{H}_0

Karena $p=0,000 < \alpha = 0.05$ maka H_0 ditolak, berarti bahwa Rata-rata c-erbB2 menunjukkan perbedaan secara nyata pada Diferensiasi Sel Tumor.

Untuk Faktor Diferensiasi Sel dan pRb,

H_0 : Rata-rata pRb tidak menunjukkan perbedaan pada Diferensiasi Sel Tumor

H_1 : \bar{H}_0

Karena $p=0,000 < \alpha = 0.05$ maka H_0 ditolak, berarti bahwa Rata-rata pRb menunjukkan perbedaan secara nyata pada Diferensiasi Sel Tumor.

Untuk Faktor Diferensiasi Sel dan p53,

H_0 : Rata-rata p53 tidak menunjukkan perbedaan pada Diferensiasi Sel Tumor

H_1 : \bar{H}_0

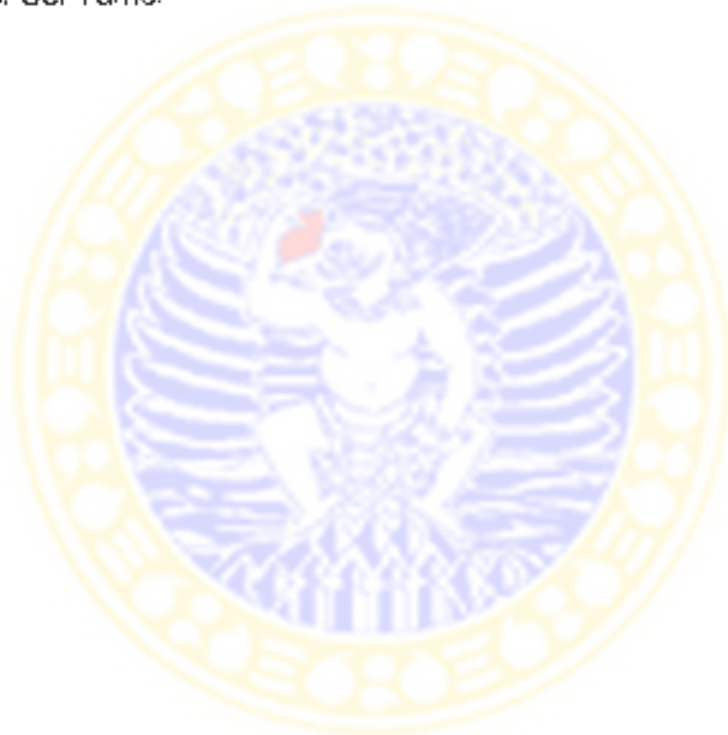
Karena $p=0,000 < \alpha = 0.05$ maka H_0 ditolak, berarti bahwa Rata-rata ekspresi protein p53 menunjukkan perbedaan secara nyata pada Diferensiasi Sel Tumor.

Untuk Faktor Diferensiasi Sel dan MIB-1,

H_0 : Rata-rata MIB 1 tidak menunjukkan perbedaan pada Diferensiasi Sel Tumor

H_1 : H_2

Karena $p=0.000 < \alpha = 0.05$ maka H_0 ditolak, berarti bahwa Rata-rata ekspresi protein MIB-1 menunjukkan perbedaan secara nyata pada Diferensiasi Sel Tumor.



ANALISIS UNTUK PROGRESIVITAS PERTUMBUHAN

General Linear Model

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Progresivitas	1	Insitu	10
Pertumbuhan	2	Invasive	10
	3	Metastasis	10

Box's Test of Equality of Covariance Matrices(a)

Box's M	17.604
F	.687
df1	20
df2	2616.788
Sig.	.843

Tests the null hypothesis that the observed covariance matrices of the dependent variables are equal across groups

a Design: PROGRESIVITAS

Analisis

Hipotesis

H_0 : variabel c-erbB2, pRB, p53, MIB-1 mempunyai matriks varians-kovarians yang sama pada Progresivitas Pertumbuhan Tumor

$H_1 : \bar{H}_0$

Dari table terlihat angka BOX'S M adalah 17,604 dengan sig. 0,843 > $\alpha = 0.05$, maka H_0 diterima Hal ini berarti matrik varians-kovarians pada variabel c-erbB2, pRB, p53, dan MIB-1 adalah sama (homogen) untuk setiap grup Progresivitas Pertumbuhan Tumor

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

	F	df1	df2	Sig.
c-erbB2	.251	2	27	.780
pRB	1.286	2	27	.293
p53	.384	2	27	.678
MIB-1	1.063	2	27	.359

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: PROGRESIVITAS

Dari table terlihat Signifikansi Levene Test untuk keempat, yaitu variabel c-erbB2 (0,780), pRB(0,293), p53 (0,678), MIB-1 (0,359). Semuanya $> \alpha = 0.05$, maka berarti matrik varians-kovarians pada variabel c-erbB2, p53, pRB, dan MIB-1 secara individu adalah sama (homogen) untuk setiap grup pada Progresivitas Pertumbuhan Tumor.

Multivariate Tests (b)

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
PROGRESIVITAS	Pillai's Trace	1.149	4.033	12.000	78.000	.000
	Wilks' Lambda	.028	15.242	12.000	63.790	.000
	Hotelling's Trace	28.802	54.025	12.000	68.000	.000
	Roy's Largest Root	28.386	184.512	4.000	26.000	.000
				(a)		

a The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

b Design: PROGRESIVITAS

UJI BEDA SECARA BER SAMA-SAMA

H_0 : variabel c-erbB2, pRB, p53, MIB-1 secara bersama-sama tidak menunjukkan perbedaan pada Progresivitas Pertumbuhan

H_1 : \bar{H}_0

Karena $p=0,000 < \alpha = 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti bahwa c-erbB2, pRB, p53, dan MIB-1 secara bersama-sama berbeda pada Progresivitas Pertumbuhan Tumor.

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	c-erbB2	80,259(a)	3	26,753	104,366	,000
	pRB	44,211(b)	3	14,737	90,415	,000
	p53	50,036(c)	3	16,679	99,593	,000
	MIB-1	40,985(d)	3	13,662	73,242	,000
PROGRESIVITAS	c-erbB2	50,259	3	26,753	104,366	,000
	pRB	44,211	3	14,737	90,415	,000
	p53	50,036	3	16,679	99,593	,000
	MIB-1	40,985	3	13,662	73,242	,000
Error	c-erbB2	6,921	27	,256		
	pRB	4,401	27	,163		
	p53	4,522	27	,167		
	MIB-1	5,036	27	,187		
Total	c-erbB2	57,180	30			
	pRB	48,612	30			
	p53	54,558	30			
	MIB-1	46,022	30			

a R Squared = .921 (Adjusted R Squared = .912)

b R Squared = .909 (Adjusted R Squared = .899)

c R Squared = .917 (Adjusted R Squared = .908)

d R Squared = .891 (Adjusted R Squared = .878)

Untuk Faktor Progresivitas Pertumbuhan dan c-erbB2

H_0 : Rata-rata c-erbB2 tidak menunjukkan perbedaan pada Progresivitas Pertumbuhan

H_1 : \bar{H}_0

Karena $p=0,000 < \alpha = 0.05$ maka H_0 ditolak, berarti bahwa Rata-rata ekspresi protein c-erbB2 menunjukkan perbedaan secara nyata pada Progresivitas Pertumbuhan Pertumbuhan Tumor.

Untuk Faktor Progresivitas Pertumbuhan dan pRB,

H_0 : Rata-rata pRB tidak menunjukkan perbedaan pada Progresivitas Pertumbuhan

H_1 : \bar{H}_0

Karena $p=0,000 < \alpha = 0.05$ maka H_0 ditolak, berarti bahwa Rata-rata ekspresi protein pRB menunjukkan perbedaan secara nyata pada Progresivitas Pertumbuhan Tumor.

Untuk Faktor Progresivitas Pertumbuhan dan p53,

H_0 : Rata-rata p53 tidak menunjukkan perbedaan pada Progresivitas Pertumbuhan

H_1 : \bar{H}_0

Karena $p=0.000 < \alpha = 0.05$ maka H_0 ditolak, berarti bahwa Rata-rata ekspresi protein p53 menunjukkan perbedaan secara nyata pada Progresivitas Pertumbuhan Tumor.

Untuk Faktor Progresivitas Pertumbuhan dan MIB-1,

H_0 : Rata-rata MIB-1 tidak menunjukkan perbedaan pada Progresivitas
Pertumbuhan

$H_1 : \bar{H}_0$

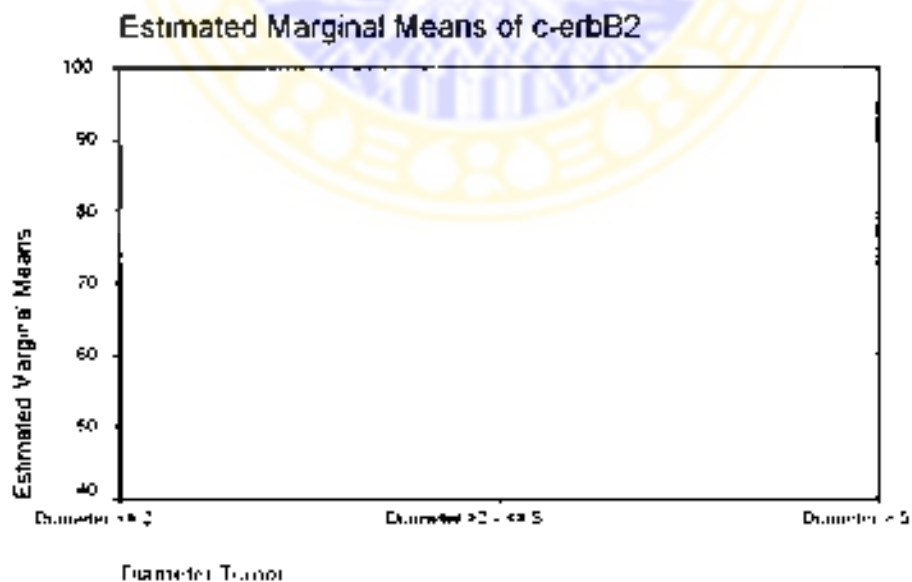
Karena $p=0,000 < \alpha = 0.05$ maka H_0 ditolak, berarti bahwa Rata-rata ekspresi protein MIB-1 menunjukkan perbedaan secara nyata pada Progresivitas Pertumbuhan Tumor.



Descriptive Statistics

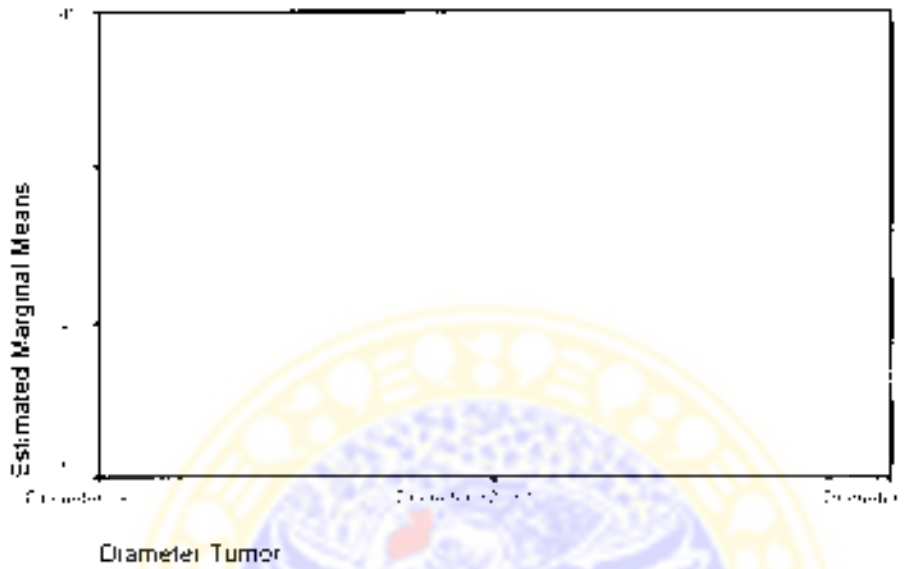
	Diameter Tumor	Mean	Std. Deviation	N
c-erbB2	Diameter <= 2	77.55	59.396	11
	Diameter >2 - <= 5	48.82	47.129	11
	Diameter > 5	95.63	71.606	8
	Total	71.83	59.913	30
p53	Diameter <= 2	35.91	35.492	11
	Diameter >2 - <= 5	38.64	30.651	11
	Diameter > 5	16.50	20.647	8
	Total	31.00	30.666	30
pRb	Diameter <= 2	31.09	30.297	11
	Diameter >2 - <= 5	18.64	27.215	11
	Diameter > 5	28.25	20.464	8
	Total	25.23	26.510	30
MIB-1	Diameter <= 2	28.73	40.010	11
	Diameter >2 - <= 5	37.36	50.188	11
	Diameter > 5	8.38	5.902	8
	Total	26.47	39.576	30

Protein c-erbB2



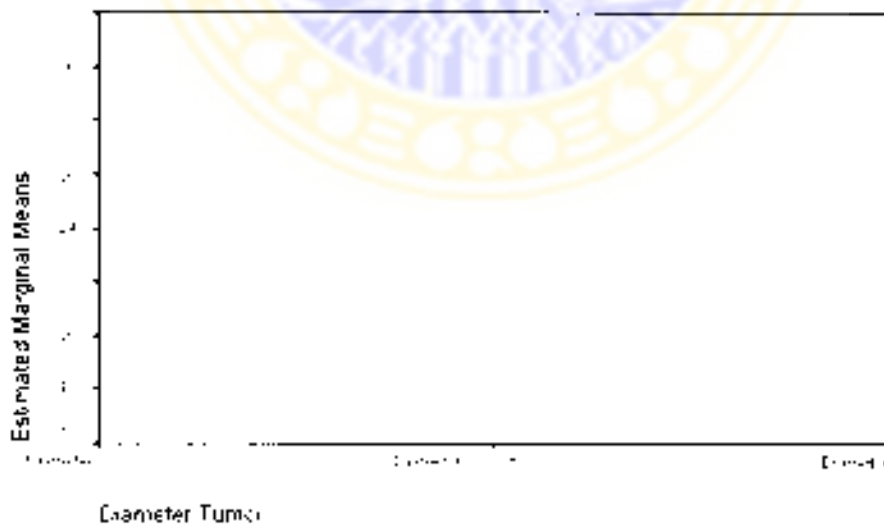
Protein p53

Estimated Marginal Means of p53



Protein pRb

Estimated Marginal Means of pRB



Protein MIB-1

Estimated Marginal Means of MIB-1

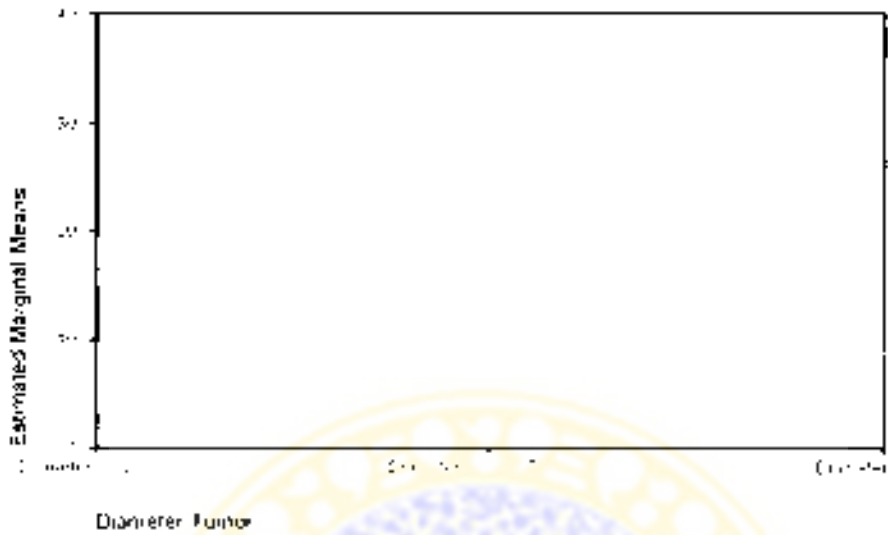
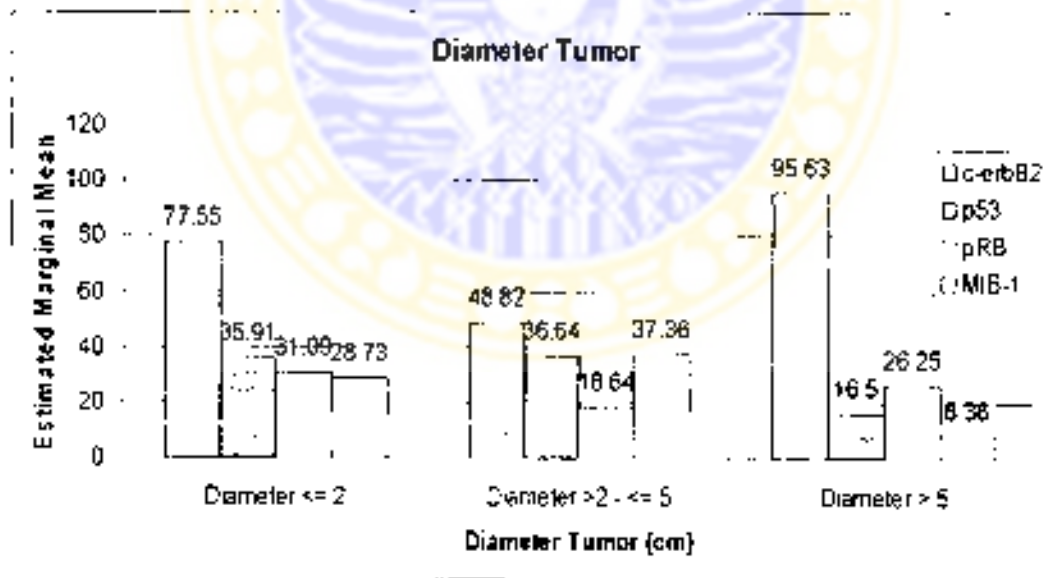


Diagram Batang

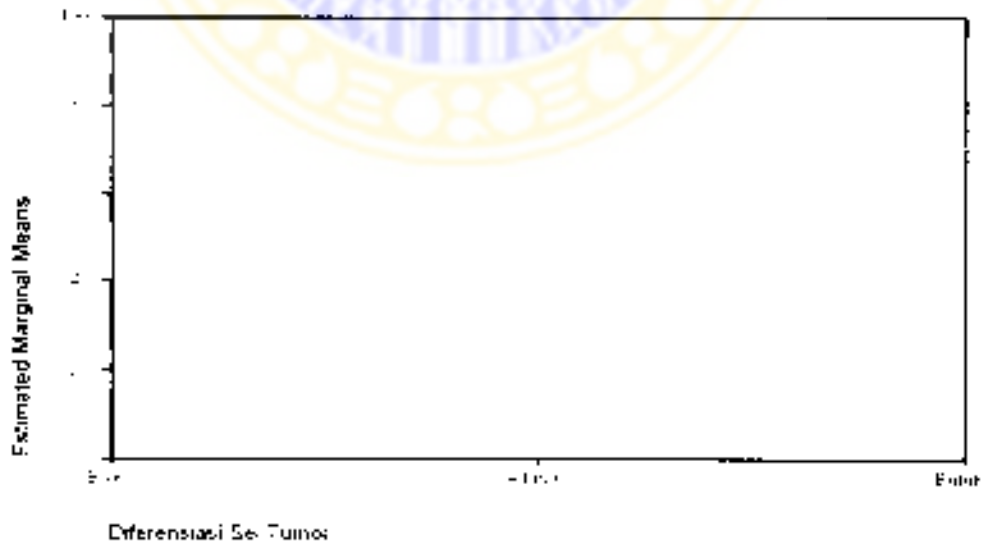


Descriptive Statistics

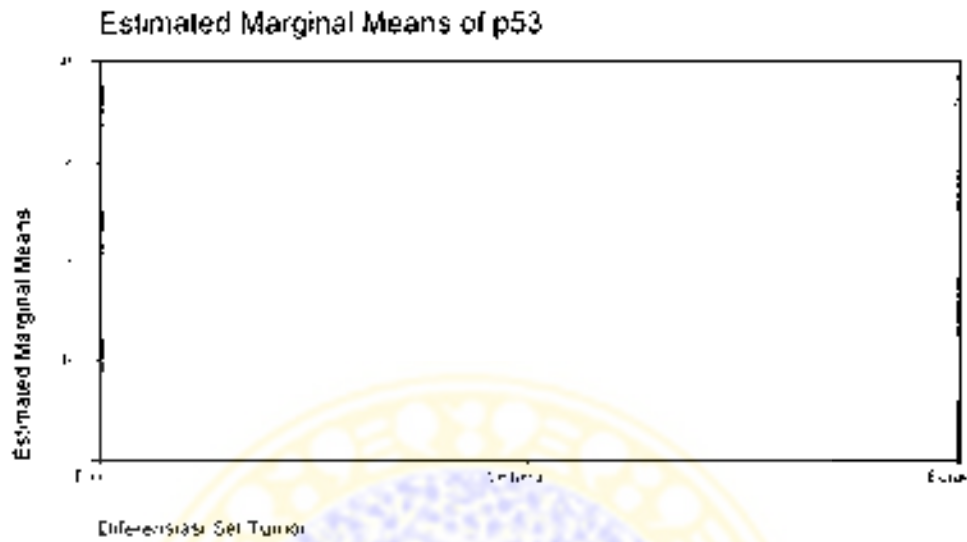
	Diferensiasi Sel Tumor	Mean	Std. Deviation	N
c-erbB2	Baik	8.00		1
	Sedang	89.43	59.079	7
	Buruk	69.14	60.456	22
	Total	71.83	59.913	30
p53	Baik	10.00		1
	Sedang	18.71	19.695	7
	Buruk	35.86	33.042	22
	Total	31.00	30.666	30
pRb	Baik	16.00		1
	Sedang	15.86	17.985	7
	Buruk	28.64	28.855	22
	Total	25.23	26.510	30
MIB-1	Baik	5.00		1
	Sedang	15.00	7.257	7
	Buruk	31.09	45.384	22
	Total	26.47	39.576	30

Protein c-erbB2

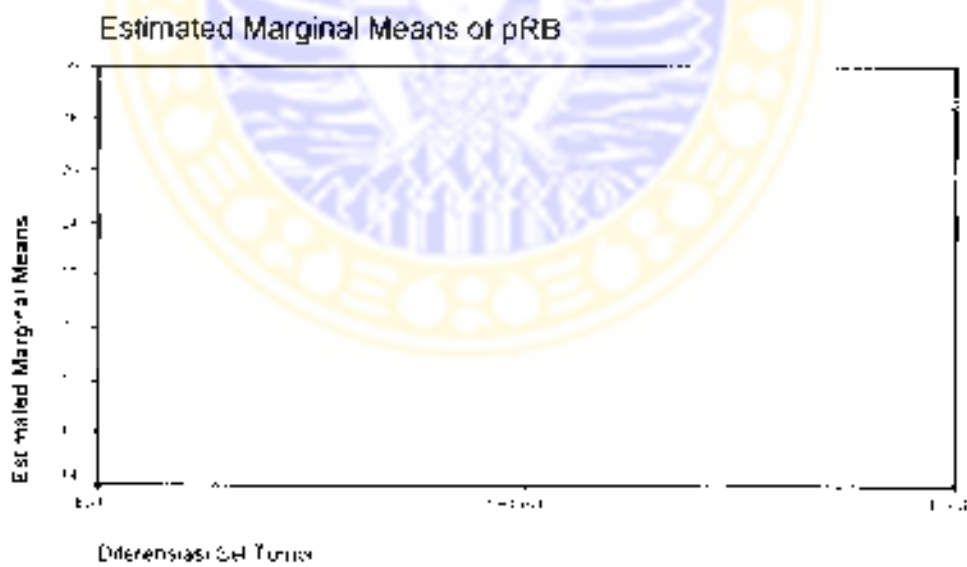
Estimated Marginal Means of c-erbB2



Protein p53



Protein pRb



Protein MIB-1

Estimated Marginal Means of MIB-1

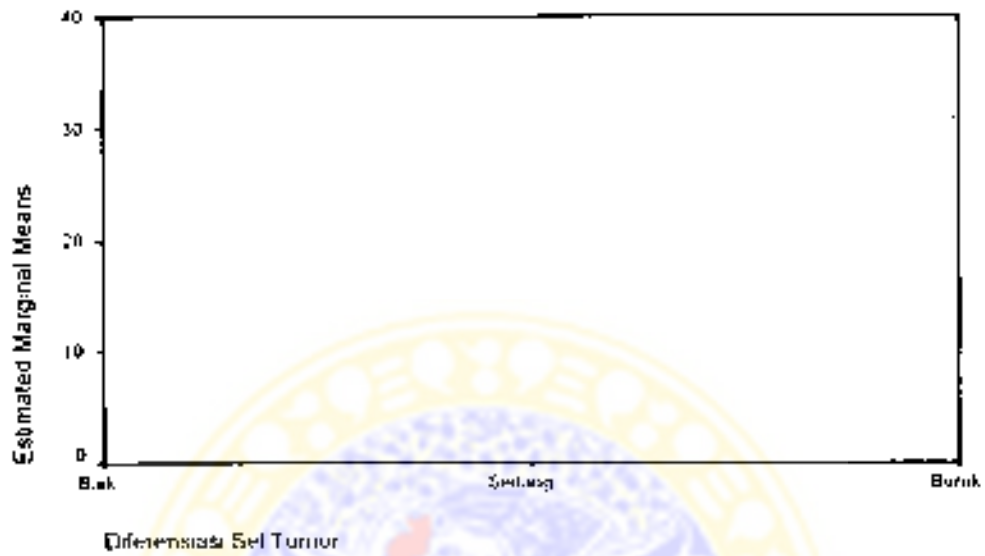
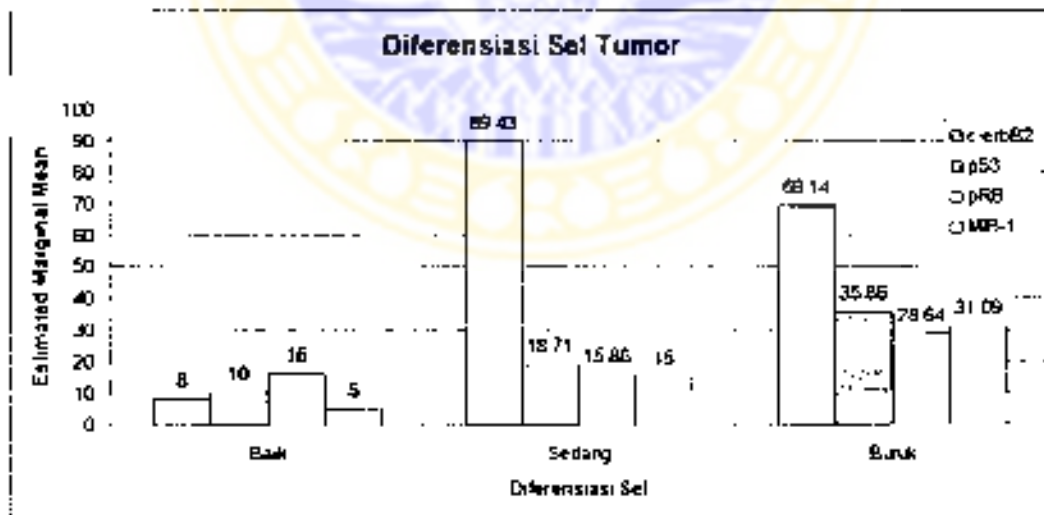


Diagram Batang



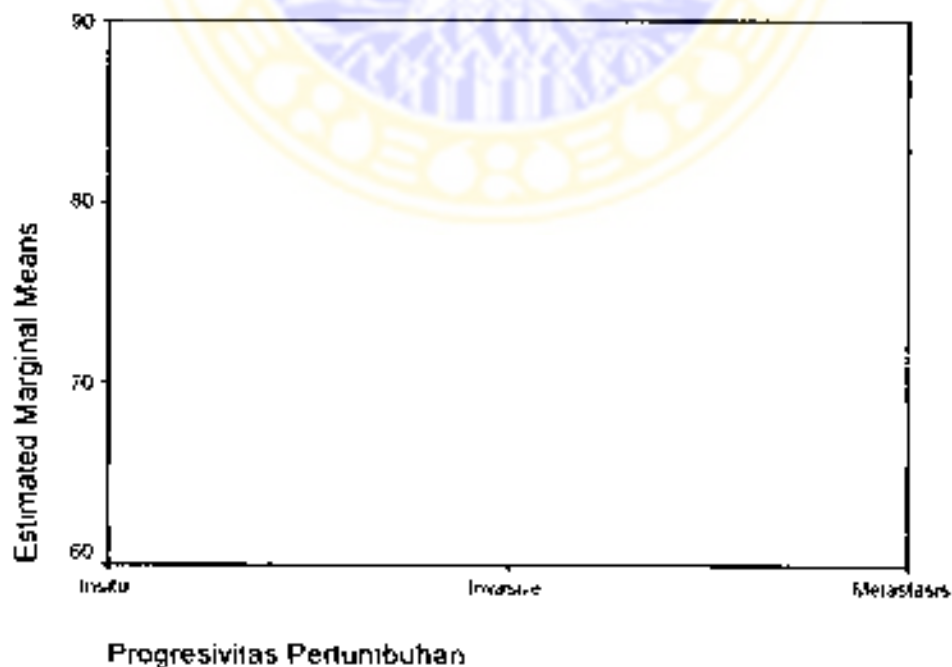
Descriptive Statistics

	Progresivitas Pertumbuhan	Mean	Std. Deviation	N
c-erbB2	In situ	61.30	61.274	10
	Invasive	82.90	62.019	10
	Metastasis	71.30	60.675	10
	Total	71.83	59.913	30
p53	In situ	16.60	21.343	10
	Invasive	24.70	22.618	10
	Metastasis	51.50	38.317	10
	Total	31.00	30.666	30
pRb	In situ	19.50	18.640	10
	Invasive	18.70	17.752	10
	Metastasis	37.50	36.652	10
	Total	25.23	28.510	30
MIB-1	In situ	16.30	17.645	10
	Invasive	18.30	18.530	10
	Metastasis	44.80	61.885	10
	Total	26.47	39.576	30

Profile Plots

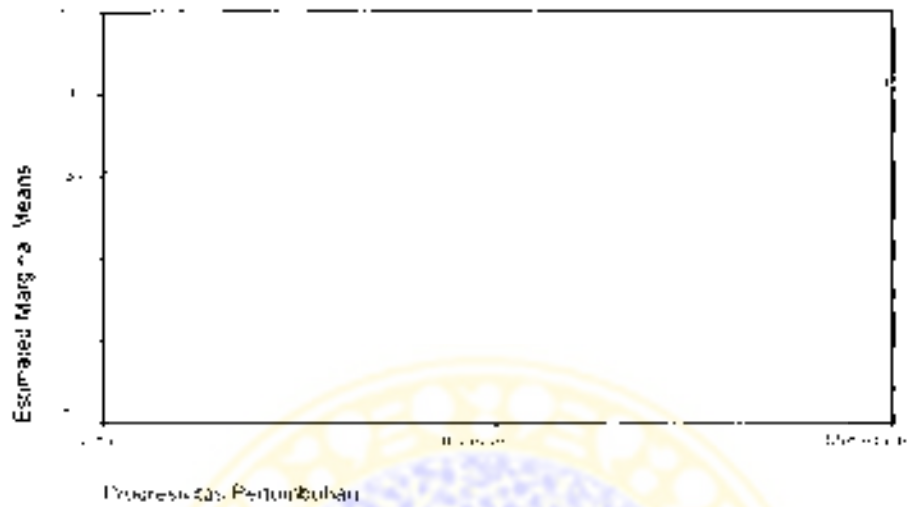
Protein c-erbB2

Estimated Marginal Means of c-erbB2



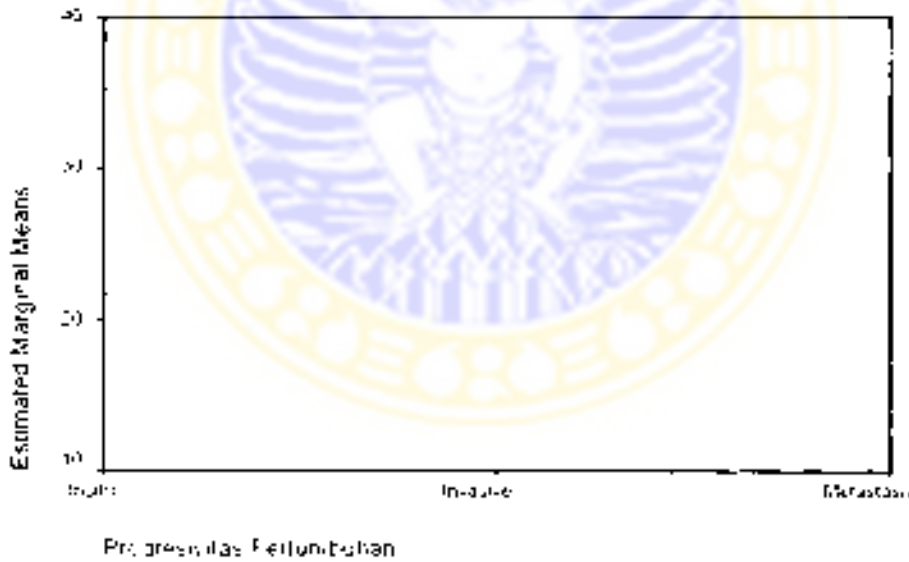
Protein p53

Estimated Marginal Means of p53



Protein pRb

Estimated Marginal Means of pRB



Protein MIB-1

Estimated Marginal Means of MIB-1

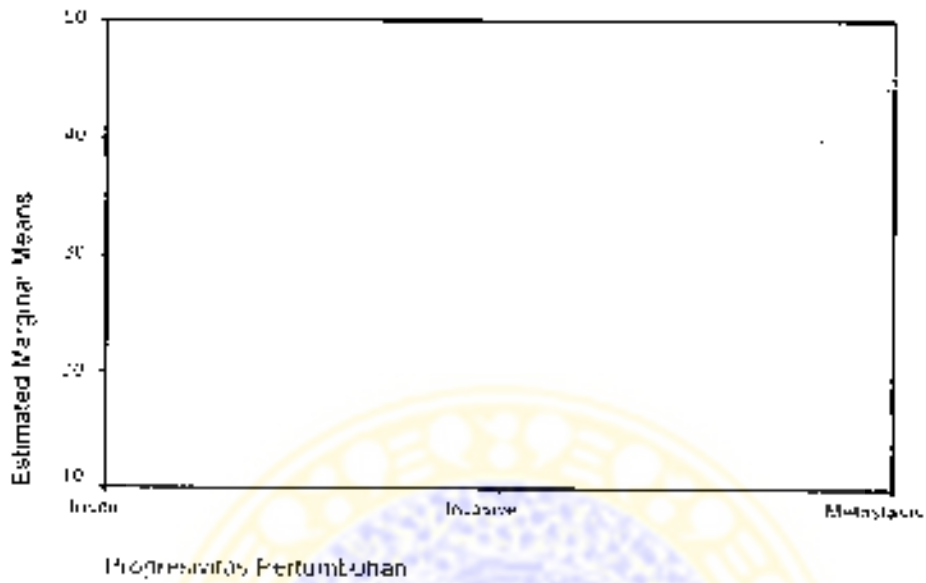
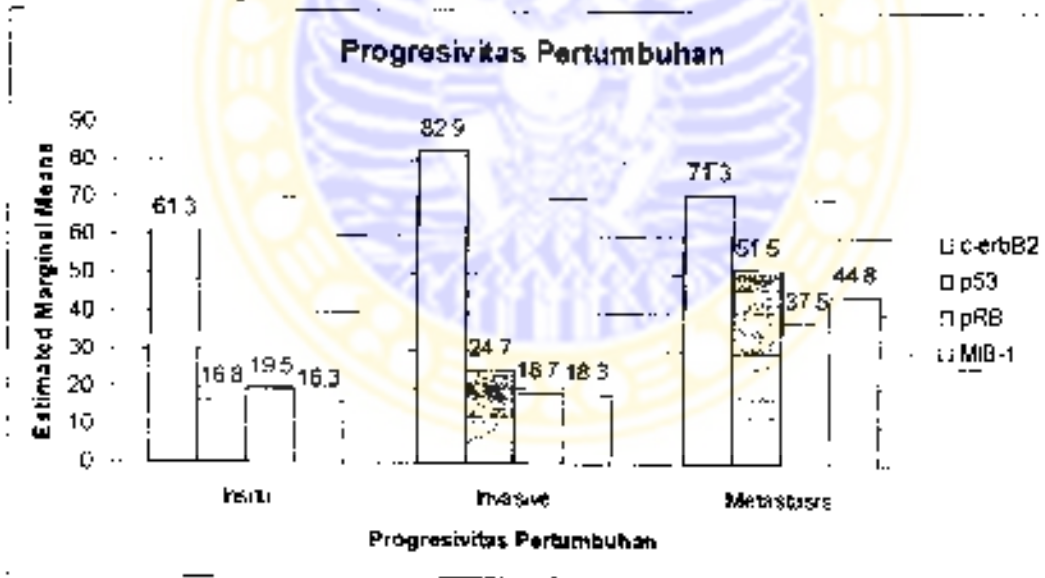


Diagram Batang



General Linear Model

Notes

Between-Subjects Factors

		N
grade	1	1
	2	5
	3	14

Box's Test of Equality of Covariance Matrices(a)

Box's M	28.230
F	1.627
df1	10
df2	254.000
Sig.	.099

Tests the null hypothesis that the observed covariance matrices of the dependent variables are equal across groups.

a. Design: GRADE

Multivariate Tests(b)

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
GRADE	Pillai's Trace	1.196	2.653	12.000	48.000	.008
	Wilks' Lambda	.105	4.184	12.000	37.332	.006
	Hotelling's Trace	5.600	6.125	12.000	38.000	.006
	Roy's Largest Root	5.001	21.285(a)	4.000	16.000	.000

a. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

b. Design: GRADE

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

	F	df1	df2	Sig.
LEVEL2	2.071	2	17	.134
LEVEL3	2.125	2	17	.150
LEVEL4	4.121	2	17	.023
LEVEL5	2.536	2	17	.100

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: GRADE

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	c-erbB2	120627.943 ^a	3	40209.314	10.217	.000
	p53	32057.943 ^b	3	10685.981	10.610	.000
	pRB	18817.871 ^c	3	6272.624	7.802	.002
	MIB-1	21917.000 ^d	3	7305.667	3.180	.051
GRADE	c-erbB2	120627.943	3	40209.314	10.217	.000
	p53	32057.943	3	10685.981	10.610	.000
	pRB	18817.871	3	6272.624	7.802	.002
	MIB-1	21917.000	3	7305.667	3.180	.051
Error	c-erbB2	66932.057	17	3935.415		
	p53	17122.057	17	1007.180		
	pRB	12325.129	17	804.008		
	MIB-1	36250.000	17	2297.647		
Total	c-erbB2	187560.000	20			
	p53	49180.000	20			
	pRB	31143.000	20			
	MIB-1	68167.000	20			

a. R Squared = .643 (Adjusted R Squared = .550).

b. R Squared = .652 (Adjusted R Squared = .590).

c. R Squared = .579 (Adjusted R Squared = .505).

d. R Squared = .359 (Adjusted R Squared = .246).

Between-Subjects Factors

	Value Label	N	
grade	1	Grade I	1
	2	Grade II	5
	3	Grade III	14

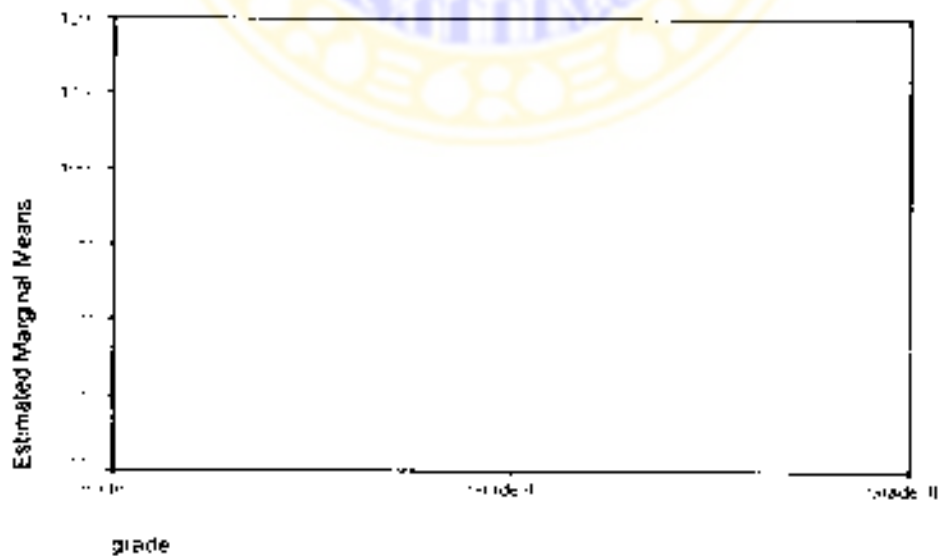
Descriptive Statistics

	grade	Mean	Std. Deviation	N
c-erbB2	Grade I	116.00		1
	Grade II	70.40	58.573	5
	Grade III	78.71	63.958	14
	Total	77.10	60.106	20
p53	Grade I	4.00		1
	Grade II	23.60	21.778	5
	Grade III	45.71	34.222	14
	Total	38.10	32.564	20
pRb	Grade I	56.00		1
	Grade II	8.60	3.578	5
	Grade III	33.07	32.364	14
	Total	28.10	29.642	20
MIB-1	Grade I	24.00		1
	Grade II	15.00	6.205	5
	Grade III	38.00	54.706	14
	Total	31.55	46.492	20

Profile Plots

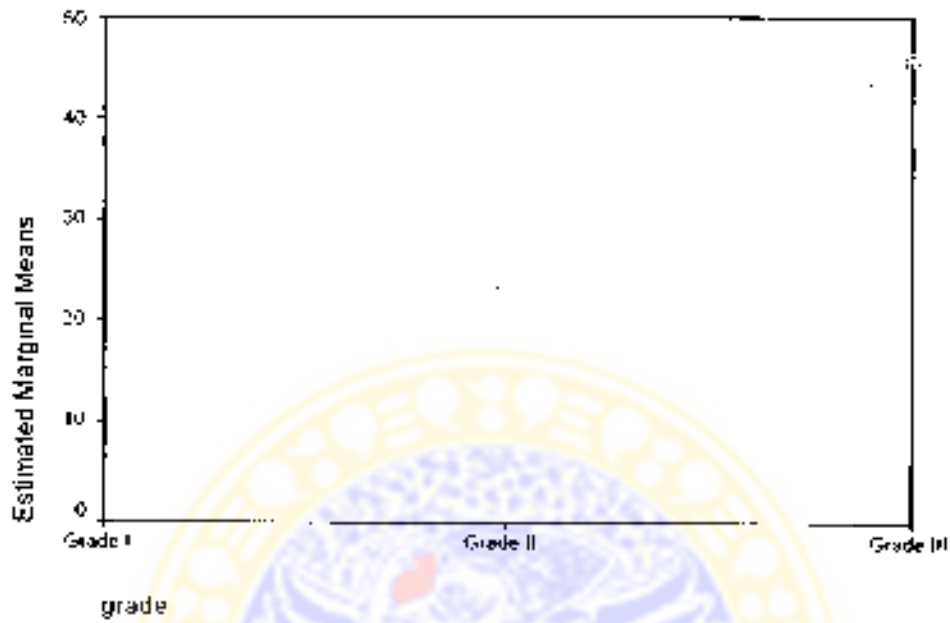
c-erbB2

Estimated Marginal Means of c-erbB2



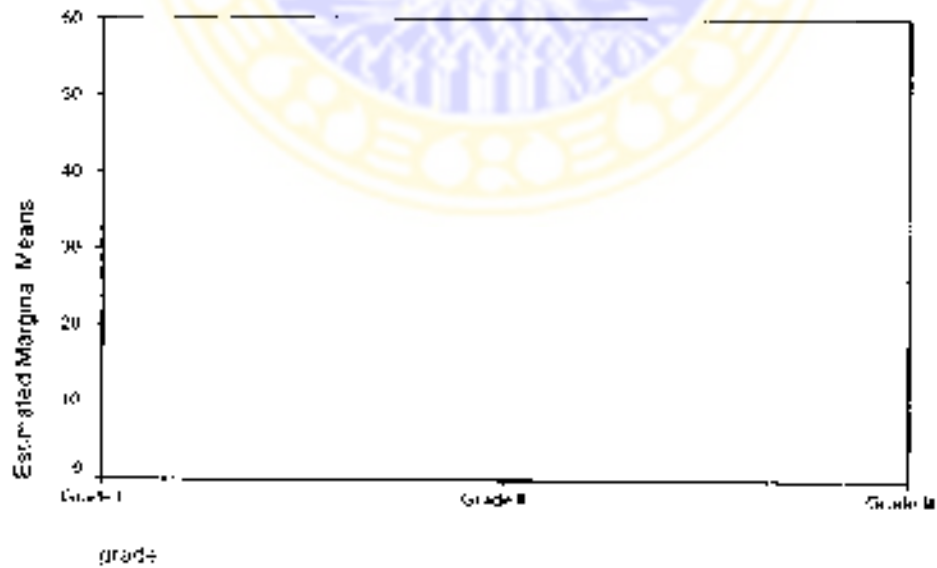
p53

Estimated Marginal Means of p53



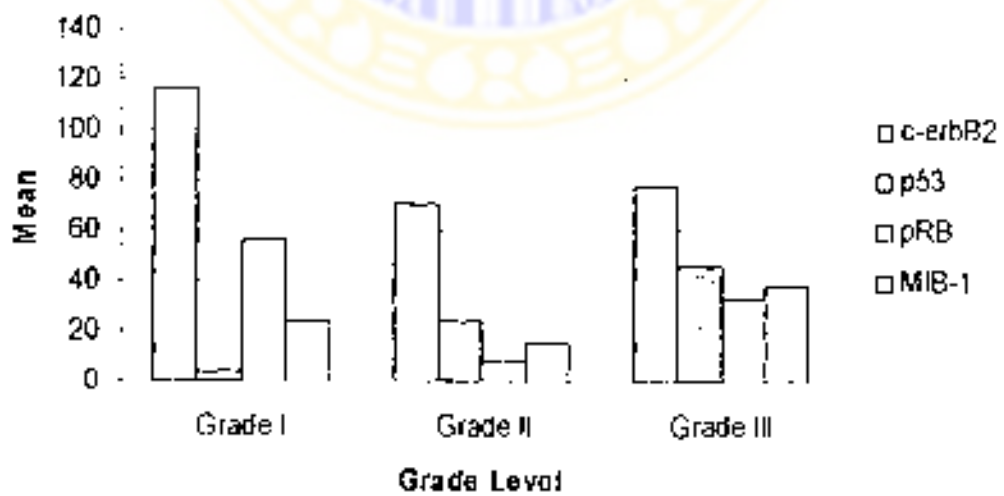
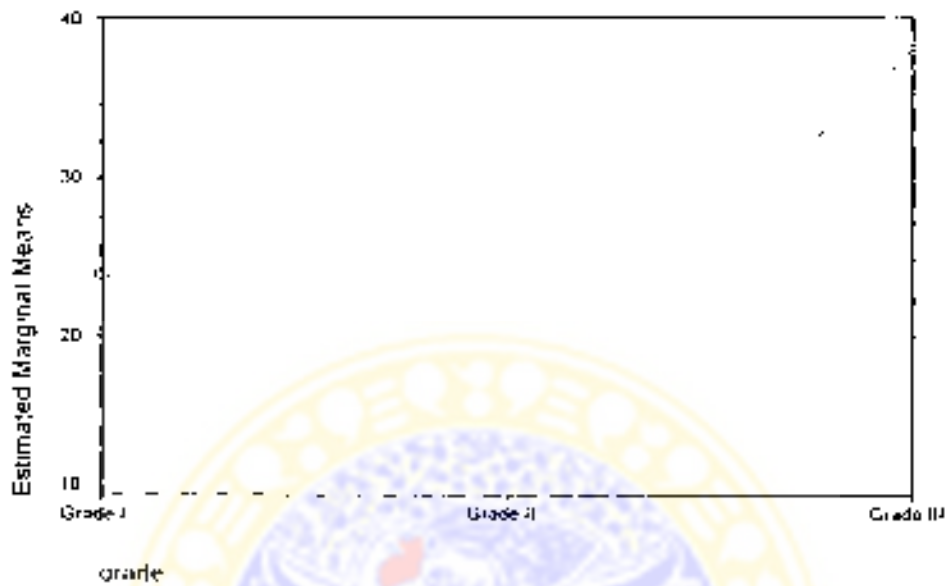
pRb

Estimated Marginal Means of pRb



MIB-1

Estimated Marginal Means of MIB-1



DEGREE OF MISCLASSIFICATION BASED ON GROUP ASSIGNMENT

(1) GROUP ASSIGNMENT : DIAMETER OF TUMOR :

Classification Results^a

		DIAGRP	Predicted Group Membership			Total
			1.00	2.00	3.00	
Original	Count	1.00	5	4	2	11
		2.00	2	9	0	11
		3.00	5	0	3	8
	%	1.00	45.5	36.4	18.2	100.0
		2.00	18.2	81.8	.0	100.0
		3.00	62.5	.0	37.5	100.0

a. 56.7% of original grouped cases correctly classified.

Sebanyak 5 kasus dengan diameter tumor ≤ 2 cm, 9 kasus dengan diameter tumor antara > 2 cm hingga ≤ 5 cm, 3 kasus dengan diameter tumor > 5 cm

terklasifikasi benar (56,7%)

(2) GROUP ASSIGNMENT : DIFFERENTIATION

Classification Results^a

		Differensiasi	Predicted Group Membership			Total
			1	2	3	
Original	Count	1	0	0	1	1
		2	0	0	7	7
		3	0	0	22	22
	%	1	0	0	100.0	100.0
		2	0	0	100.0	100.0
		3	0	0	100.0	100.0

a. 73.3% of original grouped cases correctly classified

Sebanyak 22 kasus dengan differensiasi 3 terklasifikasi benar (73,3%)

(3) GROUP ASSIGNMENT : PROGRESSIVITY**Classification Results^a**

		Progresivitas	Predicted Group Membership			Total
			1	2	3	
Original	Count	1	7	2	1	10
		2	6	2	2	10
		3	2	3	5	10
	%	1	70.0	20.0	10.0	100.0
		2	60.0	20.0	20.0	100.0
		3	20.0	30.0	50.0	100.0

^a 46.7% of original grouped cases correctly classified

Sebanyak 7 kasus dengan progresivitas 1, 2 kasus dengan progresivitas 2, dan 5 kasus dengan progresivitas 3 terklasifikasi benar (46,7 %)

(4) GROUP ASSIGNMENT GRADE**Classification Results^a**

		GRADE	Predicted Group Membership				Total
			0	1	2	3	
Original	Count	0	7	0	0	3	10
		1	0	1	0	0	1
		2	2	0	0	3	5
		3	6	0	0	8	14
	%	0	70.0	0	0	30.0	100.0
		1	0	100.0	0	0	100.0
		2	40.0	0	0	60.0	100.0
		3	42.9	0	0	57.1	100.0

^a 53.3% of original grouped cases correctly classified

Sebanyak 7 kasus dengan grade 0, 1 kasus dengan grade 1, 8 kasus dengan grade 3 terklasifikasi benar (53,3 %)

**Predicted Group for Analysis 1 * Predicted Group for Analysis 1
Crosstabulation**

Count

		Predicted Progressivity			Total
		1	2	3	
Predicted	1	4	4	4	12
Diameter	2	7	3	3	13
	3	4		1	5
Total		15	7	8	30

**Predicted Group for Analysis 1 * Predicted Group for Analysis 1
Crosstabulation**

Count

		Predicted Grade			Total
		0	1	3	
Predicted	1	7		5	12
Diameter	2	5		8	13
	3	3	1	1	5
Total		15	1	14	30

**Predicted Group for Analysis 1 * Predicted Group for Analysis 1 * Predicted Group for
Analysis 1 Crosstabulation**

Count

Predicted Differentiation		Predicted Grade			Total	
		0	1	3		
3	Predicted	1	7		5	12
	Diameter	2	5		8	13
		3	3	1	1	5
Total			15	1	14	30

Predicted Group for Analysis 1 * Predicted Group for Analysis 1 * Predicted Group for Analysis 1 Crosstabulation

Count

Predicted Progressivity		Predicted Grade			Total
		0	1	3	
1	Predicted 1	4			4
	Diameter 2	5		2	7
	3	3	1		4
	Total	12	1	2	15
2	Predicted 1	3		1	4
	Diameter 2			3	3
	Total	3		4	7
3	Predicted 1			4	4
	Diameter 2			3	3
	3			1	1
	Total			8	8

Predicted Group for Analysis 1 * Predicted Group for Analysis 1 * Predicted Group for Analysis 1 Crosstabulation

Count

Predicted Differentiation		Predicted Grade			Total
		0	1	3	
3	Predicted 1	7		5	12
	Diameter 2	5		5	13
	3	3	1	1	5
	Total	15	1	14	30