

PENURUNAN IMUNOEKSPRESI p63 PADA MIOEPITEL *DUCTAL CARCINOMA IN SITU* (DCIS) PAYUDARA SEBAGAI PREDIKTOR INFILTRASI TUMOR

Teresa Liliana Wargasetia¹, Tanwir J. Mukawi², Achmad Sjawqie²,
Murnisari Darjan², Lasma Silitonga²

¹Bagian Biologi FK Universitas Kristen Maranatha Bandung

²Bagian Patologi Anatomi, FK Unpad/Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung

ABSTRAK

Karsinoma payudara merupakan karsinoma yang sering terjadi pada wanita. *Ductal carcinoma in situ* (DCIS) payudara adalah karsinoma payudara dengan sel-sel tumor berada dalam duktus kelenjar payudara dan belum menginfiltrasi ke stroma. Telah dilakukan studi retrospektif pada 23 buah blok parafin varian morfologis kribriiform, solid, dan komedo DCIS payudara. Salah satu cara untuk mengetahui agresivitas DCIS adalah dengan mendeteksi sel-sel mioepitel di sekeliling duktus payudara yang menunjukkan integritas membran basal. Pendeteksian sel-sel mioepitel melalui teknik imunohistokimia dilakukan dengan menggunakan petanda selektif untuk sel-sel mioepitel payudara yaitu p63. Tujuan penelitian ini untuk memprediksi infiltrasi tumor melalui penurunan imunoekspresi p63 pada sel-sel mioepitel pada varian morfologis kribriiform, solid, dan komedo DCIS payudara. Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran/Rumah Sakit Umum Hasan Sadikin Bandung pada bulan Juli 2005 hingga September 2006. Hasil penelitian menunjukkan bahwa imunoekspresi p63 pada sel-sel mioepitel pada varian morfologis kribriiform, solid, dan komedo DCIS payudara tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($p \geq 0,05$). Hal itu menunjukkan infiltrasi tumor dapat terjadi pada setiap varian morfologis DCIS payudara yang dipelajari yaitu kribriiform, solid, dan komedo. Simpulan dari penelitian ini adalah penurunan imunoekspresi p63 pada sel-sel mioepitel varian morfologis kribriiform, solid, dan komedo DCIS payudara memprediksi adanya infiltrasi tumor.

Kata kunci: *Ductal carcinoma in situ*, payudara, mioepitel, p63, infiltrasi tumor

DECREASE OF p63 IMMUNOEXPRESSION IN BREAST DUCTAL CARCINOMA IN SITU (DCIS) AS PREDICTOR OF TUMOR INFILTRATION

ABSTRACT

The occurrence of breast carcinoma is common in women. Ductal carcinoma in situ (DCIS) of the breast is breast carcinoma with tumor cells which exist in the breast glandular duct and have not infiltrated into stroma. Retrospective study has been made on 23 paraffin blocks of morphological breast DCIS variants, namely kribriiform, solid, and komedo. One way to find out DCIS aggressiveness is by detecting myoepithelial cells surrounding the breast duct indicating the integrity of the basal membrane. Detection of myoepithelial cells by means of immunohistochemical technique is done by using a selective marker for breast myoepithelial cells, namely p63. The aim of this research was predict tumor infiltration through decrease of immunoeexpression of p63 in myoepithelial cells of morphological variants: cibriform, solid, and komedo of breast DCIS. This research was performed at Pathology Anatomy Laboratory of Medical Faculty of Padjadjaran University/RSUP Hasan Sadikin Bandung from Juli 2005 to September 2006. The result of the research indicated that immunoeexpression of p63 in myoepithelial cells of morphological breast DCIS variants - cibriform, solid and komedo - did not show any significant difference ($p \geq 0,05$). This indicated that tumor infiltration can occur in every breast DCIS morphological variant being studied, namely cibriform, solid, and komedo. The conclusion of this research is that decrease of immunoeexpression of p63 in myoepithelial cells of morphological variants: cibriform, solid, and komedo of breast DCIS predict the presence of tumor infiltration.

Key words: Ductal carcinoma in situ, breast, myoepithelium, p63, tumor infiltration

Alamat Korespondensi:

Teresa Liliana Wargasetia, S.Si., M.Kes

Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha

Jl. Prof. Drg. Suria Sumantri 65 MPH Bandung

Tlp. 2012186 ext. 118, Hp. 08156178055. Email: teresa.liliana@yahoo.com

PENDAHULUAN

Karsinoma payudara merupakan karsinoma yang umum terjadi pada wanita dengan jumlah kasus lebih dari satu juta setiap tahunnya di seluruh dunia.¹ Karsinoma payudara menduduki peringkat kedua terbanyak untuk jenis karsinoma pada wanita Indonesia.² Tingkat insidensi DCIS payudara meningkat pesat dari rata-rata 3,9% per tahun pada kurun waktu 1973-1983 menjadi 17,5% per tahun pada kurun waktu 1983-1992.³

Karsinoma payudara tergolong sebagai *ductal carcinoma in situ* (DCIS) bila sel-sel tumor berada dalam duktus kelenjar payudara dan tidak menginfiltrasi ke stroma. DCIS payudara mempunyai beberapa varian morfologis yaitu *komedocarcinoma*, *papillary*, *solid*, *cribriform*, *micropapillary*, *clinging*, dan *cystic hypersecretory*.⁴

Keberadaan lapisan sel mioepitel merupakan ciri khas pada semua lesi payudara yang normal dan jinak seperti halnya DCIS. Hilangnya lapisan mioepitel adalah ciri dari karsinoma invasif.⁵

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan suatu petanda mioepitel yaitu p63 untuk memprediksi potensi keganasan tumor DCIS payudara melalui penurunan imunoekspresi p63 oleh sel-sel mioepitel pada varian morfologis kribriiform, solid, dan komedo.

METODE

Sampel penelitian berasal dari blok parafin jaringan DCIS payudara yang dikumpulkan dari arsip sediaan yang terdapat di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran/Rumah Sakit Umum dr. Hasan Sadikin Bandung, Rumah Sakit Immanuel Bandung, dan Laboratorium Sandia Bandung.

Penelitian ini dilakukan secara retrospektif terhadap sediaan DCIS payudara. Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran/Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung pada bulan Juli 2005–September 2006. Blok-blok parafin tersebut dibuat sediaan baru yang diwarnai dengan *hematoxylin-eosin* (HE) dan dilakukan pembacaan kembali untuk melihat kesesuaian dengan diagnosis semula.

Kemudian sediaan tersebut diwarnai dengan teknik imunohistokimia dengan *mouse monoclonal antibody* p63 protein NCL-p63 System (Novocastra). Setelah seluruh tahap pewarnaan selesai, sediaan diamati di bawah mikroskop cahaya. Imunoekspresi p63 dinyatakan positif bila terlihat inti dari sel-sel mioepitel berwarna coklat. Hasil pewarnaan dengan antibodi p63 dinyatakan negatif apabila tidak terdapat warna coklat di dalam inti sel-sel mioepitel. Imunoreaktivitas dinyatakan dalam persen dan dihitung secara semikuantitatif. Pada prinsipnya semakin ganas suatu tumor maka persentase pola imunoekspresinya semakin rendah. Penghitungan dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x.

Selanjutnya distribusi imunoekspresi p63 dihitung secara semikuantitatif sebagai berikut:

- +3 : jika 51-100% sel yang positif
- +2 : jika 26-50% sel yang positif
- +1 : jika < 25% sel yang positif
- negatif (-) : jika tidak ada sel yang positif (modifikasi dari Werling *et al*)⁶

Analisis data dilakukan dengan menghitung persentase imunoreaktivitas hasil tes positif berdasarkan pemeriksaan imunoekspresi protein p63 pada berbagai varian morfologis DCIS payudara. Untuk mempelajari distribusi p63 pada DCIS payudara digunakan analisis statistik dengan uji H Kruskal-Wallis dengan bantuan perangkat lunak SPSS versi 11.0. Taraf kepercayaan yang digunakan untuk uji statistik adalah 95%.

HASIL

Objek penelitian adalah 23 buah kasus DCIS payudara yang telah didiagnosis di bagian Patologi Anatomi FK Universitas Padjadjaran/RSUP dr. Hasan Sadikin Bandung dan Laboratorium Sandia Bandung. Pada penelitian ini, varian morfologis DCIS payudara yang paling banyak ditemukan adalah varian solid sebanyak 11 sampel, juga ditemukan varian komedo sebanyak 10 buah, sedangkan varian kribriiform hanya dua sediaan.

Semua sampel DCIS payudara yang dipelajari berasal dari pasien wanita. Rata-rata usia penderita DCIS payudara yang diteliti adalah 41,5 tahun dengan usia termuda 28 tahun dan tertua 55 tahun. Hasil pengamatan distribusi imunoekspresi p63 pada beberapa varian

Tabel Distribusi Imunoekspresi p63 pada Beberapa Varian Morfologis DCIS Payudara

Varian morfologis	Distribusi imunoekspresi p63 (%)				Jumlah
	+3 (>50%)	+2 (25-50%)	+1 (<25%)	- Negatif	
Kribriiform	0	0	1	1	2
Solid	2	1	2	6	11
Komedo	0	1	4	5	10

morfologis DCIS payudara dapat dilihat pada tabel.

Dari hasil analisis statistik dengan uji H Kruskal Wallis diperoleh bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p \geq 0,05$) pada distribusi imunoekspresi p63 oleh sel-sel mioepitel varian morfologis kribriiform, solid, dan komedo DCIS payudara.

PEMBAHASAN

Ductal carcinoma in situ (DCIS) payudara adalah kelompok lesi yang heterogen dengan bermacam-macam potensi keganasan. Salah satu hal yang penting dalam diagnosis karsinoma *in situ* atau intraduktal adalah integritas membran basal. Pada penelitian ini, metode imunohistokimia dengan petanda p63 digunakan untuk mendeteksi sel-sel mioepitel. Penggunaan petanda p63 memudahkan pendeteksian adanya sel-sel mioepitel di sekeliling duktus payudara yang sukar untuk dilihat pada preparat dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin*. Para ahli memverifikasi bahwa p63 adalah petanda spesifik untuk sel-sel mioepitel pada jaringan payudara.⁶⁻⁹

Imunoekspresi p63 menunjukkan positivitas pada nukleus sel-sel mioepitel yang mengelilingi suatu duktal payudara. Dari hasil penelitian dapat dilihat imunoekspresi p63 pada sel-sel normal payudara sebagai kontrol positif. Gambaran distribusi imunoekspresi p63 positif pada nukleus sel-sel mioepitel terlihat kontinu mengelilingi suatu duktal payudara. Hal ini menunjukkan bahwa sel-sel mioepitel masih utuh di daerah normal.

Pada sebagian besar sampel, pewarnaan p63 terlihat sebagai sinyal positif yang tidak kontinu, dapat dijumpai adanya spasi berupa sejumlah nukleus tak berwarna di antara dua nukleus yang berwarna. Hasil penelitian menunjukkan bahwa imunoekspresi p63 pada DCIS payudara yang positif dapat dikelompokkan menjadi +3, +2, dan +1. Semakin sedikit sel-sel yang positif berarti semakin sedikit residu sel-sel mioepitel yang tersisa, yang berarti DCIS berperangai semakin agresif menuju sifat invasif. Hal ini sesuai dengan sejumlah penelitian yang menyatakan bahwa terdapat hubungan antara hilangnya ekspresi p63 dan progresi karsinoma duktal payudara.^{6,9,10}

Pada sejumlah sampel penelitian ditemukan imunoekspresi p63 yang negatif pada varian solid dan kribriiform dari DCIS payudara. Varian solid biasanya dikelompokkan kedalam gradasi rendah atau sedang, sedangkan kribriiform dikelompokkan kedalam gradasi rendah. DCIS dengan gradasi rendah atau sedang dianggap kurang agresif, dengan risiko lebih rendah untuk berkembang menjadi invasif dibandingkan dengan DCIS gradasi tinggi.

Namun hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kerusakan sel-sel mioepitel di sekeliling duktus payudara terjadi pada varian solid maupun kribriiform. Hal ini sejalan dengan kondisi bahwa varian kribriiform kadang-kadang ada yang bergradasi tinggi.¹¹

Penentuan apakah suatu karsinoma telah mengalami transformasi keganasan (karsinoma invasif) ataukah masih berada di tempat asalnya dan dibatasi oleh membran basal (karsinoma *in situ*) sangatlah penting. Hasil imunoekspresi p63 negatif pada sejumlah sampel varian solid dan kribriiform menunjukkan bahwa integritas sel-sel mioepitel di sekeliling duktus payudara telah terganggu. Sel-sel tumor mengalami transformasi menjadi ganas, kemudian melewati mioepitel dan membran basal untuk bermetastasis.

Imunoekspresi p63 dapat digunakan untuk melihat agresivitas DCIS. Penurunan imunoekspresi p63 menunjukkan peningkatan agresivitas dan risiko untuk berkembang menjadi invasif. p63 mengkode sejumlah protein isoform dengan aktivitas mentransaktivasi atau menekan transkripsi yang mengatur sejumlah gen target. Gen target tersebut berpengaruh pada proses di dalam sel seperti penghentian pertumbuhan sel, perbaikan DNA, dan apoptosis.¹² Kelainan pengaturan sinyal p63 dalam homeostasis jaringan adalah faktor etiologis penting dalam patogenesis penyakit kanker payudara.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada ketiga varian morfologis dapat ditemukan sel-sel mioepitel DCIS dengan imunoreaktif negatif. Hasil ini berbeda dengan penelitian Wang *et al*¹⁰ yang mendapatkan bahwa lingkaran sel-sel positif p63 dapat diidentifikasi pada lapisan basal DCIS payudara. Pada penelitian Werling *et al*⁶ dipelajari 33 kasus DCIS dan tidak ada DCIS dengan imunoreaktif negatif ataupun +1. Sebaliknya pada penelitian ini diperoleh 12 buah sampel (52%) dengan imunoekspresi p63 yang negatif. Keadaan ini menunjukkan bahwa sebagian besar sampel yang dipelajari (52%) sudah mulai invasif. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Quinn dan Ostrowski¹³ bahwa ditemukan karsinoma invasif awal pada DCIS. Pada penelitian mereka terdapat 21,5% dari 121 pasien DCIS telah mengalami karsinoma invasif awal (ada mikroinvasi atau invasi hingga 5 mm).

DCIS jarang ditemukan sebagai massa yang dapat dipalpasi, hanya 2% dari DCIS payudara merupakan massa yang dapat dipalpasi.¹⁴ Bila deteksi ditunda lebih lama, dapat ditemukan massa yang dapat dipalpasi atau pengeluaran cairan dari puting susu. DCIS biasanya asimtomatik dan banyak ditemukan melalui skrining mamografi.¹⁵ Adalah hal yang wajar bila 52% sampel penelitian sudah mulai mengalami invasif awal karena sebagian besar pasien datang memeriksakan diri oleh karena

timbulnya keluhan dan bukan karena deteksi dini dengan mamografi seperti halnya yang dilakukan di negara-negara maju.

Pada diagnosis awal dua preparat yang digunakan dinyatakan bahwa preparat tersebut adalah DCIS yang telah mulai menginvasi ke jaringan sekitarnya. Preparat pertama adalah *invasif ductal carcinoma* dengan predominan komponen intraduktal varian komedo dengan bagian tengah mengalami nekrosis. Hasil imunohistokimia dengan p63 menunjukkan imunoekspresi +1. Hal ini menunjukkan bahwa pada komponen intraduktal, tersisa sedikit residu p63 yaitu kurang dari 25% yang menggambarkan bahwa telah terjadi proses infiltrasi sel-sel tumor kedalam stroma.

Diagnosis awal preparat kedua adalah *invasif ductal carcinoma* gradasi 2 dan DCIS gradasi 3 komedo. Sediaan massa tumor terdiri atas sel-sel oval masih membentuk tubulus, sebagian berkelompok, inti sel hiperkromatis, dan relatif monomorf. Pada bagian lain masih terlihat DCIS komedo di antaranya terdapat jaringan ikat dengan sebaran sel radang limfosit. Hasil imunohistokimia dengan p63 pada preparat tersebut menunjukkan imunoekspresi negatif yang menggambarkan telah hilangnya aksi mioepitel sebagai penekan tumor alami.

Pada preparat histologis karsinoma payudara sering dapat ditemukan DCIS dan juga karsinoma invasif pada sampel yang sama. Dengan kata lain terdapat *infiltrating ductal carcinoma* dengan *extensive intraductal component* (EIC).¹⁶ Pada kasus ini diperoleh imunoekspresi yang negatif dari p63 sebagai petanda biologis adanya sifat invasif.

Berdasarkan hasil analisis statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p \geq 0,05$) antara distribusi imunoekspresi p63 pada sel-sel mioepitel DCIS payudara varian kribri-form, solid, dan komedo. Hal itu menunjukkan bahwa hilangnya mioepitel dapat terjadi di setiap varian. Hal itu menunjukkan infiltrasi tumor dapat terjadi pada setiap varian morfologis DCIS payudara yang dipelajari yaitu kribri-form, solid, dan komedo. Apapun varian DCIS, kecenderungan adanya infiltrasi tumor dapat dilihat melalui pewarnaan p63. Semakin banyak sel-sel mioepitel dengan imunoekspresi negatif berarti potensi infiltrasi meningkat, tumor semakin agresif, dan prognosis tumor semakin buruk.

Pemeriksaan imunohistokimia p63 penting dilakukan untuk melihat sifat "pure" DCIS dengan sifat invasif yang belum terlihat. Hilangnya mioepitel pada varian apapun dari *pure* DCIS tersebut dapat menunjukkan adanya awal infiltrasi tumor.

Sebagai upaya untuk menstratifikasi DCIS berdasarkan perilaku biologis, sejumlah sistem klasifikasi telah dibuat oleh para ahli. Pada penelitian ini digunakan klasifikasi DCIS yang umum digunakan yaitu berdasarkan varian

morfologis. Sistem klasifikasi DCIS ini didasarkan pada pola arsitektur yang membagi DCIS menjadi sejumlah varian morfologis, namun sistem klasifikasi yang baru mengklasifikasikan DCIS terutama berdasarkan gradasi inti.^{17,18} Banyak kasus DCIS mempunyai pola arsitektur campuran, hal ini membuat klasifikasi berdasarkan arsitektur menjadi sulit.^{14,15} Heterogenitas arsitektural pada DCIS lebih tinggi dari heterogenitas pada gradasi sitologis.^{13,19} Pembagian melalui arsitektur bersifat *oversimplification* karena subtype arsitektur apapun dapat mempunyai gradasi inti apapun dengan atau tanpa nekrosis tipe komedo.²⁰ Sebagai contoh, kribri-form dapat menunjukkan gradasi inti yang rendah, sedang, bahkan tinggi.¹⁸

Pola arsitektur campuran sering dijumpai pada preparat DCIS. Selain itu sistem pengklasifikasian DCIS berdasarkan pola arsitektur menjadi berbagai varian morfologis tidak merefleksikan potensi biologis setiap lesi secara akurat. Oleh karena itu penggunaan pewarnaan p63 untuk melihat awal kemungkinan infiltrasi tumor dapat membantu dalam penentuan prognosis tumor.

Kesimpulan penelitian ini adalah penurunan imunoekspresi p63 pada sel-sel mioepitel varian morfologis kribri-form, solid, dan komedo DCIS payudara memprediksi adanya infiltrasi tumor. Pemeriksaan imunohistokimia dengan petanda p63 pada *pure* DCIS payudara sebaiknya dilakukan untuk melihat awal infiltrasi tumor.

DAFTAR PUSTAKA

1. IARC, WHO. Breast cancer. Dalam: Stewart B, Kleihues P, penyunting. World cancer report. Lyon: IARC Press; 2003. hlm. 188–90.
2. Sarjadi, Trihartini P. Cancer registration on Indonesia. IACR Supplement. Asian Pasific J Cancer Prev. 2001;2:21-4.
3. Ernster VL, Barclay J, Kerlikowske K, Grady D, Henderson C. Incidence of and treatment for ductal carcinoma in situ of the breast. JAMA. 1996;275:913-8.
4. Rosai J. Ackerman's surgical pathology. Edisi ke-8. USA: Mosby-Year Book, Inc; 1996.
5. Gottlieb D, Raju, Greenwald KA. Myoepithelial cells in the differential diagnosis of complex benign and malignant breast lesions: an immunohistochemical study. Mod Pathol. 1990;3:135-40.
6. Werling RW, Hwang H, Yaziji H, Gown AM. Immunohistochemical distinction of invasive from noninvasive breast lesions. a comparative study of p63 versus calponin and smooth muscle myosin heavy chain. Am J Surg Pathol. 2003;27(1):82-90.

7. Barbareschi M, Pecciarini L, Cangi MG, Macri E, Rizzo A., p63, a p53 homologue, is a selective nuclear marker of myoepithelial cells of the human breast. *Am J Surg Pathol.* 2001;25(8):1054-60.
8. Batistatou A, Stefanou D, Arkoumani E, Agnantis NJ. The usefulness of p63 as a marker of breast myoepithelial cells. *In Vivo.* 2003;17(6):573-6.
9. Stefanou D, Batistatou A., Nonni A, Arkoumani E, Agnantis NJ. p63 expression in benign and malignant breast lesions. *Histol Histopathol.* 2004;19:465-71.
10. Wang X, Mori I, Tang W, Nakamura M, Nakamura Y, Sato M, *et al.* p63 expression in normal, hyperplastic, and malignant breast Tissue. *Breast Cancer.* 2002;9(3):216-9.
11. Jaffer S, Bleiweiss IJ. Histologic classification of ductal carcinoma in situ. *Microsc Res Tech.* 2002;59(2):92-101.
12. Barbieri CE, Pietenpol JA. p63 and epithelial biology. *Exp Cell Research.* 2006;312:695-706.
13. Quinn CM, Ostrowski JL. Cytological and architectural heterogeneity in ductal carcinoma in situ of the breast. *J Clin Pathol.* 1997;50:596-9.
14. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran: pathologic basis of disease. USA: Elsevier Inc; 2005.
15. Evans A, Pinder S, Wilson R, Sibbering M, Poller D, Elston C, *et al.* Ductal carcinoma in situ of the breast: correlation between mammographic and pathologic findings. *AJR.* 1994;162:1307-11.
16. Sakofaras GH, Farley DR. Optimal management of ductal carcinoma in situ of the breast. *Surg Oncol.* 2003;12(4):221-40.
17. The Consensus Conference Committee. Consensus Conference on the Classification of Ductal Carcinoma In Situ. *Cancer.* 1997; 80(9):1798-802.
18. Leong AS, Sormunen RT, Vinyuvat S, Hamdani RW, Suthipintawong C. Biologic markers in ductal carcinoma in situ and concurrent infiltrating carcinoma: a comparison of eight contemporary grading systems. *Am J Clin Pathol.* 2001;115(5):709-18.
19. Harrison M, Coyne JD, Gorey T, Dervan PA. Comparison of cytomorphological and architectural heterogeneity in mammographically-detected ductal carcinoma in situ. *Histopathology.* 1996;28(5):445.
20. Silverstein MJ. Ductal carcinoma in situ of the breast. controversial issues. *The Oncologist.* 1998;3(2):94-103.