

ARTIKEL PENELITIAN

Imunoekspresi ER- α , PR, Wnt5a, dan HMGA2 pada Berbagai Gradasi Tumor Filodes Payudara

Fairuz Quzwain,¹ Yusuf Sulaiman Effendi,² Bethy Suryawati,³ Ida Parwati⁴

¹Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jambi

²Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung

³Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung

⁴Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung

Abstrak

Tumor filodes merupakan tumor fibroepitelial pada payudara yang secara mikroskopis ditandai dengan peningkatan selularitas sel stroma dan membentuk struktur seperti daun (*leaf-like*). Berbeda dengan tumor dari unsur epitel duktuli dan kelenjar payudara, penelitian peranan hormonal maupun faktor lain pada tumor filodes masih menunjukkan hasil yang inkonsisten sehingga menyebabkan patogenesis dan penatalaksanaan tumor ini dalam jalur hormonal masih kontroversi. Penelitian ini bertujuan menganalisis imunoekspresi faktor hormonal, yaitu *estrogen receptor alpha* (ER- α), *progesteron receptor* (PR), serta faktor nonhormonal HMGA2 dan Wnt5a pada berbagai gradasi tumor filodes payudara. Dilakukan penilaian histologi dan imunoekspresi pada parafin blok jaringan tumor filodes payudara di Laboratorium Departemen Patologi Anatomi RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung periode tahun 2011 sampai 2014. Subjek penelitian dibagi menjadi 3 kelompok gradasi berdasarkan kriteria WHO tahun 2012, yaitu *benign*, *borderline*, dan *malignant*. Didapatkan 62 kasus tumor filodes yang sebagian besar menunjukkan distribusi imunoekspresi ER- α >50%, yaitu pada kategori *benign* sebanyak 35 dari 40 pasien. Terdapat korelasi signifikan histoskor ER- α , HMGA2, dan Wnt5a dengan gradasi histopatologis PT ($p=0,002$; $p=0,001$; $p=0,040$) dengan arah negatif untuk ER- α 2 ($R=-0,423$) serta positif untuk HMGA2 dan Wnt5a ($R=0,439$ dan $R=0,243$). Pada penelitian ini dapat disimpulkan semakin besar nilai histoskor ER- α maka semakin banyak diekspresikan pada gradasi *benign* dan semakin besar nilai histoskor HMGA2 serta Wnt5a semakin banyak ditemukan pada gradasi *malignant*.

Kata kunci: ER- α , PR, HMGA2, Wnt5a, gradasi, tumor filodes

ER- α , PR, HMGA2 and Wnt5a Immunoexpression in Various Grade of Phyllodes Tumor of the Breast

Abstract

Phyllodes tumors (PTs) of the breast are fibroepithelial neoplasms, histologically characterized by hypercellular stromal, stromal overgrowth and double-layered epithelial component arranged in clefts which in combination elaborate leaf-like structures. Unlike epithelial neoplasm of the duct and gland of the breast, there were inconsistency and controversy in hormonal expression research in PTs. These were make unclear pathogenesis and unestablished hormonal therapy in PTs. The aim of this study was to analysis the immunoexpression estrogen receptor-alpha (ER- α), progesterone receptor (PR), HMGA2 and Wnt5a in various grade of phyllodes tumors of the breast. We reviewed histology and performed immunohistochemistry for paraffin block of PTs in Laboratory of Department Pathological Anatomic at Dr. Hasan Sadikin General Hospital in 2011 until 2014 period. According to WHO classification (2012), PTs were categorized into three groups benign, borderline and malignant. According to 62 cases of PT, mainly showed that distribution of immunoexpression ER- α >50% in benign category were 35 of 40 patients. A significant correlation was observed between histoscore ER- α , HMGA2 and Wnt5a ($p=0.002$, $p=0.001$, $p=0.040$) and histopathological grading of PT ($p=0.001$) in negative direction ($R=-0.423$), HMGA2 and Wnt5a in positive direction ($R=0.439$ and $R=0.243$). It indicates that the histoscore ER- α value increases with increasing expressed value in benign grade. On the other side, the histoscore HMGA2 and Wnt5a value increases with increasing expressed value in malignant grade.

Key words: ER- α , PR, HMGA2, Wnt5a, grade, phyllodes tumor

Korespondensi: Fairuz Quzwain, dr., Sp.PA. Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Jambi, Jalan Soeprapto No. 33. Telepon: 0741-60246/+6281320778463. Fax: 0741-60246. E-mail: fairuz.quzwain@yahoo.com

Pendahuluan

Tumor filodes merupakan tumor fibroepitelial pada payudara dan secara mikroskopis ditandai dengan peningkatan selularitas sel stroma dan membentuk struktur seperti daun (*leaf-like*). Tumor ini terjadi sebanyak <1% dari neoplasma primer pada payudara. Insidensi tumor ini di Singapura bahkan dilaporkan sampai 6,92% dari seluruh keganasan di payudara dan terjadi pada usia yang lebih muda, yaitu 25 sampai 30 tahun. Secara mikroskopis tumor filodes dibagi menjadi *benign*, *borderline*, dan *malignant* berdasarkan selularitas stroma, atipia inti, serta mitosis.^{1,2} Payudara adalah salah satu organ yang sangat berhubungan erat dengan sistem hormonal dan dalam perkembangannya sangat dipengaruhi perubahan hormonal yang dapat diakibatkan oleh bermacam faktor yang dapat menghambat atau mengaktifkan fungsi hormonal.³ Berbeda dengan tumor dari unsur sel epitel duktuli dan kelenjar payudara maupun pada fibroadenoma, pengaruh faktor hormonal pada perkembangan tumor filodes itu masih belum jelas. Peranan hormonal dalam penelitian tumor tersebut masih menunjukkan hasil yang inkonsisten, ekspresi progesteron yang tinggi pada tumor filodes ini, dan ekspresi reseptor estrogen beta pada sel-sel stroma tumor ini bertolak belakang dengan penelitian lain yang menunjukkan ekspresi yang sangat rendah, bahkan sampai tidak ada pada sel-sel stromal.⁴⁻⁶ Perbedaan peranan hormonal pada tumor filodes menyebabkan belum terdapat kesepakatan dalam pemberian terapi hormonal.⁷

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui bagaimana imunoekspresi faktor hormonal itu, yaitu estrogen ER- α , *progesteron receptor* (PR), serta faktor nonhormonal HMGA2 dan Wnt5a pada berbagai gradasi tumor filodes payudara.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian analisis korelasional untuk melihat keterkaitan variabel masing-masing. Subjek pada penelitian ini adalah jaringan tumor filodes payudara yang diperiksa di Laboratorium Departemen Patologi Anatomi RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung periode tahun 2011 sampai tahun 2014. Subjek penelitian dibagi menjadi 3 kelompok gradasi berdasarkan kriteria WHO tahun 2012, yaitu *benign*, *borderline*, dan juga *malignant*. Bahan

penelitian adalah blok parafin yang memenuhi kriteria inklusi.

Pada sampel yang telah terkumpul dilakukan diagnosis ulang memakai sediaan hematoksilin eosin (HE) untuk dapat menentukan gradasi histopatologis. Dilaksanakan pemotongan blok parafin yang sesuai dengan nomor yang telah dinilai ulang setebal 4–5 mikron dengan *rotary microtome*. Disediakan kaca objek yang telah di-*coating*, kemudian ditempel lembaran blok parafin yang dipotong sebanyak 3 buah untuk reseptor masing-masing, lalu dibiarkan di dalam inkubator yang bersuhu 40°C selama semalam. Pada keesokan harinya dilakukan deparafinisasi dengan cara mencelupkan dalam xilol berturut-turut dalam 3 tempat masing-masing selama 5 menit, kemudian dicelupkan dalam alkohol 100% berturut-turut dalam 3 tempat masing-masing untuk selama 5 menit. Rehidrasi secara berturut-turut ke dalam larutan alkohol 90%, 80%, dan 70%. Setelah dilakukan pembilasan dengan akuades, dimasukkan ke dalam cairan bufer sitrat yang telah mendidih 2 kali 5 menit, kemudian didinginkan pada suhu ruangan, lalu dicuci dengan PBS 3 kali 5 menit. Selanjutnya, ditambahkan *blocking serum* dan diinkubasi dalam tempat tertutup selama 10 menit. Kaca objek itu kemudian dibilas lagi dengan PBS 3 kali 5 menit, baru ditetaskan masing-masing *monoclonal antibody estrogen receptor alpha* (abcam, ab75635, *diluted* 1:200), *progesterone receptor* (Leica, ORG-8721, *diluted* 1:200), HMGA2 (*clone* PA521320 *diluted* 1:500, *Thermo Scientific*), Wnt5a (*clone* 6F2 *diluted* 1:300, *Thermo Scientific*). Kemudian, diinkubasi di dalam tempat tertutup pada suhu ruangan selama 60 menit, lalu dibilas dengan PBS 3 kali 5 menit. Tahap selanjutnya ditetaskan *biotinylated universal secondary antibody* (Novacastra), diinkubasi dalam tempat tertutup pada suhu ruangan selama 10 menit dan dibilas lagi dengan PBS 3 kali selama 5 menit. Setelah itu ditetaskan *streptavidin-peroxidase conjugate*, di-inkubasi di dalam tempat tertutup pada suhu ruangan selama 10 menit dan dibilas dengan PBS 3 kali 5 menit. Kemudian, ditetaskan larutan kromogen *dietyl amino benzyn*, diinkubasi dalam ruang tertutup pada suhu ruangan selama 5 menit dan kemudian dibilas memakai air mengalir. Dilakukan *counterstain* dengan hematoksilin Meyer selama 2 menit, lalu dibilas dengan air yang mengalir dan dilakukan dehidrasi, berturut-turut dicelupkan di dalam larutan alkohol 70%,

80%, dan 90% masing-masing selama 5 menit. Kemudian, ke dalam etanol 100% sebanyak 2 kali masing-masing selama 5 menit, setelah itu baru dikeringkan dengan kertas saring. Tahap akhir dimasukkan di dalam xilol selama 3 menit dan ditetaskan entelan, kemudian tutup dengan kaca penutup dan biarkan mengering pada suhu ruang dan dilihat di bawah mikroskop cahaya.

Setelah prosedur tersebut di atas dilakukan penilaian pada hasil pulasannya. Hasil pulasan inti sel-sel tumor berwarna coklat. Pengamatan dilakukan sebanyak 10 lapangan pandang. Nilai % (persentase) yang didapatkan diubah menjadi angka, kemudian dihitung sesuai dengan rumus histoskor. Penilaian terhadap makna tampilan imunoekspresi ditetapkan berdasarkan atas nilai distribusi sel-sel tumor itu: 0–5%=negatif (-); 6–30%=positif satu (+); 31–100%=positif dua (++) serta intensitas: lemah, sedang, dan kuat.⁴

Analisis data pada penelitian ini merupakan analisis untuk dapat melihat gambaran proporsi tiap-tiap variabel dengan tipe data kategorik yang akan dipresentasikan secara deskriptif. Untuk data numerik analisis berupa *mean*, minimum serta maksimum data, standar deviasi, *range*, dan juga median. Untuk data numerik sebelum dilakukan uji statistik dinilai dulu dengan uji normalitas menggunakan uji Sapiro-Wilk. Uji kemaknaan untuk membandingkan karakteristik dua kelompok penelitian digunakan uji-t tidak berpasangan jika data berdistribusi normal dan uji Mann Whitney sebagai alternatifnya jika data itu tidak berdistribusi normal. Analisis statistik untuk data kategorik diuji dengan uji *chi-square* apabila syarat *chi-square* terpenuhi. Bila tidak terpenuhi maka digunakan uji *Exact Fisher* untuk tabel 2x2 dan Kolmogorov Smirnov untuk tabel selain 2x2. Syarat *chi-square* bila tidak ada nilai *expected value* yang kurang dari 5 sebanyak 20% dari tabel. Untuk membandingkan karakteristik dua kelompok penelitian digunakan uji-t tidak berpasangan jika data berdistribusi normal dan uji Mann Whitney sebagai alternatifnya jika data tidak berdistribusi normal. Uji kemaknaan untuk membandingkan karakteristik lebih dari dua kelompok penelitian digunakan uji ANOVA jika data berdistribusi normal dan uji Kruskal Wallis sebagai alternatifnya jika data tidak berdistribusi normal. Selanjutnya, dilakukan uji statistik yang bertujuan mengetahui korelasi data skala ordinal dibanding dengan skala numerik maka uji statistika yang dipergunakan korelasi Spearman. Interpretasi dari hasil uji hipotesis

ini berdasarkan atas kekuatan korelasi, arah korelasi, dan juga nilai p. Kekuatan korelasi (r) berdasarkan kriteria Guilford (1956). Kriteria kemaknaan yang digunakan bila nilai $p \leq 0,05$ artinya adalah signifikan atau bermakna secara statistika. Data yang diperoleh dicatat di dalam formulir yang khusus, sesudah itu data diolah melalui program SPSS versi 21.0 *for windows*.

Hasil

Didapatkan sebanyak 64 sampel tumor filodes dari berbagai tingkat gradasi dari tahun 2011 sampai tahun 2014. Setelah dilakukan evaluasi, 2 sampel tidak dapat memenuhi kriteria inklusi disebabkan parafin blok yang tidak memenuhi standar pemeriksaan imunohistokimia sehingga jumlah sampel yang didapat sebanyak 62. Hasil penelitian disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1 Karakteristik Subjek Penelitian

Variabel	n=62
Usia (tahun)	
<i>Mean</i> ± <i>Std</i>	40,11±12,06
Median	38,50
<i>Range</i> (min.–maks.)	19,00–66,00
Ukuran tumor (cm)	
<i>Mean</i> ± <i>Std</i>	13,29±7,350
Median	11,00
<i>Range</i> (min.–maks.)	2,20–30,00
Derajat	
<i>Benign</i>	40 (64%)
<i>Borderline</i>	11 (18%)
<i>Malignant</i>	11 (18%)
Lokasi	
Kanan	33 (53%)
Kiri	28 (45%)
Kanan+kiri	1 (2%)
Rekuren	
Positif	6 (10%)
Negatif	56 (90%)

Tabel 1 menjelaskan karakteristik secara keseluruhan, yaitu usia (dalam tahun), ukuran tumor (dalam cm), derajat, lokasi, dan rekurensi.

Tabel 2 Perbandingan Distribusi, Intensitas, dan Histoskor Imunoekspresi Estrogen Receptor Alpha (ER- α) dengan Gradasi Tumor Filodes Payudara

Variabel	Gradasi			p	r
	<i>Benign</i>	<i>Borderline</i>	<i>Malignant</i>		
Distribusi ER-α					
0–20%	4	1	4	0,665	
20–50%	1	0	2		
>50%	35	10	5		
Intensitas ER-α					
Lemah	4	1	5	0,013**	-0,423
Sedang	10	6	5		
Kuat	26	4	1		
Histoskor ER-α					
<i>Mean</i> ± <i>Std</i>	4,800±1,856	4,090±1,814	2,363±1,911	0,002**	-0,428
Median	6,000	4,000	2,000		
<i>Range</i> (min.–maks.)	0,00–6,00	1,00–6,00	0,00–6,00		

Keterangan: tanda ** menunjukkan signifikan atau bermakna secara statistika ($p < 0,05$)

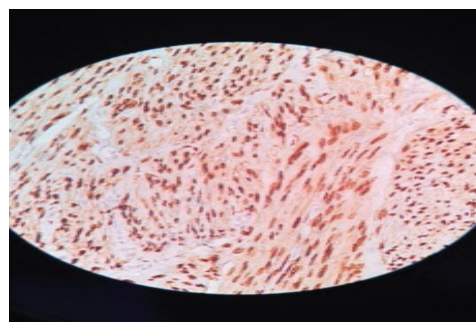
Usia dengan *range* 19–66 tahun dan rata-rata 40,11±12,06 tahun. Ukuran tumor dengan *range* 2,2–30 cm dan rata-rata 13,29±7,350 cm. Gradasi yang paling banyak adalah *benign* sebanyak 40 (64%) pasien. Lokasi tumor sedikit lebih sering terjadi di payudara kanan sebanyak 33 (53%) pasien dan satu kasus dengan kejadian bilateral. Rekuren positif terdapat pada 6 (10%) pasien.

Pada Tabel 2 terlihat bahwa pada ketiga

juga tampak bahwa pada ketiga gradasi tumor filodes sebagian besar menunjukkan intensitas imunoekspresi kuat, yaitu kelompok *benign* sebanyak 26 dari 40 pasien dan untuk kelompok *malignant* hanya 1 dari 11 pasien. Variabel histoskor ER- α pada kelompok *benign* rata-rata 4,800±1,856, kelompok *borderline* rata-rata 4,090±1,814, dan kelompok *malignant* rata-rata 2,363±1,911. Analisis statistik histoskor ER- α dan intensitas ER- α diperoleh $p = 0,002$



a. Imunoekspresi ER- α Lemah 0–20%



b. Imunoekspresi ER- α Kuat >50%

Gambar 1 Imunoekspresi ER- α pada Tumor Filodes Menggunakan Mikroskop Cahaya Olympus Seri CX-21 Pembesaran 400 \times

gradasi sebagian besar menunjukkan distribusi imunoekspresi ER- α >50% pada kelompok *benign* sebanyak 35 dari 40 pasien, *borderline* 10 dari 11 pasien, dan *malignant* sebanyak 5 dari 11 pasien. Pada variabel intensitas ER- α

dan $p = 0,013$ yang berarti terdapat perbedaan proporsi yang signifikan atau bermakna secara statistik antara imunoekspresi ER- α dan gradasi tumor filodes.

Hasil analisis statistika uji korelasi setiap

variabel diperoleh nilai p pada korelasi antara histoskor ER- α dan derajat histopatologis, mempunyai nilai kemaknaan $p < 0,05$, hal ini menunjukkan terdapat korelasi antara setiap histoskor ER- α dan histopatologis. Dari nilai koefisien korelasi (R) diperoleh informasi bahwa arah korelasi negatif dengan kekuatan korelasi yang cukup kuat. Dengan menggunakan analisis statistik *Rank Spearman* maka didapatkan nilai R masing-masing untuk nilai korelasi histoskor

perbandingan distribusi PR, intensitas PR, dan histoskor PR dengan gradasi tumor filodes. Untuk distribusi p tampak variabel histoskor PR pada gradasi *benign* rata-rata $0,500 \pm 1,062$, *borderline* rata-rata sebesar $0,818 \pm 0,873$, dan *malignant* rata-rata $0,636 \pm 0,809$. Pada analisis statistika histoskor PR diperoleh nilai $p > 0,05$, yaitu $p = 0,125$ yang berarti tidak signifikan. Analisis data kategorik pada distribusi PR dan intensitas PR diperoleh nilai $p > 0,05$ yang berarti

Tabel 3 Perbandingan Distribusi, Intensitas, dan Histoskor Imunoekspresi Progesterone Receptor (PR) dengan Gradasi Tumor Filodes

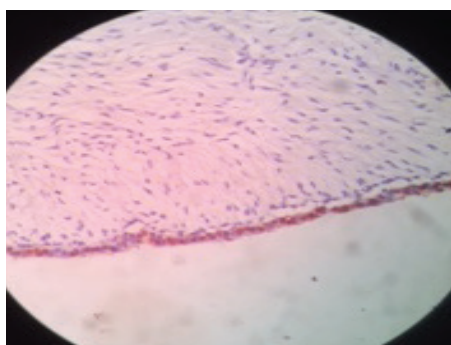
Variabel	Gradasi			P
	<i>Benign</i>	<i>Borderline</i>	<i>Malignant</i>	
Distribusi PR				0,996
0–20%	28	6	7	
20–50%	9	3	2	
>50%	3	2	2	
Intensitas PR				1,000
Lemah	39	10	11	
Sedang	0	1	0	
Kuat	1	0	0	
Histoskor PR				0,125
Mean±Std	0,500±1,062	0,818±0,873	0,636±0,809	
Median	0,000	1,000	0,000	
Range (min.–maks.)	0,00–6,00	0,00–2,00	0,00–2,00	

ER- α dengan histopatologis adalah $-0,428$ yang berarti terdapat hubungan yang signifikan antara histoskor ER- α dan histopatologis dengan arah negatif, artinya semakin besar nilai histoskor ER- α maka akan semakin cenderung *benign*.

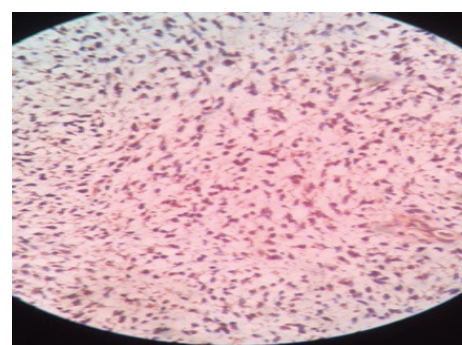
Pada Tabel 3 tertera di bawah ini dijelaskan

tidak signifikan. Keadaan ini menunjukkan tidak ada perbedaan baik dalam hal distribusi PR, intensitas PR, dan histoskor PR yang signifikan antara ketiga gradasi tumor filodes.

Pada Tabel 4 dijelaskan juga perbandingan distribusi, intensitas wnt5a, dan juga histoskor



a. Imunoekspresi PR Lemah 0–20%



b. Imunoekspresi PR Kuat >50%

Gambar 2 Imunoekspresi PR pada Tumor Filodes Menggunakan Mikroskop Cahaya Olympus Seri CX 21 Pembesaran 400 \times

Tabel 4 Perbandingan Distribusi, Intensitas, dan Histoskor Imunoekspresi Wnt5a dengan Gradasi Tumor Filodes

Variabel	Kelompok			p	r
	<i>Benign</i>	<i>Borderline</i>	<i>Malignant</i>		
Distribusi Wnt5a					
0–20%	0	0	0	0,980	
20–50%	5	0	0		
>50%	35	11	11		
Intensitas Wnt5a					
Lemah	3	0	0	0,593	
Sedang	7	0	1		
Kuat	30	11	10		
Histoskor Wnt5a				0,040**	0,243
<i>Mean</i> ± <i>Std</i>	5,150±1,610	–	5,818±0,603		
Median	6,000	–	6,000		
<i>Range</i> (min.–maks.)	1,00–6,00	–	4,00–6,00		

Keterangan: tanda ** menunjukkan signifikan atau bermakna secara statistik

imunoekspresi wnt5a dengan gradasi tumor filodes. Hasil uji statistik terhadap variabel histoskor imunoekspresi Wnt5a pada kelompok penelitian ini diperoleh nilai $p=0,040$ yang berarti signifikan atau dinyatakan bermakna secara statistik. Dengan demikian, terdapat perbedaan rata-rata pada semua variabel yang signifikan secara statistika antara variabel histoskor imunoekspresi Wnt5a dan gradasi

tumor filodes, koefisien korelasi (r) arah korelasi positif dengan kekuatan korelasi lemah.

Hasil uji secara statistika variabel histoskor imunoekspresi HMGA2 kelompok penelitian ini diperoleh nilai $p=0,001$ yang berarti signifikan. Dengan demikian, terdapat perbedaan HMGA2 rata-rata yang signifikan atau bermakna antara variabel histoskor HMGA2 dan gradasi tumor filodes payudara dengan arah korelasi positif.

Tabel 5 Perbandingan Distribusi, Intensitas, dan Histoskor Imunoekspresi HMGA2 dengan Gradasi Tumor Filodes Payudara

Variabel	Kelompok			p	r
	<i>Benign</i>	<i>Borderline</i>	<i>Malignant</i>		
Distribusi HMGA2				0,100	
0–20%	0	0	0	0,077	
20–50%	13	0	0		
>50%	27	11	11		
Intensitas HMGA2				0,077	
Lemah	7	1	0	0,001**	0,439
Sedang	12	2	0		
Kuat	21	8	11		
Histoskor HMGA2				0,001**	0,439
<i>Mean</i> ± <i>Std</i>	4,025±1,967	5,272±1,348	6,000		
Median	4,000	6,000	6,000		
<i>Range</i> (min.–maks.)	1,00–6,00	2,00–6,00	6,00		

Keterangan: tanda ** menunjukkan signifikan atau bermakna secara statistik

Hal ini berarti semakin besar nilai histoskor maka semakin cenderung *malignant* (Tabel 5).

Pembahasan

Tumor filodes payudara merupakan neoplasma dari kelompok lesi fibroepitelial yang jarang ditemukan. Tumor filodes ini dahulu dikenal dengan nama *cystosarcoma phyllodes* yang telah dikemukakan pertama kali oleh Johannes Muller pada tahun 1838 untuk menunjukkan tumor yang secara makroskopik menyerupai daging, sedangkan gambaran secara mikroskopis menyerupai daun atau *leaf-like*. Ada juga yang mengatakannya sebagai *giant fibroadenoma*, *cellular intercanalicular fibroadenoma*, dan masih terdapat beberapa nama lain, tetapi yang sekarang digunakan berdasarkan *World Health Organization* adalah tumor *phyllodes* (filodes) sebagai penamaan yang paling sesuai.^{2,8,9}

Tumor ini dibedakan dengan fibroadenoma berdasarkan peningkatan selularitas sel stroma sehingga sel akan mendesak bagian epitelium dari duktuli kelenjar payudara. Desakan sel-sel stroma ini mengakibatkan pembentukan struktur seperti daun yang merupakan karakteristik pada tumor filodes.¹⁰ Insidensi tumor ini secara umum terjadi pada usia 40–50 tahun, tetapi di negara Asia terjadi pada usia lebih muda, yaitu 25–30 tahun.² Dalam penelitian ini ditemukan tumor filodes juga didapatkan pada usia yang lebih muda, yaitu usia 19–66 tahun, dengan $mean \pm Std$ 40,11 \pm 12,06 dan median 38,9 tahun sesuai dengan usia muda pada penelitian yang dilakukan oleh Hassouna dkk. dengan $mean$ 39,5 (14–71) tahun dan juga penelitian Nurhayati dkk.¹¹ di Malaysia $mean$ 42 (16–78) tahun. Pada gradasi *malignant* hanya ditemukan terjadi pada usia lebih tua, yaitu 50–60 tahun. Kasus tumor filodes yang terjadi bilateral sangat jarang, pada penelitian ini ditemukan satu kasus yang terjadi bilateral, kedua massa tumor adalah tumor filodes *benign*. Rekurensi terjadi pada 6 (enam) kasus, 4 (empat) kasus penderita *benign* yang didiagnosis sebelumnya juga merupakan tumor filodes *benign* dan satu kasus *malignant* yang sebelumnya telah didiagnosis sebagai jenis *borderline*, dan satu kasus *malignant* yang tidak diketahui diagnosis sebelumnya.

Rekurensi dapat terjadi pada semua gradasi tumor filodes dengan insidensi 21% dari semua kasus. Sampai sekarang ini ternyata faktor yang paling signifikan pada risiko rekurensi adalah

status bebas atau tidak terdapat sel tumor pada batas sayatan operasi.⁶ Penentuan bebas sel tumor pada batas sayatan operasi sulit dilakukan bila massa tumor sangat besar. Pada penelitian ini semua pasien dilakukan operasi eksisi luas dan mastektomi, dengan 3 pasien malignansi disertai radioterapi berdasarkan pertimbangan klinis. Mastektomi sederhana dikerjakan pada keadaan a) ada benjolan yang sudah menempati hampir seluruh payudara sehingga hanya tersisa sedikit jaringan payudara yang sehat; b) benjolan residif dan telah terbukti secara histopatologis berupa lesi yang *malignant*; c) benjolan residif pada usia tua. Pada tumor filodes dengan tipe *malignant* prinsip terapi juga sama dengan yang *benign* kecuali pada yang residif, langsung dilakukan mastektomi sederhana. Pembersihan kelenjar getah bening (KGB) aksila hanya bila telah didapatkan metastasis pada kelenjar getah bening pada aksila, sedangkan penatalaksanaan radioterapi dan juga kemoterapi pada tumor ini kurang berperan.¹²

Tidak seperti keganasan payudara dari unsur epitel (*carcinoma*) yang sudah menjadi protap untuk melakukan pemeriksaan imunoekspresi ER dan PR, terapi hormonal pada tumor filodes masih kontroversi.

Estrogen receptor (ER) adalah grup protein yang ditemukan di dalam sel-sel yang dapat mengaktifkan faktor transkripsi itu. *Estrogen receptor* mempunyai struktur yang terdiri atas 6 domain, yaitu A-F dan terdapat pula DNA-binding domain (DBD) dengan 2 transcriptional activation domains (AF-1 dan AF-2), yaitu Zinc-finger containing domain (C domain) yang mempunyai afinitas dan juga spesifisitas yang kuat dengan *estrogen responsive elements* pada gen target, dan *ligand-binding domain* (LBD, E domain) yang berikatan dengan estradiol.^{14–16} Mekanisme ER dalam mengaktifkan faktor transkripsi dapat melalui jalur klasik (*classical pathway*) atau di jalur alternatif (*alternative pathway*). Pada jalur yang klasik estrogen akan berikatan dengan *estrogen receptor* pada *ligand binding-domain* (AF-2) yang akan menyebabkan ikatan pada ko-aktivator. Kompleks yang telah terbentuk akan berikatan dengan EREs pada gen target dan kemudian mengaktifkan proses transkripsi.^{16,17}

Salah satu gen yang paling berkaitan dengan regulasi ER adalah *progesterone receptor* (PR). *Progesterone receptor* dalam keadaan tidak aktif mempunyai ikatan dengan *heat shock protein*

(Hsp90) atau dengan *human high mobility* (HMG) dan dengan p23. Reseptor hormon ini aktif dengan jalur utama melalui ikatan langsung DNA terhadap regulasi transkripsional pada gen target. Selain hal itu, PR juga dapat aktif dengan cara berikatan dengan protein yang lain, misalnya NF-kappaB, AP-1 atau *signal transducer and activator of transcription 3* atau STAT3.^{3,18-20}

Penelitian bagaimana peran hormonal dalam penelitian filodes masih menunjukkan hasil yang inkonsisten. Sapino dkk.⁴ telah memperlihatkan ekspresi progesteron yang tinggi pada tumor filodes serta ekspresi reseptor estrogen beta pada sel-sel stroma tumor filodes itu. Hal ini juga didukung oleh penelitian Nurhayati dkk.¹¹ yang menunjukkan terdapat ekspresi ER beta yang tinggi pada sel-sel stroma tumor filodes. Hal ini bertolak belakang dengan penelitian yang dilakukan Ilic dkk.²¹ yang menunjukkan ekspresi ER bukan diekspresikan oleh sel-sel stroma, tetapi pada sel mast yang diperkirakan suatu sel stromal pada tumor filodes. Pada penelitian ini tampak perbedaan proporsi yang signifikan variabel intensitas dan histoskor ER- α dengan gradasi tumor filodes dengan arah korelasi yang negatif. Semakin tinggi gradasi tumor filodes, imunoekspresi intensitas ER- α semakin lemah dan histoskor semakin kecil (R=0,423; p=0,001). Hal ini tidak ditemukan pada imunoekspresi PR, tidak ditemukan nilai yang signifikan antara distribusi, intensitas maupun histoskor PR dengan gradasi tumor filodes. Perubahan imunoekspresi ER- α yang signifikan dengan arah korelasi negatif memberikan dugaan pengaruh ER- α terhadap perubahan sel-sel stroma pada tumor filodes.

Peranan ER- α diduga sangat terlibat dalam proses *epithelial-mesenchymal transition* atau EMT pada sel kanker payudara. Bouris dkk.²² yang meneliti peranan reseptor estrogen pada proses EMT sel karsinoma payudara dan mendapatkan hasil yang signifikan bahwa penurunan ekspresi ER- α juga berpengaruh dalam proses terjadinya EMT pada sel tumor kanker payudara. Hal ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Guttilla dkk.²³ yang menyimpulkan ER- α mendukung proliferasi dan diferensiasi sel-sel epitel serta merupakan inhibitor terjadinya EMT pada kanker payudara. ER- α mempromosikan pertumbuhan berupa lesi primer atau mitogenik pada payudara, tetapi juga mampu menjaga

proses EMT sehingga dapat dikatakan bahwa ER- α adalah merupakan suatu faktor yang dapat menghambat proses EMT pada kejadian tumor payudara.²⁴⁻²⁶

Berdasarkan atas perbandingan berbagai penatalaksanaan sarkoma pada kasus ginekologi, Thanopoulou dan Judson²⁷ telah menyimpulkan perlu dipertimbangkan manipulasi hormonal pada terapi sarkoma ginekologi sebagai target terapi. Kesamaan pengaturan hormon estrogen dan hormon progesteron pada organ payudara dan dengan organ reproduksi sehingga dapat dipertimbangkan pengaruh hormonal terhadap tumor ini. Walaupun berdasarkan atas statistik tidak didapatkan hasil yang signifikan antara imunoekspresi PR dan juga gradasi tumor, akan tetapi pada penelitian ini ditemukan kasus-kasus tumor filodes *benign* dan juga *borderline* yang memberikan ekspresi dengan distribusi yang tinggi dan intensitas yang kuat. Dengan demikian, seperti pada tumor yang berasal dari unsur epitel duktuli maupun kelenjar payudara, patutlah dipertimbangkan pengaruh hormonal pada patogenesis tumor ini.

Pada penelitian ini juga didapatkan korelasi signifikan imunoekspresi wnt5a dan HMGA2 dengan gradasinya tumor filodes dengan arah korelasi yang positif, yaitu bahwa imunoekspresi Wnt5a dan juga HMGA2 semakin kuat dengan peningkatan gradasi tumor filodes itu. Jalur Wnt/ β -catenin merupakan salah satu jalur yang diperkirakan terlibat dalam EMT. Pada penelitian karsinoma payudara, Wnt dianggap bertanggung jawab pada terjadinya proses metastasis. Wnt *signaling* akan menyebabkan proses migrasi sel-sel pada proses EMT. Pada proses ini sel-sel epitel akan masuk ke dalam ruang mesenkimal. Proses ini juga melibatkan *cadherin* yang menyebabkan sel epitel terpisah dari laminin dan bermigrasi.²⁸⁻³⁰ Sawyer dkk.³¹ sudah meneliti *epithelial-stromal interaction* pada jalur Wnt-APC-*beta-catenin* dan dengan cara menilai ekspresi imunohistokimia *beta-catenin* dan *cyclin1* pada pasien tumor filodes. Didapatkan 72% sel stromal mengekspresikan *beta-catenin* yang akan terakumulasi di daerah periduktal pada *benign* tumor filodes, sedangkan pada bagian yang lain ditemukan imunoekspresi *beta-catenin* yang lemah di sekitar periduktal pada tumor filodes dengan gradasi yang lebih tinggi (*borderline-malignant*) sehingga diduga terdapat ketergantungan sel-sel epitel kelenjar

dalam proliferasi sel stromal pada tumor filodes. Walaupun penelitian yang sudah dilaksanakan adalah penilaian *beta-catenin*, tetapi hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Sawyer dkk.^{31,32}

High mobility group AT-hook protein 2 atau HMGA2 merupakan regulator transkripsi pada kelompok protein HMG tersebut. HMGA2 banyak ditemukan di dalam sel-sel yang belum berdiferensiasi pada proses embriologis serta menurun pada jaringan dewasa. Ekspresi tinggi HMGA2 pada organ dewasa memperlihatkan aktivasi sel-sel progenitor pada berbagai macam jaringan.³³ Analisis HMGA2 pada hewan mencit menunjukkan hubungan HMGA2 dengan WNT dan juga menghasilkan peningkatan proliferasi sel-sel serta jumlah sel-sel progenitor.²⁹ Sel-sel progenitor yang paling banyak berperan adalah *mesenchymal pluripoten cell* sehingga ekspresi HMGA2 banyak ditemukan pada tumor dengan diferensiasi sel mesenkimal. Penelitian Henrisken telah membuktikan peranan HMGA2 pada *mesenchymal stem-like cell (MSC) line* mendapatkan resistensi di proses diferensiasi, penurunan ekspresi petanda sel-sel epitel, dan peningkatan ekspresi petanda sel mesenkimal sehingga diduga terdapat amplikasi HMGA2 pada sarkoma menjadikan sel tumor dengan fenotipe *stem-like cell*. Pada penelitian ini, imunoekspresi HMGA2 yang sangat dominan ditemukan pada tumor filodes tipe *malignant* ($p < 0,05$). Tumor filodes *malignant* mengandung sel-sel stroma yang sangat hiperseluler dengan inti sel yang atipik, diferensiasi sel sudah memburuk, bahkan tidak jarang disertai juga dengan sel-sel tumor *rhabdomyomatous*, *lipomasarcomatous*, dan *fibrosarcomatous*. Perubahan sel-sel dengan diferensiasi yang buruk dan sel-sel metaplastik diduga mempunyai hubungan dengan proses mutasi intratumoral yang berhubungan dengan proses EMT.

Simpulan

Simpulan, terjadi peningkatan imunoekspresi ER- α pada gradasi tumor filodes *benign* serta imunoekspresi HMGA2 dan juga Wnt5a pada tumor filodes yang *malignant*. Hal ini membuat perkiraan bahwa terdapat pengaruh hormonal (ER- α) dalam etiopatogenesis progresivitas sel-sel stroma pada tumor filodes.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Kepala Bagian Departemen Patologi Anatomi dan seluruh teknisi analisis di Laboratorium Departemen Patologi Anatomi RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung yang telah membantu pemeriksaan imunohistokimia.

Daftar Pustaka

1. Tan PH. Fibroepithelial tumours. Dalam: Sunil R, Lakhani IOE SJS, Tan PH, van de Vijver MJ, penyunting. WHO classification of tumours of the breast. Edisi ke-4. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2012.
2. Tan PH, Ellis IO. Myoepithelial and epithelial-myoepithelial, mesenchymal and fibroepithelial breast lesions: updates from the WHO classification of tumours of the breast 2012. *J Clin Pathol.* 2013 Jun; 66(6):465–70.
3. Brisken C, O'Malley B. Hormone action in the mammary gland. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010 Dec;2(12):a003178.
4. Sapino A, Bosco M, Cassoni P, Castellano I, Arisio R, Cserni G, dkk. Estrogen receptor-beta is expressed in stromal cells of fibroadenoma and phyllodes tumors of the breast. *Mod Pathol.* 2006 Apr;19(4):599–606.
5. Kim YH, Kim GE, Lee JS, Lee JH, Nam JH, Choi C, dkk. Hormone receptors expression in phyllodes tumors of the breast. *Anal Quant Cytol Histol.* 2012 Feb;34(1):41–8.
6. Jara-Lazaro AR, Tan PH. Molecular pathogenesis of progression and recurrence in breast phyllodes tumors. *Am J Transl Res.* 2009;1(1):23–34.
7. Guillot E, Couturaud B, Reyat F, Curnier A, Ravinet J, Lae M, dkk. Management of phyllodes breast tumors. *Breast J.* 2011 Mar–Apr;17(2):129–37.
8. Mishra SP, Tiwary SK, Mishra M, Khanna AK. Phyllodes tumor of breast: a review article. *ISRN Surg.* 2013;2013:10.
9. Tse GM, Niu Y, Shi HJ. Phyllodes tumor of the breast: an update. *Breast Cancer.* 2010;17(1):29–34.
10. Rosen PP. Rosen's breast pathology. Edisi ke-3. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
11. Nurhayati HM, Siti-Aishah A, Reena Z,

- Rohaizak M. Ko-pengekspresan reseptor estrogen beta (ER β) dan aktin otot licin pada tumor filodes di payudara: suatu kajian tisu mikroarai. *Sains Malaysiana*. 2014;43(2):8.
12. Onkendi EO, Jimenez RE, Spears GM, Harmsen WS, Ballman KV, Hieken TJ. Surgical treatment of borderline and malignant phyllodes tumors: the effect of the extent of resection and tumor characteristics on patient outcome. *Annals Surg Oncol*. 2014 Oct;21(10):3304–9.
 13. Mohammed H, Russell IA, Stark R, Rueda OM, Hickey TE, Tarulli GA, dkk. Progesterone receptor modulates ER[agr] action in breast cancer. *Nature*. 2015;523(7560):313–7.
 14. Ellmann S, Sticht H, Thiel F, Beckmann MW, Strick R, Strissel PL. Estrogen and progesterone receptors: from molecular structures to clinical targets. *Cell Mol Life Sci*. 2009 Aug;66(15):2405–26.
 15. Hewitt SC, Korach KS. Estrogen receptors: structure, mechanisms and function. *Rev Endocr Metab Disord*. 2002 Sep;3(3):193–200.
 16. Heldring N, Pike A, Andersson S, Matthews J, Cheng G, Hartman J, dkk. Estrogen receptors: how do they signal and what are their targets. *Physiol Rev*. 2007;87(3):905–31.
 17. Wierman ME. Sex steroid effects at target tissues: mechanisms of action. *Adv Physiol Educ*. 2007 Mar;31(1):26–33.
 18. Khan JA. Progesterone receptor isoforms: functional selectivity and pharmacological targeting. Paris: Universite Paris-Sud; 2011.
 19. Boonyaratanakornkit V, Bi Y, Rudd M, Edwards DP. The role and mechanism of progesterone receptor activation of extranuclear signaling pathways in regulating gene transcription and cell cycle progression. *Steroids*. 2008 Oct;73(9-10):922–8.
 20. Lösel R, Wehling M. Nongenomic actions of steroid hormones. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2003 Jan;4(1):46–56.
 21. Ilić I, Randelović P, Ilić R, Katić V, Milentijević M, Veličković L, dkk. An approach to malignant mammary phyllodes tumors detection. *Vojnosanit Pregl*. 2009;66(4):277–82.
 22. Bouris P, Skandalis SS, Piperigkou Z, Afratis N, Karamanou K, Aletras AJ, dkk. Estrogen receptor alpha mediates epithelial to mesenchymal transition, expression of specific matrix effectors and functional properties of breast cancer cells. *Matrix Biol*. 2015 Apr;43:42–60.
 23. Guttilla IK, Adams BD, White BA. ER α , microRNAs, and the epithelial-mesenchymal transition in breast cancer. *Trends Endocrinol Metab*. 2012 Feb;23(2):73–82.
 24. Wilson BJ, Giguère V. Meta-analysis of human cancer microarrays reveals GATA3 is integral to the estrogen receptor alpha pathway. *Mol Cancer*. 2008;7:49.
 25. Taylor MA, Parvani JG, Schiemann WP. The pathophysiology of epithelial-mesenchymal transition induced by transforming growth factor- β in normal and malignant mammary epithelial cells. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2010;15(2):169–90.
 26. Yan W, Cao QJ, Arenas RB, Bentley B, Shao R. GATA3 inhibits breast cancer metastasis through the reversal of epithelial-mesenchymal transition. *J Biol Chem*. 2010 Apr 30;285(18):14042–51.
 27. Thanopoulou E, Judson I. Hormonal therapy in gynecological sarcomas. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2012 Jul;12(7):885–94.
 28. Yook JI, Li XY, Ota I, Fearon ER, Weiss SJ. Wnt-dependent regulation of the E-cadherin repressor snail. *J Biol Chem*. 2005 Mar 25;280(12):11740–8.
 29. Singh I, Mehta A, Contreras A, Boettger T, Carraro G, Wheeler M, dkk. Hmga2 is required for canonical WNT signaling during lung development. *BMC Biol*. 2014;12:21.
 30. Peluso S, Chiappetta G. High-mobility group A (HMGA) proteins and breast cancer. *Breast Care (Basel)*. 2010;5(2):81–5.
 31. Sawyer EJ, Hanby AM, Ellis P, Lakhani SR, Ellis IO, Boyle S, dkk. Molecular analysis of phyllodes tumors reveals distinct changes in the epithelial and stromal components. *Am J Pathol*. 2000;156(3):1093–8.
 32. Sawyer EJ, Hanby AM, Rowan AJ, Gillett CE, Thomas RE, Poulson R, dkk. The Wnt pathway, epithelial-stromal interactions, and malignant progression in phyllodes tumours. *J Pathol*. 2002 Apr;196(4):437–44.

33. Pfannkuche K, Summer H, Li O, Hescheler J, Droge P. The high mobility group protein HMGA2: a co-regulator of chromatin structure and pluripotency in stem cells? *Stem Cell Rev.* 2009 Sep;5(3):224–30.