



## PERBEDAAN EKSPRESI PROTEIN CD44 PADA BERBAGAI GRADE ADENOKARSINOMA PROSTAT

Al Ichsan<sup>1)</sup>, Indra Wijaya<sup>2)</sup>, Ika Pawitra Miranti<sup>2)</sup>

### THE DIFFERENCES IN CD44 EXPRESSION FOR VARIOUS GRADES OF PROSTATE ADENOCARCINOMA

#### ABSTRACT

**Background:** Prostate cancer is the most common malignancy and the sixth leading cause of cancer death in men worldwide. One of their prognosis is highly dependent on the histological grading of the tumor at diagnosis. Gleason score is commonly used for histological grading systems of prostate adenocarcinoma. CD44, a transmembrane protein, is associated with cell-cell and cell-matrix interaction and with tumor growth and metastasis. Expression of CD44 has been implicated in tumor progression and metastasis in multiple neoplasms, including prostate neoplasms, and there was a tendency towards high Gleason score. The objectives of this study was to observe the distinction of CD44 expression on well, moderate and poorly differentiated prostate adenocarcinoma.

**Methods:** It was a descriptive analytical study using cross-sectional design. Thirty paraffin blocks of well (group A), moderate (group B) and poorly differentiated (group C) prostate adenocarcinoma that already diagnosed and reviewed, were stained CD44 antibody immunohistochemically. The data of CD44 expression was analyzed with normality test, homogeneity test and One Way ANOVA test.

**Results:** Distribution of data are normal and homogen. One Way ANOVA test was significant ( $p = 0.048$ ) between three groups.

**Conclusion:** There are differences in CD44 expression among well, moderate and poorly differentiated prostate adenocarcinoma. This is consistent with most previous research.

**Keywords:** CD44, adenocarcinoma, Gleason score, prostate

#### ABSTRAK

**Latar belakang:** Kanker prostat merupakan keganasan paling umum dan tertinggi urutan enam penyebab kematian akibat kanker pada pria di seluruh dunia. Salah satu faktor yang sangat berpengaruh pada prognosis adalah derajat histopatologi tumor saat diagnosis. Skor Gleason merupakan sistem yang saat ini paling sering digunakan untuk menentukan derajat adenokarsinoma prostat. CD44 merupakan protein trans-membran, berhubungan dengan interaksi antar sel dan interaksi sel-matriks serta dengan pertumbuhan dan metastasis tumor. Ekspresi CD44 berimplikasi pada progresi tumor dan metastasis pada banyak tumor, termasuk adenokarsinoma prostat, ini berkaitan juga dengan derajat skor Gleason yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan perbedaan ekspresi CD44 pada adenokarsinoma prostat diferensiasi baik, sedang dan buruk.

**Metode:** Penelitian analitik dengan desain belah lintang. Sampel sebanyak 30 blok parafin yang telah didiagnosis dan dilihat ulang sebagai adenokarsinoma prostat diferensiasi baik (Kelompok A), sedang (Kelompok B) dan buruk (Kelompok C) dan dilakukan pemeriksaan imunohistokimia CD44. Data ekspresi CD44 dianalisis menggunakan uji normalitas, uji homogenitas dan uji *One Way ANOVA*.

**Hasil:** Sebaran data normal dan homogen. Uji *One Way ANOVA* kelompok A, B dan C,  $p=0,048$ , menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara ketiga kelompok.

**Simpulan:** Didapatkan perbedaan bermakna ekspresi CD44 antara adenokarsinoma prostat diferensiasi baik, sedang danburuk. Hal ini sesuai dengan sebagian besar penelitian yang telah ada sebelumnya.

**Kata kunci:** CD44, adenokarsinoma, prostat, skor Gleason

<sup>1)</sup> Mahasiswa Program Pendidikan Dokter Spesialis I Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

<sup>2)</sup> Staf Pengajar Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

## PENDAHULUAN

Kanker prostat merupakan keganasan yang paling sering didiagnosis pada pria dan tertinggi kedua penyebab kematian di negara industri. Di seluruh dunia, lebih dari 650.000 kasus baru kanker prostat ditemukan setiap tahun. Menurut WHO pada tahun 2014, kanker prostat di Indonesia menduduki peringkat ketiga pada pria setelah kanker paru dan kolorektal, dan peringkat keempat sebagai penyebab kematian akibat kanker pada pria.<sup>1-4</sup> Jumlah kasus terus meningkat selama beberapa dekade terakhir. Di RSUP Dr. Kariadi Semarang, setiap tahun rata-rata ditemukan 18-19 kasus baru adenokarsinoma prostat.

Kanker prostat umumnya ditemukan pada penderita berusia lebih dari 50 tahun.<sup>5</sup> Sekitar 75% laki-laki yang didiagnosis kanker prostat berusia di atas 65 tahun.<sup>6</sup> Sekitar 60% penderita datang pada stadium awal (*localized disease*) sementara 15% sudah menunjukkan metastasis saat diagnosis. Ini berhubungan dengan sifat kanker prostat yang sebagian besar tidak memberikan gejala khas, sisanya bisa disertai gangguan berkemih, *urgency* maupun *frequency*.<sup>7</sup>

Penyebab kanker prostat sangat kompleks, beberapa faktor yang berperan antara lain genetik, ras, hormonal, dan diet serta pengaruh lingkungan.<sup>5,9</sup> Terapi kanker prostat tergantung pada tahap penyakit, sehingga memberikan keluaran klinis yang bervariasi. Sampai saat ini, sistem skor Gleason merupakan sistem derajat histopatologi pada adenokarsinoma prostat yang paling utama digunakan di seluruh dunia.<sup>11</sup> Berdasarkan WHO 2016, dibagi menjadi diferensiasi baik dengan skor  $\leq 6$ , diferensiasi sedang dengan skor 7, dan diferensiasi buruk dengan skor 8 sampai 10.<sup>12</sup> Kelemahan dari Gleason adalah faktor subyektifitas dan rentang sempit dalam penilaian. Oleh karena itu, sangat diperlukan petanda prognosis yang dapat mengidentifikasi agresivitas adenokarsinoma prostat dalam lesi dini dan membantu memilih terapi yang tepat yang pada akhirnya mengurangi angka kematian.

Berdasarkan penelitian Tei,<sup>7</sup> Verkaik,<sup>10</sup> Marzo,<sup>13</sup> Patrawala,<sup>14</sup> dan lain-lain, salah satu faktor yang mempengaruhi derajat keganasan prostat adalah protein CD44, yang merupakan suatu glikoprotein transmembran permukaan sel. CD44 juga merupakan penanda *cancer stem cells* yang sangat

berperan penting dibandingkan penanda *cancer stem cells* lainnya seperti CD133, CD166, CD24 karena CD44 berhubungan langsung dengan proses progresi dan metastasis tumor.<sup>15</sup> Studi ilmiah menunjukkan ekspresi CD44 berhubungan dengan derajat patologi dan penanda prognostik progresi tumor adenokarsinoma prostat,<sup>10</sup> sehingga dengan menggunakan marker ini pada adenokarsinoma prostat dapat dibuat prediksi progresifitasnya sebagai salah satu acuan untuk manajemen terapi pasien. Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk membuktikan perbedaan ekspresi CD44 pada berbagai derajat adenokarsinoma prostat di RSUP Dr. Kariadi, Semarang, periode Januari 2011 - Desember 2015.

Tujuan penelitian ini adalah membuktikan bahwa terdapat perbedaan ekspresi CD44 pada berbagai derajat adenokarsinoma prostat di Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Kariadi, Semarang, periode Januari 2011 - Desember 2015. Sedangkan manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi data tentang bagaimana ekspresi CD44 serta perbedaannya pada sediaan histopatologi tumor prostat yang terdiagnosis sebagai adenokarsinoma diferensiasi baik, sedang maupun buruk dan temuan data tersebut diharapkan menjadi tambahan referensi dilakukannya penelitian lanjutan yang lebih luas dan mendalam tentang ekspresi CD44 sebagai faktor prognostik pada adenokarsinoma prostat.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskripsi analitik dengan rancangan *cross sectional* untuk menilai perbedaan ekspresi imunohistokimia CD44 pada pasien adenokarsinoma prostat diferensiasi baik, sedang dan buruk di RSUP Dr. Kariadi Semarang, Indonesia. Sampel dari penelitian ini adalah blok parafin dari pasien kanker prostat yang telah didiagnosis adenokarsinoma prostat sejak 1 Januari 2011 - 31 Desember 2015. Berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi didapatkan total 30 sampel, dikelompokkan menjadi 10 sampel adenokarsinoma prostat diferensiasi baik, 10 sampel diferensiasi sedang dan 10 sampel diferensiasi buruk.

Seluruh sampel yang terkumpul dilakukan pengecatan imunohistokimia CD44. Data yang diambil dari penelitian ini adalah ekspresi CD44

masing-masing kelompok dengan menggunakan *Allred immunohistochemistry score* yang mengukur distribusi proporsi sel yang terekspresi positif dengan nilai : skor 0 = tidak terekspresi, skor 1 =  $\leq 1 / 100$  sel terekspresi, skor 2 =  $\leq 1 / 10$  sel terekspresi, skor 3 =  $\leq 1 / 3$  sel terekspresi, skor 4 =  $\leq 2 / 3$  sel terekspresi, skor 5 =  $> 2 / 3$  sel terekspresi; dan intensitas ekspresi sel dengan nilai : skor 1 = intensitas lemah, skor 2 = intensitas sedang dan skor 3 = intensitas kuat. Data diambil melalui pembacaan oleh 2 ahli patologi anatomi secara *blind* pada 5 lapangan pandang besar secara acak, pembesaran 400X. Dengan sampel yang berjumlah 10 tiap kelompok dan dibaca pada 5 lapangan pandang besar, sehingga total akan didapatkan 50 data ekspresi CD44 tiap kelompoknya.

Selanjutnya data dianalisis dengan menggunakan *SPSS for Windows 16.0*. Perbedaan ekspresi CD44 pada tiap kelompok adenokarsinoma prostat dianalisis menggunakan uji statistik *One Way ANOVA* dengan tingkat kemaknaan  $p < 0,05$ .

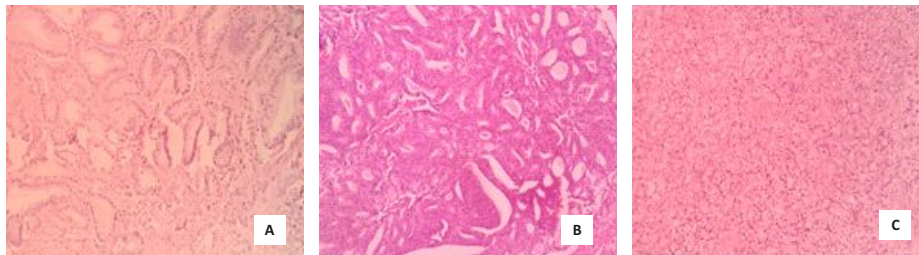
**HASIL**

Penelitian ini didapatkan 30 sampel yang diambil selama periode tahun 2011 - 2015, terdiri atas 10 kasus adenokarsinoma prostat diferensiasi baik, 10 kasus adenokarsinoma prostat diferensiasi sedang dan 10 kasus adenokarsinoma prostat diferensiasi buruk. Distribusi sampel berdasarkan karakteristik usia disajikan dalam tabel 1.

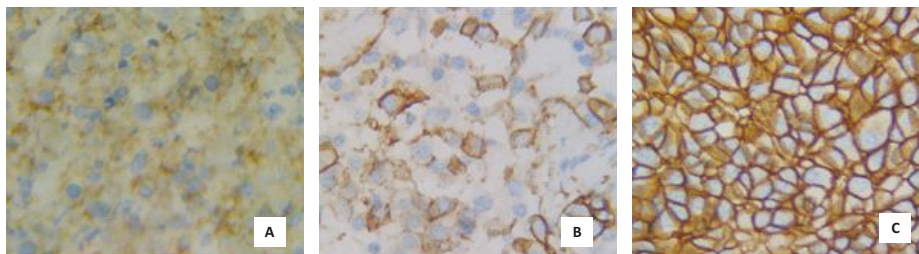
Berdasarkan tabel 1, adenokarsinoma prostat diferensiasi buruk terbanyak terjadi pada usia 70-80 tahun yaitu sebanyak 5 orang, sedangkan untuk adenokarsinoma prostat diferensiasi baik dan sedang tidak signifikan untuk perbedaan usia. Didapatkan 3 sampel berusia lebih dari 80 tahun yaitu untuk kasus adenokarsinoma prostat diferensiasi sedang. Gambaran histopatologi masing-masing kelompok dapat dilihat pada gambar 1, dan gambaran hasil pemeriksaan imunohistokimia CD44 dengan intensitas ringan sampai kuat dapat dilihat pada gambar 2.

**Tabel 1.** Karakteristik sampel berdasarkan kelompok usia

Kelompok Kasus	Kelompok Usia				Total
	48-58	59-69	70-80	>80	
Diferensiasi baik	2	4	4	0	10
Diferensiasi sedang	3	1	3	3	10
Diferensiasi buruk	3	2	5	0	10
Total	8	7	12	3	



**Gambar 1.** Histopatologi adenokarsinoma prostat (HE, 100x):  
A. diferensiasi baik; B. diferensiasi sedang; C. diferensiasi buruk



**Gambar 2.** Intensitas ekspresi CD44 : A. ringan (400x). B. sedang (400x). C. kuat (400x)

Tabel 2. Distribusi frekuensi ekspresi CD44

Ekspresi CD44	
Mean	2,8717
Median	2,9750
SD	0,6638
Minimum - Maksimum	1,75 - 3,95

Dari tabel 2 didapatkan bahwa rata-rata penilaian ekspresi CD44 adalah 2,87 dengan nilai minimum 1,75 dan nilai maksimal 3,95.

### Uji Normalitas dan Homogenitas

Data ekspresi CD44 diuji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*, dari hasil analisa, didapatkan ketiga kelompok data berdistribusi normal. Selanjutnya, data ekspresi CD44 diuji homogenitasnya menggunakan *Levene Statistic* dan didapatkan nilai signifikan  $p > 0,05$ , sehingga dapat disimpulkan data homogen.

### Uji Hipotesis

Berdasarkan uji normalitas dan homogenitas, didapatkan sebaran data normal dan homogen, sehingga untuk melihat adanya perbedaan antara ketiga kelompok dilanjutkan dengan uji hipotesis parametrik *One Way ANOVA*. Dari hasil uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai  $p < 0,05$ . Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dilakukan uji lanjutan *Post Hoc*. Hasilnya adalah terdapat perbedaan signifikan antara adenokarsinoma prostat diferensiasi baik dan buruk, tetapi tidak terdapat perbedaan signifikan antara diferensiasi sedang dan baik maupun diferensiasi sedang dan buruk.

## PEMBAHASAN

Berdasarkan usia seluruh sampel, adenokarsinoma prostat paling banyak terjadi pada kelompok usia 70–80 tahun (40%). Sedangkan, sebanyak 10% kasus terjadi pada usia >80 tahun. Menurut WHO pada tahun 2014, kanker prostat di Indonesia menduduki peringkat ketiga pada pria setelah kanker paru dan kolorektal.<sup>2</sup> Insiden adenokarsinoma prostat sangat berubah pada dua abad terakhir terutama dua puluh tahun terakhir. Pada pertengahan abad kedua puluh, terdapat

peningkatan insiden adenokarsinoma prostat di Amerika Serikat.

Hasil uji *One Way ANOVA* pada ketiga kelompok sampel memberikan nilai signifikan  $< 0,05$  sehingga memberikan kesimpulan bahwa terdapat perbedaan ekspresi imunohistokimia CD44 yang bermakna antara adenokarsinoma prostat diferensiasi baik, sedang dan buruk. Hal ini sesuai dengan sebagian besar penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya, seperti penelitian Tei,<sup>7</sup> Patrawala,<sup>14</sup> dan lain-lain yang menunjukkan perbedaan bermakna ekspresi CD44 pada adenokarsinoma prostat berbagai grade. Penelitian tersebut menyatakan bahwa semakin tinggi grade maka semakin tinggi skor ekspresi CD44 nya, walaupun ada pula yang mendapatkan hasil sebaliknya seperti penelitian Kallakury.<sup>16</sup>

Perbedaan di atas dapat menjelaskan bahwa ada faktor lain yang berperan selain CD44 pada adenokarsinoma prostat, contohnya seperti yang dijelaskan Kallakury<sup>16</sup> di penelitiannya bahwa terdapat hubungan aneuploid dengan derajat skor Gleason pada adenokarsinoma prostat. Dia menjelaskan, dari 109 sampel yang diteliti (56 sampel derajat tinggi, 53 sampel derajat rendah) ekspresi CD44 menurun pada sampel adenokarsinoma prostat derajat tinggi yang berhubungan juga dengan penurunan mRNA CD44.

Sejalan dengan Kallakury, Verkaik<sup>10</sup> dalam penelitiannya juga menyimpulkan bahwa terdapat penurunan ekspresi CD44 pada derajat keganasan adenokarsinoma prostat yang meningkat dihubungkan dengan status DNA hypermethylation. Begitu pula dengan Gao,<sup>8</sup> dalam penelitiannya menggunakan tikus coba yang disuntikkan kromosom manusia yang mengandung kanker prostat didapatkan hasil bahwa ekspresi CD44 makin menurun pada derajat tumor yang makin tinggi.

Hal ini tidak sejalan dengan penjelasan Bourguignon,<sup>17</sup> bahwa CD44 berperan penting dalam proses migrasi, invasi dan progresi sel tumor karena CD44 dapat langsung mempengaruhi kerja protein intra dan ekstrasel. Menurut Tei,<sup>7</sup> CD44 dapat digunakan sebagai salah satu parameter prognostik kanker prostat karena dia menyimpulkan bahwa ekspresi CD44 makin meningkat pada derajat keganasan yang makin tinggi.



## SIMPULAN

Terdapat perbedaan ekspresi CD44 antara kelompok adenokarsinoma prostat diferensiasi baik, sedang dan buruk.

## DAFTAR PUSTAKA

- World Health Organization. Population Fact Sheets: INDONESIA. IARC; 2012. Available from <http://globocan.iarc.fr/Pages/Map.aspx>.
- World Health Organization. Cancer country profiles, Indonesia. 2014. Available from [www.who.int/cancer/country-profiles/idn\\_en.pdf](http://www.who.int/cancer/country-profiles/idn_en.pdf).
- Foulkes WD, Cooney KA. Male Reproductive Cancers: Epidemiology, Pathology, and Genetics. New York: Springer; 2010. 3-36.
- Baetke SC, Adriaens ME, Seigneuric R, *et al.* Molecular pathways involved in prostate carcinogenesis: insights from public microarray datasets. *Plos One*. 2012 Nov;7(11):1-11.
- Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Elsevier; 2015. 21:980-90.
- Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 10<sup>th</sup> ed. New York: Elsevier; 2011. 18:1287-333.
- Tei H, Miyake H, Harada K, *et al.* Expression profile of CD44s, CD44v6, and CD44v10 in localized prostate cancer: Effect on prognostic outcomes following radical prostatectomy. *Kobe Urologic Oncology*. 2013;1-7.
- Gao AC, Lou W, Dong JT, *et al.* CD44 is a metastasis suppressor gene for prostatic cancer located on human chromosome 11p13. *Virginia Cancer Research*. 1997 March;57:846-9.
- Susilawati, Unita M, Kartika I, dkk. Hubungan Ekspresi Epidermal Growth Factor Receptor dan Skor Gleason pada Karsinoma Prostat. Palembang. *Majalah Patologi*. Mei 2015;24(2):14-9.
- Verkaik NS, Trapman J, Romijn JC, *et al.* Down-Regulation of CD44 expression in human prostatic carcinoma cell is correlated with DNA hypermethylation. *Netherlands International Journal Cancer*. 1998;80:439-43.
- Epstein JI. The Gleason Grading System: A Complete Guide for Pathologists and Clinicians. Philadelphia: Lippincott; 2013. 1:1-76.
- Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, *et al.* WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. Lyon: IARC; 2016. 3:135-80.
- Marzo AMD, Bradshaw C, Sauvageot J, *et al.* CD44 and CD44v6 downregulation in clinical prostatic carcinoma: relation to Gleason grade. *The Prostate*. 1998;34:162-8.
- Patrawala L, Calhoun T, Broussard RS, *et al.* Highly purified CD44+ prostate cancer cells from xenograft human tumor are enriched in tumorigenic and metastatic progenitor cells. *Oncogene*. 2006;25:1696-708.
- Iczkowski KA. Cell adhesion molecule CD44: its functional roles in prostate cancer. *Am J Transl Res*. 2011;3(1):1-7.
- Kallakury BVS, Yang F, Figge J, *et al.* Decreased levels of CD44 protein and mRNA in prostate carcinoma. Washington. American Cancer Society. 1996;78:7.
- Bourguignon LYW. Hyaluronan-mediated CD44 activation of RhoGTPase signaling and cytoskeleton function promotes tumor progression. *Seminars in Cancer Biology*. 2008;18:251-9.

