

KADAR C-ERBB2 DALAM SERUM DAN SALIVA PASIEN KANKER PAYUDARA

Eva Sulistiowati*, Samuel Haryono**

* Pusat Teknologi Terapan Kesehatan dan Epidemiologi Klinik

**Bedah Onkologi, Rumah Sakit Kanker Dharmais

Jl. Dr. Sumeru 63 Bogor Indonesia

E-mail: dr.eva_s@yahoo.com

LEVEL OF C-ERBB2 IN SERUM AND SALIVA OF BREAST CANCER PATIENTS

Abstract

C-erbB2 used as a marker for determining treatment and prognosis of breast cancer. The most often method used to evaluate c-erbB2 in tissue samples is by immunohistochemistry (IHC). Another method to evaluate c-erbB2 is measure the level of ECD (extra cellular domain) c-erbB2 were detached from the cell surface in serum and saliva. Saliva is used as a diagnostic tool because it can be collected non-invasive, easy. This study aimed to evaluate the levels of c-erbB2 in serum and saliva breast cancer patients compared to controls and to assess the possibility of the use of saliva as an alternative sample examination biomarker. The study using cross sectional design, implemented at Dharmais hospital of April-December 2012. The sample consisted of 55 subject of cancer patients and 56 controls. Specimens were taken from both groups, levels of c-erbB2 serum and saliva were measured by ELISA (cut off value ≥ 30 ng/ml) and the results compared to c-erbB2 IHC. Serum and salivary level of c-erbB2 increased at 10,9% and 7,3% of breast cancer patients. The levels of c-erbB2 in serum and saliva patients was higher than controls. Salivary levels of c-erbB2 correlated with serum ($r=0.31$). Sensitivity of serum c-erbB2 38% and 13% for saliva, spesivicity of 91% for both. PPV 50% and NPV 86% at serum, PPV 25% and NPV 82% at saliva. C-erbB2 can be detected in the serum and saliva and its overexpressed in 7-11% of breast cancer patients. Saliva may have potensial use as an alternative sample examination biomarkers in breast cancer.

Keywords : C-ErbB2 ; Serum; Saliva; Breast Cancer

Abstrak

Pemeriksaan c-erbB2 berguna dalam menentukan terapi dan prognosis pasien kanker payudara. Cara paling sering untuk mengevaluasi ekspresi protein c-erbB2 dalam sampel jaringan adalah imunohistokimia (IHK). Cara lainnya adalah dengan menilai kadar ECD (*extra cellular domain*) c-erbB2 dalam serum dan saliva yang terlepas dari permukaan sel. Saliva digunakan sebagai spesimen diagnosis karena dapat dikumpulkan secara non-invasif, mudah, tanpa peralatan khusus untuk mengumpulkannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kadar c-erbB2 dalam serum dan saliva pada pasien kanker payudara dibandingkan dengan kontrol serta menilai kemungkinan penggunaan saliva sebagai spesimen alternatif pemeriksaan penanda pada kanker payudara. Penelitian menggunakan desain *cross sectional* analitik, dilaksanakan di RS kanker Dharmais dari April-Desember 2012. Sampel terdiri dari: 55 subjek kelompok pasien kanker dan 56 kelompok kontrol. Spesimen diambil dari serum dan saliva kedua kelompok, kadar c-erbB2 diukur dengan metode ELISA dengan *cut off value* ≥ 30 ng/ml, kemudian hasil kadar c-erbB2 dibandingkan dengan c-erbB2 jaringan (IHK). Amplifikasi c-erbB2 jaringan terjadi pada 14,5% pasien kanker payudara sedangkan kadar c-erbB2 serum dan saliva meningkat pada 10,9% dan 7,3% pasien. Kadar rata-rata c-erbB2 serum dan saliva pada kelompok pasien kanker payudara lebih tinggi daripada kelompok kontrol. Kadar c-erbB2 dalam saliva berkorelasi dengan kadar c-erbB2 serum ($r=0,31$). Sensitifitas c-erbB2 pada serum 38%, 13% pada saliva. Spesifisitas serum dan saliva masing-masing 91% dengan PPV 50%, NPV 86% pada serum dan PPV 25%, NPV 82% pada saliva. C-erbB2 dapat terdeteksi di dalam serum dan saliva, mengalami overekspresi pada 7-11% pasien kanker payudara. Saliva merupakan sampel yang potensial digunakan sebagai sampel pemeriksaan biomarker kanker payudara.

Kata kunci : C-ErbB2; Saliva; Serum; Kanker Payudara

PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan kanker terbanyak dengan insidens yang terus meningkat di negara maju dan Asia serta merupakan penyebab kematian terbanyak pada perempuan.¹ Di Amerika Serikat, pada tahun 2007 kurang lebih 180.510 penderita di diagnosis menderita kanker payudara dan 40.910 meninggal karena penyakit tersebut. Sebanyak 62.030 kasus baru terdiagnosis sebagai kanker payudara *in situ*.¹ Data Globocan (IARC) 2002 menunjukkan bahwa kanker payudara merupakan keganasan pada wanita yang paling sering ditemukan di Indonesia. Umur rata-rata 32,6 tahun dengan mortalitas 18,6 per 100.000.¹⁻³ Sedangkan data di Rumah Sakit Kanker Dharmas (RSKD) bagian Rawat Jalan tahun 2007, kanker payudara menempati urutan pertama sebanyak 437 diikuti kanker serviks sebanyak 264.⁴ Hal ini ditunjang pula dengan data patologi anatomi RSKD tahun 2010 yang melaporkan bahwa terdapat 637 kasus pasien baru dengan umur rata-rata 47 tahun.⁵

Proses terjadinya kanker payudara merupakan tahapan yang memerlukan waktu lama dimulai dari hiperplasia, perubahan pre malignan, karsinoma *in situ* sampai invasif. Pada kanker payudara terjadi evolusi dan interaksi faktor predisposisi genetik dengan perubahan somatik yang sangat kompleks. Berdasarkan hal tersebut, kanker payudara dapat dibagi menjadi kanker yang diturunkan (familial) dan kanker sporadik. Kanker familial terjadi sekitar 20-30% populasi dimana terdapat mutasi *germline* gen BRCA1 dan BRCA2. Sedangkan kanker yang bersifat sporadik mayoritas berhubungan dengan paparan hormon, jenis kelamin, umur haid pertama dan menopause, umur reproduktif, riwayat menyusui dan estrogen eksogen. Reseptor estrogen pada keadaan normal diekspresikan oleh sel epitel luminal payudara, sedangkan pada lesi karsinoma duktal *insitu* diekspresikan lebih dari 70%. Protoonkogen c-erbB2 diekspresikan secara berlebih pada hampir separuh dari semua lesi karsinoma duktal *insitu*.⁶

American Society of Clinical Oncology merekomendasikan pemeriksaan status c-erbB2 pada setiap diagnosis awal tumor primer kanker payudara atau pada saat terjadinya rekurensi kanker payudara. *The German Pathology Advisory Board* juga menganjurkan pemeriksaan status c-erbB2 pada awal perkembangan kanker payudara karena berkaitan erat dengan mikro metastasis.⁷

C-erbB2/HER2 merupakan glikoprotein transmembran (p185) anggota dari keluarga

Human Epidermal Growth Factor Receptors (HER) yang memegang peranan penting untuk memulai proliferasi dan jalur kehidupan sel normal. Peningkatan ekspresi c-erbB2 akan mengubah sel menjadi ganas dan meningkatkan tumorigenesis.⁸⁻¹⁵ C-erbB2 dapat mengalami overekspresi pada kanker payudara, ovarium dan lambung. Setelah perbanyakannya c-erbB2 terjadi, fenotip c-erbB2 menetap selama masa perkembangan tumor. Oleh karena itu, test c-erbB2 dapat dilakukan pada stadium dini maupun setelah metastase. Kanker payudara dengan c-erbB2 positif dikenal sebagai bentuk agresif dari kanker payudara dan memiliki perjalanan penyakit yang lebih buruk. Satu dari empat sampai lima pasien dengan kanker payudara tahap akhir memiliki c-erbB2 positif. Peningkatan ekspresi c-erbB2 ini terdapat pada 10-35% kanker payudara.⁸⁻¹⁵ Data RSKD 2010, c-erbB2 positif terdapat pada 45% dari 528 pasien kanker payudara.⁵

Pemeriksaan imunohistokimia paling sering digunakan untuk mengevaluasi ekspresi protein c-erbB2 pada sampel jaringan kanker payudara yang sudah diparafinisasi. Ekspresi protein c-erbB2 positif bila terjadi pewarnaan yang intens pada membran sel dibandingkan dengan jaringan normal.^(16,17) Metode lainnya untuk menilai kadar c-erbB2 adalah dengan menilai kadar ECD (*extra cellular domain*) pada serum yang terlepas dari permukaan sel akibat MMPs (*matrix metalloproteinase*). Kadar c-erbB2 dalam serum berkorelasi secara signifikan dengan metode imunohistokimia (IHK).¹⁸⁻²¹

Strefcus²², Sumathy²³ dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa c-erbB2 terekspresi pula dalam saliva pasien kanker payudara selain di dalam serum. Kadar c-erbB2 dalam saliva tersebut berkorelasi secara signifikan dengan serum.^(22,23) Saliva dapat dikumpulkan secara non-invasif untuk mengurangi kecemasan dan rasa tidak nyaman pasien serta proses pengambilan specimen yang cepat, hanya dengan sedikit latihan, tanpa peralatan khusus, mudah dalam penyimpanan dan pengiriman dibandingkan serum; biaya lebih murah karena menggunakan manipulasi prosedural yang lebih sedikit mengingat saliva tidak menggumpal dibandingkan dengan serum.²⁴⁻²⁷

Penelitian ini akan melakukan pengukuran kadar c-erbB2 dalam saliva dan serum wanita kanker payudara dibandingkan dengan kontrol dan mengevaluasi kemungkinan pemanfaatan saliva sebagai sumber sampel alternatif pemeriksaan *biomarker* dalam menilai perkembangan tumor dan penentuan prognosis.

BAHAN DAN METODE

Desain penelitian yang digunakan adalah *cross sectional* analitik dengan menggunakan uji diagnostik²⁸, di Poliklinik Onkologi dan Unit Deteksi Dini RS Kanker Dharmais (RSKD) dari bulan April sampai dengan Desember 2012. Persetujuan etik diperoleh dari Komisi Etik Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan.

Sampel penelitian adalah pasien kanker payudara (stadium I/II/III/IV) yang pertama kali didiagnosis secara klinis dan patologis dan belum mendapatkan terapi radiasi maupun kemoterapi. Kontrol adalah wanita sehat yang tidak menderita kanker payudara dengan pemeriksaan radiodiagnostik standar (mammografi/USG payudara) di Unit Deteksi Dini RSKD. Kedua kelompok memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang ditetapkan. Penegakan diagnosis kanker payudara didasarkan pada pemeriksaan klinis dan pemeriksaan penunjang (protokol PERABOI)²⁹, sedangkan penentuan stadium kanker payudara ditentukan berdasarkan TNM *system American Joint Committee of Cancer (AJCC)* tahun 2002.³⁰ Cara pemilihan subjek penelitian dilakukan dengan metode *consecutive sampling*, estimasi besar sampel menggunakan rumus besar sampel tunggal untuk estimasi proporsi suatu populasi. Sampel yang didapat berjumlah 111 subjek yang terdiri dari 55 subjek kanker payudara dan 56 kontrol.

Pengumpulan saliva dilakukan dengan metode *passive droll*, tanpa stimulasi agar responden tidak merasa mual. Satu jam sebelumnya subjek diberitahu agar tidak makan, minum atau merokok. Pada saat pengumpulan, area bibir dibersihkan dan berkumur dengan air biasa satu kali. Saliva ditampung dalam botol sebanyak 10 ml dan di sentrifuse 2600 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C dengan sentrifus universal 320R dari Hettich. Supernatant dipisahkan dan disimpan dalam suhu -80°C. Untuk setiap 1 ml saliva ditambah protease inhibitor cocktail (EDTA free) yang berisi aprotinin, AEBSF (Amioethyl benzenesulfonyl fluoride hydrochloride), E-64, leupeptin hemisulfate monohydrate, bestatin dan pepstatin A (Nacalai tesque.inc).³¹

Sampel darah diambil dari vena (plebotomi) sebanyak 10 ml dan dimasukkan ke dalam tabung tanpa antikoagulan. Darah didiamkan terlebih dahulu (15 menit) sebelum di sentrifus pada 2600 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C dengan sentrifus

universal 320 R dari Hettich. Supernatant dipisahkan dan disimpan dalam suhu -80°C. Pada sampel darah tidak ditambahkan *protease inhibitor cocktail*. Kadar c-erbB-2 diukur dengan metode ELISA menggunakan DRG sp 185 (HER-2) human kit (EIA-4877), dibaca dengan ELISA reader *Chamwell* pada panjang gelombang 450 nm. Optimasi dilakukan di laboratorium Patologi Klinik RS Kanker Dharmais, menggunakan kurva standar yang dibuat dengan pengenceran serial mulai 10 ng/ml; 5 ng/ml; 2,5 ng/ml; 1,25 ng/ml; 0,63 ng/ml; 0,31 ng/ml dan 0,16 ng/ml dengan konsentrasi sampel yang sesuai. *Cut off value* c-erbB2 disesuaikan dengan kit, dikatakan tinggi bila dalam serum atau saliva kadarnya mencapai ≥ 30 ng/ml dan rendah bila < 30 ng/ml.³²

Analisis uji diagnostik untuk mendapatkan nilai sensitivitas, spesifisitas, *negative predictive value* (NPV), *positive predictive value* (PPV) dan *reciever operator curve* (ROC). Hasil c-erbB2 serum maupun saliva dibandingkan dengan c-erbB2 standar pada jaringan menggunakan metode Imunohistokimia (IHK) yang sebelumnya telah diinterpretasikan di laboratorium Patologi Anatomi RSKD. Derajat ekspresi pewarnaan c-erbB2 IHK dilakukan secara semi kuantitatif, positif bila terdapat warna coklat dengan intensitas yang kuat pada seluruh membran sel tumor. Hasil dari pemeriksaan IHK dikelompokkan berdasarkan jumlah sel yang terwarnai dan intensitas pewarnaan. Skoring IHK ditentukan sebagai berikut: skor 0 (-) jika tidak ada sel tumor yang positif atau sel tumor terwarnai lemah kurang dari 10%, skor 1+ jika sel tumor terwarnai lemah lebih dari 10%, skor 2+ jika sel tumor terwarnai sedang lebih dari 10%, skor 3+ jika sel tumor terwarnai kuat lebih dari 10% pada seluruh membran sel tumor.¹⁵ Data dianalisis menggunakan SPSS versi 15.

HASIL

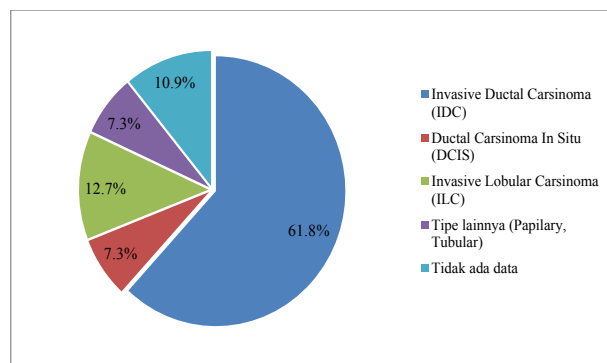
Dari 111 subjek, 55 subjek merupakan kelompok kasus pasien kanker payudara dan 56 subjek kelompok kontrol. Umur berkisar antara 23-70 tahun dengan nilai tengah umur 47,18 tahun pada kelompok kasus dan 44,52 tahun pada kelompok kontrol. Subjek pasien kanker payudara yang datang dalam pada stadium I sebanyak 2 orang (3,6%), stadium II 20 orang (36,4 %) dan stadium III 24 orang (43,6%) dan stadium IV 9 orang (16,4%).

Tabel 1. Karakteristik Tumor

Karakteristik (n=55)	Jumlah	
	n	%
Stadium		
I	2	3,6
II	20	36,4
III	24	43,6
IV	9	16,4
C-erbB2 jaringan		
Positif	8	14,5
Negatif	35	63,6
Tidak ada data	12	21,8
Serum C-erbB2		
Tinggi ≥ 30 ng/ml	6	10,9
Rendah < 30 ng/ml	49	89,1
Saliva C-erbB2		
Tinggi ≥ 30 ng/ml	4	7,3
Rendah < 30 ng/ml	51	92,7
Total	55	100

Penilaian ekspresi c-erbB2 pada jaringan tumor dengan IHK positif (+3) sebanyak 8 pasien (14,5%), 35 pasien (63,6%) negatif dan 12 pasien (21,8%) tidak mempunyai data IHK (Tabel 1). Keterbatasan data IHK disebabkan karena biaya pemeriksaan yang cukup mahal sehingga pasien tidak melakukan pemeriksaan tersebut.

Kadar c-erbB2 dalam serum dapat mendeteksi 6 pasien kanker payudara yang mempunyai kadar c-erbB2 tinggi (10,9%), sedangkan dalam sampel saliva mendeteksi 4 pasien (7,3%). Hasil ini lebih rendah bila dibandingkan dengan menggunakan sampel jaringan tumor yang dapat mendeteksi overekspresi c-erbB2 pada 8 pasien kanker payudara (14,5%) (Tabel 1).



Gambar 1. Tipe karsinoma payudara berdasarkan hasil histopatologi (n=49)

Dari 55 kasus, kanker payudara *Invasive Ductal Carcinoma (IDC)* 34 kasus (61,8%), *Invasive Lobular Carcinoma (ILC)* 7 kasus (12,7%), *Ductal Carcinoma In Situ (DCIS)* 4 kasus (7,3%) dan jenis lainnya (*Papillary, Tubular*) 4 kasus (7,3%) dan tidak ada data histopatologis 6 kasus (10,9%) (Gambar 1). Ketidakterediaan data histopatologis pada 6 kasus disebabkan kurang lengkapnya rekam medis pasien terutama pasien rujukan dari luar kota Jakarta.

Rata-rata kadar c-erbB2 serum pada pasien kanker payudara lebih tinggi bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol (15,18 ng/ml dan 8,67 ng/ml) dengan 95% CI $p=0,01$. Sedangkan rata-rata kadar c-erbB2 saliva pada pasien kanker payudara juga lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol (14,27 ng/ml dan 13,92 ng/ml), namun tidak bermakna dengan nilai $p=0,54$ (95%CI) (Tabel 2). Peningkatan kadar c-erbB2 dalam serum maupun saliva pada pasien kanker payudara tidak mempunyai hubungan yang bermakna dengan stadium, dimana p serum = 0,58 dan saliva = 0,76 (Tabel 3).

Tabel 2. Rata-rata kadar c-erbB2 pada kelompok kasus dan kontrol

Kadar c-erbB2 (ng/ml)	Kasus (n=55)		Kontrol (n=56)		Total (n=111)		p value
	Mean	SD (95%CI)	Mean	SD (95%CI)	Mean	SD (95%CI)	
Serum	15,18	27,23	8,67	14,12	11,89	21,78	0,01
Saliva	14,27	27,40	13,92	26,65	14,09	26,90	0,54

Tabel 3. Rata-rata kadar c-erbB2 pada pasien kanker payudara berdasarkan stadium

Kadar c-erbB2 (ng/ml)	Stadium 1 (n=2)		Stadium 2 (n=20)		Stadium 3 (n=24)		Stadium 4 (n=9)		p value
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
Serum	6,86	5,85	11,28	14,67	11,09	10,47	36,59	59,63	0,58
Saliva	8,55	8,93	22,36	7,86	9,70	14,10	9,71	7,11	0,76

Dari 55 pasien hanya 43 subjek yang memiliki hasil pemeriksaan imunohistokimia c-erbB2, 8 pasien (14,5%) diantaranya dengan hasil IHK+3 (Tabel 1). Kemudian dilakukan analisis lebih lanjut mengenai perbandingan antara kadar c-erbB2 saliva dan serum dengan hasil pemeriksaan imunohistokimia pada 43 subjek tersebut. Hasil perbandingan c-erbB2 IHK dengan serum memperlihatkan bahwa 3 subjek yang mempunyai kadar c-erbB2 serum tinggi (≥ 30 ng/ml) dengan hasil IHK +3 disebut sebagai positif benar, memiliki sensitivitas 38% dan spesifisitas 91% dengan PPV 50% dan NPV 86% (Tabel 4 dan 6). Sedangkan kadar c-erbB2 saliva tinggi (≥ 30 ng/ml) dengan hasil IHK +3 hanya terjadi pada 1 subjek, memiliki sensitivitas dan spesifisitas berturut-turut adalah 13% dan 91% dengan PPV 25% dan NPV 82% (Tabel 5 dan 6).

Tabel 4. Perbandingan kadar c-erbB2 serum dengan jaringan (IHK)

Kelompok serum c-erbB2	Kelompok jaringan		Total	p value
	c-erbB2 Positif	c-erbB2 Negatif		
≥ 30 ng/ml	3	3	6	0,03
< 30 ng/ml	5	32	37	
Total	8	35	43	

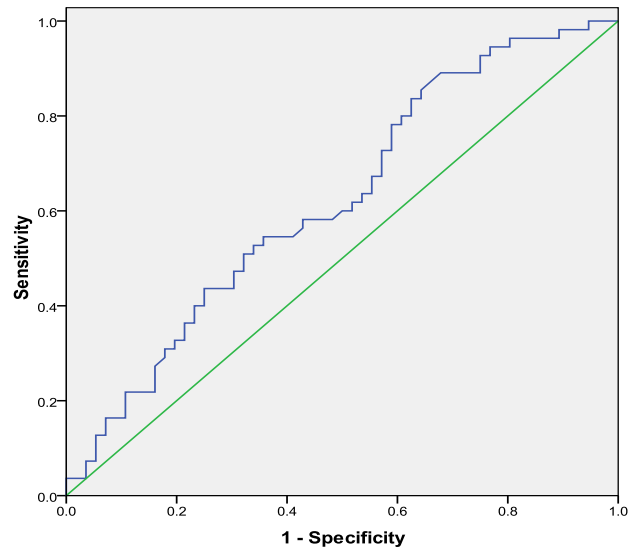
Tabel 5. Perbandingan kadar c-erbB2 saliva dengan jaringan (IHK)

Kelompok saliva c-erbB2	Kelompok jaringan		Total	p value
	c-erbB2 Positif	c-erbB2 Negatif		
≥ 30 ng/ml	1	3	4	0,34
< 30 ng/ml	7	32	39	
Total	8	35	43	

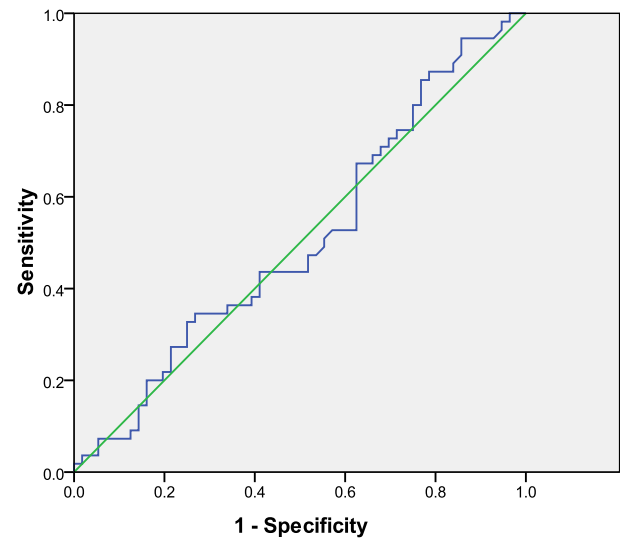
Tabel 6. Sensitivitas, spesifisitas, PPV, NPV c-erbB2 serum dan saliva terhadap Imunohistokimia (IHK)

Karakteristik	Sensitivitas (%)	Spesifisitas (%)	PPV (%)	NPV (%)
Serum c-erbB2	38	91	50	86
Saliva c-erbB2	13	91	25	82

Dengan menggunakan cut off value ≥ 30 mg/dl, ROC serum=0,62 dan ROC saliva= 0,52 (≥ 0.5), uji c-erbB2 serum dan saliva terbukti memiliki kemampuan untuk membedakan antara kedua kelompok (kasus-kontrol) (Gambar 2 dan 3). Hasil tersebut menunjukkan bahwa serum dan saliva dapat dipakai sebagai sampel pemeriksaan biomarker kanker payudara selain jaringan tumor, namun demikian masih memerlukan penelitian lebih lanjut.



Gambar 2. Kurva ROC serum



Gambar 3. Kurva ROC saliva

PEMBAHASAN

Kelompok kasus subjek berumur 25-70 tahun dengan nilai tengah 47,18 tahun yang datang ke RS Dharmais selama Juni-Desember 2012 tersebut

tampaknya mengalami pergeseran ke arah umur yang lebih muda dibandingkan dengan yang datang tahun 2010 berumur antara 40-70 tahun dengan nilai tengah 47 tahun.^{4,5} Kemungkinan telah timbul kesadaran skrining kanker payudara pada usia yang lebih muda terutama bila mempunyai riwayat keluarga.

Subjek pasien kanker payudara ini sebagian besar datang sudah dalam stadium II 20 orang (36,4%) dan stadium III 24 orang (43,6%) dan stadium IV 9 orang (16,4%) (Tabel 1). Sesuai dengan data pasien keseluruhan yang datang ke RS Dharmais sebagai pusat rujukan, 22-40% sudah dalam kondisi lanjut (stadium III dan IV).⁵ Hal ini berlawanan dengan di negara maju, kanker payudara ditemukan lebih banyak pada stadium dini sehingga penanganan pasien dapat dilakukan lebih baik dan survival pasien lebih panjang.

Pemeriksaan c-erbB2 sangat erat kaitannya dengan agresivitas kanker payudara, perkiraan perjalanan penyakit pasien dan penentuan terapi dengan anti c-erbB2.¹⁴ Oleh karena itu, pemeriksaan ini sangat penting dilakukan di klinik. Pemeriksaan baku standar untuk menilai ekspresi c-erbB2 adalah menggunakan jaringan tumor dengan metode imunohistokimia (IHK). Pola tipe kanker payudara di RSKD sesuai dengan referensi di Eropa bahwa kanker payudara terbanyak adalah *ductal carcinoma* (70-80%), *lobular carcinoma* (5-10%), *medullary carcinoma* (1-5%), *mucinous carcinoma* (1-6%) dan *tubular carcinoma* (2%)³³, dan data statistik Amerika: IDC terdapat pada 55% pada kanker payudara, DCIS 13% dan ILC 5%.³⁴

Penilaian kadar c-erbB2 menghasilkan bahwa pemeriksaan c-erbB2 menggunakan sampel serum dapat mendeteksi 10,9% atau 6 pasien kanker payudara yang mempunyai kadar c-erbB2 tinggi, sedangkan dengan menggunakan sampel saliva hanya mendeteksi 7,3% (4 pasien). Hasil ini lebih rendah bila dibandingkan dengan menggunakan sampel jaringan tumor yang dapat mendeteksi overekspresi c-erbB2 pada 14,5% pasien kanker payudara (Tabel 1). Berdasarkan referensi yang ada, peningkatan ekspresi c-erbB2 terdapat pada 10-35% kanker payudara dengan pemeriksaan IHK.⁸⁻¹³ Penelitian yang dilakukan Streckfus dkk²⁶ memperlihatkan bahwa c-erbB2 dalam saliva dapat mendeteksi 87% subjek dengan kanker sedangkan serum dapat mendeteksi 94%.

Keberadaan c-erbB2 yang meningkat akan mengubah sel menjadi ganas/lebih agresif dan meningkatkan tumorigenesis.^{14,15} Pada penelitian ini,

rata-rata kadar c-erbB2 serum pada pasien kanker payudara lebih tinggi bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini senada dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Streckfus dkk, kadar c-erbB2 dalam serum pasien kanker payudara lebih tinggi bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol dan tumor benigna ($p < 0,001$).²⁶

Rata-rata kadar c-erbB2 saliva pada kelompok kasus juga lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol walau tidak bermakna (Tabel 2). Sedangkan hasil penelitian Streckfus dkk menyebutkan bahwa kadar c-erbB2 dalam saliva pasien kanker payudara lebih tinggi bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol dan tumor benigna ($p < 0,001$).²⁶ Perbedaan hasil ini dimungkinkan karena penggunaan sampel saliva yang berbeda, Streckfus dkk menggunakan *stimulated saliva* sedangkan penelitian ini menggunakan *unstimulated saliva* dengan pertimbangan pengumpulan saliva dengan *stimulated* akan menimbulkan mual dan memerlukan alat khusus untuk mengumpulkan saliva.

Peningkatan kadar c-erbB2 dalam saliva secara keseluruhan berkorelasi lemah dengan yang ada dalam serum. Molekul serum dapat masuk ke dalam saliva dengan rute intraseluler dan ekstraseluler, namun yang paling umum adalah rute intraseluler/difusi dimana terjadi ultrafiltrasi melalui *tight junction* antar sel.^{22,25} Komponen yang terkandung dalam saliva tidak hanya berfungsi melindungi integritas jaringan mulut, tetapi dapat juga merupakan petunjuk kondisi sistemik selain adanya penyakit lokal.²²⁻²⁵ Namun hasil ini belum dapat menunjukkan bahwa saliva mempunyai potensi untuk digunakan sebagai sampel dalam pemeriksaan c-erbB2 pada kanker payudara selain serum.

Kadar c-erbB2 yang tinggi bisa terjadi pada stadium dini maupun metastase. Prevalensi peningkatan ECD c-erbB2 pasien dengan kanker payudara primer berkisar antara 0-38% (rata-rata 18,5%) dan kanker payudara dengan metastasis 23-80% (rata-rata 43%).¹³ Penelitian Asgeirsson dkk memperlihatkan bahwa kadar serum c-erbB2 meningkat bermakna antara subjek dengan kanker payudara primer (median 12,2 ng/ml; berkisar 5,7-85,0 ng/ml) dibandingkan dengan metastasis (median 17,7 ng/ml, berkisar 6,3-3.337,4 ng/ml; $p < 0,001$).³⁵ Namun pada penelitian ini terlihat bahwa peningkatan kadar c-erbB2 dalam serum maupun saliva secara statistik tidak mempunyai hubungan yang bermakna dengan stadium kanker yang dialami subjek. Kanker payudara dengan

c-erbB2 positif (IHK) atau tinggi dalam serum dikenal sebagai bentuk agresif dan memiliki perkiraan perjalanan penyakit yang lebih buruk dibandingkan dengan pasien dengan c-erbB2 negatif.⁹⁻¹¹ Dengan demikian, perlu dilakukan *follow up* mengenai perjalanan penyakit pasien c-erbB2 tinggi dibandingkan dengan yang rendah.

Analisis selanjutnya dilakukan untuk mengetahui sensitifitas dan spesifitas pemeriksaan c-erbB2 pada serum dan saliva dibandingkan dengan pemeriksaan IHK. Pemeriksaan ECD c-erbB2 dalam serum dan saliva mempunyai spesifitas dan nilai prediktif negatif tinggi namun sensitifitas dan nilai prediktif positif rendah. Dalam penelitian lainnya yang dilakukan oleh Sumathy²⁷, c-erbB2 mempunyai sensitivitas 67% pada serum dan 43% pada saliva dengan spesifitas dan PPV keduanya 100%, NPV 75% pada serum dan 63,8% pada saliva. Perbedaan hasil ini bisa disebabkan karena adanya perbedaan dalam kit dan *cut off value* kadar c-erbB2 yang digunakan dalam penelitian. Area dibawah kurva ROC untuk serum lebih luas dibandingkan dengan saliva, namun demikian kedua area masih kurang luas. Ketepatan akurasi diagnostik dapat diterangkan oleh luasnya area di bawah kurva ROC, makin luas area makin bertambah baik hasil tesnya.²⁸ Untuk meningkatkan akurasi tersebut memerlukan analisis lebih lanjut mengenai *cut off value* yang sesuai dengan membuat beberapa pembandingan *cut off value*.

KESIMPULAN

C-erbB2 dapat terdeteksi dalam serum dan saliva. Kadar c-erbB2 serum pasien kanker payudara lebih tinggi bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol sedangkan kadar c-erbB2 saliva tidak. Serum maupun saliva mempunyai spesifitas yang baik namun rendah dalam sensitifitas dan kemampuan untuk diagnosis kanker payudara dibandingkan dengan IHK yang merupakan standar baku emas. Kadar c-erbB2 serum dan saliva mempunyai spesifitas yang baik mengatakan negatif pada subjek yang memang tidak menderita kanker payudara. Dengan demikian penggunaan serum maupun saliva merupakan sumber sampel yang potensial untuk pemeriksaan biomarker kanker payudara terutama untuk mengevaluasi status c-erbB2 pasien pasca operasi/pengobatan dengan anti c-erbB2. Namun demikian masih diperlukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan *cut off value* c-erbB-2 yang

disesuaikan dengan populasi orang Indonesia dan jumlah sampel lebih besar dengan hasil histopatologi yang lengkap.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada semua responden, seluruh staf Bedah Onkologi dan laboratorium Patologi Klinik RSKD, PT. Elokarsa dan seluruh pihak yang telah membantu terselenggaranya penelitian ini. Penelitian ini dibiayai dengan dana DIPA Badan Litbangkes tahun 2012.

DAFTAR RUJUKAN

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA: a cancer journal for clinicians. 2011;61(2):69-90.
2. Haryono SJ. Kanker Payudara Familial Penelusuran Gena Predisposisi Terwaris dan perhitungan Risiko. Disertasi Program Doktor Ilmu Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. 2012.1-69.
3. Direktorat Penyakit Tidak Menular Direktorat PPPL. Pedoman Teknis Pengendalian Kanker Payudara & Kanker Leher Rahim. 2010:1-3.
4. Statistik Pasien Rawat jalan Rumah Sakit Kanker "Dharmais" (RSKD).www.dharmais.co.id. diakses tanggal 20 Maret 2012.
5. CG Ng NBP, NA Taib, YC Teh, KS Mun, A Amiruddin, Evlina S Sinuraya, A Rhodes, CH Yip. Comparison of Breast Cancer in Indonesia and Malaysia : A Clinico-Pathological Study Between Dharmais Cancer Centre Jakarta and University Malaya Medical Centre, Kuala Lumpur. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2011;12:2943-6.
6. Matthias W. Beckmann DN, Hans-Georg Schnurch, Barry A. Guterson, Hans Georg Bender. Multistep Carcinogenesis of Breast Cancer and Tumor Heterogeneity. J Mol Med. 1997;75:429-39.
7. Oncology ASaC. Breast Cancer Follow-Up & Management in The Adjuvant Setting: 2006 Update. Clinical Practice Guideline. 2006.
8. Anca Rosian EL, Alis Dema. C-erbB2 Oncoprotein: Prognostic Marker in Breast Cancer. Romanian Journal of Morphology and Embriology. 2005;46(2):99-104.
9. Rani James KT, Giriya Ramaswamy, Lakshmi Krishnamoorthy, Geetashree Mukherjee, PP Vijayalaxmi, Bapsy PP. Evaluation of Immuno-histochemistry and Enzyme Linked Immunosorbent

- Assay For HER-2/Neu Ekspresion in Breast Carcinoma. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2008;23(4):345-51.
10. SJ Houston TP, DM Barnes, P. Smith, RD Rubens and DW Miles. Overexpression of c-erbB2 is an Independent Marker of Resistance to Endocrine Therapy in Advanced Breast Cancer. *British Journal of Cancer*. 1999;79:1220-6.
 11. Hung DY, M-C. Overexpression of ErbB2 in Cancer and ErbB2-Targeting Strategies. *Oncogene*. 2000;19:6115-21.
 12. Gown AM. Current Issues in ER and HER2 Testing by IHC in Breast Cancer. *Modern Pathology*. 2008;21:S8-S15.
 13. Timothy W. Jacobs AMG, Hadi Yazjii, Melissa J. Barnes and Stuart J. Schnitt. HER-2/neu Protein Expression in Breast Cancer Evaluated in Immunohistochemistry. *Am J Phathol*. 2000;113:251-8.
 14. Ika Kartika EP HM, Henny Sulastri, Yuwono. Ekspresi Protein HER-2/neu, Status Reseptor Estrogen dan Progesteron pada Berbagai Derajat Keganasan Karsinoma Payudara Duktal Invasif Wanita Usia Muda. *Majalah Patologi*. UGM 2009;18(1).
 15. Syarifuddin Wahid UAM, Truly Djimahit. Her-2/neu Expression in Breast Cancer A Significant Corellation With Histological Grade. 2010.1-15.
 16. S. Selvarajan BB, MJ. Chng, PH. Tan. The Hercep Test and Routine C-erbB2 Immunohistochemistry in Breast Cancer: Any Difference? *Ann Acad Med Singapore*. 2004;33:473-6.
 17. Walter P. Carney RN, Allan Lipton, Kim Leitzel, Suhail Ali, Christopher P. Price. Monitoring the Circulating Levels of the C-erbB2/neu Oncoprotein in Breast cancer. *Clinical Breast Cancer*. 2004:107-16.
 18. Daniel F. Hayes HY, Gloria Broadwater, et al. Circulating HER-2/erbB-2/c-neu (HER-2) Extracellular Domain as a Prognostic Faktor in Patients with Metastatic Breast Cancer: Cancer and Leukemia Group B Study 8662. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2001;7:2703-11.
 19. Yeh I-T. Measuring HER-2 in Breast Cancer: Immunohistochemistry, FISH, or ELISA? *Am J Clin Phathol*. 2002;117:527-35.
 20. Walter P. Carney RN, Allan Lipton, Kim Leitzel, Suhail Ali, Christopher P. Price. Potential Clinical Utility of Serum HER-2neu Oncoprotein Concentrations in patients with Breast Cancer. *Clinical Chemistry*. 2003;49:10:1579-98.
 21. Streckfus C, Bigler L, Dellinger T, Dai Xi, Kingman A, Thingpen JT. The presence of soluble c-erbB2 in saliva and serum among women with breast carcinoma : pre elminary study. *Clinical cancer research*. 2000;6:2363-70.
 22. Sumathy and Sathasivasubramanium. C-erbB2 Expression in Saliva of Women With Breast Cancer. *e-Journal of Dentistry Vol 1*. 2011.
 23. Anne-Sophie Gauchez NR, Daniele Villemain, Francois-Xavier Brand, Dominique Pasquier, Raoul Payan and Mireille Musseau. Evaluation of a Manual ELISA Kit for Determination of C-erbB2/neu in Serum of Breast Cancer Patients. *Anticancer Research*. 2008;28:3067-74.
 24. Herenia P. Lawrence D, MSc, PhD. Salivary Markers of Systemic Disease: Noninvasive Diagnosis of Disease and Monitoring of General Health. *J Can Dent Assoc*. 2002;68(3):170-4.
 25. Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic Application of saliva-a review. *Crit Rev Oral Biol med*. 2002;13(2):197-212.
 26. Lee J.M, Garon. E and Wong D.T. Salivary Diagnostics. *Orthod Craniofac Res*. 2009 ; 12(3): 206–211.
 27. Daniel Malamud P, Isaac R. Rodriguez-Chavez P. Saliva as a Diagnostic Fluid. *Dent Clin North Am*. 2011;55(1):159-78.
 28. Sudigdo S, Sofyan Ismael. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Edisi ke-3*. Sanggung Seto. Jakarta. 2007. 193-215.
 29. Tim Perumus Protokol Penatalaksanaan Kanker Payudara. *Protokol Penatalaksanaan Kanker Payudara*. Protokol PERABOI. 2003; 4-8.
 30. International Agency on Research in Cancer (IARC). *Tumours of The Breast*. 2003;11-13.
 31. Mai N Brooks, Jianghua Wang, Li Y. Salivary Protein Factor Are Elevated In Breast Cancer Patients. *Molecular Medicine Reports I*. 2008:375-8.
 32. DRG International. *Buku Petunjuk DRG sp185(HER-2) (human)*. DRG International Inc. 2010. 1-12.
 33. Breast Cancer. http://www.breastcancer.org/pictures/breast_anatomy. diakses tanggal 3 Maret 2012.
 34. Christie R. Eheman, Kate M. Shaw, Aliza Blythe Ryerson, et al. Changing Incidence of Ductal and Lobular Breast Cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. American Association for Cancer Research. 2009. 18:1763-69.
 35. Asgeirsson Kristjan, et all. Serum Epidermal Growth Factor Receptor and HER2 Expression in Primary and Metastatic Breast Cancer Patients. *Breast Cancer Research*. 2007.1-8.