

EKSPRESI RECEPTOR ACTIVATOR OF NF- κ B LIGAND (RANKL) TINGGI DAN STATUS MENOPAUSE SEBAGAI FAKTOR RISIKO METASTASIS TULANG PADA *LOCALLY ADVANCED BREAST CANCER* (LABC) SUBTIPE LUMINAL

Rika Christina Tarigan¹, I Wayan Juli Sumadi², Herman Saputra², Luh Putu Iin Indrayani Maker², I Made Gotra², I Made Muliarta³

¹Program Studi Spesialis Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana/ RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah, Bali, Indonesia;

²Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana/ RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah, Bali, Indonesia;

³Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Bali, Indonesia.

Email korespondensi:

Rika Christina Tarigan

rikachristina.tarigan88@gmail.com

ABSTRAK

Metastasis tulang pada *Locally Advanced Breast Cancer* (LABC) subtipe luminal menunjukkan prognosis yang buruk dan sulit terdeteksi pada tahap awal. Salah satu faktor yang berperan dalam metastasis tulang pada kanker payudara adalah *Receptor Activator of NF- κ B Ligand* (RANKL). Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa ekspresi RANKL tinggi merupakan faktor risiko terjadinya metastasis tulang pada kasus LABC subtipe luminal. Rancangan penelitian ini menggunakan rancangan kasus kontrol tidak berpasangan. Subyek yang digunakan yaitu pasien LABC subtipe luminal dengan dan tanpa metastasis tulang yang dilakukan pemeriksaan patologi anatomi di RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah dari 1 Januari 2016 hingga 31 Desember 2022. Evaluasi ekspresi RANKL dilakukan dengan pemeriksaan imunohistokimia. Tingkat ekspresi RANKL ditentukan dengan H-score dilanjutkan dengan analisis regresi logistik multipel untuk menilai faktor risiko ekspresi RANKL terhadap metastasis tulang. Pada penelitian ini terdapat 15 kasus dan 30 kontrol dengan perbandingan 1:2, didapatkan hasil ekspresi RANKL dan status menopause merupakan faktor risiko terjadinya metastasis tulang. Ekspresi RANKL memiliki risiko lebih tinggi (AOR= 19,5; $p=0,003$) sedangkan status menopause memiliki risiko yang lebih rendah (AOR=6,7; $p=0,034$). Ekspresi RANKL tinggi dan status menopause adalah faktor risiko terjadinya metastasis tulang pada pasien LABC subtipe luminal dan diharapkan dapat menjadi acuan untuk memprediksi kejadian metastasis tulang.

Kata Kunci: LABC, luminal, metastasis tulang, RANKL

ABSTRACT

Bone metastases in luminal subtype *Locally Advanced Breast Cancer* (LABC) show a poor prognosis to detect in early stage. One of the factors that play a role in bone metastases in breast cancer is *Receptor Activator of NF- κ B Ligand* (RANKL). This study aims to prove that high RANKL expression is a risk factor for bone metastases in luminal subtype LABC. The design of this study used an unpaired case control research design. The subjects were used luminal subtype LABC patients with and without bone metastases were performed examination at pathology anatomy at Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah hospital from 1 January 2016 to 31 December 2022. Evaluation RANKL expression was performed with immunohistochemistry. RANKL assessment with H-score followed by multiple logistic regression analysis to determine the relationship of RANKL expression with bone metastases. In the study, 15 cases and 30 control with ratio 1:2, results showed RANKL expression and menopausal status as risks of bone metastasis. RANKL expression has a higher risk (AOR= 19,5; $p=0,003$). while menopausal status has a lower risk (AOR=6,7; $p=0,034$). High RANKL expression and menopausal status are risk factor for bone metastases in LABC patients with luminal subtype. High RANKL expression and menopausal status are expected to be a reference for predicting the bone metastases.

Keywords: LABC, luminal, bone metastases, RANKL

1. PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan salah satu masalah kesehatan yang dihadapi oleh perempuan dengan insidensi yang semakin meningkat. Kanker payudara memiliki kemungkinan untuk mengalami metastasis, dan salah satu metastasis yang dapat terjadi pada kanker payudara adalah metastasis tulang. Metastasis tulang pada kanker payudara menunjukkan prognosis yang buruk dan pada umumnya sulit terdeteksi pada tahap awal metastasis, dan hal ini berdampak pada kelangsungan dan kualitas hidup pasien kanker payudara.

Berdasarkan data Globocan kanker payudara menempati urutan pertama insiden terbanyak kanker di dunia, diikuti oleh kanker paru, kanker kolorektal, kanker prostat, dan kanker lambung. Pada perempuan, insiden kanker payudara juga menempati urutan pertama di dunia (24,5%) dan di Indonesia (30,8%), diikuti oleh kanker serviks (17,2%), kanker ovarium (7%), kanker kolorektal (5,8%), dan kanker tiroid (4,2%).^(1,2) Berdasarkan data dari tahun 2012 hingga 2019, di RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah Denpasar, terdapat 1.627 kasus baru kanker payudara. Angka insiden tersebut sebesar 84,33 per 100.000 populasi wanita di Bali.⁽³⁾

Pasien kanker payudara di Indonesia umumnya terdiagnosis pada stadium lanjut,⁽⁴⁾ dan tidak tertutup kemungkinan untuk mengalami metastasis jauh. Tulang merupakan organ metastasis jauh yang sering dialami oleh pasien kanker payudara stadium lanjut.^(4,5) Metastasis tulang pada pasien kanker payudara melibatkan interaksi sel tumor, osteoblas, osteoklas, dan matriks tulang.⁽⁴⁾

Metastasis kanker payudara paling sering mengenai tulang (39,8%), diikuti metastasis multipel (lebih dari satu lokasi metastasis jauh) (33%), paru (10,9%), hati (7,3%), kulit dan jaringan lunak (7,3%), dan otak (1,5%).⁽⁶⁾ Di Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah Denpasar, terdapat 59 kasus kanker payudara dengan metastasis tulang dari 936 kasus kanker payudara selama periode 2015-2017.⁽⁷⁾

Locally advanced breast cancer (LABC) didefinisikan sebagai kanker payudara tanpa bukti adanya metastasis jauh.⁽⁸⁾ LABC dikenal sebagai stadium III (III A, III B, dan III C) dalam sistem stadium TNM.⁽⁹⁾ Angka kejadian LABC di Indonesia diperkirakan mencapai lebih dari 50% dan di Bali mencapai 76,3% dari total keseluruhan kasus kanker payudara.⁽¹⁰⁾ LABC lebih sering ditemukan pada usia ≥ 60 tahun (49,4%) dibandingkan dengan usia < 60 tahun (47,5%).⁽⁹⁾ Meskipun pada saat diagnosis LABC tidak ada lesi metastatik jauh, namun tidak menutup kemungkinan LABC mengalami rekurensi dan metastasis jauh.⁽¹¹⁾

Subtipe luminal diketahui memiliki kecenderungan metastasis tulang.⁽⁴⁾ Berdasarkan register data pasien kanker payudara Perhimpunan Ahli Bedah Onkologi Indonesia (PERABOI) periode 2014-2020, subtipe kanker payudara yang paling sering ditemukan adalah luminal B (43,2%), diikuti luminal A (21,7%).⁽¹²⁾

Pasien karsinoma payudara dengan metastasis ke tulang memiliki prognosis yang lebih buruk dengan *overall survival* yang lebih rendah, risiko kematian pada tahun pertama setelah terdiagnosis karsinoma payudara metastasis ke tulang meningkat dua kali lebih tinggi bila

dibandingkan dengan karsinoma payudara terlokalisir dengan harapan hidup 5 tahun sebesar 22%.⁽¹³⁻¹⁵⁾

Hingga saat ini beberapa penelitian yang mencoba mencari biomarker untuk memprediksi metastasis tulang pada subtipe luminal, namun belum ada yang benar-benar bisa digunakan dan masih kontroversi.^(4,16)

Patogenesis metastasis tulang pada kanker payudara bergantung pada interaksi dua arah antara sel-sel kanker payudara dan berbagai sel stroma yang memodulasi *bone niche* yang mengakibatkan aktivasi proses resorpsi tulang secara terus-menerus. Salah satu jalur penting utama yang terlibat dalam pengembangan dan progresi metastasis tulang pada kanker adalah kaskade RANK-RANKL-Osteoprotegerin (OPG).⁽⁵⁾ Peningkatan resorpsi tulang dan pelepasan faktor pertumbuhan akan mendorong aktivasi terus menerus dari sel kanker. Rangkaian peristiwa ini dikenal sebagai *vicious cycle* yang menyebabkan pertumbuhan sel kanker dan destruksi tulang.⁽¹⁵⁾

Pemberian anti-RANKL dikaitkan dengan pendekatan efektif dalam mencegah *skeletal related events*. Dengan demikian, terapi target RANKL dapat digunakan untuk mencegah proses metastasis tulang. Berdasarkan latar belakang tersebut, perlu dilakukan penelitian untuk menilai apakah ekspresi RANKL yang tinggi merupakan faktor risiko metastasis tulang pada LABC subtipe luminal.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan rancangan yang digunakan adalah *case control study* tidak berpasangan. LABC subtipe luminal dengan metastasis tulang sebagai kelompok kasus dan LABC subtipe luminal tanpa metastasis tulang sebagai kelompok kontrol. Sampel pada penelitian ini dipilih secara *consentive sampling* sesuai dengan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi dan didapatkan 45 sampel yang terdiri dari 15 sampel kelompok kasus dan 30 sampel kelompok kontrol. Sampel tersebut dikumpulkan di RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah selama periode 1 Januari 2016 sampai dengan 31 Desember 2022.

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah blok parafin dengan diagnosis LABC subtipe luminal yang telah terdiagnosis dengan dan tanpa metastasis tulang secara radiologis atau histopatologis. Kriteria eksklusi meliputi riwayat keganasan dan metastasis pada organ lain, blok parafin yang tidak dapat dilakukan pemeriksaan imunohistokimia, maupun subjek penelitian berjenis kelamin laki-laki.

Pengumpulan sampel dilakukan sesudah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana nomor surat kelaikan etik 618/UN14.2.2.VII.14/LT/2023 dan telah diberikan ijin penelitian oleh Bagian Pendidikan dan Penelitian RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah dengan nomor surat DP.04.03/XIV.2.2/14636/2023. Penelitian ini dilakukan dari bulan Januari 2023 sampai dengan bulan April 2023.

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekspresi RANKL dan variabel tergantung adalah metastasis tulang sedangkan variabel perancu adalah usia, status menopause, ukuran tumor, metastasis KGB, dan

lokasi metastasis yang diperoleh dari rekam medis dan data registrasi kanker Perhimpunan Ahli Bedah Onkologi Indonesia (PERABOI). Usia dikategorikan menjadi ≤ 50 tahun dan >50 tahun, Ukuran tumor (pT) diklasifikasikan menjadi 2 kategori yaitu T rendah (T1-T2) dan T tinggi (T3-T4).

Blok parafin jaringan tersebut telah diperiksa secara histopatologi dan dilakukan imunohistokimia anti-RANKL menggunakan antibodi primer *Rabbit Anti-RANKL Polyclonal Antibody* dari *Bioenzy* (BZ-0855670F-AP) di Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah.

Interpretasi pulasan dan ekspresi imunohistokimia RANKL dinilai pada pembesaran 400 kali untuk melihat intensitas dan persentase sitoplasma sel yang terpulas (Gambar 1). Skor intensitas terdiri dari: 0, tidak terpulas; 1, terpulas dengan intensitas lemah; 2, terpulas dengan intensitas sedang; 3, terpulas dengan intensitas kuat. Tingkat ekspresi ditentukan dengan *H-score* yang didapatkan dari perhitungan sebagai berikut⁽¹⁶⁾: (% sel tumor dengan intensitas lemah x 1) + (% sel tumor dengan intensitas sedang x 2) + (% sel dengan intensitas kuat x 3).

Setelah dilakukan perhitungan imunoskor, dilakukan analisis ROC untuk menentukan *cut off* ekspresi RANKL yang tinggi dan yang rendah. Dari analisis curva ROC didapatkan nilai *cut off* 20, sehingga ekspresi RANKL dikategorikan tinggi bila memiliki imunoskor ≥ 205 dan ekspresi RANKL rendah bila memiliki imunoskor ≤ 205 . Selanjutnya dilakukan uji beda proporsi dengan uji chi square dan uji regresi logistik multipel untuk menentukan variabel yang merupakan faktor risiko.

3. HASIL PENELITIAN

Total 45 subjek memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang terdiri dari 15 subjek kelompok kasus (LABC subtype luminal dengan metastasis tulang) dan 30 subjek kelompok kontrol (LABC subtype luminal tanpa metastasis tulang).

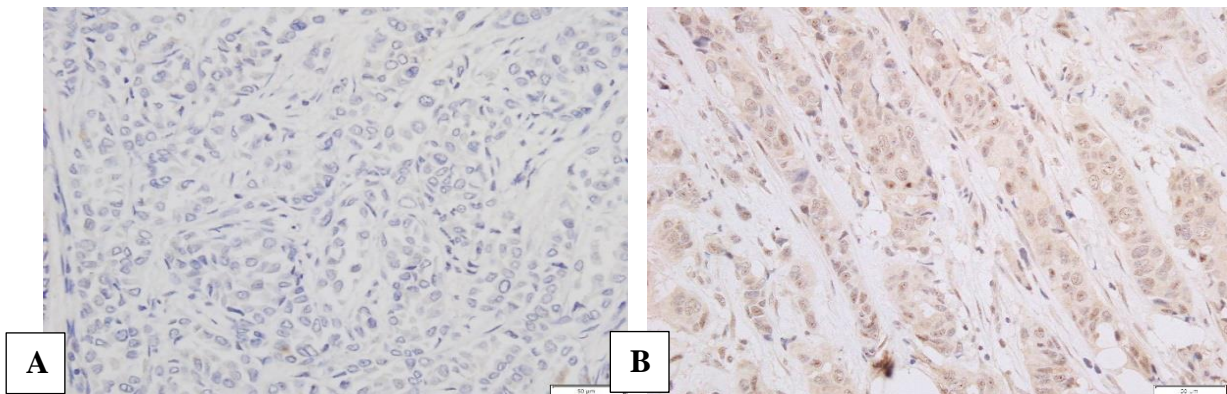
Untuk variabel usia, ukuran tumor (pT), varian histologi, metastasis KGB, status menopause, dan lokasi metastasis berdasarkan metastasis tulang yang dapat dilihat pada Tabel 1. Dari analisis chi square didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna pada variabel usia, ukuran tumor, varian histologi dan metastasis KGB

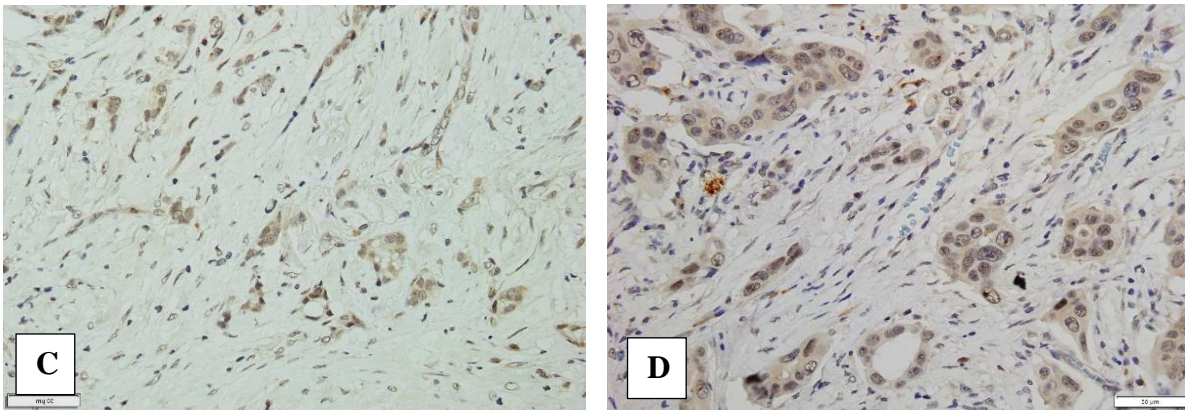
pada kelompok kasus dan kontrol (Tabel 1).

Tabel 1
Hasil analisis bivariat dengan uji chi-square seluruh variabel terhadap terjadinya metastasis tulang pada LABC subtype luminal

Variabel	Dengan metastasis tulang (n=15)	Tanpa metastasis tulang (n=30)	Crude OR	95 % IK	p
Usia					
≤ 50 tahun	10 (66,7%)	16 (53,3%)	0,6	0,16-2,08	0,594
> 50 tahun	5 (33,3%)	14 (46,7%)			
Ukuran tumor (pT)					
pT rendah (pT1-pT2)	7 (46,7%)	22 (73,3%)	0,3	0,09-1,17	0,152
pT tinggi (pT3-pT4)	8 (53,3%)	8 (26,7%)			
Varian histologi					
<i>No Special Type</i>	11 (73,3%)	22 (73,3%)	1	0,25-4,06	1
<i>Special Type</i>	4 (26,7%)	8 (26,7%)			
Metastasis KGB					
Positif	13 (86,7%)	27 (90,0%)	0,7	0,11-4,06	1
Negatif	2 (13,3%)	3 (10,0%)			
Status menopause					
Menopause	10 (66,7%)	9 (30,0%)	4,7	1,24-17,60	0,043*
Tidak menopause	5 (33,3%)	21 (70,0%)			
Ekspresi RANKL					
Tinggi	9 (60,0%)	5 (16,7%)	7,5	1,8-30,7	0,006*
Rendah	6 (40,0%)	25 (83,3%)			

LABC: *Locally Advanced Breast Carcinoma*; OR: *odds ratio*; CI: *confidence interval*; **Chi-square*: secara statistik bermakna apabila nilai p kurang dari 0,05.





Gambar 1. Ekspresi RANKL berdasarkan pulasan immunohistokimia. (A) Skor intensitas 0 (tidak terpulas); (B) Skor intensitas 1(intensitas lemah); (C) Skor intensitas 2 (intensitas sedang); dan (D) Skor intensitas 3 (intensitas kuat) (pembesaran 400 kali)

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna ekspresi RANKL dan status menopause pada kedua kelompok (table 1). Pada kelompok kasus, sebagian besar (60,0%) menunjukkan ekspresi RANKL yang tinggi dan sebagian kecil (40,0%) menunjukkan ekspresi RANKL yang rendah. Sebaliknya pada kelompok kontrol, sebagian besar (83,3%) menunjukkan ekspresi RANKL rendah dan hanya sebagian kecil (16,7%) menunjukkan ekspresi RANKL yang tinggi. Pada variabel status menopause tampak bahwa sebanyak 66,7% subyek pada kelompok kasus sudah menopause, sedangkan hanya 33,3% yang belum menopause. Sebaliknya pada kelompok kontrol, sebagian besar (70%) belum menopause dan hanya 30% yang sudah menopause.

Sebagai data tambahan, sebanyak 46,7% kelompok kasus mengalami metastasis tulang aksial, 46,7% mengalami metastasis tulang appendikular, dan hanya sebagian kecil (6,6%) yang mengalami metastasis tulang aksial dan appendikular. Metastasis tulang aksial diantaranya pada *corpus vertebrae*, *os sacrum*, *os sternum*, *os ilium*, dan *os ischium*. Metastasis tulang appendikular diantaranya *os femur* dan *os humerus*.

Tabel 2

Hasil analisis multipel regresi logistik variabel yang berpengaruh terhadap terjadinya metastasis tulang pada LABC sub tipe luminal

Variabel	Koefisien	AOR	95% IK	p
Ekspresi RANKL tinggi	2,972	19,5	2,68-142,59	0,003*
Ukuran tumor (pT)	-1,703	0,2	0,03-1,11	0,064
Status menopause	1,908	6,7	1,16-39,23	0,034*

AOR = Adjusted odds ratio, CI = Confidence Interval

Pada uji regresi logistik didapatkan bahwa ekspresi RANKL yang tinggi dan status menopause merupakan faktor risiko terjadinya metastasis tulang pada LABC sub tipe luminal. Ekspresi RANKL memiliki risiko lebih tinggi (AOR = 19,5; 95%IK = 2,68-142,59; $p=0,003$) dan status menopause memiliki risiko yang lebih rendah (AOR = 16,7; 95%IK = 1,16-39,23; $p=0,034$) (Tabel 5.2).

4. DISKUSI

Pada penelitian ini sebagian besar subjek penelitian berada pada kelompok usia ≤ 50 tahun, baik pada kelompok kasus dan kelompok kontrol, masing-masing 66,7% dan 53,3%, dan tidak terdapat perbedaan bermakna untuk variabel usia terhadap faktor risiko kejadian metastasis tulang pada kedua kelompok ($p=0,594$). Rerata usia pasien adalah $48,4 \pm 9,4$ tahun pada kelompok kasus dan $49,7 \pm 9,2$ tahun pada kelompok kontrol. Hal ini sesuai dengan studi sebelumnya dan beberapa studi lainnya yang menyatakan pada median usia kelompok kanker payudara dengan metastasis tulang yaitu 50 (34-84) tahun dan tidak berbeda dengan kelompok tanpa metastasis tulang dengan median usia 50 (26-86) tahun.⁽¹⁷⁻²⁰⁾

Pada penelitian ini sebagian besar kelompok kasus memiliki ukuran tumor pT tinggi (pT3-pT4) sedangkan pada kelompok kontrol memiliki ukuran tumor pT rendah (pT1-pT2), namun tidak terdapat perbedaan bermakna untuk variabel ukuran tumor (pT) terhadap faktor risiko kejadian metastasis tulang pada kedua kelompok ($p=0,152$). Namun pada studi sebelumnya dan beberapa studi lainnya menyatakan terdapat hubungan signifikan antara variabel ukuran tumor dengan kejadian metastasis tulang pada kanker payudara. Ukuran tumor lebih dari 5 cm meningkatkan risiko metastasis tulang sebanyak 1,065 kali bila dibandingkan dengan tumor kurang dari 2 cm.⁽¹⁸⁾ Perbedaan yang didapatkan peneliti dengan beberapa penelitian sebelumnya dapat disebabkan oleh jumlah sampel yang didapatkan pada penelitian ini

lebih sedikit dibandingkan dengan jumlah sampel pada penelitian sebelumnya.⁽²⁰⁾

Pada penelitian ini sebagian besar subjek penelitian memiliki varian histologi *Invasive Breast Carcinoma of No Special Type*, baik pada kelompok kasus dan kelompok kontrol, dan tidak terdapat perbedaan bermakna diantara kedua kelompok tersebut untuk variabel varian histologi terhadap faktor risiko kejadian metastasis tulang ($p=1,000$). Hal ini sesuai dengan studi sebelumnya dan beberapa studi lainnya yang menyatakan tidak terdapat perbedaan signifikan tipe histologis antara pasien kanker payudara dengan dan tanpa metastasis tulang, dengan sebagian besar kasus merupakan *invasive ductal carcinoma*.⁽¹⁸⁻²⁰⁾

Pada penelitian ini sebagian besar subjek penelitian mengalami metastasis KGB positif, baik pada kelompok kasus dan kelompok kontrol, masing-masing 86,7% dan 90,0%, dan tidak terdapat perbedaan bermakna untuk variabel metastasis KGB terhadap faktor risiko kejadian metastasis tulang pada kedua kelompok tersebut ($p=1,000$). Hal ini sesuai dengan studi Omar dkk dan beberapa studi yang menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna untuk variabel metastasis KGB terhadap kejadian metastasis tulang pada kanker payudara. Pada kelompok dengan metastasis tulang, sebanyak 60% dengan status nodal N2, 30 % dengan status nodal N1, dan 10% dengan status nodal N1.⁽¹⁹⁾ Hal ini berbeda dengan studi Yulian dkk dimana pada kelompok kanker payudara dengan metastasis tulang sebagian besar mengalami metastasis KGB, sedangkan pada kelompok kanker payudara tanpa metastasis tulang sebagian besar tidak mengalami metastasis KGB, dan tersebut perbedaan signifikan diantara kedua kelompok tersebut.⁽¹⁷⁾ Perbedaan hasil pada penelitian ini dengan beberapa penelitian sebelumnya dapat disebabkan oleh klasifikasi metastasis KGB yang dipakai pada penelitian sebelumnya memakai lebih banyak kategori dengan jumlah sampel yang lebih besar.

Pada penelitian ini sebagian besar subjek penelitian mengalami menopause pada kelompok kasus (66,7%) dan sebagian subjek penelitian tidak mengalami menopause pada kelompok kontrol (70,0%), dan terdapat perbedaan bermakna untuk variabel status menopause terhadap faktor risiko kejadian metastasis tulang pada kedua kelompok tersebut ($p=0,043$). Setelah dilakukan analisis regresi logistik multiple, didapatkan bahwa LABC subtype luminal dengan status menopause memiliki risiko yang lebih rendah 6,7 (adjusted OR= 16,7; 95%CI= 1,157-39,228; $p= 0,034$). Hal ini sesuai dengan studi Omar dkk dimana terdapat perbedaan signifikan status menopause antara kelompok kanker payudara dengan dan tanpa metastasis tulang, akan tetapi pada kelompok kanker payudara tanpa metastasis tulang lebih banyak dengan status tidak menopause, dan pada kelompok dengan metastasis tulang lebih banyak dengan status pasca menopause,⁽¹⁹⁾ akan tetapi pada penelitian ini kelompok dengan metastasis tulang lebih banyak subjek dengan status menopause dan sebaliknya pada kelompok tanpa metastasis tulang lebih banyak subjek dengan status tidak menopause. Pada studi Yazdani yang menyatakan bahwa

perempuan pascamenopause dengan kanker payudara secara signifikan memiliki kecenderungan untuk mengalami metastasis tulang dengan risiko 1,85 kali lebih besar. Hal ini dikarenakan menurunnya hormon estrogen pada perempuan pascamenopause.⁽¹⁸⁾ Pada literatur disebutkan bahwa hormon estradiol (E2) berpengaruh terhadap aktivitas RANK/RANKL/OPG. Penurunan kadar estradiol akibat menopause akan menurunkan kadar OPG dimana estradiol merupakan salah satu regulator terpenting dari OPG, sehingga terjadi peningkatan aktivitas RANKL yang mengakibatkan terjadinya resorpsi tulang.⁽²⁰⁾ Namun hal ini tidak sesuai dengan studi Yulian dkk dimana tidak terdapat hubungan signifikan antara status menopause dengan kejadian metastasis tulang pada kanker payudara.⁽¹⁷⁾

Pada penelitian ini sebagian subjek penelitian pada kelompok kasus mengalami metastasis pada tulang aksial (46,7%), sebagian pada tulang appendikular (46,7%), dan sebagian kecil pada tulang aksial dan appendikular (6,6%). Lokasi metastasis tulang juga mempengaruhi OS. Tumor yang mengalami metastasis ke tulang aksial dan tulang appendikular memiliki OS yang lebih rendah (4,58 tahun) dibandingkan yang mengalami metastasis ke tulang aksial saja (5,62 tahun) atau ke tulang appendikular saja (6,78 tahun).⁽²¹⁾

Pada penelitian ini, interval waktu pengamatan untuk terjadinya SRE pada kelompok kasus dan kontrol cukup panjang. Pada kelompok kasus, median waktu terjadinya metastasis tulang sejak terdiagnosis menderita kanker payudara adalah 1 bulan (1-36 bulan), sedangkan pada kelompok kontrol median waktu hingga dilakukannya penelitian ini tidak ditemukan adanya metastasis tulang adalah 64 bulan (51-72 bulan). Hal ini sesuai dengan studi Kuchuk dkk dan beberapa studi sebelumnya dimana median waktu terdiagnosis metastasis tulang sejak munculnya *skeletal related events* (SRE) yang pertama yaitu dengan interval 1,8 bulan.⁽¹³⁾

Pada analisis bivariat, kelompok LABC subtype luminal dengan ekspresi RANKL tinggi berisiko mengalami metastasis tulang sebesar 7,5 kali dibandingkan dengan ekspresi RANKL yang rendah (*crude OR*= 7,5, 95%IK 1,8-30,7, $p=0,006$). Setelah dilakukan analisis regresi logistik multipel, didapatkan bahwa LABC subtype luminal dengan ekspresi RANKL yang tinggi berisiko 19,5 kali mengalami metastasis tulang dibandingkan dengan ekspresi RANKL yang rendah (*adjusted OR*=19,5; 95%IK =2,675-142,585; $p=0,003$). Hasil ini membuktikan bahwa RANKL merupakan faktor risiko independen dan terlibat dalam mekanisme metastasis tulang pada LABC subtype luminal. Hal ini sejalan dengan studi Labovsky dkk yang menggunakan 2 *human epithelial metastatic breast cancer cell lines – bone metastasis* yakni *ER-negative MDA-MB-231 (highly invasive and metastatic cells)* dan *ER-positive MCF-7 (weakly invasive and metastatic cells)* dimana secara imunohistokimia, didapatkan ekspresi positif dan serupa *membrane and cytoplasmic RANKL (cRANKL)* pada 100% sel kanker payudara yang dikultur MDA-MB-231 dan MCF-7.⁽²²⁾ Brown dkk dalam Labovsky dkk menyatakan bahwa sel-sel yang bermetastasis ke tulang menunjukkan ekspresi RANKL yang lebih tinggi

dibandingkan metastasis ke organ lainnya.⁽²³⁾ Namun pada studi Omar dkk dinyatakan bahwa kadar serum protein RANKL pada kelompok pasien kanker payudara dengan metastasis tulang ($266,05 \pm 106,96$) tidak berbeda secara signifikan dibandingkan dengan kelompok pasien kanker payudara tanpa metastasis tulang ($61,57 \pm 35,08$), meskipun lebih tinggi pada kelompok dengan metastasis tulang.⁽¹⁹⁾ Demikian studi Park dkk pada kanker payudara dengan metastasis tulang dinyatakan bahwa sel MDA-MB-231 maupun spesimen jaringan dari kanker payudara tidak mengekspresikan mRNA RANKL. Akan tetapi ko-kultur MDA-MB-231 dengan sel osteoblastik (MC3T3-E1) atau sel stroma (ST-2) menginduksi ekspresi mRNA RANKL. Hasil ini menunjukkan adanya interaksi langsung antara kanker payudara dan sel stroma atau sel osteoblastik dapat menginduksi osteoklastogenesis *in vitro* melalui modulasi ekspresi RANKL.^(22,23) Begitu pula studi Owen dkk pada *immortalised breast cancer cell lines MCF-7 and MDA-MB-231* yang dianalisis dengan *real-time quantitative-polymerase chain reaction* (qPCR) dinyatakan bahwa penurunan ekspresi RANKL memiliki kecenderungan untuk mengalami rekurensi lokal, metastasis tulang, maupun kematian.⁽²⁴⁾

Sehubungan dengan keterkaitan RANKL dan ukuran tumor (pT), pada studi Park dkk dimana ekspresi RANKL pada kanker payudara tidak terdapat hubungan stadium T dengan ekspresi RANK.⁽²⁵⁾

Terdapat penelitian yang menghubungkan ekspresi RANKL dengan metastasis tulang pada organ lainnya selain payudara. Pada studi Nugraha dkk dinyatakan bahwa peningkatan ekspresi RANKL merupakan faktor risiko kejadian metastasis tulang pada kanker tiroid. Terdapat perbedaan signifikan ekspresi RANKL antara kelompok pasien kanker tiroid dengan metastasis tulang dan kelompok tanpa metastasis tulang.⁽²⁶⁾

Proses peningkatan RANKL dikaitkan dengan peningkatan aktivitas osteoklas, yang meningkatkan reabsorpsi tulang dan menyebabkan lesi litik pada metastasis tulang. PTHrP tidak dapat secara langsung menginduksi aktivasi osteoklas, akan tetapi dapat memediasi efeknya melalui transaktivasi gen RANKL dalam sel stroma dan sel osteoblas. Oleh karena itu, upregulasi RANKL telah ditemukan pada hampir semua kondisi kerusakan tulang yang disebabkan oleh kanker.⁽²⁶⁾

Receptor Activator of NFκB Ligand diekspresikan oleh permukaan sel epitel karsinoma payudara, dan secara bersamaan meningkatkan regulasi ekspresi RANK.⁽²⁷⁾ Jalur RANKL/RANK dapat secara langsung merangsang sel karsinoma payudara untuk menginduksi EMT dan mendukung invasi sel tumor ke dalam tulang, kolonisasi pada tulang dan selanjutnya pembentukan metastasis tulang osteolitik.⁽²⁷⁾

Peningkatan rasio RANKL/OPG dalam lingkungan mikro tulang mengarah pada peningkatan resorpsi tulang dan peningkatan pelepasan faktor pertumbuhan dan kalsium. Faktor-faktor ini merangsang pertumbuhan sel kanker lebih lanjut dan merangsang pelepasan faktor turunan sel kanker, sehingga meningkatkan rasio RANKL/OPG, dan mendorong aktivasi terus menerus dari sel kanker. Rangkaian peristiwa

ini dikenal sebagai *vicious cycle* yang menyebabkan pertumbuhan sel kanker dan destruksi tulang.⁽¹⁵⁾ Selain itu, RANKL meningkatkan permeabilitas vaskular, yang membantu sel tumor payudara keluar dari pembuluh darah ke sirkulasi sistematis.⁽²⁷⁾

Penghambatan RANKL mampu mengurangi proliferasi sel epitel mammae dan MaSC, selain melemahkan terjadinya lesi pra-neoplastik dan tumor mammae. Dengan demikian, penghambatan RANKL memainkan peran sentral dalam pencegahan kekambuhan penyakit dan metastasis tulang dalam konteks kanker payudara.⁽²⁸⁾

Kelebihan penelitian ini adalah variabel dan populasi yang dibahas dan diteliti pada penelitian ini masih jarang dihubungkan, namun dapat memberikan manfaat yang besar dalam bidang penelitian kanker payudara selanjutnya dan kesehatannya kedepannya, misalnya memberikan manfaat dalam memprediksi metastasis tulang khususnya pada LABC subtype luminal. Perbedaan utama penelitian ini dengan penelitian sebelumnya yaitu subjek penelitian yang berfokus pada kasus LABC subtype luminal.

Keterbatasan penelitian ini adalah tidak dilakukannya analisis terhadap subtype molekuler kanker payudara lainnya seperti *HER-2 enriched* dan *triple-negative*, sehingga hasil penelitian ini belum dapat digeneralisasi ke semua subtype molekuler kanker payudara. Selain itu, pada penelitian ini tidak menganalisis peranan lingkungan mikro tumor yang berperan pada proses metastasis tulang.

5. SIMPULAN DAN SARAN

Ekspresi RANKL yang tinggi dan status menopause merupakan faktor risiko terjadinya metastasis tulang pada pasien LABC subtype luminal di RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah Denpasar. Ekspresi RANKL yang tinggi dan status menopause pada LABC subtype luminal diharapkan dapat menjadi acuan untuk memprediksi kejadian metastasis tulang.

Dari hasil penelitian diatas dapat disarankan beberapa hal yaitu dapat dipertimbangkan pemeriksaan imunohistokimia ekspresi RANKL sebagai pemeriksaan tambahan dalam memprediksi metastasis tulang pada LABC subtype luminal, sehingga dapat dilakukan observasi dan pemeriksaan lanjutan jika didapatkan ekspresi RANKL yang tinggi. Dalam pelaporan pasien karsinoma payudara harus terdapat status menopause sehingga dapat dipertimbangkan dalam observasi pasien sehubungan dengan prediksi metastasis tulang. Ekspresi RANKL yang tinggi dan status menopause dapat digunakan sebagai dasar untuk komunikasi informasi dan edukasi (KIE) kepada pasien dan keluarganya mengenai kemungkinan terjadinya metastasis tulang sehingga perlu dilakukan skrining yang lebih ketat risiko metastasis tulang.

DAFTAR PUSTAKA

1. The Global Cancer Observatory. Cancer Incident in Indonesia. International Agency for Research on Cancer. 2021.
2. The Global Cancer Observatory. Cancer Incident in the World. International Agency for Research on

- Cancer. 2021.
3. Aryanti C, Setiawan IGB, Sudarsa IW. Profile of breast cancer epidemiology in Sanglah General Hospital, Denpasar, Bali from 2012 to 2019. *Ann Oncol.* 2019;30(November):ix11.
 4. Santhiadi NGT, Sudarsa IW, Mahadewa TGB. High receptor activator of Nuclear Factor Kappa β (RANK) expression and luminal A subtype are associated with bone metastasis in patients with breast cancer. *Bali Med J.* 2019;8(3):537–41.
 5. Sejdinaj F, Zhang H. Bone Microenvironment and Role of Rank-Rankl-Opg in Breast Cancer Metastasis in Bone. *J Cancer Prev Curr Res.* 2017;7(3):1–7.
 6. Wang R, Zhu Y, Liu X, Liao X, He J, Niu L. The Clinicopathological features and survival outcomes of patients with different metastatic sites in stage IV breast cancer. *BMC Cancer.* 2019;19(1091):1–12.
 7. Rakasiwi NPD, Setiawan GB, Aryana IGNW. Karakteristik Kanker Payudara Dengan Metastasis Tulang Tahun 2015-2017 Di Rsup Sanglah Denpasar. *J Med Udayana* [Internet]. 2020;9(1):10–2. Available from: <https://ojs.unud.ac.id/index.php/eum>
 8. Aebi S, Karlsson P, Wapnir IL. Locally advanced breast cancer. *Breast.* 2022;62:S58–62.
 9. Aryana IGPS, Adiputra PA., Permatasari Y, Prayudi PKA, Setiawan HP. Breast Cancer in the Balinese Elderly Population: Analysis of the Hospital-Based Cancer Registry. *Indones J Cancer.* 2022;16(3):164–9.
 10. Wibisono A, Christian INWS, Adiputra PAT. Hubungan antara Platelet Lymphocyte Ratio (PLR) dan respon Neoadjuvant Chemotherapy (NAC) CAF pada pasien Locally Advanced Breast Cancer. *Intisari Sains Medis.* 2020;11(2):647–51.
 11. Zhao H, Zhang J, Lu Y, Jin J. Neoadjuvant chemotherapy in combination with surgery in the treatment of local advanced breast cancer. *Pakistan J Med Sci.* 2019;35(5):1402–7.
 12. Widiana IK, Irawan H. Clinical and Subtypes of Breast Cancer in Indonesia. *Asian Pacific J Cancer Care.* 2020;5(4):281–5.
 13. Kuchuk I, Hutton B, Moretto P, Ng T, Addison CL, Clemons M. Incidence, consequences and treatment of bone metastases in breast cancer patients—Experience from a single cancer centre. *J Bone Oncol.* 2013;2:137–44.
 14. Cetin K, Christiansen CF, Sværke C, Jacobsen JB, Sørensen HT. Survival in patients with breast cancer with bone metastasis: a Danish population-based cohort study on the prognostic impact of initial stage of disease at breast cancer diagnosis and length of the bone metastasis-free interval. *BMJ Open.* 2015;5(e007702):1–8.
 15. Ono T, Hayashi M, Sasaki F, Nakashima T. RANKL biology: Bone metabolism, the immune system, and beyond. *Inflamm Regen.* 2020;40(2):1–16.
 16. Dabbs DJ. *Diagnostic Immunohistochemistry Theranostic and Genomic Applications.* 3rd ed. Elsevier Inc.; 2010.
 17. Yulian ED, Panigoro SS, Sudijono B, Gautama W, Rustamadji P, Dosan R. CXCR4 and RANK Combination as a Predictor of Breast Cancer Bone Metastasis in Indonesia. *J Surg Surg Res.* 2021;7(1):020–5.
 18. Yazdani A, Dorri S, Atashi A, Shirafkan H, Zabolinezhad H. Bone Metastasis Prognostic Factors in Breast Cancer. *Breast Cancer Basic Clin Res.* 2019;13:1–7.
 19. Omar HS, Shaker OG, Nassar YH, Marzouk SA, ElMarzouky MS. The association between RANKL and Osteoprotegerin gene polymorphisms with breast cancer. *Mol Cell Biochem.* 2015;403(1–2):219–29.
 20. Sigl V, Penninger JM. RANKL/RANK - From bone physiology to breast cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2014;25(2014):205–14.
 21. Parkes A, Clifton K, Al-Awadhi A, Oke O, Warneke CL, Litton JK, et al. Characterization of bone only metastasis patients with respect to tumor subtypes. *npj Breast Cancer.* 2018;4(2):1–7.
 22. Labovsky V, Vallone VBF, Martinez LM, Otaegui J, Chasseing NA. Expression of osteoprotegerin, receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, stromal cell-derived factor-1 and their receptors in epithelial metastatic breast cancer cell lines. *Cancer Cell Int.* 2012;12(29):1–13.
 23. Park HR, Min SK, Cho HD, Kim DH, Shin HS, Park YE. Expression of Osteoprotegerin and RANK Ligand in Breast Cancer Bone Metastasis. *J Korean Med Sci.* 2003;18(4):541–6.
 24. Owen S, Ye L, Sanders AJ, Mason MD, Jiang WG. Expression profile of receptor activator of nuclear- κ b (rank), rank ligand (rankl) and osteoprotegerin (OPG) in breast cancer. *Anticancer Res.* 2013;33(1):199–206.
 25. Govender P. An approach to the management of locally advanced breast cancer: Part 1. *South African Med J.* 2014;104(5):384.
 26. Nugraha GKAS, Astawa P, Karna MB, Wiratnaya IGE, Sumadi IWJ. Increased thyroglobulin and receptor activator of nuclear factor kappa B ligand expression is a risk factor of bone metastasis on patients with thyroid cancer. *Int J Res Med Sci.* 2021;9(5):1244–8.
 27. Huang J-F, Shen J, Li X, Rengan R, Silvestris N, Wang M, et al. Incidence of patients with bone metastases at diagnosis of solid tumors in adults: a large population-based study. *Ann Transl Med.* 2020;8(7):482.

28. Infante M, Fabi A, Cognetti F, Gorini S, Caprio M, Fabbri A. RANKL/RANK/OPG system beyond bone remodeling: Involvement in breast cancer and clinical perspectives. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019;38(1):1–18.