

# Ekspresi CD10 dan Bcl6 pada Limfoma Malignum Sel B Jenis Sel Besar Difus dan Hubungannya dengan Skor Indeks Prognostik Internasional

Jimmy Hadi Widjaja, Willy Sandhika

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas, Airlangga  
Surabaya

## ABSTRAK

### Latar Belakang.

Limfoma malignum sel B jenis sel besar difus adalah Limfoma malignum non-Hodgkin yang sering dijumpai. Penyakit ini memiliki gambaran klinis, morfologik, perubahan genetik, dan molekular yang heterogen. Sel limfoma dapat memiliki fenotip serupa dengan sel sentrum germinativum normal ditandai dengan ekspresi CD10 dan Bcl6 yang dapat berhubungan dengan gejala klinis dan prognosis yang baik. Penelitian ini ingin menilai hubungan imunoekspresi CD10 dan Bcl6 dengan skor Indeks Prognostik Internasional (IPI).

### Cara

Penelitian dilakukan secara retrospektif pada 22 sediaan kasus Limfoma malignum sel B jenis sel besar difus dari Januari 2007 sampai Juni 2009 di Bagian Patologi Anatomi Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya. Semua bahan dilakukan penilaian ulang untuk menentukan diagnosis berdasarkan klasifikasi WHO 2001 berupa pulasan HE dan imunohistokimia dengan CD10 dan Bcl6. Uji korelasi kontigensi digunakan untuk analisa data.

### Hasil

Hasil penelitian ini menunjukkan hubungan yang bermakna antara ekspresi CD10 dan ekspresi Bcl6 dengan skor IPI ( $p < 0,05$ ). Tidak terdapat hubungan bermakna antara ekspresi CD10 dengan Bcl6 ( $p > 0,05$ ).

### Kesimpulan

Ekspresi CD10 dan Bcl6 berkaitan dengan prediksi prognosis.

**Kata kunci :** Limfoma maligna sel B jenis sel besar difus, CD10, Bcl6, IPI.

## ABSTRACT

### Background

Diffuse large B cell lymphoma is malignant neoplasm which is the most common type of non-Hodgkin lymphoma. This tumor has heterogeneous clinical features, morphology, genetic, and molecular alterations. Diffuse large B cell lymphoma with a germinal centre (GC) pattern gene expression including CD10 and Bcl6 has a more favorable outcome. The aim of this study was to find the correlation between CD10 and Bcl6 expression with IPI in diffuse large B cell lymphoma.

### Method

This study was done retrospectively in 22 cases of diffuse large B cell lymphoma. The samples were obtained from Anatomic Pathology Departement of Dr. Soetomo Hospital from January 2007 to June 2009. All cases were reviewed for histopathological diagnosis based on WHO classification of 2001, and the specimens were stained with specific antibodies against CD10 and Bcl6. The data were analyze using correlation contingency test.

### Results

This study showed correlation between CD10 and Bcl6 expression with IPI ( $p < 0,05$ ). There was no correlation between CD10 and Bcl6 expression ( $p > 0,05$ ).

### Conclusion

There was correlation between CD10 and Bcl6 expression with prediction of the prognosis

**Key words :** *diffuse large B cell lymphoma, CD10, Bcl6, IPI.*

**PENDAHULUAN**

Limfoma malignum sel B jenis sel besar difus adalah tipe Limfoma malignum non-Hodgkin yang sering didapatkan, yaitu lebih dari 30%.<sup>1</sup> Limfoma malignum sel B jenis sel besar difus digolongkan sebagai tipe khusus dari Limfoma malignum non-Hodgkin karena memiliki gambaran klinis, morfologi, perubahan genetik, dan molekular yang heterogen.<sup>2</sup> Meskipun masih dapat diterapi dengan kemoterapi. Penyakit tersebut sering mengalami kekambuhan atau menyebabkan kematian. Oleh karena itu, penting untuk segera menegakkan diagnosis penyakit itu.<sup>3</sup> Sedangkan untuk prognosis pasien umumnya digunakan skor IPI.<sup>4</sup> Melalui penilaian itu dapat diklasifikasikan pasien dengan harapan hidup baik dan buruk. Terdapat dua pola gen utama, yaitu berasal dari sentrum germinativum atau post sentrum germinativum (*activated B-cell*). Walaupun ada kontroversi, pola Sentrum Germinativum/Germinal Center (GC) pada ekspresi gen yang bercirikan CD10 dan Bcl6 mempunyai harapan hidup lebih baik.<sup>5</sup>

**BAHAN DAN CARA KERJA**

Penelitian ini dilakukan menggunakan sampel dari sediaan blok parafin Limfoma malignum sel B jenis sel besar difus yang diperiksa di Bagian Patologi Anatomi Rumah Sakit Dr. Soetomo periode Januari 2007 sampai Juni 2009. Pasien diseleksi berdasarkan informasi klinis dan bahan histologi. Subyek penelitian adalah 22 jaringan parafin yang didiagnosa Limfoma malignum sel B jenis sel besar difus pada pengecatan rutin HE di Bagian Patologi Anatomi Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya. Sampel diperiksa menggunakan antibodi monoklonal CD20 sebagai petanda sel B. Masing-masing sediaan dari blok parafin yang sama dipotong setebal empat mikron, dibuat tiga sediaan yaitu untuk pewarnaan HE, CD10, dan Bcl6. Kemudian dilakukan deparafinisasi dengan xylol dan alkohol. Imunohistokimia menggunakan teknik baku streptavidin-biotin dengan antibodi monoklonal CD10 (Thermo) dengan pengenceran 1:30 dan antibodi monoklonal Bcl6 (Dako) dengan pengenceran 1:20. Ekspresi CD10 terlihat sebagai granula coklat pada membran dan ekspresi Bcl6 terlihat sebagai granula coklat pada inti. Penghitungan dilakukan dua kali oleh dua peneliti yang berbeda.

CD10 dan Bcl6 dinilai skor +1 bila didapatkan ekspresi protein positif 0-9%, skor +2 bila ekspresi protein positif 10-25%, skor +3 bila

didapatkan ekspresi protein positif 26-50%, skor +4 bila didapatkan ekspresi protein positif 51-75%, dan skor +5 bila didapatkan ekspresi protein positif 76-100%.

IPI didapat dari rekam medis pasien. Adapun komponen IPI, yaitu *staging* tumor, kadar laktat dehidrogenase, usia pasien, status penampilan, dan jumlah ekstranodul. Kriteria IPI diberikan skor 1 jika pasien lebih dari 60 tahun, stadium III-IV, level LDH diatas normal, status penampilan buruk, dan didapatkan lebih dari 2 ekstranodul. Jika tidak memenuhi kriteria di atas diberikan nilai 0. Jika memenuhi lebih dari dua kriteria IPI, maka kasus dipertimbangkan mempunyai IPI tinggi. Hubungan imunoekspresi antara CD10 dengan Bcl6 dianalisa dengan uji korelasi kontingensi

**HASIL**

Selama periode Januari 2007 sampai Juni 2009 di Bagian Patologi Anatomi Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya terkumpul 22 kasus yang di diagnosis sebagai limfoma malignum sel B jenis sel besar difus.

Hasil pengamatan menunjukkan limfoma malignum sel B jenis sel besar difus lebih banyak ditemukan pada kelompok usia 40-49 tahun, yaitu sebanyak enam kasus (27,3%). Usia termuda adalah 18 tahun dan tertua 73 tahun. Rata-rata usia penderita limfoma malignum sel B jenis sel besar difus adalah 46,4 tahun.

Kasus sering ditemukan pada laki-laki, yaitu 14 kasus (63,6%). Lokasi tersering limfoma malignum sel B jenis sel besar difus adalah nodal yaitu 12 kasus (55%).

**Tabel 1.** Hubungan antara ekspresi protein CD10 dengan skor IPI pada jaringan Limfoma malignum non Hodgkin sel B jenis sel besar difus.

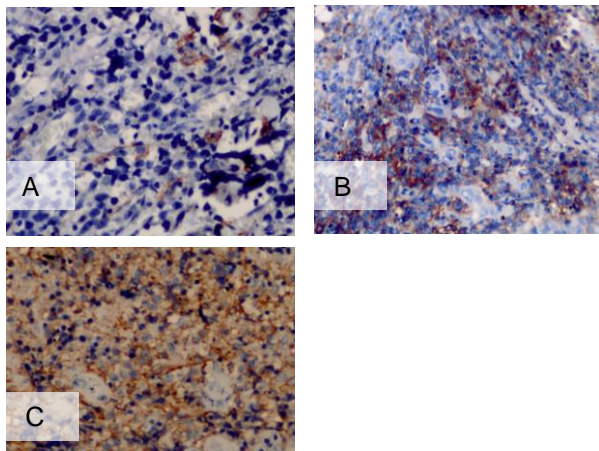
	Skor IPI		Total	koefisien Kontingensi	Nilai p
	Rendah	Tinggi			
CD 10					
+1	1	12	13	0,557	0,019
+2	2	3	5		
+3	0	2	2		
+5	2	0	2		
Total	5	17	22		

Hasil uji statistik korelasi kontingensi antara CD10 dan skor IPI didapatkan nilai p = 0,019 (p<0,05), yang berarti terdapat hubungan yang bermakna.

**Tabel 2.** Hubungan antara ekspresi protein Bcl6 dengan skor IPI pada jaringan Limfoma malignum non Hodgkin sel B jenis sel besar difus.

	Skor IPI		Total	koefisien Konti- ngensi	Nilai p
	Rendah	Tinggi			
Bcl 6					
+1	1	12	13	0,657	0,001
+2	0	5	5		
+3	2	0	2		
+4	2	0	2		
Total	5	17	22		

Hasil uji statistik korelasi kontingensi antara Bcl6 dan skor IPI didapatkan nilai  $p=0,001$  ( $p<0,05$ ) yang berarti terdapat hubungan yang bermakna.

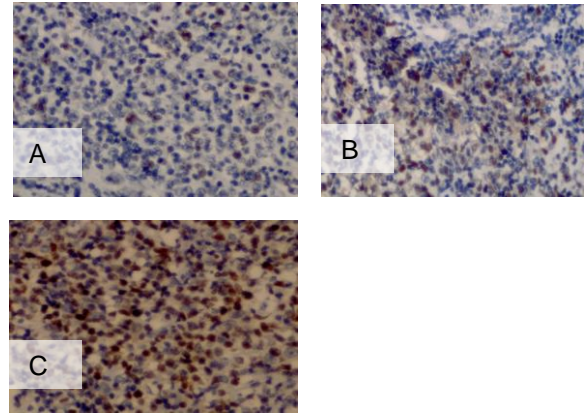


**Gambar 1.** A. Gambaran imuhistokimia ekspresi protein CD10 positif 1, B. Gambaran imuhistokimia ekspresi protein CD10 positif 3, C. Gambaran imuhistokimia ekspresi protein CD10 positif 5.

**Tabel 3.** 10 Hubungan antara ekspresi protein CD10 dengan Bcl 6 pada jaringan limfoma malignum non Hodgkin sel B jenis sel besar difus.

	Bcl6				Total	koefisien Konti- ngensi	Nilai p
	+1	+2	+3	+4			
CD10							
+1	9	3	1	0	13	0,567	0,317
+2	1	2	1	1	5		
+3	2	0	0	0	2		
+5	1	0	0	1	2		
Total	13	5	2	2	22		

Hasil uji statistik korelasi kontingensi antara CD10 dan Bcl6 didapatkan nilai  $p = 0,317$  ( $p<0,05$ ) yang berarti tidak terdapat hubungan yang bermakna.



**Gambar 2.** A. Gambaran imuhistokimia ekspresi protein Bcl 6 positif 1. B. Gambaran imuhistokimia ekspresi protein Bcl 6 positif 3. C. Gambaran imuhistokimia ekspresi protein Bcl 6 positif 5.

**PEMBAHASAN**

Penelitian ini memperlihatkan imunoekspresi CD10 berhubungan dengan skor IPI pada jaringan Limfoma malignum sel B jenis sel besar difus. Sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa imunoekspresi CD10 di limfoma malignum sel B jenis sel besar difus memberi prognosis dan harapan hidup lebih baik.<sup>6,7</sup> CD10 adalah endopeptidase netral yang diekspresi di berbagai jaringan tubuh.<sup>8</sup> Walaupun pada awalnya dipertimbangkan sebagai antigen tumor spesifik, ternyata CD10 juga dideteksi pada bermacam-macam sel normal yang berasal dari hemopoetik dan non-hemopoetik. Ekspresi CD10 secara normal dilihat pada sel sentrum germinativum folikel dan juga diekspresi di limfoma malignum sel B jenis sel besar difus yang berasal dari SG. Ekspresi CD10 pada limfoma malignum sel B jenis sel besar difus juga berhubungan dengan adanya translokasi (14;18). Hal itu menunjukkan kemungkinan tumor berasal dari transformasi limfoma follikular.<sup>9</sup> Adanya fenotipe SG memberikan harapan hidup lebih baik pada penderita limfoma malignum sel B jenis sel besar difus. Sel SG normal sangat rentan pada apoptosis. Hal itu mungkin dipertahankan oleh sel SG neoplastik, sehingga lebih sensitif terhadap kemoterapi.<sup>6</sup> Penelitian sebelumnya juga menemukan bahwa pada limfoma malignum sel B jenis sel besar

difus dengan profil imunofenotipe SG berhubungan dengan indeks apoptosis tinggi, ekspresi tinggi proapoptosis *bax*, *bak* dan *bid*, serta ekspresi rendah pada protein antiapoptosis *bcl-xl*.<sup>10</sup> Oleh karena itu, terdapat hubungan antara CD10 dengan apoptosis dalam hal mencegah kerja sitokin. Kerja sitokin memainkan peran protektif pada apoptosis sel B dan T.<sup>11</sup>

Penelitian ini juga menemukan hubungan antara imunoekspresi Bcl6 dengan skor IPI. Akan tetapi terdapat hasil imunoekspresi Bcl6 yang berbeda dengan penelitian lain.<sup>12</sup> Ketidaksesuaian hasil diduga berhubungan dengan heterogenitas dari limfoma malignum sel B jenis sel besar difus. Pada penelitian lain didapatkan sepertiga kasus primer payudara limfoma malignum sel B jenis sel besar difus memperlihatkan imunoekspresi Bcl6.<sup>13</sup> Di organ saluran cerna, terlihat imunoekspresi Bcl6 lebih sering daripada nodal.<sup>14</sup> Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa Limfoma malignum sel B jenis sel besar difus dapat dikelompokkan menjadi pola sel B GC yang mengekspresi CD10 dan Bcl6, serta pola sel B teraktivasi non-GC mengekspresi MUM1.<sup>15</sup> Gen Bcl6 secara normal diekspresikan oleh sel B dan sel T CD4+ pada Sentrum Germinal.<sup>16</sup> Mutasi titik dan penyusunan kembali gen ini telah dideteksi pada beberapa limfoma malignum sel B jenis sel besar difus.

Penelitian ini tidak menemukan hubungan bermakna antara imunoekspresi CD10 dengan imunoekspresi Bcl6. Tidak terdapatnya hubungan kemungkinan karena keduanya memiliki jalur independen yang berbeda dalam proses timbulnya keganasan limfoma.

**KESIMPULAN**

Ekspresi CD10 dan Bcl6 berkaitan dengan prediksi prognosis limfoma malignum sel B jenis sel besar difus.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Morton LM, Wang SS, Devesa SS, Hartge P, Weisenburger DD, and Linet MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States 1992-2001. *Blood* 2001;107:265-76.
2. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks MP, Chan JKC, Cleary ML, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the

- International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994;84:1361-92.
3. Colomo L, Lopez-Guillermo A, Perales M, Rives S, Martinez A, Bosch F, et al. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2003;101:78-84.
4. Nicolaidis C, Dimou S, Pavlidis N. Prognostic factors in aggressive non-Hodgkin's lymphomas. *Oncologist* 1998;3:189-97.
5. Lossos IS, Alizadeh AA, Eisen MB, Chan WC, Brown PO, Botstein D, et al. Ongoing immunoglobulin somatic mutation in germinal center B cell-like but not in activated B cell-like diffuse large cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:10209-13.
6. Berglund M, Thunberg U, Amini RM, Roos G, Erlanson M, Linderth J. Evaluation of immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its impact on prognosis. *Mod Pathol* 2005, 18:1113-20.
7. Xu Y, McKenna RW, Molberg KH, Kroft SH. Clinicopathological analysis of CD10+ and CD10 diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2001;116:183-90.
8. Dogan A, Bagdi E, Munson P, Isaacson PG. CD10 and BCL-6 expression in paraffin sections of normal lymphoid tissue and B-cell lymphomas. *Am J Surg Pathol* 2000;24:846-52.
9. Lossos IS, Okada CY, Tibshirani R, Warn Ke R, Vose JM, Greiner TC, et al. Molecular analysis of immunoglobulin genes in diffuse large B-cell lymphomas. *Blood*. 2000;95:1797-03.
10. Bai M, Skyras A, Agnantis NJ, Kamina S, Tsanou E, Grepil C, Galini V, Kanavaros P. Diffuse large B-cell lymphomas with germinal center B-cell-like differentiation immunophenotypic profile are associated with high apoptotic index, high expression of the proapoptotic protein *bax*, *bak* and *bid* and low expression of the antiapoptotic protein *bcl-xl*. *Modern Pathol* 2004;17:847-56.
11. Shaffer AL, Rosenwald A, Staudt LM. Lymphoid Malignancies: The Dark Side of B-cell Differentiation. *Immunol* 2002, vol 2, p.1-13.
12. Ye BH. Bcl 6 in the pathogenesis of non Hodgkin lymphoma. *Cancer Invest* 2000;18:356-65.

13. Yoshida S, Nakamura N, Sasaki Y. Primary Breast Diffuse Large B-cell Lymphoma Shows a Non-germinal Center B-cell Phenotype. *Mod Pathol* 2005;18:398-405.
14. Lopez-Guillermo A, Colomo L, Jimenez M, Bosch F, Villamor N, Arenillas L, et al. Diffuse Large B-cell Lymphoma: Clinical and Biological Characterization and Outcome According to the Nodal or Extranodal Primary Origin. *J Clin Oncol* 2005;23:2797-804.
15. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004;103:275-82.
16. Lossos IS, Jones CD, Warnke R, Natkunam Y, Kaizer H, Zehnder JL, et al. Expression of a single gene, BCL- 6, strongly predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2001;98:945-51.