

Korelasi Imunoekspresi EGFR dan mTOR dengan Grading Histopatologi *Astrocytoma*

Friede Rismayanti Saragih¹, Sri Suryanti¹, Bethy S. Hernowo¹

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran

Abstrak

Astrocytoma adalah tumor otak tersering pada susunan saraf pusat terutama terjadi pada usia dewasa, lebih banyak ditemukan pada laki-laki dibanding perempuan. Secara klinis dan berdasarkan gambaran histopatologi *astrocytoma* dibagi menjadi 4 grade yaitu grade I dan II disebut *low grade*, grade III dan IV disebut *high grade*. Grading *astrocytoma* dilihat berdasarkan derajat diferensiasi sel, selularitas sel, atipia inti, aktivitas proliferasi (mitosis), proliferasi vaskular dan nekrosis. EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*) dan mTOR (*mammalian Target of Rapamycin*) yang berfungsi sebagai agen proliferasi dan regulator apoptosis yang dianggap memegang peranan pada patogenesis dan progresifitas *astrocytoma*. Tujuan dari studi penelitian ini adalah untuk mencari korelasi antara imunoekspresi EGFR dan mTOR dengan grading histopatologi *astrocytoma*. Penelitian ini merupakan penelitian studi observasional, *cross sectional*, dengan analisa korelasional terhadap 32 sampel blok parafin kasus *astrocytoma* terdiri dari 16 kasus *low grade* dan 16 kasus *high grade* dari Departemen Patologi Anatomi RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung kemudian seluruh sampel dilakukan pulasan imunohistokimia EGFR dan mTOR. Hasil dari penelitian ini adalah terdapat hubungan yang signifikan secara statistik antara imunoekspresi EGFR dan mTOR dengan grading histopatologi yang memiliki *p value* masing – masing sebesar 0,05 dan 0,048. Grading secara signifikan dipengaruhi oleh EGFR dan mTOR dengan imunoekspresi mTOR sebagai variabel yang paling berpengaruh. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa grading histopatologi dipengaruhi oleh proliferasi dan apoptosis yang dapat dinilai dengan pemeriksaan imunoekspresi EGFR dan mTOR, dimana semakin tinggi imunoekspresi EGFR dan mTOR maka semakin tinggi grading histopatologi.

Kata Kunci : *astrocytoma*, EGFR, grading, mTOR

Correlation EGFR and mTOR Immunoexpression with Histopathological Grading *Astrocytoma*

Abstract

Astrocytoma is the most common brain tumor of Central Nervous System which is mainly occur in adult, mostly found in men rather than women. Based on clinical and histopathologic features, *Astrocytoma* divided into 4 grade. Grade I and II are called low grade, grade III and IV called are high grade. *Astrocytoma* grading is depend on degree of cell differentiation, cell cellularity, nuclei atypia, proliferation activities (mitoses), vascular proliferation and necrosis. EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*) and mTOR (*mammalian Target of Rapamycin*) act as proliferation and regulator apoptotic agents thought to play important role on pathogenesis and progression of *astrocytoma*. The aim of this study is to review the correlation between EGFR and mTOR immunoexpression with histopathological grading of *astrocytoma*. This study was an observational study, cross-sectional, with correlational analysis of 32 paraffin blocks samples diagnosed with *astrocytoma* which are consists of 16 low grade cases and 16 high grade cases from the Department of Anatomical Pathology General Hospital Dr Hasan Sadikin Bandung. Immunohistochemical examination of EGFR and mTOR was done on all samples. This study results showed significant correlation between EGFR and mTOR immunoexpression with histopathological grading of *astrocytoma* with *p value* 0.05 and 0.048. *Astrocytoma* grading is significantly affected by EGFR and mTOR while mTOR immunoexpression act as the most influential variable. Conclusion from this study is that histopathologic grading of *astrocytoma* is affected by the proliferation and apoptosis factors which can be examined through the assessment EGFR and mTOR immunoexpression. Higher histopathological grade showed higher immunoexpression of EGFR and mTOR.

Keywords: *astrocytoma*, EGFR, grading, mTOR

Korespondensi : Friede Rismayanti Saragih, alamat Jl Raya Bandung Sumedang, 081272077255, email : friedesumbayak@gmail.com

Pendahuluan

Astrocytoma adalah tumor otak tersering pada susunan saraf pusat (SSP) terutama terjadi pada usia dewasa. *Astrocytoma* berasal dari sel-sel astrosit salah satu sel pendukung pada otak.^{1,2} Insidensi

astrocytoma di Mesir dikatakan berkisar antara 10 sampai 17 kasus per 100.000 penduduk dari seluruh tumor *intracranial* sedangkan di Iraq merupakan tumor terbanyak ke 5 yang terjadi di usia dewasa dan tumor terbanyak kedua pada usia anak –

anak.³ Pada tahun 2016 di Amerika diperkirakan dari 24.790 kasus *primary malignant brain tumor*, ditemukan 50% kasus glioma dan diantaranya diperkirakan 12.120 kasus adalah glioblastoma terutama terjadi pada usia dewasa (45-65), lebih banyak pria dibanding wanita.⁴ Data epidemiologi tumor SSP di Indonesia sampai saat ini masih sangat tidak memadai. Hal ini disebabkan karena teknik diagnostik yang masih kurang optimal dan masalah pencatatan kasus yang tidak lengkap, karena teknik pengklasifikasian yang tidak selalu sama antara sentra yang satu dengan yang lain. Kasus *Astrocytoma* di Departemen Patologi Anatomi RSUP (Rumah Sakit Umum Pusat) Dr. Hasan Sadikin Bandung Januari 2012 – September 2016 ditemukan sebanyak 90 kasus astrocytoma.⁵

Secara klinis dan berdasarkan gambaran histopatologi tumor ini dapat dibagi menjadi 4 *grade* menurut klasifikasi *World Health Organization* (WHO). *Grading astrocytoma* ini dilihat berdasarkan derajat diferensiasi sel, sejauh apa perbedaan sel tumor dibandingkan sel normal, selularitas sel, atipia inti dan aktivitas mitosis, proliferasi vaskular serta adanya nekrosis. *Pilocytic astrocytoma* (WHO *grade* I) umumnya tumbuh lambat dan merupakan tumor pada anak-anak yang bersifat *non-infiltrating* dan jarang bersifat fatal. *Infiltrating astrocytoma*, angka harapan hidupnya menurun dengan meningkatnya *grading*. *Grade II astrocytoma* rata-rata dapat bertahan lebih dari 5 tahun, namun angka harapan hidupnya menurun menjadi 3 tahun untuk tipe *anaplastic astrocytoma* (*grade* III). *Grade IV glioblastoma multiforme* (GBM) merupakan tumor terbanyak dari seluruh tumor astrosit, rata-rata dapat bertahan hidup kurang dari satu tahun.^{6, 7} *Astrocytoma* WHO *grade* I dan II disebut *low grade* astrocytoma sedangkan astrocytoma WHO *grade* III dan IV disebut *high grade* dan bersifat agresif, walaupun metastasis keluar susunan saraf pusat jarang ditemukan. *Infiltrating astrocytoma* WHO *grade* II sulit dibedakan dengan *anaplastic astrocytoma* (WHO *grade* III), hingga saat ini keduanya dibedakan dengan cara menghitung jumlah mitosis secara histopatologi, hal ini lebih baik didukung dengan pemeriksaan imunohistokimia untuk melihat aktivitas proliferasi sel tumor. Jika jumlah sampel

tumor yang diambil adekuat, maka pemeriksaan histopatologi dapat secara adekuat menentukan *grading* tumor, namun jika jumlah sampel tidak adekuat, lebih baik didukung dengan pemeriksaan imunohistokimia.^{6, 8-10}

Salah satu perubahan dasar pada sel kanker adalah adanya proliferasi sel yang tidak terkendali. Adanya aktivitas faktor pertumbuhan (*growth factor receptor*) merupakan salah satu tahap dalam proliferasi sel. EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*) disebut sebagai *mitogenic hormone* yang berperan meregulasi proliferasi dan diferensiasi sel normal dan sel neoplasma. EGFR merupakan reseptor glikoprotein transmembran dan terikat dengan EGF atau *TGF- α* yang menyebabkan respon intraseluler berupa mitosis dengan mengaktifasi tirosin kinase. EGFR memiliki 2 tipe yaitu *wild type* dan *mutant type* (EGFRVIII). EGFR *wild type* merupakan protein 170 Kda dan merupakan bagian dari *subfamily* ErbB *tyrosine kinase receptors*. Pengaktifan *ligand* EGFR akan menginduksi dimerisasi dan fosforilasi *subsequent* tirosin kinase EGFR intraseluler kemudian terjadi kaskade *signaling* intraseluler yang memediasi berbagai respon seluler penting seperti peningkatan angiogenesis, peningkatan *tumor survival*, peningkatan proliferasi sel, penurunan apoptosis, peningkatan invasi dan metastasis. Pada berbagai penelitian mengemukakan peningkatan imunoekspresi protein EGFR pada kasus keganasan berhubungan dengan peningkatan ukuran tumor, resiko rekurensi, radioresisten, tingginya *grading* histopatologi, penurunan angka harapan hidup namun pada astrocytoma masih belum banyak penelitian yang menjelaskan hal tersebut.¹¹ EGFR mutan meningkatkan proliferasi sel tumor dan memberikan efek apoptosis yang menurun, sehingga overekspresi EGFR mutan pada sel glial akan mengakibatkan tumor resisten terhadap pemberian kemoterapi, sehingga dibutuhkan suatu terapi target.¹² Target terapi dapat diberikan berupa anti EGFR yang secara spesifik akan menghambat amplifikasi protein yang secara langsung berperan pada pertumbuhan sel. Michael Jansen *et al*, dalam penelitiannya mengatakan bahwa glioblastoma berespon terhadap molekul *inhibitor* tirosine kinase yang mengalami over

ekspresi EGFR dengan jalur *PTEN-AKT* yang masih bagus.¹³

Keterlibatan EGFR dan mTOR pada patogenesis beberapa kanker sudah banyak dibuktikan oleh beberapa peneliti namun pada *astrocytoma* belum banyak yang meneliti. Aktivasi mTOR telah dieksplor memiliki peranan pada tumor otak. *Mammalian target of rapamycin* (mTOR) merupakan protein berukuran 250-kDa, yang berfungsi mengatur pertumbuhan sel dan fungsi sel dengan cara mengontrol *mRNA translation*, biogenesis ribosom, *autophagy* dan metabolisme. Beberapa peneliti mengatakan adanya keterlibatan *AKT-mTOR pathway activation* berimplikasi dan berkontribusi pada progresifitas tumor dan angiogenesis, namun pada *astrocytoma* masih kontroversi dan belum banyak yang meneliti. Pada beberapa literatur dikatakan peningkatan aktivitas mTOR ditemukan pada *diffuse astrocytoma* dan *high grade glioma* seperti *anaplastic astrocytoma* (WHO grade III) dan glioblastoma (WHO grade IV), namun pada salah satu penelitian peranan aktivasi mTOR juga ditemukan pada *pediatric low grade glioma* seperti *pylocytic astrocytoma* (WHO grade I). Kedua hasil penelitian tentang ekspresi mTOR ini mengakibatkan dibutuhkannya penelitian lebih lanjut untuk menentukan bagaimana hubungan mTOR dengan progresifitas tumor yang dinilai berdasarkan *grading* histopatologi.^{14, 15}

Penanda molekuler diharapkan dapat menjadi parameter yang lebih baik sebagai panduan penatalaksanaan penderita *astrocytoma* dibandingkan hanya dengan kriteria klinis dan histopatologi. *Epidermal growth factor receptor* (EGFR) dan *Mammalian target of rapamycin* (mTOR) diharapkan dapat digunakan sebagai penanda molekuler *astrocytoma* yang agresif dan diharapkan dapat dipakai menjadi panduan untuk pemberian terapi target. Glioblastoma (*high grade astrocytoma*) adalah tumor otak tersering dan sangat sulit untuk disembuhkan.

Pilihan terapi yang efektif untuk tumor *grade II* sampai *IV* masih terbatas. Operasi, radioterapi dan kemoterapi masih belum dapat meningkatkan angka harapan hidup untuk *astrocytoma grade III* dan *IV*, dan ini dibuktikan dengan seringnya terjadi rekurensi⁷, sehingga diperlukan terapi lain

berupa terapi target. *Mammalian Target of Rapamycin* (mTOR) ditemukan sebagai terapi target untuk pasien glioblastoma.¹⁶ mTOR protein mengandung *serine/threonine kinase catalytic* yang secara struktural sama dengan komponen *phosphatidylinositol-3-kinase* (PI3K) yang berhubungan dengan *protein kinase family* yang menjadi protein target. Secara fungsional mTOR dibagi menjadi dua, yaitu mTORC1 (*mammalian target of rapamycin complex 1*) yang bersifat *rapamycin sensitive* mengontrol pertumbuhan sel dan *survival* dengan meregulasi *RNA translation*, *ribosomal biogenesis*, *transport* nutrisi dan *autophagy*, sedangkan mTORC2 (*mammalian target of rapamycin complex 2*) bersifat *rapamycin resistant* yang berpartisipasi dalam metabolisme sel, mengontrol morfologi sel melalui efeknya terhadap *actin cytoskeleton* dan menghambat apoptosis.¹⁷ Beberapa penelitian dilakukan terhadap mTOR ini namun hingga saat ini di Indonesia belum banyak yang meneliti korelasi mTOR dengan *grading* histopatologi *astrocytoma*. Tujuan dari studi penelitian ini adalah untuk mencari korelasi antara imunoekspresi EGFR dan mTOR dengan *grading* histopatologi *astrocytoma*.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian studi observasional, *cross-sectional* menggunakan analisis korelasional dua kelompok tidak berpasangan maka digunakan rumus besar sampel untuk analisis korelatif. Kekuatan korelasi (r) berdasarkan kriteria Guilford (1956) yaitu : 0,0-<0,2 = sangat lemah; 0,2-<0,4 = lemah; 0,4 - <0,7 = sedang; 0,7-<0,9 = kuat; 0,9-1,0 = sangat kuat.

Sampel

Bahan penelitian adalah 32 sampel blok parafin dari penderita yang dilakukan operasi dan telah didiagnosis secara histopatologi sebagai *astrocytoma* serta di *grading* berdasarkan klasifikasi WHO selama 1 Januari 2012 sampai September 2016, kemudian dilakukan pembacaan ulang untuk menentukan *grading* secara histopatologi, didapatkan 16 sampel untuk kelompok *high grade* maupun *low grade*, kemudian dilakukan pulasan GFAP (*Glial Fibrillary Acid Protein*) untuk meyakinkan massa tumor benar-benar

astrocytoma, jika GFAP positif selanjutnya dilakukan pulasan imunohistokimia EGFR dan mTOR.

Pewarnaan Imunohistokimia EGFR dan mTOR

Blok Parafin yang telah dikumpulkan, disimpan dalam alat pendingin sampai cukup dingin, selanjutnya dipotong tipis menggunakan mikrotom setebal 4µdan ditempel pada kaca objek yang sudah dilakukan *coating* kemudian dilakukan pulasan EGFR dan mTOR dengan menggunakan antibodi primer *mouse monoclonal antihuman EGFR (clone H11)* dari Cellmarque dengan pengenceran 1:100 dan antibodi primer *Rabbit policlonal anti-mTOR (Brand genetex USA)* dengan pengenceran 1:100 dan masing-masing menggunakan kontrol positif karsinoma *mammæ*. Kontrol negatif digunakan sampel blok parafin yang sama dengan penghilangan reaksi antibodi primer.

Penilaian Imunoekspresi EGFR dan mTOR

Sediaan imunohistokimia diperiksa menggunakan mikroskop cahaya oleh 3 peneliti. EGFR dinilai positif, yaitu bila membran sel dan sebagian sitoplasma sel tumor berwarna coklat. Imunoekspresi dinilai menggunakan analisis semikuantitatif, penilaian intensitas pewarnaan diberi skor 0=kuat, 1=lemah, 2=sedang, 3=kuat (Gambar 1). Distribusi sel yang positif dinilai dengan pembagian skor 0=0%, 1=<20%, 2=20-50%, 3=>50%. Untuk penilaian akhir berupa skor yang dinilai skor distribusi dikalikan dengan skor intensitas. Skor tersebut dikelompokkan menjadi: kelompok negatif untuk skor 0, skor positif lemah untuk skor 1-5, skor positif kuat untuk skor 6-9.¹⁸

Imunoekspresi mTOR dinilai positif jika terwarnai coklat terutama di sitoplasma dan membran sel. Imunoekspresi dinilai menggunakan analisis semikuantitatif, penilaian intensitas pewarnaan diberi skor 0=kuat, 1=lemah, 2=sedang, 3=kuat (Gambar 2). Distribusi sel yang positif dinilai dengan pembagian skor 0=<5%, 1=6-20%, 2=20-50%, 3=>50%. Untuk penilaian akhir berupa skor yang dinilai skor distribusi dikalikan dengan skor intensitas. Skor tersebut dikelompokkan

menjadi: kelompok negatif untuk skor 0, skor positif lemah untuk skor 1-5, skor positif kuat untuk skor 6-9.¹⁴

Data penelitian berupa data kategorik dua kelompok tidak berpasangan, analisis bivariabel dengan menggunakan uji *chi-square* dengan $p \leq 0,05$ kemudian dianalisis dengan menggunakan program Stata.

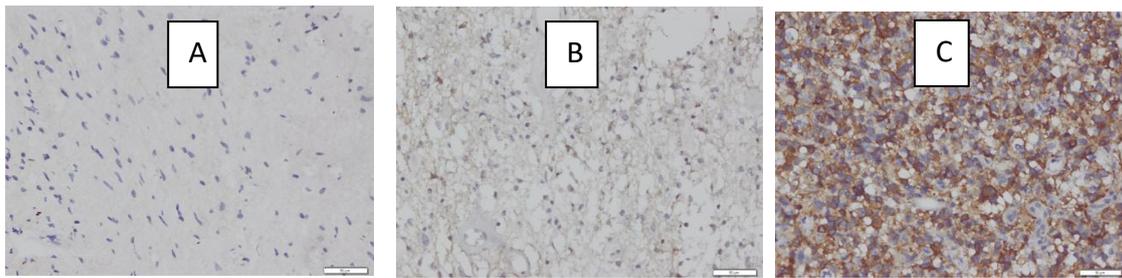
Hasil

Bahan Penelitian berasal dari blok parafin yang didiagnosis secara histopatologi sebagai *astrocytoma* mulai periode 1 Januari 2012 sampai 30 September 2016 didapatkan 90 kasus, dan dipilih kasus *astrocytoma* yang memiliki data blok parafin yang lengkap dan massa tumor yang adekuat. Dilakukan penilaian histopatologi ulang untuk penentuan *grading*, terdiri dari 8 kasus *astrocytoma grade I*, 8 kasus *astrocytoma grade II*, 6 kasus *astrocytoma grade III* dan 10 kasus *astrocytoma grade IV*, sehingga seluruh sampel penelitian adalah 32 kasus. *Grade I* dan *II* disebut *low grade* berjumlah 16 kasus sedangkan *grade III* dan *IV* disebut *high grade* berjumlah 16 kasus. Karakteristik pasien kasus *astrocytoma* disajikan pada tabel 1.

Tabel.1 Data Karakteristik Kasus *Astrocytoma*

Variabel	n
Usia	
≤ 40 tahun	18
40 – 59 tahun	11
≥ 60 tahun	3
Rerata	34,3 tahun.
Jenis Kelamin	
Laki-laki	21
Perempuan	11
Grading Histopatologi	
<i>Grade I</i>	8
<i>Grade II</i>	8
<i>Grade III</i>	6
<i>Grade IV</i>	10
Total subjek penelitian (Σ)	32

Dari tabel tersebut ditunjukkan bahwa usia rerata adalah 34,3 tahun, lebih banyak ditemukan pada laki-laki 21 kasus.



Gambar 1. Pulasan imunoekspresi EGFR Clone H11. A. Intensitas lemah; B. Intensitas sedang; C. Intensitas kuat (pembesaran 200x)

Pulasan imunohistokimia EGFR

Imunoekspresi EGFR *Clone* H11 pada penelitian ini dinilai dari terpulasnya membran sel dan sitoplasma menjadi berwarna coklat setelah diberikan antibodi primernya. Hasil pulasan imunohistokimia EGFR pada penelitian ini 30 kasus memberikan

imunoekspresi positif (imunoreaktif) dan 2 kasus tidak reaktif. Proporsi imunoreaktif positif lemah ditemukan paling banyak yaitu sebanyak 18 kasus. Korelasi imunoekspresi EGFR dengan *grading* histopatologi *astrocytoma* dapat dilihat dari tabel 2.

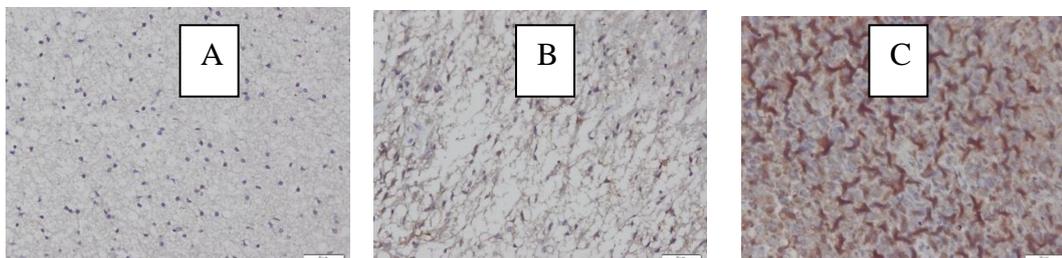
Tabel.2 Korelasi imunoekspresi EGFR dengan *grading* histopatologi *Astrocytoma*

Imunoekspresi	I dan II (<i>low grade</i>)		III dan IV (<i>high Grade</i>)	T (Σ)	pV
	n	N			
EGFR	PK	3	9	12	0,05**
	PL	11	7	18	
	N	2	0	2	
Total	16	16	32		

Ket: PK = Positif Kuat, PL = Positif Lemah, N = Negatif, pV= pValue
 Nilai kemaknaan berdasarkan nilai $p \leq 0,05$. Tanda ** menunjukkan $p \text{ value} \leq 0,05$
 Artinya signifikan atau bermakna secara statistik dengan nilai $r = 0,43$

Hasil analisis statistik menggunakan uji *chi square* menunjukkan terdapat korelasi antara hasil imunoekspresi EGFR dengan *grading* histopatologi *astrocytoma* $p=0,05$.

Dengan koefisien korelasi $r=0,43$ artinya kekuatan korelasi sedang



Gambar 2. Pulasan imunoekspresi mTOR. A. Intensitas lemah; B. Intensitas sedang; C. Intensitas kuat (pembesaran 200x)

Pulasan Imunohistokimia mTOR

Imunoekspresi mTOR pada penelitian ini dinilai dari terpulasnya membran sel dan sitoplasma menjadi berwarna coklat setelah diberikan antibodi primernya. Hasil pulasan imunohistokimia mTOR pada penelitian ini 31

kasus (96,87%) memberikan imunoekspresi positif (imunoreaktif) dan 1 kasus (3,13%) tidak reaktif. Persentase imunoreaktif positif kuat paling banyak yaitu sebanyak 24 kasus (75%).

Korelasi imunoekspresi mTOR dengan *grading* histopatologi *astrocytoma* dapat dilihat dari tabel 3.

Tabel.2 Korelasi imunoekspresi mTOR dengan *grading* histopatologi *Astrocytoma*

Imunoekspresi		I dan II (<i>low grade</i>)	III dan IV (<i>high Grade</i>)
		n	n
mTOR	PK	9	15
	PL	6	1
	N	1	0
Total		16	16

Ket: PK = Positif Kuat, PL = Positif Lemah, N = Negatif, pV= pValue
 Nilai kemaknaan berdasarkan nilai $p \leq 0,05$. Tanda ** menunjukkan $p \text{ value} \leq 0,05$
 Artinya signifikan atau bermakna secara statistik dengan nilai $r = 0,42$

Hasil analisis statistik menggunakan uji *chi square* menunjukkan terdapat hubungan antara hasil imunoekspresi mTOR dengan *grading* histopatologi *astrocytoma* $p=0,048$. Dengan koefisien korelasi $r=0,42$ artinya kekuatan korelasi sedang.

Astrocytoma merupakan tumor susunan saraf pusat yang cukup sering ditemukan terutama pada usia dewasa. Meskipun kadang pertumbuhannya lambat, tumor ini dapat menyebabkan morbiditas dan mortalitas. Sampel penelitian ini berasal dari 32 pasien, kasus terbanyak pada usia ≤ 40 tahun sebanyak 18 kasus terutama terjadi pada jenis kelamin laki-laki sebanyak 21 kasus dengan diagnosa terbanyak adalah glioblastoma 10 kasus. Berdasarkan data epidemiologi di Amerika yang dikemukakan oleh Surasak *et al*, pada tahun 2016 diperkirakan dari 24.790 kasus *primary malignant brain tumor*, ditemukan 50% kasus glioma dan diantaranya diperkirakan 12.120 kasus adalah glioblastoma terutama terjadi pada usia dewasa (45-65), lebih banyak laki-laki dibanding perempuan.⁴ Terdapat perbedaan data epidemiologi usia pada penelitian ini dengan data di US, namun ditemukan kesamaan kasus terbanyak yaitu glioblastoma dan terutama ditemukan pada laki-laki. Data epidemiologi penelitian ini juga mirip dengan penelitian Arpan *et al*, ditemukn 40 kasus *astrocytoma* dengan persentase glioblastoma paling banyak 21 kasus (52%), usia terbanyak usia dewasa < 40 tahun 18 kasus, dan lebih banyak ditemukan jenis

kelamin laki-laki 32 kasus (80 %).¹¹ Penelitian Fitriana di Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, RSUD DR.Soetomo Surabaya didapatkan 26 kasus *astrocytoma* dengan distribusi usia terbanyak 12 kasus (61,5%) adalah pada usia 21- 40 tahun, dan jenis kelamin laki-laki lebih banyak (53,8) dibanding perempuan.¹⁹ Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan data yang mirip untuk distribusi usia terbanyak, jenis kelamin dan tipe histopatologi terbanyak.

EGFR adalah salah satu anggota keluarga *epidermal growth factor rceptor* dari protein *ligandextracellular* yang terletak pada membran sel yang berperan dalam jalur tirosin kinase. Puncak ekspresi EGFR berhubungan dengan gliogenesis pada embrio dan awal periode perinatal, menunjukkan peran penting dalam perkembangan astrosit dan oligodendrosit. EGFR *signaling* berperan dalam mengontrol neurodegenerasi dengan meregulasi apoptosis *cortical astrocyte*.²⁰

EGFR mempunyai peranan penting dalam tumorigenesis dan biologi keganasan/kanker pada manusia. Pada beberapa tumor dapat ditemukan mutasi dan ekspresi berlebihan reseptor faktor pertumbuhan. EGFR meningkat ekspresinya pada 80% karsinoma skuamosa paru, 50% lebih pada glioblastoma, 80% lebih pada tumor kepala leher.²¹ Beberapa penelitian memperlihatkan *overekspresi* EGFR dan mempunyai hubungan bermakna terhadap derajat tumor yang tinggi, meskipun menurut Hu *et al*.(2013), masih ada beberapa peneliti yang mengatakan bahwa peran *overekspresi* EGFR pada *astrocytoma* terhadap prognosis masih kontroversi. Ekspresi EGFR pada *astrocytoma* telah menjadi perhatian ilmuwan dalam beberapa tahun ini karena berperan penting pada gliomagenesis dan potensial untuk aspek prognostik, diagnostik dan terapi.^{21, 22}

Penelitian ini menggunakan analisis imunohistokimia yang merupakan salah satu teknik yang digunakan di laboratorium patologi anatomi. Adanya mutasi EGFR dengan gen teramplifikasi paling banyak ditemukan pada glioblastoma. Amplifikasi gen EGFR berkorelasi dengan *overekspresi* protein mutan EGFR pada glioblastoma. Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan imunoekspresi protein EGFR mutan pada

pasien *astrocytoma grade* I-IV, dan didapatkan hasil signifikan dengan nilai *p value* = 0,05 yang berarti semakin tinggi imunoekspresi EGFR maka semakin tinggi *grading* histopatologi *astrocytoma*, namun pada penelitian ini ditemukan pula positif kuat pada *low grade astrocytoma*, hal ini dapat terjadi kemungkinan pada pasien tersebut dari awal sudah ditemukan adanya mutasi EGFR sehingga suatu saat berpotensi berkembang menjadi *high grade astrocytoma*. Positif kuat pada *low grade* juga dapat terjadi kemungkinan pasien tersebut menderita keganasan lain seperti karsinoma skuamosa paru, karsinoma payudara yang menyebabkan *false* positif.

Pada beberapa *astrocytoma* derajat rendah terutama tipe *diffuse astrocytoma* terdapat dua hal yang berperan dalam gliomagenesis, yaitu adanya ligand PDGF dan ekspresi yang berlebihan serta hilangnya fungsi p53 oleh karena mutasi. PDGF mempunyai peran yang penting pada gliogenesis, dengan efek utama pada perkembangan astrosit. Mekanisme yang menyebabkan ekspresi berlebihan PDGF pada sebagian kasus masih belum terpecahkan. Salah satu kemungkinan bahwa aktivitas mutasi p53 pada *overekspresi* PDGF yang akhirnya akan mengaktifasi *receptor tyrosine kinase* (RTK) merangsang sel memasuki siklus premaligna yang selanjutnya dapat berkembang menjadi glioblastoma sekunder.^{10, 20} Hal ini yang mungkin terjadi pada beberapa kasus penelitian ini dimana terjadi overekspresi EGFR pada 3 kasus *astrocytoma low grade*.

Hasil yang sama ditemukan pada penelitian Fitriana (2015), dan penelitian terdahulu Arpan *et al*, (2008) yaitu terdapat korelasi yang signifikan antara imunoekspresi EGFR dan *grading* histopatologi *astrocytoma* yang artinya semakin tinggi ekspresi EGFR maka semakin tinggi *grading* histopatologi *astrocytoma*. Hasil beberapa penelitian ini menyatakan bahwa ekspresi EGFR adalah penting pada klasifikasi molekular *astrocytoma* sehingga dapat dipertimbangkan sebagai marker prognosis, dimana jika terjadi peningkatan imunoekspresi EGFR maka dapat diperkirakan prognosis yang buruk pada tumor tersebut.^{11, 19} Pada penelitian ini dari 32 sampel ditemukan 30 sampel yang berekspresi

terhadap EGFR sehingga perlu difikirkan untuk pemberian terapi target berupa anti EGFR untuk menghambat amplifikasi protein yang berperan pada pertumbuhan sel. Penelitian Michael Jansen mengatakan bahwa glioblastoma berespon terhadap molekul inhibitor tirosin kinase dengan overekspresi EGFR dengan jalur *PTEN-AKT* yang masih bagus.¹³

Pada penelitian ini ditemukan 24 kasus memberikan imunoekspresi kuat terhadap mTOR terdiri dari 15 kasus *astrocytomahigh grade* dan 9 kasus *astrocytoma low grade*, dan hanya 1 kasus yang berekspresi lemah pada *astrocytoma high grade*. Dari perhitungan statistik maka ditemukan korelasi yang signifikan antara imunoekspresi mTOR dengan *grading* histopatologi *astrocytoma*, yang berarti semakin kuat imunoekspresi mTOR maka semakin tinggi *grading* histopatologi *astrocytoma* dan hal ini dapat dipertimbangkan sebagai marker prognosis, yaitu jika terjadi peningkatan imunoekspresi mTOR maka dapat diperkirakan prognosis yang buruk pada tumor tersebut. Hasil yang sama juga ditemukan pada penelitian sebelumnya yaitu Annovazzi *et al* (2009) mengatakan semakin kuat ekspresi mTOR maka semakin tinggi *grading* histopatologinya.²³

Xue Yuan *et al*, (2011), menemukan imunoekspresi mTOR yang kuat pada 61% kasus *high grade* glioma, dan 3,7% pada *low grade* glioma. Hal ini menerangkan bahwa ada keterlibatan mTOR *pathway* pada patogenesis *astrocytoma* terutama yang *high grade*.¹⁴ Pada penelitian ini hanya satu kasus yang tidak imunoreaktif terhadap mTOR, dan 7 kasus memberikan imunoekspresi lemah, dan 24 kasus imunoekspresi kuat artinya bahwa mTOR berpartisipasi terhadap patogenesis *astrocytoma* namun tidak semua jenis *astrocytoma* karena ditemukan satu kasus yang tidak imunoreaktif. Beberapa penelitian sebelumnya mengatakan bahwa mTOR2 dapat berespon pada pertumbuhan dan motilitas sel dan pemberian *inhibitor* mTOR dapat menekan pertumbuhan dan motilitas sel tersebut.²⁴ Pada penelitian ini ditemukan proporsi imunoekspresi kuat lebih banyak baik pada *high grade* maupun *low grade*, sehingga dapat dipertimbangkan untuk pemberian *inhibitor* mTOR bagi pasien *astrocytoma* yang

low grade agar tidak berkembang menjadi *high grade*, dan untuk astrocytoma *high grade* karena astrocytoma *high grade* cenderung resisten terhadap kemoterapi maupun radoterapi.²⁵

Hasil penelitian ini signifikan, namun kekuatan korelasi EGFR dan mTOR dengan *grading* histopatologi menurut kriteria Guifford $r = 0,43$ dan $r = 0,42$ yang artinya keeratan hubungan sedang, hal ini kemungkinan terjadi akibat EGFR dan mTOR memiliki efek proliferasi dan regulator apoptosis, sedangkan masih ada faktor-faktor lain yang dapat menentukan *grading* histopatologi astrocytoma yaitu proliferasi pembuluh darah dan nekrosis. Kedua faktor ini yang tidak terekspresi pada EGFR dan mTOR, sehingga menyebabkan korelasi yang tidak kuat.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa *grading* histopatologi dipengaruhi oleh proliferasi dan apoptosis yang dapat dinilai dengan pemeriksaan imunoekspresi EGFR dan mTOR, dimana semakin tinggi imunoekspresi EGFR dan mTOR maka semakin tinggi *grading* histopatologi. Pemeriksaan EGFR dan mTOR sebaiknya dilakukan pada setiap pasien astrocytoma terutama grade 2 untuk kepentingan pemberian terapi target.

Daftar Pustaka

1. Kenneth D. Aldape M. Astrocytoma [Internet]. NORD. professor of Pathology Princess Margaret Cancer Centre 101 College St Toronto, Canada [disitasi tanggal 10 Juni 2016]. Tersedia dari : <http://www.brainumor.org>
2. Cotranand Robin. Glioma. Pathologic Basis of Disease. Edisi ke-9. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015. hlm. 1306-309.
3. Mahmood Sh. Mahmood KRKA-K. Expression of Ki67 and P53 immunohistochemical markers in central nervous system astrocytoma. Journal Faculty Medicine Baghdad. 2014;56(1):1-5.
4. Surasak Puphanich M. Glioblastoma and malignant astrocytoma. American Brain Tumor association. 2016. hlm.1-18.
5. Sistem Informasi Rumah Sakit DR.Hasan Sadikin Bandung 2012-2016. Bandung. 2016
6. Davis N, Louis HO O, Webster. Astrocytic Tumour. Dalam: Fred T. Bosman E S, Hiroko Ohgaki,, editor. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. Edisi Ke-4. Lyon : International Agency for Research on Cancer; 2007. hlm. 13-47.
7. Kathy Boon JBE, Charles G.Eberhart, Gregory J Riggins. Identification of astrocytoma associated genes including cell surface markers [internet]. 2014 [disitasi pada tanggal 10 Juni 2016]. Tersedia dari www.ncbi.nlm.nih.gov.
8. Brat D. Contemporary Diagnosis of Gliomas using biomarker. Annual Meeting March Wahingtong State Convention Center: Department of Pathology and Laboratory Medicine Emory University Hospital. 2016. hlm. 3-24.
9. C. Walker AB, D Crooks. Biology, genetics, and imaging of glial cell tumours. The British Journal of Radiology. 2011. Hlm.90-106.
10. Christopher D.M F. Tumors of the Central Nervous System. Diagnostic Histopathology of Tumors. Edisi ke-4. Philadelphia: Saunders, an imprint of Elsevier Inc.; 2013. hlm. 1936- 955.
11. Arpan K, Dkk. Epidermal growth factor receptor and proliferating cell nuclear antigen in astrocytoma. India: Neurology. 2008; 56(4):1-6.
12. Maire CL, Ligon KL. Molecular pathologic diagnosis of epidermal growth factor receptor. Neuro-oncology. 2016 hlm.1-6.
13. Michael Jansen SY, Davis N louis. Molecular pathology in adult glioma: diagnostic, prognostic, and predictive markers. Lancet Neural Journal. 2010; 9(1):717-24.
14. Li XY, Dkk. Association between AKT/mTOR signalling pathway and malignancy grade of human gliomas. Journal of neuro-oncology Journal. 2011; 103(3):453-58.
15. Hutt-Cabezas M, Karajannis MA, Zagzag D, Shah S, Horkayne-Szakaly I, Rushing EJ. Activation of mTORC1/mTORC2 signaling in pediatric low-grade glioma and

- pilocytic astrocytoma reveals mTOR as a therapeutic target. *Neuro-oncology Journal*. 2013; 15(12):1604-614.
16. Pachow D, Wick W, Gutmann DH, Mawrin C. The mTOR signaling pathway as a treatment target for intracranial neoplasms. *Neuro-oncology Journal*. 2015; 17(2):189-99.
 17. Nicholas DC, Eduardo EB. mTOR: Its Role in the nervous system and involvement in neurologic disease. *American Academy of neurology*. 2014. 83:1562-72.
 18. Reallyni MU, Zulkarnain M, Syarif H. Ekspresi Epidermal Growth Factor Receptor dan Karakteristik Klinokohistopatologik pada Karsinoma Kolorektal. *Indonesian Journal of Pathology*. 2014. hlm.35-41.
 19. Fitriana DF. Ekspresi Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) dan Ki-67 pada Astrocytoma. *Indonesian Journal of Pathology*. 2015; 24:6-11.
 20. Makhin A IS. Aspek Biologi molekuler pada glioma. *Farmacia*. 2008; 7:70-5.
 21. Hagen KW SH. Prognostic significance of EGFR gene amplification and overexpression in diffuse astrocytoma *Pathology Journal*. 2012; 2:71-80.
 22. Xinhua HU WM, Yuanjie Z, Wenbin Z, Yanshong Z, Hongyi L. Expression of p53, Epidermal growth factor receptor, Ki67 and O-methylguanine-DNA methyltransferase in human glioma. *Oncology Letter*. 2013; 6:130-4.
 23. Annovazzi L MM, Caldera V, Valente G, Schiffer D. mTOR, S6 dan AKT expression in relation to proliferation and apoptosis/autophagy in glioma. *Anticancer Research*. 2009; 29:3087-094.
 24. Gulati M KM, Albert L, Murali. Involvement of mTORC1 dan mTORC2 in regulation of glioblastoma multiforme growth and motility. *International journal Oncology*. 2009; 35:731-40.
 25. Ladislau Albert MK, Raj Murali and Meena Jhanwar-Uniyal. Inhibition of mTOR activates the MAPK Pathway in Glioblastoma Multiforme. *Cancer Genomics&Proteomics*. 2009; 6:255-62