

Ekspresi HER2/neu(c-ErbB2) pada Kanker Kolorektal

Nita Afriani,¹ Ening Krisnuhoni,² Nur Rahadiani,²

Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang, telp.

085278516960, email: nita.afriani83@yahoo.com

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta

Abstrak

Kanker kolorektal merupakan keganasan pada kolon dan rektum, penyebab morbiditas dan mortalitas ketiga terbanyak diantara keganasan lainnya. Penelitian ekspresi HER2 pada kanker kolorektal memiliki rentang yang cukup jauh yaitu 0-83% dan belum pernah dipublikasi di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk menilai ekspresi HER2 pada kanker kolorektal. Studi *cross-sectional* dilakukan terhadap 51 sediaan blok parafin kanker kolorektal rentang tahun Januari 2011-Desember 2012 di Departemen Patologi Anatomi RS Cipto Mangunkusumo Jakarta. Penilaian karakteristik sampel diambil dari rekam medis dan penilaian histopatologi dari sediaan HE pasien kanker kolorektal. Pulasan imunohistokimia HER2 menggunakan antibodi poliklonal anti HER2(DAKO). Rata-rata usia penderita adalah 57.8 ± 13.54 tahun, 58.8% penderita adalah laki-laki dan 41.2% perempuan. Semua sediaan adalah adenokarsinoma kolorektal. Ekspresi HER2 positif ditemukan sebanyak 5(9.8%) kasus.

Kata kunci: kanker kolorektal, HER2

Abstract

Colorectal cancer is a neoplasia of colon and rectum ,and also the 3rd leading cause of morbidity and mortality among men and women in the world. HER2 expression has controversial results ranging from 0-83% and never been published in Indonesia. This research aims to study HER2 expression in colorectal cancer. Cross-sectional study was conducted in 51 cases of colorectal cancer from January 2011 until December 2012 in Pathology Department of Cipto Mangunkusumo Hospital. Patient characteristic was reviewed from medical record and histopathologic was evaluated from HE slides. Immunohistochemistry staining used anti HER2 polyclonal antibody from DAKO. Mean age was 57.8 ± 13.54 years, 58.8% were males and 41.2% were females. Positive HER2 was 5 cases (9.8%).

Keywords : colorectal cancer, HER2

Pendahuluan

Gen HER2/neu (c-Erb2) mengkode glikoprotein transmembran berukuran 185 kDa (p185).^{1,2} Reseptor HER berperan dalam komunikasi antar sel dan stroma melalui transduksi sinyal. HER2/neu (c-ErbB2) tidak memiliki ligan,^{1,2} stabil dan poten,¹⁻³ *low-dissociation*, dan mampu *me-recycle* diri.²

Overekspresi HER2 berperan dalam terjadinya keganasan dan berhubungan dengan prognosis buruk pada kanker payudara, ovarium, gaster, dan kepala leher.⁴⁻⁶ Jalur utama transduksi sinyal HER2 melalui *ras/mitogen-activated protein kinase (MAPK)*, *phosphoinositide 3-kinase (PI3K/Akt)*, dan *phospholipase C-γ (PLC-γ)*.^{3,7-9} Overekspresi HER2 menyebabkan sel tumor menjadi lebih agresif, invasif, dan mudah menyebar ke jaringan limfovaskuler.⁶

Kanker kolorektal menjadi penyebab utama morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia. Di Amerika Serikat merupakan penyebab kematian ketiga terbanyak,^{7,8} di Eropa pada tahun 2004 menjadi penyebab morbiditas dan mortalitas kedua terbanyak setelah kanker paru,⁹ di Indonesia keganasan ketiga terbanyak setelah kanker payudara dan leher rahim.¹⁰

Overekspresi HER2 pada kanker kolorektal mempunyai rentang yang cukup jauh yaitu 0-83%.¹¹ Di Indonesia belum ada publikasi penelitian mengenai ekspresi HER2 pada kanker kolorektal. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menilai ekspresi HER2/neu(c-ErbB2) pada kanker kolorektal. Diharapkan penelitian ini dapat menjadi dasar untuk penelitian selanjutnya pada kanker kolorektal.

Material dan Metoda

Studi *cross-sectional* ini melibatkan 51 sediaan kanker kolorektal yang diperoleh dari Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSUPCM. Sampel berasal dari reseksi kolorektal, yang dipulas dengan Hematoksin Eosin (HE) dan telah didiagnosis secara histopatologi dengan kanker kolorektal. Karakteristik pasien diambil dari data rekam medik. Sediaan yang mengandung kanker

kolorektal selanjutnya dipulas secara imunohistokimia. Hasil penelitian ditampilkan dalam bentuk tabel frekuensi.

Imunohistokimia

Pulasan menggunakan antibodi poliklonal anti human HER2 (DAKO, Glostrup, Denmark). Jaringan dipotong 4μ, dideparafinisasi, direhidrasi, dan dilakukan *blocking* peroksida endogen. *Pretreatment* menggunakan Tris EDTA pH 9.03. Sediaan diinkubasi dengan antibodi primer anti human HER2 dengan dilusi 1:750 (DAKO, Glostrup, Denmark), dilabel dengan Tre-kavidin- (*horse radish peroxidase*) HRP dan diatilaminobenzidine (DAB). Pulasan inti menggunakan Hematoksin. Kontrol negatif berasal dari sediaan kanker kolorektal yang tidak diinkubasi dengan antibodi primer dan kontrol positif berasal dari kanker payudara HER2 positif.

Sistem Skoring

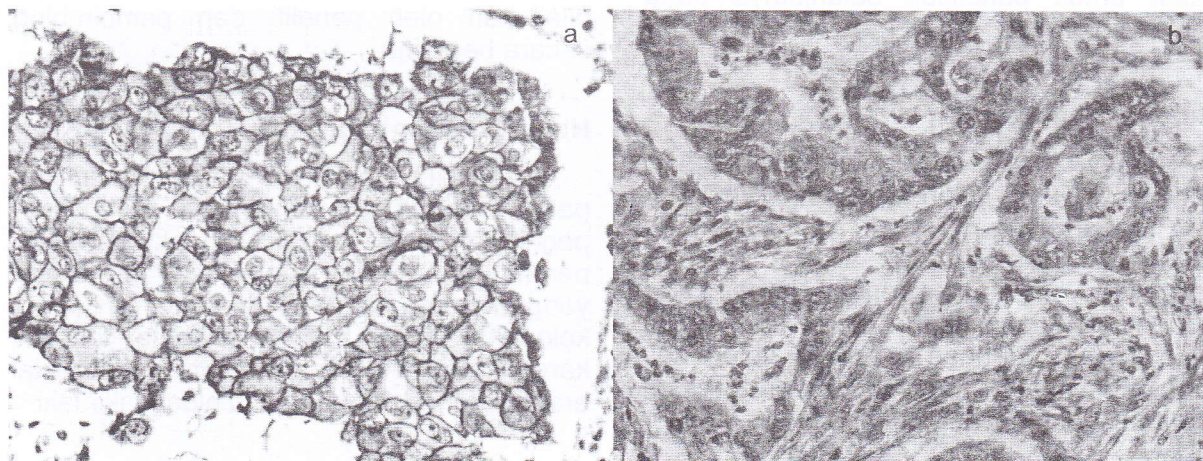
Dilakukan penilaian secara keseluruhan apakah membran terpulas atau tidak. Jika terpulas dinilai apakah kuat, sedang, atau lemah, komplit atau inkomplit. Pulasan kuat komplit, basolateral, atau lateral dikategorikan kuat. Kemudian dilakukan penghitungan persentase sel yang terpulas pada 5 lapang pandang besar (LPB). Ekspresi HER2 dan luas sel tumor yang terpulas kemudian dinilai sesuai skoring HER2 pada kanker gaster.¹² Hasil skor diinterpretasikan atas negatif (0 dan +1), equivocal (+2), dan positif (+3). Penilaian pulasan imunohistokimia HER2 dilakukan oleh peneliti dan pembimbing secara bersama.

Hasil dan Pembahasan

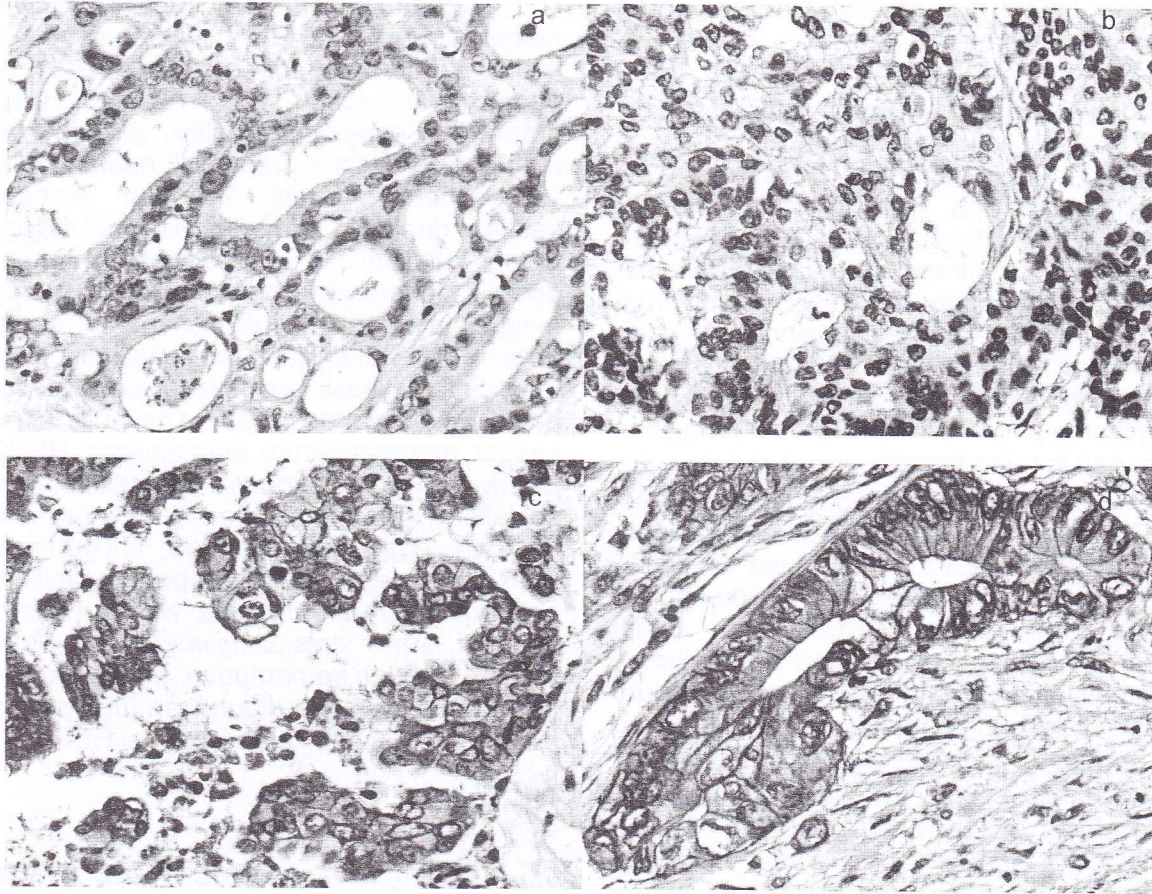
Hasil penelitian ini ditampilkan pada tabel 1. Penelitian ini didapatkan penderita lebih banyak laki-laki daripada perempuan. Hal ini sesuai dengan literatur yang menerangkan bahwa penderita kanker kolorektal lebih banyak diderita laki-laki karena banyak faktor risiko kanker kolorektal erat kaitannya dengan gaya hidup laki-laki.¹³

Tabel 1. Karakteristik Sampel Penelitian

Karakteristik	n (%)
Jenis Kelamin	
Laki- laki	30 (58.8)
Perempuan	21 (41.2)
Usia Penderita	
Mean	57.8 tahun (SD 13.54)
Range	(32-87)
Lokasi Tumor	
Kolon	25 (49.0)
Rektum	26 (51.0)
Derajat Diferensiasi (<i>grade</i>)	
Low Grade	39 (76.5%)
High Grade	12 (23.5%)
Kedalaman Invasi	
pT1	1 (2)
pT2	9 (17.6)
pT3	35 (68.6)
pT4	6 (11.8)
Ekspresi HER2	
Negatif	41(80.4)
Equivocal	5 (9.8)
Positif	5 (9.8)



Gambar 1. Pulasan imunohistokimia kontrol. (a) kontrol positif berasal dari penderita kanker payudara *Ductal Invasive* (400x), (b) kontrol negatif berasal dari sediaan yang sama dengan gambar 2.d (400x).



Gambar 2. Pulasan imunohistokimia pada kasus kanker kolorektal, (a) tidak ada pulasan (0/negatif) (400x), (b) pulasan membran lemah komplit <10% (+1/negatif) (400x), (c) pulasan membran kuat komplit <10% (+2/equivocal) (400x), (d) pulasan kuat, lateral, basolateral $\geq 10\%$ (+3/positif) (400x).

Rata-rata penderita pada penelitian ini berusia 57.8 tahun. Kejadian kanker kolorektal banyak ditemukan pada usia di atas 50 tahun karena penyakit ini erat kaitannya dengan pola diet dan gaya hidup. Kanker kolorektal juga dapat ditemukan pada penderita di bawah 40 tahun, biasanya memiliki kelainan genetik seperti riwayat HNPCC, FAP, dan infeksi usus *Colitis Crohn's* dan *Colitis Ulserative*.⁷

Lokasi tumor hampir sama sebarannya di kolon dan di rektum. Semua kasus kanker kolorektal merupakan adenokarsinoma. Ditemukan kasus kanker kolorektal *low grade* lebih banyak daripada *high grade*.

Pada penelitian ini didapatkan HER2 positif sebanyak 5 kasus (9.8%). Berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Gill MK, *et al.*¹⁴ yang meneliti ekspresi HER2 pada 40 kasus kanker kolorektal. HER2

positif didapatkan sebanyak 65% kasus. Perbedaan hasil yang mencolok dengan penelitian ini disebabkan karena Gill, *et al.* menilai ekspresi HER2 di membran sel dan sitoplasma serta menggunakan sistem skoring yang berbeda dengan penelitian ini, sedangkan penelitian ini hanya menilai pulasan HER2 pada membran sel.

Schuell, *et al.*¹¹ meneliti 77 spesimen kanker kolorektal, menemukan hanya 2 kasus dengan HER2 positif. Pappas A, *et al.*¹² mengevaluasi 51 spesimen kanker kolorektal, dan pasien di *follow-up* hingga 5 tahun. Dari penelitian ini didapatkan bahwa tidak ada kasus kanker kolorektal dengan HER2 positif. Penelitian yang dilakukan oleh Ooi A, *et al.*¹⁵ mengenai ekspresi HER2 dan EGFR pada sediaan kanker kolorektal menggunakan studi imunohistokimia dan *fluorescent in situ hybridization (FISH)* didapatkan HER2 positif sebanyak 8(3%). Penelitian oleh Schuell,

Pappas, dan Ooi melakukan penilaian pulasan HER2 di membran sel yang sama dengan penelitian ini.

HER2 di membran sel berperan dalam terjadinya keganasan pada kolorektal. Melalui ikatan antigen-antibodi di membran sel, dimer HER2 memicu pensinyalan sel melalui beberapa jalur sinyaling. HER2 di sitoplasma diduga berasal dari lengan domain HER2 intraseluler yang patah sehingga mengapung di dalam sitoplasma. Hal ini dibuktikan oleh penelitian yang membuktikan berat HER2 sitoplasma lebih ringan dibanding HER2 membran sel. HER2 sitoplasma belum diketahui peran yang jelas terhadap karsinogenesis.

Pada penelitian ini didapatkan ekspresi HER2 negatif yang cukup tinggi. Kasus-kasus dengan HER2 negatif bisa dipikirkan bahwa memang tidak ada overekspresi HER2 atau ekspresi HER2 ada tetapi belum bisa dideteksi dengan pemeriksaan imunohistokimia ini karena jumlahnya belum melewati ambang batas yang bisa dideteksi.

Antibodi poliklonal anti HER2 (A0485) merupakan anti terhadap domain intraseluler (ICD) reseptor HER2. Mutasi pada ICD menyebabkan antibodi tidak dapat mengikat ICD sehingga tidak terjadi ikatan antigen antibodi yang ditandai dengan tidak terpulasnya membran, namun protein mutan HER2 tetap bersifat aktif memicu pertumbuhan sel kanker.

Secara teknis, penilaian ekspresi HER2 pada kanker kolorektal belum memiliki

acuan yang baku, berbeda dengan penilaian HER2 pada kanker payudara. *Guideline* pemeriksaan HER2 pada kanker payudara telah menguraikan beberapa aspek yang dapat menyebabkan variasi ekspresi HER2 antara lain aspek pre-analitik, analitik, dan post-analitik. Aspek preanalitik adalah faktor yang mempengaruhi keadaan jaringan setelah direseksi ataupun dibiopsi hingga proses fiksasi. Kondisi sesaat setelah operasi seperti jeda waktu setelah operasi hingga jaringan masuk ke dalam cairan fiksasi, ketebalan jaringan saat dipotong, jenis cairan fiksasi, lama fiksasi, serta masuk atau tidaknya cairan fiksasi ke dalam jaringan sangat mempengaruhi antigenisitas HER2. Untuk itu perlu kiranya memaksimalkan sosialisasi mengenai perlakuan terhadap jaringan agar tetap terjaga antigenisitas HER2. Proses analitik seperti pemilihan antibodi, *pretreatment*, lama waktu inkubasi antibodi, serta jenis *antigen retrieval*. Post-analitik seperti kemampuan pembaca dan sistem skoring yang digunakan juga sangat mempengaruhi penilaian ekspresi HER2.¹⁶

Simpulan

Ditemukan ekspresi HER2 (neu/c-ErbB2) pada kolorektal 9.8% (5 kasus). Hal ini disebabkan karena ekspresi HER2 di kolorektal memang rendah, atau disebabkan karena faktor preanalitik, analitik, dan post analitik.

Daftar Rujukan

1. Ross JS, Fletcher JA, Linette GP, Stec J, Clark E, Ayers M, *et al.* The HER-2/neu gene and protein in breast cancer 2003: biomarker and target of therapy. *Oncologist*. 2003;8(4):307-25.
2. Yarden Y. Biology of HER2 and its importance in breast cancer. *Oncology*. 2001;61Suppl 2:1-13.
3. Porta DG, Beerli RR, Daly J, Hynes NE. ErbB-2, the preferred heterodimerization partner of all ErbB receptors, is a mediator of lateral signaling. *EMBO J*. 1997;16(7):1647-56.
4. Stricker TP, Kumar V. Neoplasia. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, editors. *Robbins and cotran pathologic basic of disease*. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010. p. 259-330.
5. Tai W, Mahato R, Cheng K. The role of HER2 in cancer therapy and targeted drug delivery. *J Control Release*. 2010;146(3):264-75.
6. Franklin MC, Carey KD, Vajdos FF, Leahy DJ, M de vos AM, Sliwskowski MX. Insight into ErbB signaling from the structure of the ErbB2-pertuzumab complex. *Cancer Cell*. 2004;5(4):317-28.
7. American Cancer Society. *Colorectal cancer facts and figure 2011-2013*. Atlanta: The American Cancer Society. 2011.
8. Hanggar FA, Boushey RP. *Colorectal cancer and epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factor*. *Clin Colon Rectal Surg*. 2009;22(4):191-7.

9. Boyle P, Ferlay J. Cancer Incidence and Mortality in Europe, 2004. *Ann Oncol*. 2005;16(3):481-8.
10. Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia. Kanker di Indonesia tahun 2008 data histopatologik. Yayasan Kanker Indonesia. 2008.
11. Schuell B, Gruenberger T, Scheithaur W, Zielinski C, Wrba F. HER2/neu Protein expression in colorectal cancer. *BMC Cancer*. 2006;6:123.
12. Pappas A, Lagoudianakis E, Seretis C, Tsiambas E, Koronakis N, Toutouzas K, *et al*. Clinical role of HER-2/neu expression in colorectal cancer. *J BUON*. 2013;18(1):98-104.
13. Ma E, Sasazuki S, Iwasaki M, Sawada N, Inoue M, Tsugane S, *et al*. 10-Year risk of colorectal cancer: Development and validation of a prediction model in middle-aged Japanese men. *Cancer Epidemiol*. 2010;34(5):534-41.
14. Gill MK, Jain K, Manjari M, Kaur T. Expression Of HER2/neu in colon carcinoma and its correlation with the histological grades and the lymph nodes status. *JCDR*. 2011;5(8):1564-8.
15. Ooi A, Takehana T, Li X, Suzuki S, Kunitomo K, Iino H, *et al*. Protein overexpression and gene amplification of HER2 and EGFR in colorectal cancer: an immunohistochemical and fluorescent in situ hybridization study. *Mod Pathol*. 2004;17(8):896-904.
16. Wolf AC, Hammond MEH, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, *et al*. American society of clinical oncology/college of american pathologist guidelines recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast. *Arch Pathol Lab Med*. 2007;131(1):18-43.