

Ekspresi HER-2 pada Adenokarsinoma Gaster dan Hubungannya dengan Tipe Histopatologik dan Derajat Diferensiasi

Diah Setiawati, Diah Rini Handjari, Primariadewi Rustamadji

*Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia
 Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Cipto Mangunkusumo
 Jakarta*

ABSTRAK

Latar belakang

Karsinoma gaster merupakan tumor ganas yang paling sering di daerah gastrointestinal atas. Menurut data epidemiologi adenokarsinoma gaster menunjukkan perkembangan kanker tipe intestinal dan kanker tipe difus melalui jalur kausa yang berbeda dan juga akhir-akhir ini pengobatan terapi target untuk adenokarsinoma telah diketahui dan dikembangkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara ekspresi HER-2 dengan tipe histopatologik menurut klasifikasi Lauren dan derajat diferensiasi pada adenokarsinoma gaster.

Metode

Penelitian dilakukan di Departemen Patologi Anatomi FKUI-RSCM Jakarta, dengan melakukan analisis ekspresi HER-2 untuk melihat hubungannya dengan tipe histopatologik dan derajat diferensiasi adenokarsinoma gaster yang diperoleh secara reseksi dan biopsi sejak tahun 2007-2011. Penilaian tipe histopatologik dengan menggunakan pulasan Hematoxilin Eosin dan penilaian ekspresi HER-2 dengan menggunakan pewarnaan imunohistokimia HER-2.

Hasil

Dari tahun 2007-2011 diperoleh 55 kasus (76,4% laki-laki dan 23,6% wanita). Rata-rata umur penderita 50,55 tahun (rentang umur 29-73 tahun). Ekspresi HER-2 3+, 2+, dan 1+ didapatkan pada 14,5%, 34,5%, dan 25,5% sampel. Sebanyak 25,5% sampel tidak menunjukkan ekspresi HER-2. Ekspresi berlebih HER-2 (3+) didapatkan pada 8 kasus (14,5%) adenokarsinoma gaster, yang seluruhnya adalah tipe intestinal.

Kesimpulan

Terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi HER-2 dengan tipe histopatologik ($p=0,021$). Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi HER-2 dengan derajat diferensiasi tumor ($p=0,253$)

Kata kunci: adenokarsinoma gaster, derajat diferensiasi, HER-2.

ABSTRACT

Background

Gastric carcinoma is the most common malignant tumor in upper gastrointestinal. According to epidemiologic data, gastric adenocarcinoma intestinal type and diffuse type showed different carcinogenesis. Recently, targeting therapy for adenocarcinoma has established. The aim of the study to know the relationship between HER-2 expression and histopathologic type according to Lauren's classification and grading of gastric adenocarcinoma.

Methods

This study has done in Department of Anatomical Pathology Faculty of Medicine University of Indonesia/Cipto Mangunkusumo National Hospital, Jakarta. HER-2 expression is analyzed to see the relationship with histopathologic type and differentiation of gastric adenocarcinoma. The specimens were from resection and biopsy (2007-2011). Histopathologic type evaluated with Hematoxylin Meyer's staining. HER-2 expression evaluated with immunostaining with HER-2 antibody.

Results

We found 55 cases from 2007 until 2011 (76.4% men and 23.6% women). The mean age is 50.55 years (the range of age 29-73 years). HER-2 expression 3+,2+ and 1+ are 14.5%, 34.5%, and 25.5% sampling. 25% sample did not show HER-2 expression. We found overexpression HER-2 (3+) in 8 cases (14.5%) of adenocarcinoma gastric intestinal type.

Conclusion

There is a significant relation between HER-2 expression with histopathologic type ($p=0.021$). There is no significant relation between HER-2 with grading ($p=0.253$).

Key words: grading, gastric adenocarcinoma, HER-2.

PENDAHULUAN

Insiden dan mortalitas kanker gaster menurun dalam 70 tahun belakangan ini, namun berdasarkan data epidemiologi tahun 2003 kanker gaster masih merupakan penyakit kanker tersering ke empat di seluruh dunia, setelah kanker paru (12,3%), payudara (10,4%) dan kolorektal (9,4%). Kanker gaster merupakan penyebab kematian kedua (10,4%) setelah kanker paru (17,8%). Kanker gaster masih sulit untuk disembuhkan karena sebagian besar pasien terdeteksi pada stadium lanjut. Pada tahun 2011, sekitar 989.600 orang didiagnosis menderita kanker gaster dan menyebabkan 738.000 kematian pertahun.^{1,2}

Klasifikasi histopatologik kanker gaster yang dominan digunakan di seluruh dunia saat ini adalah klasifikasi menurut WHO dan Lauren. Sekitar 90% kanker gaster adalah adenokarsinoma dan menurut klasifikasi Lauren terdiri atas 2 tipe histologik yaitu adenokarsinoma gaster tipe intestinal, dan tipe difus. Penderita dengan adenokarsinoma tipe difus mempunyai prognosis yang lebih buruk bila dibanding dengan tipe intestinal. Prognosis buruk juga bisa terjadi bila usia penderita masih anak-anak ataupun dewasa muda.^{1,3}

Dua tipe histopatologik tersebut terjadi melalui jalur patogenesis yang berbeda. Adenokarsinoma gaster tipe intestinal didahului oleh gastritis kronik yang dapat disebabkan oleh *H. pylori*. Infeksi *H. Pylori* dapat menyebabkan iritasi mukosa gaster yang persisten, selanjutnya terjadi atrofi mukosa gaster dan metaplasia intestinal yang dalam perjalanannya dapat berkembang menjadi adenoma/displasia, dan pada tahap akhir dapat terjadi adenokarsinoma gaster tipe intestinal.⁴

Ketidakhormalan atau hilangnya *E-chaderin* merupakan awal karsinogenesis adenokarsinoma gaster tipe difus. Abnormalitas *E-chaderin* terjadi akibat disregulasi gen pengkode *E-chaderin* yaitu gen CDH1, pada tahap akhir disregulasi ini dapat menyebabkan sel normal berkembang menjadi karsinoma *signet ring cell* invasif.⁴

Beberapa peneliti menemukan adanya amplifikasi dan overekspresi *human epidermal growth factor receptor 2* (HER-2) pada adenokarsinoma gaster terutama pada adenokarsinoma tipe intestinal. Hal ini menyebabkan HER-2 dapat digunakan sebagai petanda sensitivitas terhadap terapi dan prognosis untuk karsinoma

gaster. Ekspresi HER-2 dapat digunakan untuk meramalkan respon terapi terhadap kemoterapi adjuvant, dan untuk menseleksi pasien yang akan diterapi imunoterapi dengan antibodi monoklonal anti HER-2. Sebagai petanda prognosis, overekspresi HER-2 terkait dengan angka ketahanan hidup yang rendah dan karakteristik klinikopatologi yang buruk, seperti: invasi serosa, metastasis kelenjar getah bening, stadium penyakit, atau metastasis jauh.⁵⁻⁹

Trastuzumab adalah antibodi monoklonal manusia yang berikatan dengan HER-2. Kombinasi trastuzumab dengan kemoterapi pada kanker gaster lanjut pada pasien dengan kanker gaster HER-2 positif memberikan hasil lebih baik dibandingkan dengan kemoterapi saja.^{10,11} Penelitian yang dilakukan Hoon Hur dkk. menunjukkan ekspresi HER-2 berhubungan dengan kedalaman invasi tumor, metastasis kelenjar getah bening, dan invasi pembuluh limfe yang dikaitkan dengan gambaran patologi yang agresif.⁹⁻¹³ Berdasarkan data ASCO meeting tahun 2009, ditemukan 22% overekspresi HER-2 pada pasien karsinoma gaster.^{4,9,14}

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan antara ekspresi HER-2 dengan tipe histopatologik dan derajat diferensiasi adenokarsinoma gaster. Sampai saat ini, penelitian tersebut belum pernah dilakukan di Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/RSCM Jakarta.

METODE PENELITIAN

Penelitian potong lintang ini bersifat deskriptif analitik, dilaksanakan di Departemen Patologi Anatomi FKUI RSCM Jakarta. Sampel penelitian yaitu kasus yang didiagnosis sebagai adenokarsinoma gaster berdasarkan klasifikasi Lauren pada tahun 2007 hingga tahun 2011. Diambil 55 sampel yang memenuhi kriteria inklusi. Sediaan HE direvaluasi, dinilai tipe histologik dan derajat diferensiasi. Pemeriksaan imunohistokimia HER-2 dilakukan dengan cara jaringan dipotong setebal 4 mikron lalu dilekatkan pada slide. Slide kemudian dipanaskan di atas *slide warmer* pada suhu 60°C. Deparafinisasi menggunakan xylol selama 3x5 menit; rehidrasi dengan alkohol (absolut, 96%, 80%, dan 70%) masing-masing selama 5 menit, dicuci dengan air mengalir selama 5 menit. Dilakukan *blocking* peroksida endogen (metanol+H₂O₂) selama 30 menit kemudian cuci dengan air mengalir selama 5 menit. *Pretreatment* dengan

TE pada *microwave: cook I, power level 8* selama 5 menit; *cook II, power level 1* selama 5 menit, kemudian dinginkan selama 45 menit. Cuci dengan PBS pH 7,4. Melakukan *blocking background sniper* 20 menit. Sediaan diinkubasi dengan antibodi primer *rabbit anti-human HER-2 (DAKO)* selama 1 jam kemudian dicuci dalam PBS pH 7,4. Diinkubasi dengan antibodi sekunder selama 15 menit. Cuci kembali dalam PBS pH 7,4. Diberi label *Trekavidin-HRP* selama 15 menit kemudian cuci dengan PBS pH 7,4. Diinkubasi dengan *DAB* selama 2-5 menit kemudian cuci dengan air mengalir selama 10 menit. *Counterstaining* dengan *Hematoksilin mayer* selama 2 menit. Dehidrasi dengan alkohol (80%, 96% dan absolut) masing-masing selama 5 menit. *Clearing* dengan *xylool*, kemudian *mounting* dengan *cover glass*. Pada setiap pulasan slide selalu disertakan kontrol negatif dan kontrol positif adenokarsinoma gaster yang telah diketahui positif dengan antibodi anti HER-2, per *running* pulasan (8-12 slide).

Sediaan yang sudah diwarnai dengan pulasan imunohistokimia diperiksa oleh 3 peneliti melalui mikroskop. Penilaian ekspresi HER-2 berdasarkan pada kriteria sel tumor terwarnai sedikitnya 10% pada sediaan reseksi dan sedikitnya 5 sel tumor terwarnai pada sediaan biopsi. Hasil pulasan imunohistokimia HER-2 dinilai dengan skor *Herceptest* berupa tampilan pulasan warna coklat pada membran sel epitel dan diberi skor 0, 1+, 2+, dan 3+ berdasarkan reaktivitas membran.

HASIL

Tabel 1 menjelaskan bahwa dari tahun 2007-2011 diperoleh 55 kasus adenokarsinoma gaster terdiri atas 76,4% diantaranya terdapat pada laki-laki dan 23,6% terdapat pada wanita. Usia penderita berkisar antara 29 sampai dengan 73 tahun. Rata-rata umur penderita 50,55 tahun. Kasus kedua tipe paling banyak ditemukan pada rentang usia 50-59 tahun. Berdasarkan pemeriksaan histopatologik ditemukan tipe intestinal sebanyak 40 kasus (72,7%) dan tipe difus sebanyak 15 kasus (27,3%).

Tabel 1. Distribusi hasil pemeriksaan sediaan adeno-karsinoma gaster.

Karakteristik sampel	Tipe intestinal	Tipe difus	Total	
			n	%
Kelompok umur (tahun)				
• 20 - 29	2	0	2	3,6
• 30 - 39	4	3	7	12,7
• 40 - 49	7	5	12	21,8
• 50 - 59	18	6	24	43,6
• 60 - 69	7	1	8	14,5
• 70 - 79	2	0	2	3,6
Total	40	15	55	100
Jenis Kelamin				
• Laki-laki	33	9	42	76,4
• Perempuan	7	6	13	23,6
Derajat diferensiasi				
• Diferensiasi baik	17	0	17	30,9
• Diferensiasi sedang	12	0	12	21,8
• Diferensiasi buruk	11	15	26	47,3

Tabel 2 menjelaskan bahwa ekspresi HER-2 3+, 2+, dan 1+ didapatkan pada 8 kasus (14,5%), 19 kasus (34,5%), dan 14 kasus (25,5%). Sebanyak 14 kasus (25,5%) tidak menunjukkan ekspresi HER-2. Ekspresi berlebih HER-2 (3+) didapatkan pada 8 kasus (14,5%) adenokarsinoma gaster, yang seluruhnya adalah tipe intestinal. Berdasarkan perhitungan statistik menggunakan metode *Chi-Square*, terdapat hubungan bermakna antara ekspresi HER-2 dengan tipe histopatologik (p=0,021).

Tabel 2. Ekspresi HER-2 pada berbagai tipe histopatologik adenokarsinoma gaster.

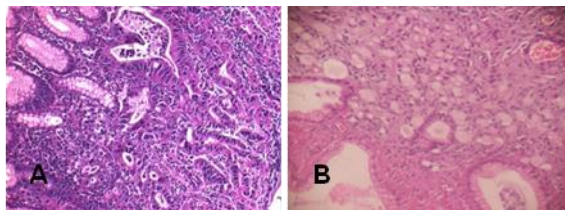
Ekspresi HER-2	Tipe histologik		Total
	Intestinal	Difus	
0	6	8	14
1+	10	4	14
2+	16	3	19
3+	8	0	8
Total	40	15	55

HER-2 juga diekspresikan pada berbagai derajat diferensiasi adenokarsinoma gaster pada proporsi yang bervariasi. Ekspresi berlebih HER-2 (3+) pada kasus diferensiasi baik, sedang, dan buruk berturut-turut adalah: 4 kasus, 3 kasus, dan 1 kasus. Berdasarkan perhitungan statistik menggunakan metode *Kolmogorov-Smirnov*, tidak terdapat hubungan antara ekspresi HER-2 dengan derajat diferensiasi (p=0,253) (Tabel 3).

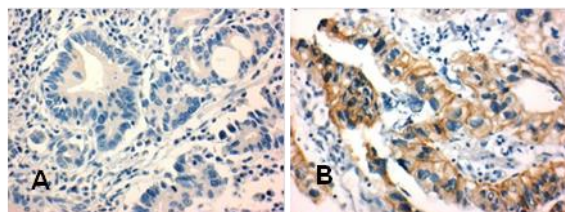
Tabel 3. Ekspresi HER-2 pada berbagai derajat diferensiasi adenokarsinoma gaster.

Ekspresi HER-2	Derajat diferensiasi			Total
	Baik	Sedang	Buruk	
0	2	1	11	14
1+	6	2	6	14
2+	5	6	8	19
3+	4	3	1	8
Total	17	12	26	55

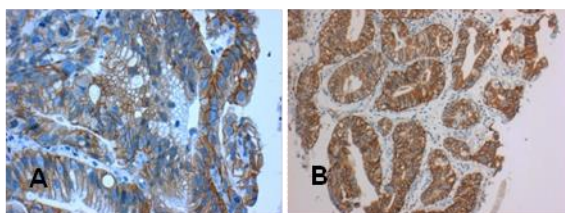
Gambar histopatologik dan pulasan khusus kasus penelitian.



Gambar 1. A. Adenokarsinoma gaster tipe intestinal, HE, 200x; B. Adenokarsinoma gaster tipe difus, HE 40x.



Gambar 2. A. Ekspresi HER-2 negatif; B. Ekspresi HER-2 1+ dengan pewarnaan imunohistokimia, (400x).



Gambar 3. A. Ekspresi HER-2 2+ dengan pewarnaan imunohistokimia, 400x; B. Ekspresi HER-2 3+ dengan pewarnaan imunohistokimia, 200x.

DISKUSI

Berdasarkan data epidemiologi insiden penderita adenokarsinoma gaster lebih banyak ditemukan pada laki-laki dibanding wanita, dan hal ini sesuai dengan hasil yang didapatkan

pada penelitian ini bahwa penderita adenokarsinoma gaster lebih banyak pada laki-laki (n=42, 76,4%) dibandingkan dengan wanita (n=13, 23,6%).¹

Insiden adenokarsinoma gaster meningkat secara progresif sesuai dengan pertambahan umur, dengan insiden puncak antara 50 hingga 70 tahun, sedangkan insiden di bawah usia 30 tahun sangat jarang.^{1,2} Rata-rata umur pada penelitian ini didapatkan 50,55 tahun dengan insiden puncak antara usia 50 hingga 59 tahun. Ditemukan hanya 2 kasus (3,6%) berusia kurang dari 30 tahun.

Klasifikasi histopatologik yang paling sering digunakan di dunia adalah klasifikasi menurut WHO atau klasifikasi menurut Lauren. Pada penelitian ini menggunakan klasifikasi histopatologik menurut klasifikasi Lauren, dari 55 kasus yang diteliti, 40 kasus (72,7%) adalah adenokarsinoma gaster tipe intestinal dan 15 kasus (27,3%) tipe difus. Hal ini sesuai dengan tinjauan pustaka yang menyatakan frekwensi relatif untuk tipe intestinal 50-67% dan tipe difus 29-35%. Proporsi adenokarsinoma gaster tipe intestinal meningkat di wilayah geografik dengan resiko tinggi seperti Asia, sedangkan tipe difus proporsi meningkat di wilayah geografik dengan resiko rendah, seperti di US.^{15,16}

Ekspresi berlebih HER-2 memiliki rentang 8,2%-53,4%. Penelitian yang dilakukan oleh Shi-Yan dkk 6,9% kasus menunjukkan ekspresi berlebih HER-2, sedangkan penelitian yang dilakukan oleh M Hofmann dkk didapatkan ekspresi berlebih HER-2 adalah 10,7% dengan 83,3% adalah tipe intestinal sedangkan 16,7% adalah tipe difus.^{17,18,19} Penelitian kami didapatkan ekspresi berlebih HER-2 (3+) adalah sebanyak 8 kasus (14,5%) dan seluruhnya adalah tipe intestinal.

Ekspresi HER-2 ditemukan terutama pada adenokarsinoma gaster tipe intestinal. Ekspresi HER-2 0, 1+, 2+, dan 3+ pada adenokarsinoma gaster tipe intestinal berturut-turut adalah 6 (15%), 10 (25%), 16(40%) dan 8 kasus (20%), sedangkan ekspresi HER-2 0, 1+, 2+, 3+ adenokarsinoma gaster tipe difus adalah 8 (53,3%), 4 (26,7%), 3(20%), dan 0 kasus (0%). Analisis statistik penelitian ini dan juga penelitian yang dilakukan oleh Shi-yan dkk didapatkan hubungan yang bermakna antara tipe histopatologik dengan ekspresi HER-2 (p=0,021, p<0,05).¹⁸ Kanker gaster dengan ekspresi HER-2 positif terutama ditemukan pada adeno-

karsinoma gaster tipe intestinal berdiferensiasi baik atau sedang. HER-2 positif dapat digunakan sebagai petanda sensitivitas dan prognosis untuk karsinoma gaster. Adenokarsinoma gaster tipe intestinal dengan overekspresi HER-2 positif memiliki prognosis yang lebih buruk dan agresif dibandingkan adenokarsinoma gaster tanpa overekspresi positif, sehingga untuk diagnosis adenokarsinoma gaster perlu dilakukan pemeriksaan status HER-2.^{9,12,20} Penelitian ini didapatkan ekspresi berlebih HER-2(+) sebanyak 8 kasus, dan merupakan petunjuk prognosis buruk, sekaligus sebagai petanda sensitivitas terhadap terapi antibodi monoklonal sehingga diharapkan mendapatkan prognosis yang lebih baik.

Analisis statistik menunjukkan tidak adanya hubungan yang bermakna antara ekspresi HER-2 dengan derajat diferensiasi ($p=0,253$). Hal ini juga didapatkan pada penelitian yang dilakukan oleh Shi-Yan dkk.¹⁸

Hasil penelitian ini sayangnya belum optimal karena didapatkan pada 19 kasus (34,5%) dengan hasil ekspresi HER-2 2+, yang seharusnya dilanjutkan dengan pemeriksaan hibridisasi in situ untuk menentukan adanya amplifikasi gen.

KESIMPULAN

Terdapat hubungan yang bermakna antara nilai ekspresi HER-2 dengan tipe histopatologik adenokarsinoma gaster. Tidak ada hubungan yang bermakna antara ekspresi HER-2 dengan derajat diferensiasi adenokarsinoma gaster.

DAFTAR PUSTAKA

1. Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2006;12:354-62.
2. Carl-McGrath S, Ebert M, Röcken C. Gastric adenocarcinoma: epidemiology, pathology and pathogenesis. *Cancer Ther*. 2007; 5:877-94.
3. Roukos DH, Agnantis NJ, Fatouros M, Kappas AM. Gastric cancer: introduction, pathology, epidemiology. *GBC*.2002;1:1-3.
4. Lastraioli E, Romoli MR, Arcangeli A. Immunohistochemical biomarkers in gastric cancer research and management. *Int J Surg Oncol*. 2012;10:1-9.
5. Jorgensen JT, Hersom M. HER-2 as a prognostic marker in gastric cancer. A systematic analysis of data from the literature. *J Cancer*. 2012; 3: 137-44.
6. Park DI, Yun JW, Park JH, Oh SJ, Kim HJ, Cho YK, *et al*. Her-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. *Dig Dis Sci*. 2006; 51: 1371-9.
7. Raziee HR, Kermani AT, Ghaffarzagdegan K, Shakeri MT, Ghavamnasiri MR. Her-2/neu expression in resectable gastric and its relationship with histopathologic subtype, grade, and stage. *IJBMS*. 2007; 10: 139-45.
8. Ross JS, McKenna BJ. The Her-2/neu oncogene in tumors of the gastrointestinal tract. *Cancer Invest*. 2001; 19: 554-68.
9. Gravalos C, Jimeno A. HER-2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. *Ann Oncol*. 2008; 19: 1523-9.
10. Croxtall JD, McKeage K. Trastuzumab in HER-2-positive metastatic gastric cancer. *Drugs*. 2010;70:2259-67.
11. Hynes NE, Lane HA. ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors. *Nat Rev Cancer*. 2005;5:341-52.
12. Hur H, Yi JM, Lee IK, Song KY, Kim W, Park CH, *et al*. Expression of *c-erbB2* and *p53* in curatively resected gastric cancer: correlation with clinicopathologic features and prognosis. *J Korean Surg Soc*. 2011; 80: 172-81.
13. Power DG, Kelsen DP, Shah MA. Tumor review: advanced gastric cancer-slow but steady progress. *Cancer Treat Rev*. 2010; 36: 384-92.
14. Baros-Silva JD, Leitão D, Alfonso L, Vieira J, Dinis-Ribeiro M, Fragoso M, *et al*. Association of ERBB2 gene status with histopathological parameters and disease-specific survival in gastric carcinoma patients. *BRJ Cancer*. 2009;100:487-93.
15. Fenoglio-Preiser CM, editor. *Gastrointestinal pathology an atlas and text*. 3th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
16. McLoughlin JM. Adenocarcinoma of the stomach: a review. *BUMC Proceeding*. 2004;17:391-9.
17. Hechtman JF, Polydorides AD. HER2/neu gene amplification and protein overexpression in gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2021; 136: 691-7.

18. Shi-Yan Y, Ying H, Jian-Gao F, Guo-Quan T, Yong-Ming L, Xu C, *et al.* Clinico-pathologic significance of HER-2/neu protein expression and gene amplification in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2011; 17: 1501-6.
19. Hofmann M, Stoss O, Shi D, Büttner R, Kim W, Ochiai A, *et al.* Assessment of a HER-2 scoring system for gastric cancer: result from a validation study. *Histopathol.* 2008; 52: 797-805.
20. Shuyi W, Gang Z, Liangdong C, Bin X. Effect of HER-2/neu over-expression on prognosis in gastric cancer: a meta-analysis. *As Pac J Cancer Prev.* 2011; 12: 1417-23.