

Peran EGFR sebagai Prediktor Sensitivitas Radioterapi pada Adenokarsinoma Serviks

Fennisia Wibisono, Sri Suryanti, Bethy S. Hernowo

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran
RSUP Dr. Hasan Sadikin
Bandung

ABSTRAK

Latar belakang

Karsinoma serviks menduduki urutan pertama dari kejadian keganasan pada wanita dan merupakan masalah penting dalam onkologi ginekologi di Indonesia. Mayoritas pasien karsinoma serviks termasuk adenokarsinoma serviks datang pada stadium lanjut dan radioterapi merupakan salah satu modalitas terapinya. Keberhasilan radioterapi dinilai dari respons radioterapi yang dipengaruhi beberapa faktor prognostik, yaitu keadaan umum, stadium, histopatologi dari tumor, adanya gangguan fungsi organ, dan beberapa petanda molekular seperti *epidermal growth factor receptor* (EGFR). Saat ini sedang dikembangkan studi-studi mengenai EGFR berhubungan dengan sensitivitas radioterapi namun hasilnya masih kontroversi. Aktivasi sinyal EGFR dapat menginduksi terjadinya radioresistensi pada adenokarsinoma serviks. Tujuan dari studi penelitian ini adalah untuk menganalisis korelasi antara ekspresi EGFR, dan sensitivitas radioterapi adenokarsinoma serviks.

Metode

Penelitian ini merupakan studi retrospektif, *cross sectional*, dan analisis korelasional. Sampel penelitian sebanyak 32 blok parafin yang berasal dari pasien adenokarsinoma serviks yang telah mendapatkan radioterapi dan merupakan sampel yang tersimpan di Departemen Patologi Anatomi RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung, periode Januari 2007-Mei 2014. Pada sampel tersebut dilakukan pulasan imunohistokimia EGFR.

Hasil

Analisis statistik antara ekspresi EGFR dan sensitivitas radioterapi adenokarsinoma serviks menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p=0,000$).

Kesimpulan

Ekspresi EGFR dapat digunakan sebagai prediktor sensitivitas radioterapi karsinoma serviks.

Kata kunci : adenokarsinoma serviks, EGFR, radioterapi.

ABSTRACT

Background

Cervical carcinoma is the first place of female malignancy and an important issue of oncology gynecology in Indonesia. Most of cervical carcinoma patients, including cervical adenocarcinoma comes at an advanced stage and thus radiotherapy is one of the modality treatment. The success of radiotherapy depends on several prognostic factors such as the performance, staging, histopathology of tumor, presence of organ dysfunction and cellular biology marker such as epidermal growth factor receptor (EGFR). Signal activation of EGFR may induce the development of radioresistance in cervical adenocarcinoma. The aim of this study was to determine correlation between immunochemistry EGFR with sensitivity radiotherapy cervical adenocarcinoma.

Methods

This study was an retrospective study, cross-sectional and correlational analysis. Samples was collected by total sampling with amount 32 samples paraffine block from the Department of Pathology, Dr. Hasan Sadikin General Hospital Bandung which were treated with complete radiotherapy from Januari 2007 until Mei 2014. Immunohistochemical examination of EGFR, was done on all sample block parafin.

Results

Statistical analysis between EGFR expression and sensitivity of cervical adenocarcinoma radiotherapy showed a significant difference ($p=0.000$).

Conclusion

EGFR expression could used as predictor of radiotherapy sensitivity cervical adenocarcinoma.

Key words : cervical adenocarcinoma, EGFR, radiotherapy.

PENDAHULUAN

Pada beberapa dekade terakhir, insidensi adenokarsinoma serviks pada wanita usia muda yaitu kurang dari 40 tahun cenderung meningkat.¹⁻⁴ Insidensi adenokarsinoma serviks sekitar 10-30% dari seluruh keganasan serviks.²⁻⁵ Proporsi adenokarsinoma serviks uteri periode Januari 2009-Desember 2011 di RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung antara 8%-12% dan mayoritas pasien datang pada stadium lanjut.^{6,7}

Penatalaksanaan adenokarsinoma tergantung dari stadium *International Federation of Gynaecology and Obstetrics* (FIGO).⁸ Berdasarkan panduan penatalaksanaan *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN) 2013, modalitas utama terapi kanker serviks adalah operasi, radioterapi, kemoterapi, atau kombinasi di antara ketiganya.⁹ Radioterapi merupakan salah satu modalitas terapi adenokarsinoma serviks stadium awal dan lanjut dan digunakan pada 40-50% kasus. Radioterapi dapat diberikan sebagai terapi neoadjuvan atau adjuvan dan dapat memberikan respons terapi kuratif maupun paliatif.¹⁰ Radioterapi neoadjuvant diberikan pada massa tumor dengan ukuran lebih dari 4 cm, terutama pada stadium II-A ke atas.^{9,11-13}

Radioterapi akan menyebabkan kerusakan DNA sel tumor sehingga mengalami kematian sel. Keberhasilan terapi ini ditentukan oleh besarnya gangguan yang dapat ditimbulkan pada DNA sel tumor dan kemampuan DNA sel tumor tersebut untuk memperbaiki diri.^{14,15} Keberhasilan radioterapi juga tergantung pada beberapa faktor prognostik, yaitu keadaan umum atau skor *Karnofsky*, stadium, histopatologi dari tumor, adanya gangguan fungsi organ dan beberapa faktor gen seperti gen tumor supresor, hipoksia, proliferasi sel, apoptosis dan angiogenesis.^{14,16,17} Perbedaan ukuran massa tumor sebelum dan setelah pemberian radioterapi, merupakan cara untuk mengetahui keberhasilan pemberian radioterapi. Keberhasilan radioterapi dinilai dari respons pasien, terbagi atas: respons komplit ditandai dengan tidak terlihatnya lagi massa karsinomatous, respons parsial ditandai dengan berkurangnya ukuran massa tumor 50% dengan pengukuran diameter tumor, progresif ditandai dengan peningkatan ukuran massa tumor 50% atau lebih atau ditemukannya lesi baru, dan stabil ditandai dengan ukuran massa tumor yang tidak bertambah besar atau kecil.¹⁶

Adenokarsinoma serviks memiliki sensitivitas yang lebih rendah terhadap kemoradio-terapi dibandingkan dengan karsinoma sel skuamosa serviks.^{2,5,8,18,19} Sampai saat ini belum banyak dilakukan penelitian di Indonesia mengenai karakteristik dari adenokarsinoma serviks yang berhubungan dengan resistensi terhadap radioterapi dan belum didapatkan penanda biologi sel yang berhubungan dengan respons radioterapi yang menunjukkan perkiraan yang tepat, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui penanda biologi sel yang dapat dijadikan prediktor respons radioterapi. Terdapat beberapa penanda biologi sel yang berhubungan dengan hipoksia, apoptosis, angiogenesis, dan pertumbuhan sel seperti HIF-1 α , BCL-2, VEGF, HER-2/neu dan EGFR yang diduga dapat dijadikan prediktor keberhasilan radioterapi adenokarsinoma serviks.¹⁷ Penanda biologi sel yang saat ini banyak diteliti hubungannya dengan respons radioterapi adalah EGFR dan VEGF. Pada karsinoma kepala dan leher sudah diterapkan terapi target EGFR dan VEGF dikombinasikan dengan radioterapi tetapi pada adenokarsinoma serviks masih belum diterapkan dan masih memerlukan penelitian lebih lanjut.^{15,20}

Epidermal growth factor receptor (EGFR) merupakan reseptor glikoprotein transmembran tirosin kinase. Pengaktivasi ligand EGFR akan menginduksi dimerisasi dan fosforilasi subsequent tirosin kinase EGFR intraseluler kemudian terjadi kaskade sinyaling intraseluler yang memediasi berbagai respon seluler penting seperti peningkatan angiogenesis, peningkatan tumor survival, peningkatan proliferasi sel, penurunan apoptosis, peningkatan invasi dan peningkatan metastasis. EGFR mempunyai kemampuan untuk perbaikan DNA sel tumor yang rusak terkena radiasi melalui jalur AKT/DNA-PK. Menurut penelitian terdahulu inhibisi EGFR selama radioterapi merupakan strategi terapi yang menjanjikan pada karsinoma sel skuamosa serviks, sedangkan pada adenokarsinoma serviks belum menunjukkan hasil yang bermakna.²¹

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian studi retrospektif, *cross sectional*, analisis korelasional. Sampel penelitian ini didapatkan dari total sampling sebanyak 32 blok parafin dari Departemen Patologi Anatomi RSUP Dr.

Hasan Sadikin Bandung yang mendapatkan radioterapi neoadjuvan komplit periode Januari 2007 sampai Mei 2014. Blok parafin dipotong dengan ketebalan 4 mikron kemudian dipulas dengan hematoksilin eosin dan EGFR. Proses diawali dengan deparafinisasi dan rehidrasi selanjutnya dilakukan pulasan imunohistokimia menggunakan tehnik baku *streptavidin biotin peroxidase complex* dengan menggunakan antibodi primer EGFR *mouse monoclonal* (Biocare, CA, USA.) dengan pengenceran 1:100 dan menggunakan kontrol positif karsinoma sel skuamosa. Interpretasi pulasan imunohistokimia dilakukan secara individual oleh 2 pengamat. Hasil dari interpretasi imunohistokimia dianalisis menggunakan uji korelasi *Conkordal Kendall* dengan *chi-square* dengan hasil bermakna jika didapatkan $p < 0,005$.

HASIL

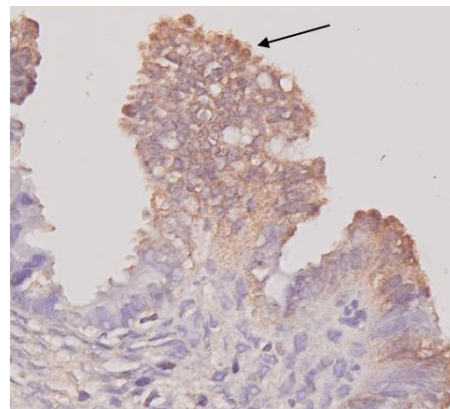
Dari 32 sampel pada penelitian ini usia pasien terbanyak pada rentang usia 41-59 tahun sebanyak 21 kasus. Sebanyak 26 kasus mempunyai stadium lanjut (IIB keatas). Adenokarsinoma serviks bergradasi rendah sebanyak 15 kasus dan bergradasi tinggi sebanyak 17 kasus dan 10 kasus dari adenokarsinoma bergradasi tinggi tidak berespons dengan radioterapi (Tabel 1).

Tabel 1. Model karakteristik pasien adenokarsinoma serviks.

Karakteristik	n	Respons radioterapi	
		Komplit	Tidak komplit
Usia			
≤40 tahun	8	4	4
41-59 tahun	21	11	10
≥ 60 tahun	3	0	3
Stadium			
II-A	6	3	3
II-B ke atas	26	12	14
Jenis histopatologi			
Adenokarsinoma serviks berdiferensiasi baik	15	8	7
Adenokarsinoma serviks berdiferensiasi sedang	9	4	5
Adenokarsinoma serviks berdiferensiasi buruk	3	1	2
Adenokarsinoma serviks sel jernih	1	0	1
Adenokarsinoma serviks musinus	1	0	1
Adenokarsinoma serviks endometrioid	3	2	1

Imunoreaktif sel tumor terhadap pulasan imunohistokimia antibodi EGFR berdasarkan

guidelines dari Biocare dinilai dari terpulasnya membran sel atau sitoplasma berwarna coklat setelah diberikan antibodi primernya (Gambar 1).



Gambar 1. Pulasan imunohistokimia EGFR intensitas kuat (Pembesaran 400x). Tanda panah menunjukkan sel tumor terpulas dengan intensitas kuat.

Berdasarkan perhitungan statistik yang dilakukan didapatkan bahwa imunoekspresi EGFR pada kasus adenokarsinoma serviks memiliki hubungan yang bermakna dengan respon radioterapi dengan nilai $p=0,000$.

Tabel 2. Analisis korelasi ekspresi EGFR dan respon radioterapi adenokarsinoma serviks.

Kelompok	Tidak komplit		Komplit		r	p
	Rerata	Std. deviasi	Rerata	Std. deviasi		
EGFR	6,41	2,58	1,87	1,46	- 0,844	0,000

Keterangan: nilai p diperoleh dari hasil uji kendall's tau c, nilai $p < 0,05$ =bermakna.

DISKUSI

Pada penelitian ini kasus terbanyak pada rentang usia 41-59 tahun sebanyak 69%. Hal tersebut sesuai dengan teori yang ditulis oleh Harmon dalam buku *Gynecology Pathology* menyebutkan bahwa insidensi adenokarsinoma serviks terbanyak pada usia 45-54 tahun.²²

Pasien adenokarsinoma serviks yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 81% berada pada stadium diatas IIB keatas. Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa mayoritas pasien karsinoma serviks termasuk adeno-karsinoma serviks di Indonesia dan Asia datang pada stadium lanjut yaitu IIB keatas, sehingga penegakkan diagnosis dan penatalaksanaan mengalami keterlambatan karena pengetahuan masyarakat

Indonesia yang masih rendah terhadap kegunaan serviks dan kurangnya kesadaran diri untuk melakukan skrining. Selain itu karena keterlambatan diagnosa menyebabkan penatalaksanaan yang tidak maksimal sehingga angka mortalitas karsinoma serviks termasuk adenokarsinoma serviks cenderung tinggi.^{7,21}

Dari 32 sampel yang digunakan pada penelitian ini, 15 kasus (47%) bergradasi rendah dan 17 kasus (53%) bergradasi tinggi. Sebanyak 10 kasus (59%) dari adenokarsinoma serviks bergradasi tinggi tidak berespons terhadap radioterapi. Hal ini berbeda dari teori radiobiologi yang menyatakan bahwa karsinoma bergradasi tinggi umumnya berespons terhadap radioterapi. Respons radioterapi selain ditentukan oleh diferensiasi tumor ditentukan juga oleh proporsi sel-sel tumor yang berada pada fase mitosis selama irradiasi namun parameter-parameter siklus sel *in vivo* sulit untuk diukur sehingga dilakukan beberapa penelitian untuk mendapatkan penanda biologi sel yang dapat berperan dalam respons radioterapi. Selain faktor-faktor yang telah diuraikan diatas, faktor seluler endogen juga berperan dalam respons radioterapi seperti aktivasi onkogen dan atau gen-gen seluler.^{12,23}

Hasil dari penelitian ini menyimpulkan bahwa imunoekspresi EGFR yang meningkat berkorelasi dengan respons radioterapi adenokarsinoma serviks yang buruk. Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang mengemukakan bahwa sinyaling EGFR berhubungan dengan prognosis yang buruk dan respons radioterapi pada pasien karsinoma serviks.^{17,21} Penelitian sebelumnya mengemukakan hal yang sama namun pada karsinoma sel skuamosa serviks memiliki ekspresi EGFR yang lebih tinggi dibandingkan adenokarsinoma serviks.²⁴

Imunoekspresi dari EGFR memungkinkan pemberian intervensi target terapi dan diperlukan penelitian uji coba klinis mengenai kombinasi pemberian target terapi EGFR dengan radioterapi. Uji coba klinis untuk pemberian inhibitor anti-EGFR monoklonal pada karsinoma serviks sedang dilakukan oleh *National Cancer Institute, USA*.¹⁷

Relasi antara EGFR dengan respons radioterapi dimungkinkan karena EGFR terlibat dalam proses perbaikan DNA untai ganda yang rusak. Radiasi menginduksi sinyaling EGFR mengaktifkan jalur PI3K/AKT bersama dengan DNA Protein Kinase (DNA-PK) untuk memper-

baiki DNA untai ganda yang rusak. Pemberian anti-EGFR (cetuximab) akan menurunkan perbaikan subletal DNA yang rusak pasca radiasi. Anti-EGFR akan memblokir sinyaling EGFR di nukleus yang akan mengaktifkan DNA-protein kinase (DNA-PK) sehingga perbaikan DNA yang rusak dan survival sel pasca radiasi tidak terjadi.^{17,25}

EGFR juga berperan secara tidak langsung terhadap angiogenesis. Aktivasi EGFR akan meregulasi jalur MAPK kemudian memicu terjadinya proses angiogenesis. Pemberian anti EGFR akan memblokir sinyaling kaskade ke bawah tetapi pada beberapa kasus inhibisi EGFR tidak memblokir VEGF sehingga proses angiogenesis tumor dan pertumbuhan tumor tetap berjalan. Hal tersebut disebabkan karena aktivasi VEGF dipengaruhi juga oleh faktor seluler lainnya. Penghambatan terhadap kedua jalur sinyaling tersebut membantu untuk mencegah radioresistensi.^{2,20}

KESIMPULAN

Eksresi EGFR dapat digunakan sebagai predictor sensitivitas radioterapi karsinoma serviks.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wells M, Oster AG, Crum CP, Franceschi S, Tommasino M, *et al*. Epithelial tumor of uterine cervix. In: Fattaneh A. Tavassoli PD, editor. Pathology and genetics tumours of the breast and female genital organs. France: IARC Press; 2014.
2. Barbu I, Craitoiu S, Simionescu CE, Dragnei AM, Margaritescu C. CD105 microvessels density, VEGF, EGFR-1 and c-erbB-2 and their prognostic correlation in different subtypes of cervical adenocarcinoma. *Romanian J Morphol Embryol*. 2013; 543: 519-30.
3. Andersson SM, M Wilander E. Results of cytology and high-risk human papillomavirus testing in females with cervical adenocarcinoma. *Oncol Lett*. 2013; 6: 215-9.
4. Pimenta JM, Galindo C, Jenkins D, Taylor SM. Estimate of the global burden of cervical adenocarcinoma and potential impact of prophylactic human papillomavirus vaccination. *BMC Cancer*. 2013; 13: 553.
5. Kato T, Watari H, Takeda M, Hosaka M, Mitamura T, Kobayashi N, *et al*. Multivariate prognostic analysis of adenocarcinoma of

- the uterine cervix treated with radical hysterectomy and systematic lymphadenectomy. *J Gynecol Oncol.* 2013; 24: 222-8.
6. Meike Rachmawati BSH, Ani M. Maskoen, Sadeli Masria, Reisyah Gina. Proporsi Adenokarsinoma Serviks Uteri di RSUP. Dr. Hasan Sadikin 2012. Available from: <http://pustaka.unpad.ac.id>.
 7. Imam R. Epidemiologi Kanker Serviks. *Indonesian J Cancer.* 2009; 3: 103-8.
 8. Rosai J. Female Reproductive System (cervix). In: Ackerman Ra, editor. *Surgical Pathology.* 2. London: Elsevier; 2011.
 9. Oncology. NPGi. *Cervical Cancer.* 2013 (Version 2.2013.). Available from: www.nccn.org.
 10. Iin Kurnia BS, Irwan Ramli, Andrijono, dan Cholid Badri. Hubungan antara biomarker proliferasi sebelum dan setelah radiasi 10 Gy dengan respon kemoradioterapi kanker serviks. Seminar Nasional Keselamatan Kesehatan dan Lingkungan VI PTKMR-BATAN, FKM-UI, KEMENKES-RI. 2010.
 11. Society AC. *Cervical Cancer 2013* Copyright. Available from: <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003094-pdf.pdf>.
 12. Andrijono. *Kanker Serviks. Edisi ke-3.* Jakarta: Divisi Onkologi Departemen Obstetri-Ginekologi FKUI; 2010.
 13. Lauren Gallagher R, Miranda Huges, Nicole McMillian. *NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines) Cervical Cancer.* 2013.
 14. Seiwert TY, Salama JK, Vokes EE. The concurrent chemoradiation paradigm-general principles. *Nat Clin Pract Oncol.* 2007; 4: 86-100.
 15. Chinnaiyan P, Huang S, Vallabhaneni G, Armstrong E, Varambally S, Tomlins SA, *et al.* Mechanisms of enhanced radiation response following epidermal growth factor receptor signaling inhibition by erlotinib (Tarceva). *Cancer Res.* 2005; 65: 3328-35.
 16. Bookman MA YR. *Principles of Chemotherapy in Gynecologic Cancer. Principles and Practice of Gynecologic Oncology.* 3 ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2000.
 17. Noordhuis MG, Eijsink JJ, Roossink F, de Graeff P, Pras E, Schuurin E, *et al.* Prognostic cell biological markers in cervical cancer patients primarily treated with (chemo)radiation: a systematic review. *Int J Rad Oncol Biol Physics.* 2011; 79: 325-34.
 18. Wright AA, Hirsch MS, Wagle N, Howitt BE, Palescandolo E, MacConaill LE, *et al.* KRAS and EGFR mutations to distinguish adenocarcinomas and squamous cell carcinomas of the cervix. *J Clin Oncol.* 2012; 30: Suppl 5011.
 19. Shimada M, Nishimura R, Nogawa T, Hatae M, Takehara K, Yamada H, *et al.* Comparison of the outcome between cervical adenocarcinoma and squamous cell carcinoma patients with adjuvant radiotherapy following radical surgery: SSGSG/TGCU Intergroup Surveillance. *Mol Clin Oncol.* 2013; 1: 780-4.
 20. Zhang H, Yun S, Batuwangala TD, Steward M, Holmes SD, Pan L, *et al.* A dual-targeting antibody against EGFR-VEGF for lung and head and neck cancer treatment. *Int J Cancer.* 2012; 131: 956-69.
 21. Nagy VM, Buiga R, Brie I, Todor N, Tudoran O, Ordeanu C, *et al.* Expression of VEGF, VEGFR, EGFR, COX-2 and MVD in cervical carcinoma, in relation with the response to radio-chemotherapy. *Romanian J Morphol Embryol.* 2011; 52: 53-9.
 22. Marisa R. Nucci MaEO, MD. *Gynecologic Pathology. A volume in the series: Foundations in diagnostic pathology:* Churchill Livingstone; 2009.
 23. Abeloff MD AJ, Niederhuber JE, Kastan MB, McKenna WG. *Abeloff's Clinical Oncology.* 4 ed: Churchill-Livingstone, Elsevier; 2008.
 24. Baltazar F, Filho AL, Pinheiro C, Moreira MA, Queiroz GS, Oton GJ, *et al.* Cyclooxygenase-2 and epidermal growth factor receptor expressions in different histological subtypes of cervical carcinomas. *Int J Gynecol Pathol.* 2007; 26: 235-41.
 25. Noordhuis MG, Eijsink JJ, Ten Hoor KA, Roossink F, Hollema H, Arts HJ, *et al.* Expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) and activated EGFR predict poor response to (chemo)radiation and survival in cervical cancer. *Clin Cancer Res.* 2009; 15: 7389-97.