

**KARYA AKHIR**

**HUBUNGAN EKSPRESI *CANCER STEM CELL* MARKER EpCAM  
DENGAN *GRADING* HISTOPATOLOGI, INVASI LIMFOVASKULAR,  
DAN METASTASIS PADA ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL**

***CORRELATION OF EpCAM CANCER STEM CELL MARKER  
EXPRESSION WITH HISTOPATHOLOGICAL GRADING,  
LYMPHOVASCULAR INVASION, AND METASTATIC  
IN COLORECTAL ADENOCARCINOMA***

**LENDAL OLIVIA GAGHANA**

**C075182004**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (SP-1)  
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI ANATOMI  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**HUBUNGAN EKSPRESI *CANCER STEM CELL* MARKER EpCAM  
DENGAN *GRADING* HISTOPATOLOGI, INVASI LIMFOVASKULAR,  
DAN METASTASIS PADA ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis  
Patologi Anatomi

Disusun dan diajukan oleh:

**LENDA OLIVIA GAGHANA**

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (SP-1)  
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI ANATOMI  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

## KARYA AKHIR

### HUBUNGAN EKSPRESI *CANCER STEM CELL* MARKER EpCAM DENGAN *GRADING* HISTOPATOLOGI, INVASI LIMFOVASKULAR, DAN METASTASIS PADA ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL

Disusun dan diajukan oleh :  
**dr. Lenda Olivia Gaghana**  
C075182004

Telah dipertahankan di hadapan Panitia ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis  
Program Studi Ilmu Patologi Anatomi  
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 27 Juli 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

**Menyetujui**

**Pembimbing Utama**



**dr. Upik A. Miskad, Ph.D, Sp.PA(K)**  
NIP. 19740330 200501 2 001

**Pembimbing Pendamping**



**dr. Muh. Husni Cangara, Ph.D Sp.PA**  
NIP. 19770409 200212 1 002

**Ketua Program Studi  
Ilmu Patologi Anatomi**



**dr. Upik A. Miskad, Ph.D, Sp.PA(K)**  
NIP. 19740330 200501 2 001

**Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin**



**Prof. Dr. dr. Haerani Rasvid, M.Kes, Sp.PD-KGH, FINASIM, Sp.GK**  
NIP. 19680530 199603 2 001

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Lenda Olivia Gaghana  
NIM : C075182004  
Program Studi : Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi  
Anatomi Universitas Hasanuddin

Menyatakan dengan sebenarnya, bahwa karya akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 01 Agustus 2022

Yang menyatakan,



Lenda Olivia Gaghana

## PRAKATA

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, sehingga tesis ini dapat diselesaikan dengan baik. Penulisan tesis ini merupakan salah satu syarat penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Patologi Anatomi di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar. Dalam penelitian dan penulisan karya akhir ini, penulis mendapat sangat banyak bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. **dr. Upik A. Miskad, Ph.D, Sp.PA (K)** sebagai pembimbing pertama dalam penelitian ini atas segala perhatian, bimbingan, dan dorongannya selama proses penelitian sampai penyusunan karya akhir ini, sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
2. **dr. Muh. Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA** sebagai pembimbing kedua yang selalu menyempatkan diri untuk membimbing dan mendorong penulis di tengah kesibukannya.
3. **Dr. dr. Andi Alfian Zainuddin, MKM** yang banyak membimbing dan memberikan masukan kepada penulis dalam hal metodologi penelitian dan analisa statistik tesis ini.
4. Seluruh staf pengajar dibagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin tanpa terkecuali (khususnya **Prof. dr. Syarifuddin Wahid, Ph.D, Sp.PA(K), dr. Gunawan Arsyadi, Sp.PA(K), dr. Cahyono Kaelan, Ph.D, Sp.PA(K), SpS, dr. Djumadi Achmad, Sp.PA(K), dr. Mahmud Ghaznawie, Ph.D, Sp.PA(K), dr. Truly D. Djimahit, Sp.PA(K), dr. Ni Ketut Sungowati, SpPA(K), Dr. dr. Rina Masadah, M.Phill, Sp.PA(K), Dr. dr. Gatot S. Lawrence, Sp.PA(K), Dr. dr. Berti J. Nelwan, M.Kes, Sp.PA(K) , dr. Juanita, Sp.PA, dr. Imeldy Prihatni Ma'mun, M.Kes, Sp.PA, dr. Jeni Poniman, Sp.PA, dr. Amalia, M.Kes, Sp.PA**) atas bimbingan selama penulis menjalani pendidikan maupun dalam penyusunan tesis ini.
5. Rektor dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, atas kesediaannya menerima penulis sebagai peserta didik pada Program Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu Ilmu Patologi Anatomi Universitas Hasanuddin Makassar.
6. Koordinator Program Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu Universitas Hasanuddin yang senantiasa memantau dan membantu kelancaran pendidikan penulis.

7. Teman PPDS terbaik Angkatan Januari 2019 (Lidya Mamonto, Vivi Talawo, Ika Magfirah, Rafiqah Nurdin, Dzul Ikram), serta seluruh teman sejawat residen Patologi Anatomi atas semua bantuan, dukungan, doa dan persaudaraan yang diberikan selama penulis menjalani pendidikan hingga menyelesaikan karya akhir ini.
8. Seluruh teknisi dan pegawai laboratorium Rumah Sakit Universitas Hasanuddin, Rumah Sakit Dr. Wahidin Sudirohusodo, Laboratorium Sentra Diagnostik Patologia Makassar dan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.
9. Suami penulis, dr. Albert Alexander Alfonso, Sp.Rad, anak penulis, Tristan Einthoven Alfonso dan Dylan Becquerel Alfonso, orang tua penulis Trifena Bawohang dan Julfred Gaghana, beserta seluruh keluarga dan sahabat yang senantiasa mendukung, mendoakan dan menjadi sumber inspirasi serta semangat utama bagi penulis selama menjalani pendidikan.
10. Semua pihak yang telah membantu penulis, yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis berharap agar karya akhir ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan Ilmu Patologi Anatomi di masa yang akan datang. Akhir kata, penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya atas segala khilaf dan salah mulai dari awal penelitian sampai akhir penulisan karya akhir ini.

Makassar, 01 Agustus 2022

Yang menyatakan



**(Lenda Olivia Gaghana)**

## ABSTRAK

**LEND A OLIVIA GAGHANA.** Hubungan Ekspresi *Cancer Stem Cell* Marker EpCAM dengan *Grading* Histopatologi, Invasi Limfovaskular, dan Metastasis pada Adenokarsinoma Kolorektal. (Dibimbing oleh **Upik A. Miskad, Muh. Husni Cangara, Andi Alfian Zainuddin**)

**Tujuan Penelitian:** Penelitian ini bertujuan menganalisis hubungan antara ekspresi EpCAM pada adenokarsinoma kolorektal *low grade* dan *high grade*, dengan invasi limfovaskular dan tanpa invasi limfovaskular, serta yang bermetastasis dan tidak bermetastasis.

**Metode Penelitian:** Penelitian *cross sectional* pada 113 sampel blok parafin jaringan adenokarsinoma kolorektal. Dilakukan pewarnaan imunohistokimia menggunakan antibodi anti-EpCAM *mouse monoclonal antibody* dan analisis ekspresi dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX-43. Data dianalisis secara statistik dengan uji Mann-Whitney dan Chi-Square serta disajikan dalam tabel menggunakan software SPSS 18.

**Kesimpulan dan Saran:** Terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi *cancer stem cell* marker EpCAM dengan invasi limfovaskular dan metastasis adenokarsinoma kolorektal ( $p = 0,002$ ), tetapi tidak didapatkan hubungan yang bermakna dengan grade histopatologi ( $p = 0,574$ ). EpCAM dapat menjadi faktor prediktif dan prognostik, serta dapat dipertimbangkan sebagai pilihan target terapi pada adenokarsinoma kolorektal.

**Kata Kunci:** Adenokarsinoma Kolorektal; *Cancer Stem Cells*; EpCAM; Invasi Limfovaskular; Metastasis

## ABSTRACT

**LEND A OLIVIA GAGHANA.** Correlation of EpCAM Cancer Stem Cell Marker Expression with Histopathological Grading, Lymphovascular Invasion, and Metastasis in Colorectal Adenocarcinoma. (Supervised by **Upik A. Miskad, Muh. Husni Cangara, Andi Alfian Zainuddin**)

**Objective:** This study aimed to analyze the relationship between EpCAM expression in low grade and high grade colorectal adenocarcinoma, with lymphovascular invasion and without lymphovascular invasion, as well as metastatic and non-metastatic.

**Research Methods:** Cross sectional study on 113 samples of colorectal adenocarcinoma tissue paraffin block. Immunohistochemical staining using anti-EpCAM mouse monoclonal antibody and expression analysis were performed using an Olympus CX-43 light microscope. The data were statistically analyzed by Mann-Whitney and Chi-Square tests and presented in tables using SPSS 18 software.

**Conclusions and Recommendations:** There was a significant relationship between the expression of EpCAM cancer stem cell marker with lymphovascular invasion and colorectal adenocarcinoma metastasis ( $p = 0.002$ ), but there was no significant relationship with histopathological grade ( $p = 0.574$ ). EpCAM can be a predictive and prognostic factor, and can be considered as a target therapy option in colorectal adenocarcinoma.

**Keywords:** Colorectal Adenocarcinoma; Cancer Stem Cells; EpCAM; Lymphovascular Invasion; Metastasis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN KARYA AKHIR</b> .....	iii
<b>PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR</b> .....	iv
<b>PRAKATA</b> .....	v
<b>ABSTRAK</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	viii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1. LATAR BELAKANG MASALAH.....	1
1.2. RUMUSAN MASALAH.....	6
1.3. TUJUAN PENELITIAN.....	6
1.3.1. TUJUAN UMUM.....	6
1.3.2. TUJUAN KHUSUS.....	6
1.4. HIPOTESIS PENELITIAN.....	7
1.5. MANFAAT PENELITIAN.....	7
1.5.1. BIDANG AKADEMIK.....	7
1.5.2. BIDANG PENGEMBANGAN ILMU.....	7
1.5.3. BIDANG PELAYANAN (APLIKASI KLINIK).....	8
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	9
2.1. ANATOMI DAN HISTOLOGI KOLOREKTAL.....	9
2.2. ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL.....	12
2.2.1. FAKTOR RESIKO.....	13
2.2.2. KARSINOGENESIS.....	15
2.2.3. MANIFESTASI KLINIK & METASTASIS.....	19
2.2.4. GAMBARAN MAKROSKOPIK DAN HISTOPATOLOGI.....	21
2.2.5. GRADING DAN PROGNOSIS.....	23
2.3. EpCAM.....	25
2.3.1. STRUKTUR EpCAM.....	27
2.3.2. PERAN EpCAM DALAM KANKER KOLOREKTAL.....	28
<b>BAB 3. KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP</b> .....	40
3.2. KERANGKA TEORI.....	40
3.2. KERANGKA KONSEP.....	41
<b>BAB 4. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	42
4.1. DESAIN PENELITIAN.....	42
4.2. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN.....	42

4.3.	POPULASI PENELITIAN .....	42
4.4.	SAMPEL DAN CARA PENGAMBILAN SAMPEL .....	42
4.5.	PERKIRAAN BESAR SAMPEL.....	42
4.6.	KRITERIA INKLUSI DAN EKSKLUSI.....	43
4.6.1.	KRITERIA INKLUSI .....	43
4.6.2.	KRITERIA EKSKLUSI.....	43
4.7.	CARA KERJA .....	44
4.7.1.	ALOKASI SUBJEK .....	44
4.7.2.	PROSEDUR PEWARNAAN <i>HEMATOXYLIN-EOSIN</i> .....	44
4.7.3.	PROSEDUR PEWARNAAN IMUNOHISTOKIMIA .....	45
4.7.4.	INTERPRETASI HASIL PEWARNAAN IMUNOHISTOKIMIA EpCAM.....	46
4.8.	DEFINISI OPERASIONAL DAN KRITERIA OBJEKTIF.....	46
4.8.1.	DEFINISI OPERASIONAL .....	46
4.8.2.	KRITERIA OBJEKTIF .....	47
4.9.	PENGOLAHAN DAN ANALISA DATA .....	48
4.10.	ALUR PENELITIAN .....	49
4.11.	PERSONALIA PENELITIAN .....	49
<b>BAB 5.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>50</b>
5.1.	HASIL PENELITIAN .....	50
5.1.1.	KARAKTERISTIK UMUM SAMPEL .....	50
5.1.2.	ANALISIS HUBUNGAN <i>GRADE</i> HISTOPATOLOGI DENGAN INVASI LIMFOVASKULAR DAN METASTASIS PADA ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL.....	53
5.1.3.	ANALISIS PERBEDAAN SKOR EKSPRESI (SKOR IMUNOSTAINING TOTAL) EpCAM BERDASARKAN <i>GRADE</i> HISTOPATOLOGI, INVASI LIMFOVASKULAR, DAN STATUS METASTASIS ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL .....	54
5.1.4.	ANALISIS HUBUNGAN STATUS EKSPRESI EpCAM DENGAN <i>GRADE</i> HISTOPATOLOGI, INVASI LIMFOVASKULAR, DAN METASTASIS ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL .....	55
5.2.	PEMBAHASAN.....	57
<b>BAB 6.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>66</b>
6.1.	KESIMPULAN .....	66
6.2.	SARAN.....	66
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>67</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>72</b>

## DAFTAR SINGKATAN

AKT (PKB)	Protein Kinase B
CRC	Colorectal Cancer
CSC	Cancer Stem Cells
CTC	Circulating Tumor Cells
DNA	Deoxyribonucleic Acid
E-cadherin	Epithelial/Neuronal cadherin
EGF	Epidermal Growth Factor
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
EMT	Epithelial Mesenchymal Transition
EpCAM	Epithelial Cell Adhesion Molecule
EpEX	EpCAM Extracellular Domain
EpICD	EpCAM Intracellular Domain
ERK	Extracellular signal-regulated kinase
FDR	First-Degree Relative
GPOR	G Protein Coupled Estrogen Receptor
H&E	Haematoxylin dan Eosin
IS	Intensity Score
ISCs	Intestinal stem cells
HIF1 $\alpha$	Hypoxic Inducing Factor 1 Alpha
FHL2	Four and a Half LIM Domains Protein 2
KRAS	Kirsten Rat Sarcoma Viral Onkogen Homolog
LEF1	Lymphoid Enhancer-Binding Factor-1
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
MIC	Metastatic-Initiator Cells
mTOR	Mechanistic Target of Rapamycin
OCT3/4	Octamer-Binding Transcription Factor 3/4
PI3K	Phosphoinositide 3-Kinases
PS	Proportion Score
PTEN	Phosphatase and Tensin Homolog
RIP	Regulated Intramembrane Proteolysis
Slug	The Protein Product of SNAI2
Snail1	Zinc Finger Protein SNAI1
SOX2	Sex-Determining Region Y-Box 2
STAT3	Signal Transducer and Activator of Transcription 3
TACE/ADAM17	Metalloprotease Tumor Necrosis Factor-Alpha Converting Enzyme/A Disintegrin and Metalloprotease
TEM	Tetraspanin-Enriched Membrane Microdomains
TGF- $\beta$	Transforming Growth Factor- $\beta$
TIS	Total Immunostaining Score
TJ	Tight Junction
TM	Transmembran Domain
Twist1	Twist-Related Protein 1
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
Wnt	Wingless-Related Integration Site

## DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Karakteristik Sampel Adenokarsinoma Kolorektal	50
Tabel 2.	Hubungan <i>Grade</i> Histopatologi dengan Invasi Limfovaskular dan Metastasis pada Adenokarsinoma Kolorektal	53
Tabel 3.	Perbedaan Nilai Skor Immunostaining Total EpCAM berdasarkan <i>Grade</i> Histopatologi, Invasi Limfovaskular, dan Metastasis Adenokarsinoma Kolorektal	54
Tabel 4.	Hubungan Status Ekspresi EpCAM dengan <i>Grade</i> Histopatologi Adenokarsinoma Kolorektal	55
Tabel 5.	Hubungan Status Ekspresi EpCAM dengan Invasi Limfovaskular Adenokarsinoma Kolorektal	56
Tabel 6.	Hubungan Status Ekspresi EpCAM dengan Metastasis Adenokarsinoma Kolorektal	57

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Anatomi normal kolorektal	10
Gambar 2.	Histologi normal kolorektal	10
Gambar 3.	Gambar histopatologi Adenokarsinoma kolorektal <i>low-grade</i> dan <i>high grade</i>	24
Gambar 4.	Molekul adhesi sel dan kompleks tautan di jaringan epitel	26
Gambar 5.	Diagram skematis struktur panjang keseluruhan protein EpCAM dan struktur kristal dari cis-homodimer EpCAM ekstraseluler	28
Gambar 6.	Sinyal <i>cross-talk</i> EpCAM dengan E-cadherin	30
Gambar 7.	Lokalisasi EpCAM dan modulasi gen targetnya pada kanker	34
Gambar 8.	Skema representasi pengaktifan molekul adhesi sel epitel	36
Gambar 9.	Kerangka Teori	40
Gambar 10.	Kerangka Konsep	41
Gambar 11.	Alur Penelitian	49
Gambar 12.	Perbedaan ekspresi EpCAM pada mukosa kolon normal (gambar sisi kiri) dan pada tumor (gambar sisi kanan)	51
Gambar 13.	Ekspresi EpCAM pada Adenokarsinoma Kolorektal (A, C, E. Adenokarsinoma kolorektal <i>low grade</i> ; B, D, E, G, H. Adenokarsinoma kolorektal <i>high grade</i> ). A-B. Terwarnai kuat; C-D. Terwarnai sedang; E-F. Terwarnai lemah; G-H. Tidak terwarnai	52
Gambar 14.	Sel tumor yang terwarnai EpCAM berada dalam pembuluh limfovaskular	53

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. LATAR BELAKANG MASALAH**

Kanker kolorektal adalah kanker yang paling umum ketiga pada pria dan kedua pada wanita, serta merupakan penyebab kematian kedua terbanyak karena kanker di seluruh dunia, dengan lebih dari 1,2 juta kasus kanker baru dan 608.700 kasus kematian. (Effendi-YS & Rey, 2018; Liao et al., 2015)

Menurut data GLOBOCAN 2018, kanker kolorektal menempati urutan ketiga paling mematikan dan urutan keempat diagnosis kanker yang paling sering di dunia. Hampir 2 juta kasus baru dan sekitar 1 juta kematian diperkirakan terjadi pada tahun 2018. Obesitas, gaya hidup yang tidak sehat, konsumsi daging merah, alkohol, dan tembakau dianggap sebagai faktor predisposisi pertumbuhan kanker kolorektal. (Rawla et al., 2019)

Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) pada tahun 2018, menjelaskan bahwa secara global terdapat 1,80 juta kasus baru kanker kolorektal yang di diagnosis dan 862.000 pasien meninggal karena kanker kolorektal. Di AS, sekitar 145.600 kasus kanker kolorektal terdiagnosis setiap tahun yang terdiri dari 1.014.200 kasus kanker usus besar dan sisanya adalah kanker rektal. Secara umum, 71% kanker kolorektal terjadi di usus besar dan 29% di rektum. Sekitar 50.000 pasien meninggal karena kanker kolorektal setiap tahun di AS. (Ahmed, 2020)

Dari data GLOBOCAN tahun 2012, insiden kanker kolorektal di Indonesia adalah 12,8 per 100.000 penduduk usia dewasa, dengan mortalitas 9,5% dari seluruh kasus kanker. Secara keseluruhan risiko untuk mendapatkan kanker kolorektal adalah 1 dari 20 orang (5%). Di Indonesia, kanker ini menempati urutan ke-3, yang diakibatkan oleh perubahan pada diet orang Indonesia, baik sebagai konsekuensi

peningkatan kemakmuran serta pergeseran ke arah cara makan orang barat (westernisasi) yang mengandung tinggi lemak tetapi rendah serat (MENKES, 2018). Data GLOBOCAN tahun 2020, insiden kanker kolorektal baru di Indonesia sebanyak 33.427 kasus atau sekitar 8,4% dari total 396.914 kasus kanker. (World Health Organization, 2020)

Walaupun metode terapi telah berkembang dengan baik, namun kanker kolorektal tetap menjadi penyebab kematian utama karena kanker. Meski kebanyakan pasien kanker kolorektal telah dilakukan operasi pengangkatan tumor serta menjalani pengobatan tambahan seperti radiasi dan kemoterapi, namun beberapa pasien dapat mengalami kekambuhan dan sering kali sel tumor resisten terhadap pengobatan (Li et al., 2014), selain itu juga invasi dan metastasis menjadi penyebab utama morbiditas dan mortalitas kanker. (Kumar, Vinay., Abbas, Abul K., Aster, 2021)

Penelitian terbaru melaporkan bahwa *cancer stem cell* (CSC) dianggap sebagai asal dari tumorigenesis, dan terkait erat dengan metastasis tumor, resistensi obat dan kekambuhan setelah pengobatan utama. CSC adalah sekelompok kecil sel dalam jaringan tumor yang mempunyai karakteristik sel induk, seperti potensi untuk memperbaharui diri, berdiferensiasi menjadi berbagai garis keturunan, dan kemampuan multiplikasi yang tidak terbatas. Saat ini, telah dibuktikan bahwa CSC ada di banyak tumor, termasuk kanker kolorektal. (Li et al., 2014; Y. Zhou et al., 2018)

CSC telah terbukti memiliki kemampuan memulai pembentukan tumor (*tumor-initiating cells*) dan metastasis sehingga memainkan peran yang signifikan dalam mendorong tumorigenesis. Secara umum, CSC kolorektal terutama berasal dari diferensiasi sel intestinal atau *Intestinal stem cells* (ISCs) melalui perubahan genetik yang menyebabkan transformasi keganasan. Pada karsinoma kolorektal dapat diisolasi suatu sel dengan karakteristik epitel, yaitu EpCAM (*Epithelial Cell Adhesion Molecule*), dimana sel ini menunjukkan sifat menyerupai sel induk, seperti tumorigenesis, invasi dan metastasis. Selain itu, dalam *tumor-initiating*

*cells* juga mengekspresikan EpCAM, sehingga EpCAM digolongkan sebagai salah satu penanda *cancer stem cells* dalam beberapa jenis kanker. (Aiman Mohtar et al., 2020; Y. Zhou et al., 2018)

Sel positif EpCAM diyakini bertindak sebagai *cancer stem cells* untuk berbagai macam kanker manusia, termasuk kolorektal dan hepatoseluler karsinoma. EpCAM juga diekspresikan secara berlebihan di permukaan sebagian besar kanker primer dan metastasis. Oleh karena itu, EpCAM dapat menjadi penanda pada pasien dengan kanker solid. Banyak terapi dengan pendekatan berbasis antibodi yang menargetkan EpCAM saat ini sedang dikembangkan. (Eslami-S et al., 2020; Huang et al., 2018)

EpCAM adalah glikoprotein transmembran yang awalnya ditemukan pada karsinoma usus besar dan diekspresikan dalam 85% karsinoma kolorektal. EpCAM dapat menghambat diferensiasi dan mendorong proliferasi. Ekspresi EpCAM yang berlebihan meningkatkan kapasitas tumor yang berkembang biak dan invasif. (Liu et al., 2014; van der Gun et al., 2010)

Dylla et al., mengemukakan bahwa salah satu kemungkinan alasan resistensi kanker kolorektal terhadap agen kemoterapi mungkin sebagian dikaitkan dengan keberadaan EpCAM<sup>+</sup>/CD44<sup>+</sup> CSC karena tumor sisa setelah kemoterapi mengandung banyak sel-sel ini (Dylla et al., 2008). Dalam penelitian Liu et al., 80 kasus kanker kolorektal terkait dengan metastasis hati diperiksa. Sel dengan EpCAM tinggi dan ekspresi CD44 positif tidak ditemukan di mukosa usus normal terdekat tetapi ditemukan dalam sel kanker usus besar dan metastasis hati. (Liu et al., 2014)

Sallam et al., menggabungkan ekspresi EpCAM dan CD44 bersama-sama pada kanker usus besar dan menemukan korelasi positif yang sangat signifikan dimana EpCAM tinggi dan ekspresi CD44 positif berkorelasi dengan grade dan stadium klinik kanker, kedalaman invasi dan metastasis. Penelitian lebih lanjut menemukan bahwa persentase EpCAM tinggi dan CD44 positif yang diekspresikan di dalam kanker berdiferensiasi jelek lebih tinggi daripada kanker yang berdiferensiasi baik

dan sedang. Begitu juga persentase EpCAM tinggi dan CD44 positif di stadium empat dan stadium Dukes D atau dalam kasus metastasis jauh lebih tinggi dari stadium yang lebih rendah atau pada kanker tanpa metastasis. (Abdelaziz, Lobna et al., 2017)

Eksresi EpCAM yang berlebihan berkorelasi dengan agresivitas dan prognosis yang buruk pada pasien kanker usus besar. Hipotesis bahwa hilangnya ekspresi EpCAM mungkin terlibat dalam metastasis kanker kemudian dibuktikan dengan temuan bahwa ekspresi protein EpCAM pada sel tumor yang bersirkulasi (CTC) berkurang dibandingkan dengan tumor primer dan metastasis. (Abdelaziz, Lobna et al., 2017)

Eksresi EpCAM bervariasi menurut jenis tumor. Hal ini sering diekspresikan pada kanker payudara, paru-paru, usus besar, dan prostat, tapi tidak terdeteksi pada limfoma, melanoma, sarkoma dan tumor neurogenik. Ekspresinya juga berbeda pada tumor primer dan metastasis. Ekspresi berlebih EpCAM berkorelasi dengan prognosis yang lebih buruk, mungkin terkait dengan jumlah sel induk kanker (CSC) yang lebih tinggi yang dapat menjadi sel inisiator metastatik (MIC). (Eslami-S et al., 2020)

Pada kanker esofagus, ekspresi EpCAM yang tinggi berhubungan dengan tahap proliferasi, sedangkan ekspresi rendah atau negatif dikaitkan dengan migrasi, invasi dan penyebaran sel kanker. Demikian pula, penghambatan EPCAM di jalur sel kanker payudara menyebabkan penurunan 35-80% dalam tingkat proliferasi sel. (Eslami-S et al., 2020)

Dalam sampel klinis jaringan kanker usus besar manusia, EpCAM sangat diekspresikan dalam jaringan tumor, tetapi ekspresinya jelek atau tidak ada pada jaringan para-karsinoma dan jaringan non-tumor. Perbedaan distribusi EpCAM ini mirip dengan distribusi dan karakteristik ekspresi  $\beta$ -catenin. Oleh karena itu, dianggap bahwa ekspresi EpCAM itu mungkin berkorelasi dengan aktivasi jalur Wnt- $\beta$ -catenin. Temuan penelitian ini mendorong penelitian lebih lanjut dan mengkonfirmasi bahwa EpCAM juga merupakan target penting untuk pengobatan tumor, melalui mekanisme pemblokiran jalur Wnt /  $\beta$ -catenin. Pemeriksaan lebih

lanjut mekanisme seluler menegaskan bahwa pembungkaman EpCAM dapat menekan ekspresi dari jalur Wnt dan mengurangi aktivitas invasi dan proliferasi sel tumor. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa EpCAM dapat dianggap sebagai target terapi baru dalam kemoterapi adjuvan untuk kanker usus besar. (F. Q. Zhou et al., 2015)

Pada karsinoma payudara, ekspresi EpCAM yang tinggi diamati pada tumor yang kurang berdiferensiasi dan berhubungan dengan tumor yang lebih besar, metastasis nodal, dan kelangsungan hidup yang lebih buruk. Pada karsinoma sel skuamosa (SCC) paru, ekspresi EpCAM yang tinggi dikaitkan dengan metastasis nodal, penyakit stadium tinggi dan diferensiasi yang buruk. EpCAM-positif di kelenjar getah bening berkorelasi dengan penurunan tingkat kelangsungan hidup. Untuk kanker kolorektal, terdapat laporan hasil yang bertentangan, dimana ekspresi EpCAM yang berkurang pada margin invasif spesimen berkorelasi secara signifikan dengan tingkat perluasan *tumor budding* yang lebih tinggi, *grade* tumor dan risiko kekambuhan lokal. Temuan ini dikaitkan dengan lokalisasi  $\beta$ -catenin pada inti. (van der Gun et al., 2010)

EpCAM diekspresikan secara luas pada adenokarsinoma dan ekspresi yang tinggi berkorelasi dengan prognosis buruk pasien, terutama saat terjadi kekambuhan dan metastasis kelenjar getah bening yang cepat pasca operasi. Chai et al., menunjukkan prognosis pasien dengan ekspresi positif kuat secara signifikan lebih buruk daripada mereka dengan ekspresi positif lemah. (Chai et al., 2015)

Oleh karena itu, penelitian ini menilai apakah ekspresi EpCAM berkorelasi dengan *grading* histopatologi, status invasi limfovaskular, dan metastasis adenokarsinoma kolorektal, sehingga dapat menjadi salah satu kandidat biomarker prognostik adenokarsinoma kolorektal. Selain itu, penelitian ekspresi EpCAM pada adenokarsinoma kolorektal belum pernah dilakukan menggunakan sampel di Makassar.

## **1.2. RUMUSAN MASALAH**

Apakah terdapat perbedaan ekspresi EpCAM pada adenokarsinoma kolorektal berdasarkan *grading* histopatologi, ada tidaknya invasi limfovaskular dan metastasis?

## **1.3. TUJUAN PENELITIAN**

### **1.3.1. TUJUAN UMUM**

Menilai perbedaan ekspresi EpCAM pada adenokarsinoma kolorektal menurut *grading* histopatologi, ada tidaknya invasi limfovaskular dan metastasis.

### **1.3.2. TUJUAN KHUSUS**

1. Menentukan skor dan status ekspresi EpCAM (ekspresi lemah dan ekspresi kuat) pada sediaan adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade* melalui pewarnaan imunohistokimia.
2. Menentukan skor dan status ekspresi EpCAM (ekspresi lemah dan ekspresi kuat) pada sediaan adenokarsinoma kolorektal dengan invasi limfovaskular dan tanpa invasi limfovaskular melalui pewarnaan imunohistokimia.
3. Menentukan skor dan status ekspresi EpCAM (ekspresi lemah dan ekspresi kuat) pada sediaan adenokarsinoma kolorektal yang bermetastasis dan tidak bermetastasis melalui pewarnaan imunohistokimia.
4. Menentukan hubungan antara ekspresi EpCAM dengan grade histopatologi pada adenokarsinoma kolorektal dengan membandingkan perbedaan skor dan status ekspresi EpCAM pada adenokarsinoma kolorektal *low grade* dan *high grade*.
5. Menentukan hubungan antara ekspresi EpCAM dengan invasi limfovaskular pada adenokarsinoma kolorektal dengan membandingkan perbedaan skor dan status ekspresi EpCAM pada adenokarsinoma kolorektal yang invasi dan tidak invasi.

6. Menentukan hubungan antara ekspresi EpCAM dengan metastasis pada adenokarsinoma kolorektal dengan membandingkan perbedaan skor dan status ekspresi EpCAM pada adenokarsinoma kolorektal yang bermetastasis dan tidak bermetastasis.

#### **1.4. HIPOTESIS PENELITIAN**

Terdapat perbedaan ekspresi EpCAM pada adenokarsinoma kolorektal berdasarkan *grading* histopatologi, ada tidaknya invasi limfovaskular dan metastasis, dimana:

1. Skor dan status ekspresi EpCAM lebih tinggi pada adenokarsinoma kolorektal *high-grade* dibandingkan adenokarsinoma kolorektal *low-grade*.
2. Skor dan status ekspresi EpCAM lebih tinggi pada adenokarsinoma kolorektal dengan invasi limfovaskular dibandingkan dengan ekspresi pada adenokarsinoma kolorektal tanpa invasi limfovaskular.
3. Skor dan status ekspresi EpCAM lebih tinggi pada adenokarsinoma kolorektal yang bermetastasis dibandingkan dengan ekspresi pada adenokarsinoma kolorektal yang tidak bermetastasis.

#### **1.5. MANFAAT PENELITIAN**

##### **1.5.1. BIDANG AKADEMIK**

1. Memberikan informasi ilmiah tentang peran EpCAM pada karsinogenesis adenokarsinoma kolorektal
2. Meningkatkan pemahaman tentang peran EpCAM dalam patogenesis invasi dan metastasis adenokarsinoma kolorektal

##### **1.5.2. BIDANG PENGEMBANGAN ILMU**

Sebagai dasar penelitian lebih lanjut terutama dalam aspek pengembangan target terapi untuk adenokarsinoma kolorektal.

### **1.5.3. BIDANG PELAYANAN (APLIKASI KLINIK)**

1. Sebagai faktor prediktif dan faktor prognostik tambahan untuk adenokarsinoma kolorektal
2. Sebagai pilihan terapi tambahan (target terapi) untuk adenokarsinoma kolorektal

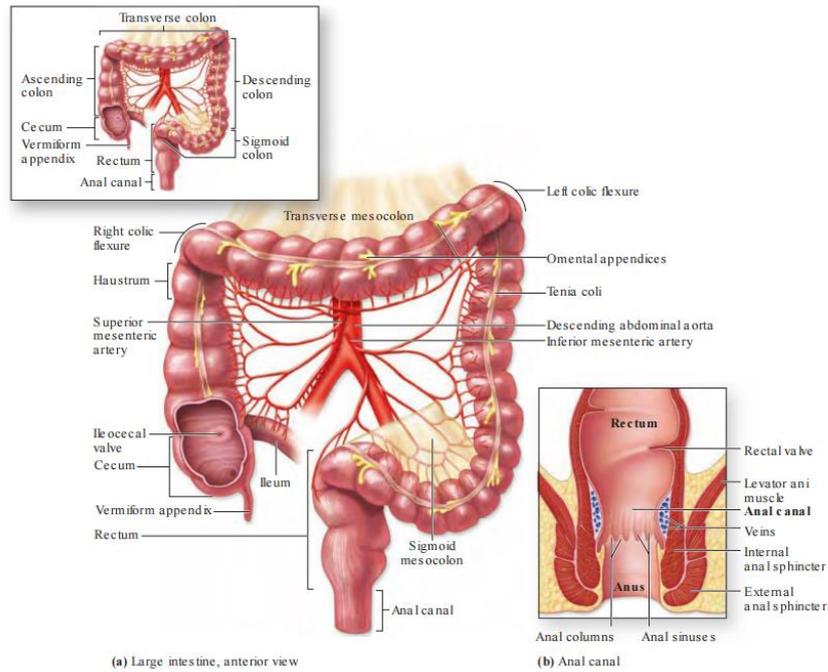
## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. ANATOMI DAN HISTOLOGI KOLOREKTAL**

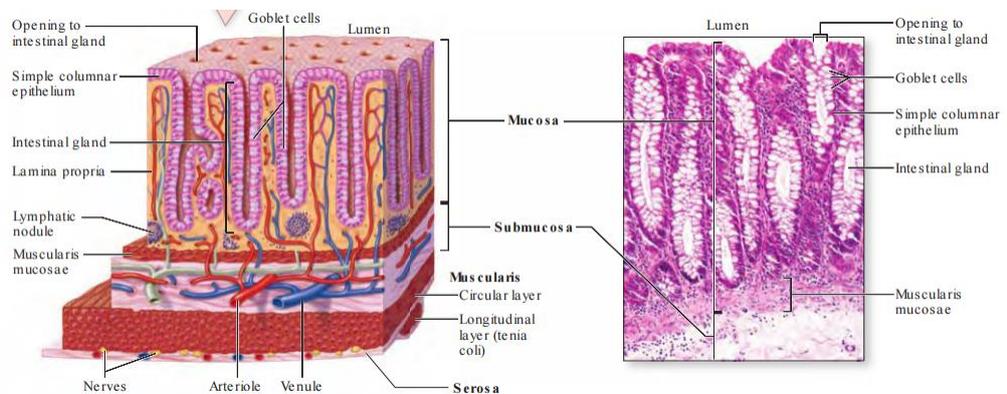
Kolon dan rektum membentuk usus besar. Kolon membentuk sebagian besar usus besar dengan panjang sekitar 5 kaki atau 1,5 meter. Bagian dari usus besar diberi nama sesuai dengan arah perjalanan makanan. Bagian pertama kolon disebut kolon asenden yang dimulai dari sekum dan merupakan kantong berisi makanan yang tidak tercerna berasal dari usus kecil. Kemudian berlanjut ke atas di sisi kanan perut. Bagian kedua disebut kolon transversum yang melewati tubuh dari sisi kanan ke sisi kiri. Bagian ketiga disebut kolon desenden yang turun di sisi kiri. Selanjutnya, bagian keempat disebut kolon sigmoid karena bentuknya "S", yang kemudian bergabung dengan rektum, dan berakhir di anus. Kolon asenden dan kolon transversum bersama-sama disebut kolon proksimal, sedangkan kolon desenden dan sigmoid disebut kolon distal. (American Cancer Society, 2020)

Kolon (usus besar) berfungsi menyerap air dan garam dari sisa bahan makanan setelah melewati usus halus (intestinal). Limbah yang tersisa setelah melalui usus besar masuk ke rektum (6 inci atau 15 cm terakhir dari sistem pencernaan), disimpan di sana sampai melewati anus. Otot berbentuk cincin (sfingter) di sekitar anus mencegah feses keluar dan akan mengalami relaksasi saat buang air besar. (American Cancer Society, 2020)



**Gambar 1.** Anatomi normal kolorektal (Mescher, 2016)

Secara histologi, kolon dibagi menjadi 4 lapisan yaitu mukosa, submukosa, muskularis eksterna (muskularis propria), dan serosa (atau, dalam rektum, jaringan perimuskular). Mukosa terdiri dari selapis sel epitel kolumnar yang melapisi kriptus, di bawahnya terdapat lamina propria, dan lapisan tipis otot polos yang disebut muskularis mukosa. Kriptus mukosa ini berorientasi sejajar satu sama lain dan tegak lurus dengan muskularis mukosa. (Arnold et al., 2015; Goldblum et al., 2018)



**Gambar 2.** Histologi normal kolorektal (Mescher, 2016)

Dinding kolon mengerut menjadi serangkaian kantong besar yang disebut haustra. Mukosa usus besar ditembus oleh kelenjar interstisial tubular. Kelenjar dan lumen usus dilapisi sel-sel absorptif dan sel-sel goblet. Sel-sel absorptive kolumnar atau kolonosit memiliki mikrovili tidak teratur dan celah interseluler lebar yang menandakan penyerapan cairan aktif. Sel goblet yang menghasilkan mukus pelumas menjadi semakin banyak sepanjang kolon dan rectum. Pada epitel kriptal bagian dalam juga mengandung sel-sel Paneth dan sel-sel endokrin. Sel-sel Paneth biasanya terbatas pada sekum dan kolon asendens, dan keberadaannya di distal kolon transversal menandakan metaplasia, biasanya karena cedera kronis. Sel punca epitel terletak di sepertiga bawah tiap kelenjar. (Arnold et al., 2015; Mescher, 2016)

Lamina propria kaya akan sel limfoid dan limfonodus yang sering meluas sampai ke dalam submukosa. Banyaknya MALT sehubungan dengan banyaknya populasi bakteri usus besar. Apendiks mempunyai sedikit atau tidak mempunyai fungsi absorptive, tetapi merupakan komponen penting MALT. Lamina propria juga mengandung sel plasma, histiosit, dan sel mast yang tersebar dalam suatu jalinan dari serat kolagen, bundel otot polos, pembuluh darah, dan saraf. Sel ganglion intramukosal juga dapat dilihat, baik sendiri-sendiri atau dalam kelompok tetapi tidak mempunyai efek patologis yang signifikan. Pembuluh darah di lamina propria terdiri dari kapiler (didistribusikan secara teratur) dan pembuluh limfe (terbatas pada daerah tepat di atas muskularis mukosa). (Goldblum et al., 2018; Mescher, 2016)

Submukosa terdiri dari jaringan ikat yang longgar dengan konstituen sel mirip dengan lamina propria. Ini juga berisi plexus saraf submukosa dari Meissner. (Goldblum et al., 2018)

Muskularis kolon mempunyai lapisan sirkular dan longitudinal dengan plexus saraf myenterika Auerbach terletak di antaranya. Tetapi berbeda dengan usus halus, dimana serat-serat lapisan luar dari kolon bergabung dalam tiga pita memanjang yang disebut taenia coli. Kolon

bagian intraperitoneal ditutupi serosa, yang ditandai dengan tonjolan kecil menggantung jaringan lemak. Serosa terdiri dari satu lapis sel mesotelial gepeng sampai kuboid dan jaringan fibroelastik. (Goldblum et al., 2018; Mescher, 2016)

Ujung distal dari saluran cerna adalah kanal anus, sepanjang 3-4 cm. Pada batas anorektal, pelapis mukosa rectum yang adalah epitel selapis silindris, digantikan oleh epitel berlapis gepeng. Mukosa dan submukosa kanal anus membentuk sejumlah lipatan memanjang, yaitu kolumna rektal. Dekat anus lapisan sirkular muskularis rektum membentuk sfingter ani interna. Defekasi melibatkan kerja volunteer otot dari sfingter ani eksterna. (Mescher, 2016)

Usus besar disuplai oleh cabang arteri mesenterika superior (dari sekum ke fleksura splenikus) dan arteri mesenterika inferior (distal dari fleksura splenikus). Bagian bawah dari rektum diirigasi oleh arteri rektal media dan inferior, yang merupakan cabang dari arteri iliaka interna. Drainase limfatik usus besar terutama melalui mesenterium ke dalam kelompok kelenjar getah bening parakolik yang terletak di sepanjang arkade marginal vaskular. Stasiun berikutnya adalah kelompok nodal intermediate (lebih proksimal, pada tingkat cabang arteri utama), kelenjar getah bening sentral atau utama (berdekatan dengan arteri mesenterika superior dan inferior), dan seluruh rantai para-aorta. Drainase limfatik dari rektum adalah menuju nodus arteri mesenterika inferior, rantai hemoroidal superior, hipogastrik dan nodus iliaka utama. (Goldblum et al., 2018)

## **2.2. ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL**

Kanker kolorektal adalah kanker pada colon atau rektum yang bisa disebut sebagai kanker kolorektal, tergantung lokasinya (American Cancer Society, 2020). Kebanyakan kanker kolorektal adalah adenokarsinoma (tumor ganas epithelial pada usus besar yang menunjukkan diferensiasi kelenjar dan musinous). (American Cancer Society, 2020; Nagtegaal et al., 2019)

Karsinoma kolorektal dibedakan menjadi tiga kelompok berdasarkan lokasinya, yaitu: sebelah kanan atau karsinoma kolon proksimal (termasuk sekum, kolon asenden, dan kolon transversum), karsinoma kolon sebelah kiri (lokasinya bisa dimana saja mulai dari fleksura splenik sampai di sigmoid), dan karsinoma rektal. Kebanyakan kanker kolorektal adalah sebelah kiri atau rektal. (Nagtegaal et al., 2019)

### 2.2.1. FAKTOR RESIKO

Di sebagian besar negara, kejadian kanker kolorektal lebih tinggi di antara penduduk perkotaan daripada di pedesaan, mungkin karena pengaruh makanan. Beberapa populasi pasien juga menunjukkan hubungan yang signifikan antara status sosial (yang diukur dengan tingkat pendidikan tertinggi) dan risiko kanker kolorektal. (Noffsinger, 2017)

Usia masih tetap menjadi faktor risiko terpenting untuk perkembangan kanker kolorektal. Studi epidemiologi dan eksperimental menunjukkan bahwa pengaruh lingkungan memainkan peran utama dalam asal mula penyakit. Faktor risiko kanker kolorektal menurut *World Cancer Research Fund* adalah obesitas, aktivitas fisik, asupan daging merah, daging olahan, dan alkohol. Hubungan merokok dengan kanker kolorektal masih kontroversi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa merokok tembakau menyebabkan kanker kolorektal, dan hubungan ini tampaknya lebih kuat untuk kanker rektal. (Nagtegaal et al., 2019; Noffsinger, 2017; Odze & Goldblum, 2015)

Predisposisi genetik merupakan faktor risiko yang penting dalam perkembangan karsinoma kolorektal, tergantung dari jenis mutasinya (Nagtegaal et al., 2019). Sekitar 5% dari karsinoma kolorektal adalah keturunan, kebanyakan adalah sindrom dominan autosomal. Sindrom yang paling terkenal diketahui adalah poliposis adenomatosa familial (FAP) dan herediter non-poliposis coli (HNPCC). (Molavi, 2018)

Berbeda dengan poliposis adenomatosa familial sindrom di mana risiko karsinoma terkait dengan perkembangan adenoma yang tak

terhitung banyaknya, HNPCC tidak terkait dengan peningkatan pembentukan adenoma kolorektal. HNPCC diklasifikasikan sebagai tipe I (sindrom Lynch I), di mana pasien yang terkena mewarisi kecenderungan untuk perkembangan awal kanker usus besar sisi kanan, atau tipe II (sindrom Lynch II), di samping kanker kolorektal ada kecenderungan meningkat untuk kanker ekstrakolonik juga, termasuk kanker traktus genitourinaria. Riwayat keluarga sangat penting dalam penilaian risiko kanker kolorektal, terutama pada pasien yang lebih muda dari 50 tahun (Iacobuzio-Donahue et al., 2012). Setelah usia 55 tahun, pasien dengan riwayat keluarga tingkat pertama dengan kanker kolorektal hanya memiliki sedikit peningkatan resiko terkena kanker kolorektal dan kematian (Noffsinger, 2017). Resiko meningkat menjadi 100% pada pasien-pasien dengan FAP. (Nagtegaal et al., 2019)

Inflamasi kronik usus merupakan salah satu faktor resiko dalam perkembangan karsinoma kolorektal. Faktor resiko yang lain walaupun jarang yaitu riwayat radiasi pada pelvis, fibrosis kistik, ureterosigmoidostomy, dan akromegaly. (Nagtegaal et al., 2019)

Diet tinggi sayuran, buah-buahan, dan biji-bijian telah dikaitkan dengan penurunan risiko kanker kolorektal. Ada bukti yang menyatakan tentang peran serat makanan dalam mengurangi risiko kanker kolorektal. Mekanisme perlindungan oleh serat meliputi pengurangan waktu transit feses melalui usus, pengenceran karsinogen feses, pengaturan mikrobiota usus, pengikatan asam empedu karsinogenik, dan produksi asam lemak rantai pendek. Serat juga dapat menurunkan pH tinja, yang tampaknya bersifat melindungi. (Noffsinger, 2017)

Beberapa studi epidemiologi menunjukkan bahwa aspirin atau NSAID lain memiliki efek perlindungan. Hal ini konsisten dengan penelitian yang menunjukkan bahwa beberapa NSAID menyebabkan regresi polip pada pasien dengan FAP dimana rektum dibiarkan di tempatnya setelah kolektomi. Diduga efek ini dimediasi oleh penghambatan enzim cyclooxygenase-2 (COX-2), yang banyak diekspresikan dalam 90%

karsinoma kolorektal dan 40% hingga 90% adenoma dan diketahui meningkatkan proliferasi epitel, terutama sebagai respons terhadap cedera. (Kumar et al., 2018)

### **2.2.2. KARSINOGENESIS**

Kombinasi peristiwa molekuler yang mengarah ke adenokarsinoma kolorektal bersifat heterogen dan termasuk kelainan genetik dan epigenetik. Kebanyakan karsinoma kolorektal berkembang melalui jalur konvensional dari adenoma-karsinoma klasik. Akumulasi perubahan genetik merupakan peristiwa penting dalam perkembangan dari adenoma menjadi karsinoma. Untuk mengakumulasi berbagai perubahan genetik yang khas pada kebanyakan karsinoma kolorektal, sel tumor harus mengalami mutasi dan perubahan epigenetik pada tingkat yang lebih tinggi dibandingkan dengan sel epitel kript normal. Peningkatan akuisisi dan toleransi mutasi adalah ciri khas perkembangan karsinoma kolorektal, dan disebut sebagai ketidakstabilan genom. Ada dua bentuk umum ketidakstabilan genom yang penting untuk perkembangan neoplasia kolorektal, yaitu ketidakstabilan kromosom (*chromosomal Instability / CIN*) dan ketidakstabilan mikrosatelit (*microsatellite instability / MSI*). Jalur penggerak ketiga dalam perkembangan karsinoma kolorektal adalah akumulasi gen *silencing* epigenetik (*CpG Island Methylator Phenotype / CIMP*). (Kumar et al., 2018; Nagtegaal et al., 2019; Odze & Goldblum, 2015)

#### **1) Ketidakstabilan kromosom (*Chromosomal Instability / CIN*)**

CIN ditandai dengan peningkatan dan kehilangan kromosom yang terus-menerus, yang menyebabkan perubahan jumlah DNA somatik yang tinggi (*somatic copynumber alterations/ SCNAs*), dengan penguatan/amplifikasi dan kehilangan/ delesi DNA yang menghasilkan kelompok gen yang lebih kecil. CIN terjadi pada 70% hingga 80% karsinoma kolorektal dan merupakan jalur utama yang mendasari perkembangan adenoma-karsinoma konvensional. Perubahan genetik yang paling sering dan khas

pada jalur adenoma-karsinoma kolorektal konvensional termasuk alterasi menjadi APC, KRAS, TP53, SMAD4, atau PIK3CA terjadi pada 84% jalur ketidakstabilan kromosomal ini. (Nagtegaal et al., 2019; Odze & Goldblum, 2015)

Kebanyakan alterasi *APC* adalah mutasi inaktif yang ditemukan pada 80% adenoma dan karsinoma, yang muncul sangat awal dalam urutan patogenesis dan memulai pembentukan adenoma. Agar adenoma berkembang, kedua salinan gen penekan tumor APC harus dinonaktifkan secara fungsional, baik melalui mutasi atau peristiwa epigenetik. APC adalah kunci regulator negatif dari  $\beta$ -catenin, sebuah komponen dari jalur persinyalan Wnt. Protein APC secara normal mengikat dan mempromosi degradasi  $\beta$ -catenin. Mutasi ini biasanya menyebabkan pemotongan protein APC, dengan penurunan kemampuan untuk langsung mendegradasi  $\beta$ -catenin dengan demikian melepaskan  $\beta$ -catenin dari regulasi fosforilasi oleh glikogen sintase kinase-3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) yang mengakibatkan akumulasi  $\beta$ -catenin pada inti, mengaktifkan transkripsi sejumlah target hilir lain, seperti cyclin D dan Myc dan menyebabkan pensinyalan abnormal melalui jalur Wnt. Ini diikuti dengan mutasi tambahan, termasuk aktivasi mutasi KRAS, yang juga mendorong pertumbuhan dan mencegah apoptosis. Studi microarray terbaru menunjukkan bahwa profil transkripsi dari aktivasi  $\beta$ -catenin menyerupai program stem sel dari kripta usus. APC juga terlibat dalam interaksi sitoskeletal, dan, meskipun peran potensial paling penting dalam tumorigenesis belum didefinisikan secara tepat, APC telah langsung diimplikasikan dalam adhesi sel-sel, migrasi, segregasi kromosom (stabilitas genom), dan apoptosis. (Kumar et al., 2018; Nagtegaal et al., 2019; Odze & Goldblum, 2015)

Bukti lebih lanjut tentang pentingnya abnormalitas pensinyalan Wnt pada tumorigenesis kolorektal dibuktikan dengan adanya mutasi pada gen  $\beta$ -catenin (CTNNB1) pada beberapa tumor yang tidak memiliki mutasi APC. Berbeda dengan mutasi APC yang tidak aktif, mutasi CTNNB1

residu asam amino target yang terintegrasi dengan fosforilasi, mengakibatkan aktivasi onkogenik dari pensinyalan Wnt. (Kumar et al., 2018; Nagtegaal et al., 2019; Odze & Goldblum, 2015)

Mutasi *KRAS* ditemukan pada 40% dari adenoma dan kanker pada lokasi spesifik (kodon 12, 13, 61, dan lainnya), aktivasi onkoprotein *KRAS* dengan mengurangi atau menonaktifkan aktivitas enzimatik GTPase intrinsiknya, sehingga menahan protein dalam keadaan aktif terikat GTP. Hal ini mengirimkan sinyal konstitutif melalui jalur pensinyalan proliferasi RAS-RAF-MEK-ERK (MAPK), yang dapat mengaktifkan mutasi *BRAF*. Selain itu, *KRAS* juga dimasukkan ke dalam jalur penekan apoptosis PI3K, yang juga dapat diaktifkan oleh mutasi pada *PIK3CA* atau *PTEN*. Progresi neoplastik juga dikaitkan dengan mutasi tumor supresor gen lain, yaitu *SMAD2* dan *SMAD4*, yang merupakan efektor sinyal TGF- $\beta$ . Secara normal, sinyal TGF- $\beta$  menghambat siklus sel, maka kehilangan gen ini dapat menyebabkan pertumbuhan sel yang tidak terkendali. (Kumar et al., 2018; Nagtegaal et al., 2019)

Gen penekan tumor *TP53*, yang mengkode P53, kadang-kadang disebut penjaga genom, karena responnya terhadap kerusakan DNA dan stres lainnya dengan menginduksi penghentian siklus sel melalui p21, sehingga memberi kesempatan untuk memperbaiki DNA yang rusak, atau menginduksi apoptosis melalui BAX (dan protein lain) ketika terjadi kerusakan DNA yang lebih berat. Mutasi yang menonaktifkan fungsi p53 ditemukan pada 60% kanker, dan mutasi ini sering terjadi pada tahap akhir perkembangan adenoma-karsinoma pada kanker sporadik, meskipun dapat terjadi lebih awal pada karsinogenesis yang berhubungan dengan penyakit inflamasi usus. Hilangnya fungsi gen *TP53* dan gen supresor tumor yang lain sering disebabkan oleh delesi kromosom, yang dapat disimpulkan bahwa instabilitas kromosom merupakan penanda dari APC/ $\beta$ -catenin pathway. (Kumar et al., 2018; Nagtegaal et al., 2019)

## **2) Ketidakstabilan mikrosatelit (*microsatellite instability / MSI*)**

MSI karena defek dalam perbaikan ketidakcocokan DNA (*DNA mismatch repair/ MMR*) mempengaruhi sejumlah besar gen. MSI ditandai dengan perubahan yang tersebar luas dalam ukuran urutan DNA berulang, yang terjadi pada sekitar 10% hingga 15% dari karsinoma kolorektal. Mutasi ini umumnya diam, karena mikrosatelit biasanya berada di daerah nonkode, tetapi urutan mikrosatelit lainnya terletak di daerah pengkodean atau promotor gen yang terlibat dalam regulasi pertumbuhan sel, seperti yang mengkode reseptor TGF- $\beta$  tipe II dan protein pro apoptosis BAX. Karena TGF- $\beta$  menghambat proliferasi sel epitel kolon, reseptor TGF- $\beta$  tipe II mutan dapat berkontribusi dalam pertumbuhan sel yang tidak terkontrol, sementara kehilangan BAX dapat meningkatkan kelangsungan hidup klon yang abnormal secara genetik. Dalam subset kanker usus besar dengan ketidakstabilan mikrosatelit, ada yang tidak mengalami mutasi pada enzim perbaikan ketidakcocokan DNA. Tumor ini menunjukkan hipermetilasi fenotip pulau CpG. Pada tumor ini, daerah promotor MLH1 biasanya mengalami hipermetilasi sehingga mengurangi ekspresi MLH1 dan fungsi perbaikan. Ini adalah karakteristik dari banyak karsinoma kolorektal yang timbul pada neoplastik bergerigi (*serrated*). MSI juga merupakan mekanisme yang mendasari perkembangan kanker sindrom Lynch, yang disebabkan oleh cacat bawaan pada DNA MMR. Pada sindrom Lynch, MSI berkembang dalam adenoma konvensional dan mendorong perkembangan cepat menjadi kanker. (Kumar et al., 2018; Nagtegaal et al., 2019; Odze & Goldblum, 2015)

## **3) CpG island methylator phenotype (CIMP)**

CIMP adalah akuisisi yang tersebar luas dari hipermetilasi dinukleotida CpG di daerah promotor gen. Disebut sebagai perubahan epigenetik (karena tidak mengubah urutan DNA), ini merupakan mekanisme utama dari inaktivasi gen penekan tumor seperti TP16, CDHI, dan MLH1. Metilasi pulau CpG yang tersebar luas disini berbeda dengan metilasi yang sangat terbatas yang terjadi di sebagian besar karsinoma kolorektal, dan ini

dikenal sebagai CIMP frekuensi tinggi (CIMP-H). CIMP-H adalah gambaran karakteristik dari karsinoma kolorektal yang muncul di jalur bergerigi (*serrated pathway*), dan muncul di 20% hingga 30% karsinoma kolorektal, termasuk hampir semua kanker yang juga mempunyai *silencing* hipermetilasi MLH1. Genetik yang mendasari dasar fenotipe CIMP-H kurang dipahami, tapi ada bukti bahwa faktor genetik dan paparan lingkungan (misalnya, merokok, penghentian estrogen) mungkin terkait dengan perkembangan karsinoma pada jalur bergerigi (*serrated pathway*). Sebuah hipotesis kerja berkembang dimana faktor genetik dan epidemiologi berkontribusi pada kejadian metilasi abnormal polip bergerigi kolon kanan dan mempengaruhi untuk terjadinya *silencing* metilasi dari MLH1, MGMT, dan gen penting lainnya. Mungkin kejadian ini mendorong perkembangan dari displasia menjadi adenokarsinoma. Karsinoma yang berkembang ini disebut sebagai adenokarsinoma "bergerigi" dan sering ditemukan fenotipe molekuler MSI-H atau CIMP-H, atau keduanya. (Odze & Goldblum, 2015)

### **2.2.3. MANIFESTASI KLINIK & METASTASIS**

Gejala yang sering muncul pada pasien karsinoma kolorektal termasuk perubahan pola defekasi yang persisten, anemia dan hematokezia, nyeri perut, sembelit, perut kembung, atau tenesmus (untuk lesi rektosigmoid). Kanker kolon kanan lebih kecil kemungkinannya terkait dengan gejala obstruktif karena kandungan tinja cair di kolon proksimal dan kaliber lumen lebih besar. Tumor kolon cecal dan ascending juga memiliki rata-rata kehilangan darah harian empat kali lebih tinggi daripada tumor di lokasi kolon lain. Oleh karena itu, kelemahan, malaise, kelelahan, dan penurunan berat badan pada pasien tersebut dapat terjadi akibat anemia defisiensi besi. Gagal jantung atau angina pektoris mungkin merupakan gejala yang muncul pada pasien anemia. (Nagtegaal et al., 2019; Noffsinger, 2017; Odze & Goldblum, 2015)

Perubahan kebiasaan buang air besar mempengaruhi 22% sampai 58% pasien dengan karsinoma kolorektal dan paling sering terjadi ketika neoplasma muncul di usus besar kiri. Perubahannya seringkali minimal, tetapi progresif, dan termasuk diare dan sensasi pengosongan rektal yang tidak lengkap atau inkontinensia. Saat tumor tumbuh dan semakin mengelilingi dinding usus, kaliber tinja menurun dan sembelit, obstipasi, dan tanda-tanda obstruksi usus lainnya muncul. (Noffsinger, 2017)

Banyak pula pasien yang tanpa gejala yang terdiagnosa saat skrining melalui pemeriksaan darah samar feses atau melalui endoskop. Evaluasi dengan endoskop dapat memperlihatkan gambaran karsinoma kolorektal dan lesi-lesi prekursor pada permukaan mukosa usus besar. (Nagtegaal et al., 2019)

Antigen karsinoembrionik (CEA) adalah antigen terkait glikokaliks yang telah terdeteksi dalam serum 72% -97% pasien dengan karsinoma kolorektal. Antigen ini akan hilang setelah reseksi tumor dan muncul kembali jika terjadi kekambuhan atau metastasis. Nilai yang lebih tinggi ditemukan pada tumor yang telah menyebar ke luar dinding usus, di neoplasma berdiferensiasi buruk, dan pada tumor yang berhubungan dengan invasi angiolimfatik dan perineurial. Tes ini seringkali negatif pada stadium awal karsinoma kolorektal dan karena itu tidak efektif sebagai alat skrining. Kegunaan utamanya terletak pada pemantauan terapi, dalam deteksi dini metastasis, dan sebagai indikator untuk tinjauan kedua pembedahan. (Goldblum et al., 2018)

Di negara berisiko rendah, karsinoma sekum dan kolon ascendens terjadi lebih sering daripada karsinoma kolon kiri, sedangkan di negara berisiko tinggi, karsinoma kolorektal lebih sering muncul di daerah rektosigmoid, distribusi serupa juga terlihat pada Amerika Serikat. (Noffsinger, 2017)

Penyebaran adenokarsinoma kolorektal dapat terjadi intramural atau intraluminal, yaitu melalui invasi perineural, limfatik dan atau vena; melalui penyebaran langsung ke struktur di dekatnya; melalui kavum peritoneal

dan membran serosa; atau pun melalui implantasi pada luka operasi dan tempat anastomosis. (Noffsinger, 2017) Invasi limfatik, yaitu adanya sel tunggal atau kelompok sel tumor di saluran limfatik yang merupakan faktor risiko morfologis untuk adanya metastasis kelenjar getah bening. (Nagtegaal et al., 2019) Penyebaran melalui pembuluh limfatik adalah jalur paling umum untuk penyebaran awal karsinoma. (Kumar, Vinay., Abbas, Abul K., Aster, 2021) Invasi vaskular dapat disubklasifikasikan menurut lokalisasi yaitu di dalam dinding usus (invasi vaskular intramural dan di luar dinding usus atau ektramural. (Nagtegaal et al., 2019)

Pasien dengan karsinoma kolorektal sering mengalami metastasis jauh. Tempat paling umum dari metastasis karsinoma kolorektal adalah kelenjar getah bening regional dan hati. Hati adalah tempat utama dari metastasis hematogen, diikuti oleh paru. Metastasis hati terjadi pada saat diagnosis pada 15% sampai 25% pasien dan akan berkembang pada 60% pasien dengan penyakit progresif. Insiden metastasis bervariasi dengan ukuran dan lokasi tumor dan keterlibatan kelenjar getah bening regional. Secara keseluruhan, 75% hingga 77% dari metastasis jauh melibatkan hati, 5% hingga 50% melibatkan paru, dan 5% hingga 8% melibatkan otak. Pasien dengan metastasis hati mungkin menunjukkan metastasis sekunder ke kelenjar getah bening yang mengalir ke hati. (Goldblum et al., 2018; Noffsinger, 2017)

Karsinoma rektal bermetastasis ke tulang lebih sering daripada karsinoma kolon melalui drainase vena, karena tumor rektal terletak berdekatan dengan pleksus vena paravertebral. Distribusi metastasis tulang terutama ke tulang belakang, diikuti oleh panggul. Pasien dengan tumor tersembunyi mungkin awalnya datang dengan metastasis tulang. (Noffsinger, 2017)

#### **2.2.4. GAMBARAN MAKROSKOPIK DAN HISTOPATOLOGI**

Gambaran makroskopik karsinoma kolorektal bervariasi, dengan tipe endofitik dan eksofitik, dan berbagai derajat fibrosis. Tumor besar,

eksofitik, dan polypoid adalah yang paling banyak dan sering terjadi di sekum, jarang menyebabkan obstruksi, dan sering menjadi cukup besar sebelum terjadinya gejala klinis. Tipe yang biasa ditemukan yaitu dengan ulserasi dengan tepi yang tidak rata meluas ke sekeliling kolon. Karsinoma kecil berukuran diameter 1 sampai 2 cm, biasanya berwarna merah, granular, lesi seperti kancing yang secara variatif terangkat di atas permukaan mukosa yang berwarna kecokelatan, dan seringkali berbatas tegas. (Nagtegaal et al., 2019; Noffsinger, 2017; Odze & Goldblum, 2015)

Adenokarsinoma yang timbul di kolon transversal dan desendens biasanya menjadi infiltratif dan ulserasi, menghasilkan tumor annular dan konstiksi, memberi gambaran khas berupa lesi "*apple-core*" pada studi barium. Secara makroskopik, lesi ini tampak bulat tidak teratur, dengan tepi yang menonjol, warna merah muda atau putih pucat dan cekung di tengah. Usus biasanya melebar di bagian proksimal tumor. Tumornya keras karena reaksi stroma desmoplastik. Nekrosis sentral dan ulserasi tumor transmural dapat menyebabkan perforasi dan peritonitis. (Noffsinger, 2017; Odze & Goldblum, 2015)

Karsinoma kolorektal infiltrasi difus jarang terjadi, tetapi bila terjadi, mereka mengubah usus besar menjadi tabung yang kaku menyerupai *gastric linitis plastica*. Pola pertumbuhan lainnya adalah karsinoma yang datar atau superfisial yang baru dikenali, yang timbul dari adenoma datar. Karsinoma ini sering muncul sebagai plak datar pada permukaan mukosa dengan invasi intramural yang luas. (Noffsinger, 2017; Odze & Goldblum, 2015)

Mayoritas (90-95%) dari seluruh karsinoma kolorektal adalah adenokarsinoma. Ciri khasnya adalah adanya invasi melalui muskularis mukosa ke dalam submukosa. Meskipun kebanyakan kasus di diagnosis sebagai adenokarsinoma NOS, beberapa subtype histopatologi dapat dibedakan dengan karakteristik klinik dan molekular yang spesifik. (Nagtegaal et al., 2019; Noffsinger, 2017)

Karsinoma yang berdiferensiasi baik dapat menunjukkan lipatan papiler intraglandular. Sel-selnya menunjukkan sitologi yang anaplasia, meskipun dapat ditemukan adanya tumor ganas yang berdiferensiasi dengan baik sehingga sulit untuk membuat diagnosis keganasan. Gambaran mikroskopis yang mendukung adenokarsinoma invasif termasuk respon desmoplastik yang menonjol, infiltrasi kelenjar-kelenjar kecil yang angulasi atau sel-sel tunggal, dan kompleksitas arsitektur termasuk pola pertumbuhan cribriform dan / atau lembaran sel yang solid. Namun, ada beberapa karsinoma kolorektal yang menyerang dinding usus tanpa menimbulkan banyak respons desmoplastik. Tumor semacam itu dapat menyebabkan masalah diagnostik, terutama jika pasien terkait dengan divertikulosis. Produksi musin berkisar dari hampir tidak ada hingga tumor yang menghasilkan begitu banyak musin sehingga disebut sebagai karsinoma musinosum. Banyak karsinoma eksofitik menunjukkan struktur papiler. Tumor infiltratif terdiri dari sel-sel individu atau sekelompok kecil tumor di bagian invasif (tumor budding). (Lamps et al., 2016; Noffsinger, 2017)

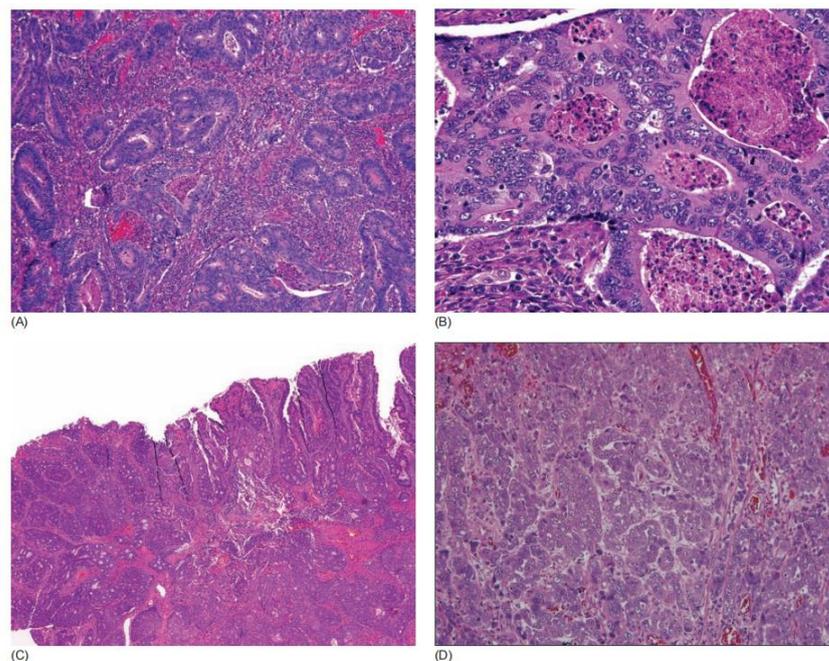
### **2.2.5. GRADING DAN PROGNOSIS**

Grading karsinoma kolorektal berdasarkan pada bentukan kelenjar (WHO, 2019) yaitu *low grade* (diferensiasi baik sampai sedang) dan *high grade* (diferensiasi jelek) tumor. (Nagtegaal et al., 2019)

- Tumor diferensiasi baik: Lebih dari 95% tumor mempunyai bentuk kelenjar yang regular, kistik, atau tubular dengan lumen yang terbuka. Terdiri dari sel-sel tumor kuboid atau kolumnar dengan sitoplasma eosinofilik atau jernih dengan jumlah yang bervariasi. Inti selnya vesikuler dengan kromatin kasar. (Damjanov & Fan, 2013)
- Tumor diferensiasi sedang: Bentukan kelenjar 50-95% dari tumor. Sel tumor pada area yang tidak berbentuk kelenjar mungkin tersusun dalam kelompok-kelompok yang ireguler atau sarang-sarang solid. Daerah

dengan bentukan kelenjar bisa memperlihatkan pola kribriform atau inti yang berlapis-lapis. (Damjanov & Fan, 2013)

- Tumor berdiferensiasi jelek: Bentukan kelenjar kurang dari 50% massa tumor. Kebanyakan sel neoplastik tersusun dalam lembaran solid, sarang-sarang, atau pita-pita. Kelenjar mempunyai bentuk yang jelek, dan sel-sel tumor sangat pleomorfik. Dapat ditemukan sel-sel tunggal yang menginvasi jaringan di dekatnya dan dapat menunjukkan bentuk morfologi sel *signet ring*. (Damjanov & Fan, 2013)



**Gambar 3.** Adenokarsinoma kolorektal *low-grade* (A-B), Adenokarsinoma *high grade* (C–D) (Lamps et al., 2016)

Dalam karsinoma kolorektal, penyebaran tumor secara anatomis adalah prediktor hasil yang paling penting. Selama bertahun-tahun, ahli patologi telah menggunakan sistem klasifikasi Dukes, tetapi dalam upaya untuk memiliki sistem yang lebih diterima secara internasional, sistem staging TNM, yang diadopsi oleh UICC (*Union International Center Cancer*) dan AJCC (*American Joint Committee on Cancer*), sekarang paling banyak digunakan di Amerika Utara. Klasifikasi TNM untuk karsinoma kolon dan rektum kompatibel dengan klasifikasi Dukes, tetapi

lebih akurat dalam mengidentifikasi beberapa subkelompok prognostik. Seperti klasifikasi Dukes, klasifikasi TNM didasarkan pada kedalaman invasi tumor ke dinding usus, perluasan ke struktur yang berdekatan, dan jumlah kelenjar getah bening regional yang terlibat, serta ada atau tidaknya metastasis jauh. Klasifikasi TNM berlaku untuk stadium klinis dan patologis. (Noffsinger, 2017)

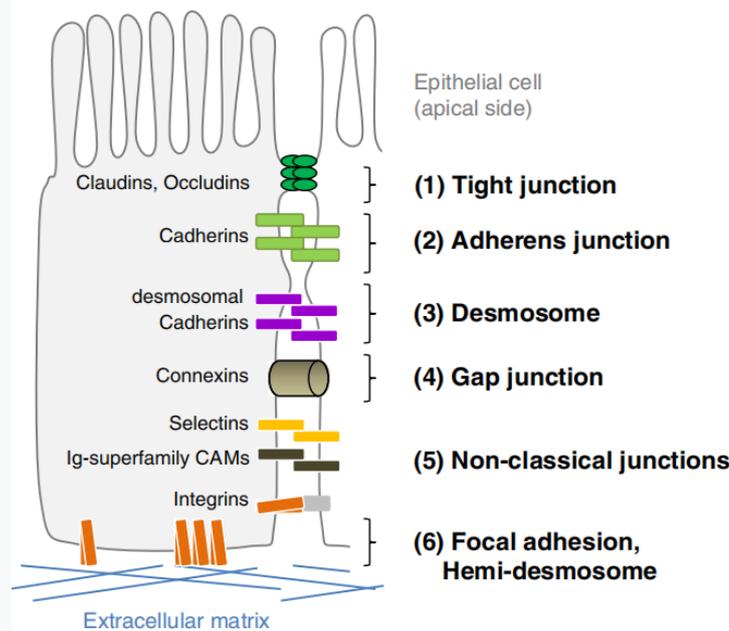
Banyak faktor yang mempengaruhi prognosis pasien karsinoma kolorektal, termasuk adanya penyakit yang sudah ada sebelumnya seperti sindrom herediter (misalnya, poliposis adenomatosa familial atau sindrom Lynch) dan penyakit radang usus (misalnya kolitis ulserativa atau penyakit Crohn); juga, karakteristik pertumbuhan tumor, termasuk adanya invasi vaskular atau limfatik (baik mural maupun ektramural), ukuran dan derajat tumor, dan, sampai batas tertentu, metode dan tingkat pengobatan. Jenis kelamin pasien, lokasi tumor di dalam usus besar, dan adanya perforasi atau obstruksi juga mempengaruhi prognosis. Metastasis ke peritoneum, kelenjar limfe, dan liver adalah penyebab kematian utama pada kanker kolorektal (Noffsinger, 2017; Wang et al., 2018)

Beberapa penelitian telah menemukan bahwa penetrasi peritoneum visceral (keterlibatan serosa) menjadi indikator prognostik merugikan yang penting. Namun, kadang sulit untuk menentukan status keterlibatan peritoneal dalam beberapa kasus. Keterlibatan kelenjar getah bening regional (N) juga merupakan parameter prognostik kritis. Setidaknya harus ada 10 (dan idealnya 12) kelenjar getah bening diperiksa pada spesimen yang belum menjalani terapi neoadjuvant. Beberapa telah menemukan rasio kelenjar getah bening yang terkena dengan jumlah total kelenjar getah bening menjadi faktor prognostik penting. Adekuasi eksisi bedah juga merupakan faktor prognostik yang penting. (Goldblum et al., 2018)

### **2.3. EpCAM**

Adhesi sel dimediasi oleh molekul adhesi sel transmembran (*Cell adhesion molecules* / CAMs), yang dibagi menjadi empat keluarga:

cadherin, selektin, integrin, dan superfamili imunoglobulin (IgSF). Satu protein adhesi sel yang tidak sesuai dengan keluarga molekul adhesi “klasik” tersebut, yang ditemukan sebagai salah satu penanda kanker pertama, adalah molekul adhesi sel epitel (EpCAM; CD326), dimana EpCAM secara struktural berbeda dari protein CAM ini. Interaksi homofilik yang dimediasi oleh EpCAM relatif lemah dibandingkan dengan yang dimediasi oleh protein CAM. Namun, ekspresi ektopik EpCAM mampu menghadirkan dua sel tetangga menjadi dekat. Ini menunjukkan bahwa EpCAM mengambil mekanisme adhesi sel yang berbeda. EpCAM tidak terkait dengan struktur *junctional* klasik tetapi akan meningkatkan kontak sel-sel melalui pembentukan trans-oligomer antar sel. Pada tingkat molekuler EpCAM berinteraksi dengan protein adhesi yang berbeda seperti CD44, claudin dan E-cadherin. (Aiman Mohtar et al., 2020; Keller et al., 2019; Schnell et al., 2013)



**Gambar 4.** Molekul adhesi sel dan kompleks tautan di jaringan epitel.

(Schnell et al., 2013)

Protein EpCAM ditemukan hampir 40 tahun yang lalu sebagai antigen karsinoma epitel utama oleh M. Herlyn dan rekan-rekannya, sebagai hasil dari khasiatnya untuk menghasilkan antibodi monoklonal

yang mengikat secara khusus pada sel karsinoma kolorektal manusia. (Keller et al., 2019)

Pada jaringan dewasa yang normal, EpCAM diekspresikan pada membran basolateral dari jaringan epitel normal, kecuali epitel squamous. EpCAM tidak ditemukan dalam sel yang berasal dari limfoid dan sel yang diturunkan dari sumsum tulang, atau pada jaringan mesenkim, otot, dan neuroendokrin. Umumnya, tingkat ekspresi berbeda antar jaringan. Pada orang dewasa, EpCAM diekspresikan di sebagian besar organ dan kelenjar, dengan ekspresi tertinggi di usus besar. Biasanya EpCAM tinggi di jaringan dalam sel yang berproliferasi, dan rendah dalam sel yang berdiferensiasi (Chai et al., 2015; Schnell et al., 2013; van der Gun et al., 2010).

Di epitel usus, ada gradien ekspresi EpCAM dari kriptas (di mana sel induk usus berada) ke vili (di mana sel-sel yang berdiferensiasi berada), dimana tingkat ekspresi EpCAM tinggi terletak pada kriptas, dan menurun saat sel berdiferensiasi, di bagian atas vili. (Fanali et al., 2014; Keller et al., 2019)

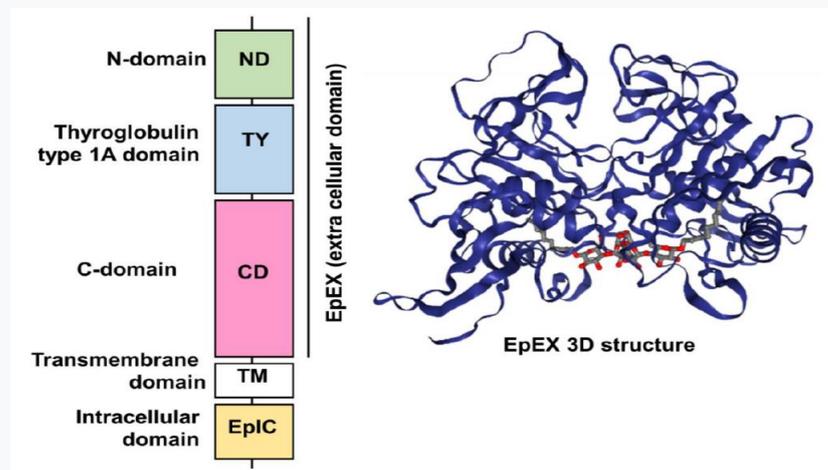
### **2.3.1. STRUKTUR EpCAM**

EpCAM adalah molekul adhesi sel homofilik, kalsium-independen (sejenis glikoprotein transmembran tipe I) 39-42 kDa, dikodekan oleh gen *TACSTD1* pada lengan panjang kromosom 2p21 (Liao et al., 2015). EpCAM terdiri dari domain ekstraseluler (EpEX), domain transmembran tunggal (TM) dan domain intraseluler pendek (EpICD). (Eslami-S et al., 2020; Imrich et al., 2012)

Domain ekstraseluler (EpEX) terdiri dari N-Domain yang berisi *epidermal growth factor-like domain*, domain tiroglobulin tipe 1A (domain TY), dan domain-C (*cysteine-poor domain*). (Eslami-S et al., 2020; van der Gun et al., 2010) Faktor pertumbuhan epidermal dan domain tiroglobulin di bagian ekstraseluler membentuk struktur globular dan diperlukan untuk adhesi homofilik sel-sel (van der Gun et al., 2010). EpEX berfungsi

sebagai ligan dan agonis terlarut untuk sel yang mengekspresikan EpCAM, kemungkinan menyediakan sinyal aktivasi otomatis dan parakrin. Kontak sel ke sel telah diidentifikasi sebagai pemicu awal untuk aktivasi EpCAM (Munz et al., 2009).

Domain transmembran 23 asam amino jalur tunggal berinteraksi dengan Claudin-7 di mana kompleks ini diyakini mempromosikan tumorigenesis (Aiman Mohtar et al., 2020). Domain intraseluler pendek yang hanya terdiri dari 26 asam amino sangat penting untuk transduksi sinyal dependen EpCAM dari membran plasma ke nukleus (Imrich et al., 2012). Domain intraseluler juga menghubungkan EpCAM dengan sitoskeleton aktin melalui  $\alpha$ -aktinin yang penting untuk lokalisasi EpCAM pada kontak antarsel dan dalam kemampuan EpCAM memediasi adhesi. (Schnell et al., 2013)



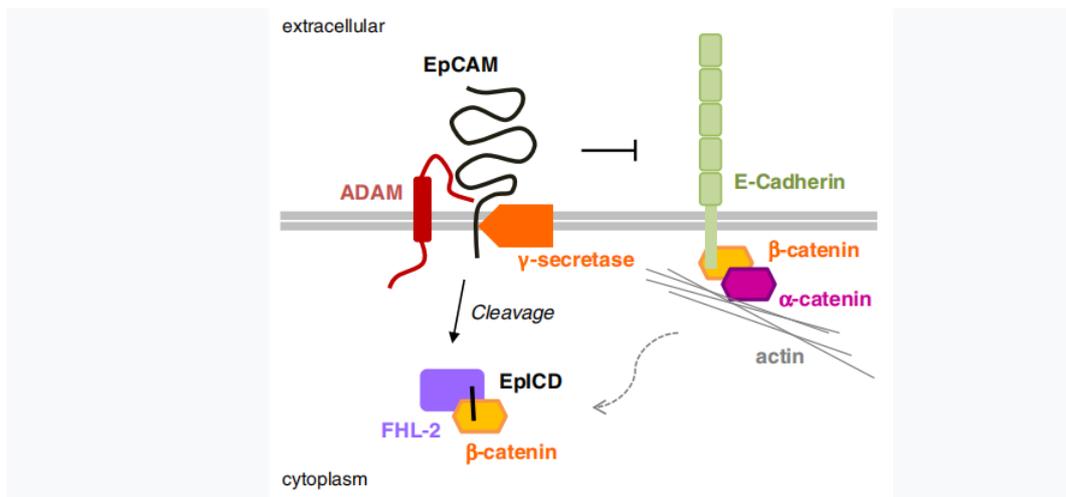
**Gambar 5.** Diagram skematis struktur panjang keseluruhan protein EpCAM dan struktur kristal dari cis-homodimer EpCAM ekstraseluler. (Keller et al., 2019)

### 2.3.2. PERAN EpCAM DALAM KANKER KOLOREKTAL

EpCAM terlokalisasi pada membran basolateral di jaringan epitel normal dalam adhesi yang diperantarai oleh anggota keluarga protein cadherin. Molekul EpCAM terakumulasi dalam cluster independen cadherin tetapi tidak ada di *tight junctions* dan desmosome. Pada karsinoma, ekspresi meningkat pada membran, sering juga disertai dengan ekspresi sitoplasma. Selain itu, EpCAM ditemukan mengalami

hiperglikosilasi dalam jaringan karsinoma dibandingkan dengan epitel autologus yang sehat. Winter dkk., menunjukkan bahwa EpCAM memodulasi kontak yang dimediasi cadherin melalui antagonis E-cadherin, menyebabkan pergeseran adhesi dari kuat ke lemah (Boesch et al., 2018; van der Gun et al., 2010)

Ketika diekspresikan bersama dalam sel yang mengekspresikan E-cadherin, EpCAM melemahkan adhesi antar sel yang dimediasi E-cadherin. Hal ini disebabkan oleh penurunan stabilitas adhesi yang dimediasi E-cadherin karena EpCAM mengganggu asosiasi E-cadherin dengan sitoskeleton dengan menghancurkan ikatan antara  $\alpha$ -catenin dan F-aktin sehingga melepaskan adhesi sel-sel. Oleh karena itu, dihipotesiskan bahwa EpCAM dapat bertindak sebagai antagonis E-cadherin. Dengan melemahkan adhesi sel-sel yang dimediasi cadherin, EpCAM mungkin mendorong plastisitas sel yang lebih tinggi dalam jaringan epitel, yang dapat membantu meningkatkan proliferasi sel dan motilitas, baik selama morfogenesis, maupun selama perkembangan dan progresi keganasan. Selain itu, asosiasi EpCAM dengan claudin-7 menghambat adhesi sel homotipik yang dimediasi EpCAM, meningkatkan motilitas sel, proliferasi, kelangsungan hidup, karsinogenesis dan pembentukan metastasis. (Schnell et al., 2013; van der Gun et al., 2010) Adhesi antar sel yang rusak mendukung proliferasi, migrasi, dan diferensiasi, sehingga EpCAM dianggap sebagai molekul prometastatik. (Boesch et al., 2018; Trzpis et al., 2007) Level EpCAM rendah menghasilkan koheren yang tinggi, konfigurasi non-motil, sementara tingkat yang lebih tinggi akan mengubahnya menjadi jaringan dinamis yang menampilkan perilaku invasif. (Fagotto, 2020)



**Gambar 6.** Sinyal *cross-talk* EpCAM dengan E-cadherin. (Schnell et al., 2013)

Selain mempengaruhi adhesi yang dimediasi E-cadherin, EpCAM terlibat dalam regulasi integritas epitel dengan mempengaruhi komposisi dan fungsi *tight junctions* dengan mengatur lokalisasi intrasel dan degradasi claudin melalui interaksi langsung domain TM-nya dengan claudin-7. Interaksi langsung claudin-7 dengan EpCAM bisa mengganggu oligomerisasi EpCAM yang merupakan prasyarat untuk adhesi sel homofilik yang dimediasi EpCAM. Bersamaan dengan mengganggu adhesi sel-sel yang dimediasi EpCAM, kompleks EpCAM-claudin-7 meningkatkan motilitas sel. EpCAM berkolokalisasi dengan sitoskeleton aktin. Namun, claudin-7 berkolokalisasi dengan aktin hanya jika dikaitkan dengan EpCAM. Claudin-7 yang terkait EpCAM direkrut kedalam *tetraspanin-enriched membrane microdomains (TEM)*. Lokasi TEM dalam kompleks claudin-7-EpCAM mendukung proliferasi disertai dengan sinyal ekstraseluler berkelanjutan – regulasi fosforilasi kinase-1/2 (*extracellular signal regulated kinase/ERK*), upregulasi protein antiapoptosis, dan resistensi obat, tetapi tidak adhesi sel-sel yang dimediasi EpCAM. Motilitas yang meningkat mungkin didukung oleh kolokalisasi dari claudin-7 dengan bundel aktin. Kompleks claudin-7-EpCAM berhubungan dengan induksi proliferasi, kemungkinan melalui jalur protein kinase yang diaktivasi oleh mitogen (*mitogen-activated protein kinase/MAPK*), serta

mendukung aktivasi jalur anti apoptosis dan inaktivasi proapoptosis. Resistensi apoptosis disertai dengan peningkatan regulasi fosforilasi Akt dan peningkatan protein antiapoptosis Bcl-2 dan Bcl-xL dan inaktivasi protein proapoptosis BAD yang mengkonfirmasi asosiasi EpCAM-claudin-7 menjadi penentu resistensi obat. (Nübel et al., 2009)

Meskipun EpCAM mampu mempromosikan interaksi sel-sel homofilik, antagonisme fungsionalnya pada adhesi yang dimediasi E-cadherin menunjukkan bahwa ia berperan sebagai modulator kekuatan adhesi sel bukan sebagai promotor agregasi sel epitel dan formasi kompleks junctional. Dalam hal ini, dibandingkan dengan adhesi yang dimediasi cadherin, efek anti-perekat EpCAM mungkin diatur dengan ketat dan terkoordinasi selama morfogenesis dan regenerasi jaringan, tapi terganggu selama perkembangan neoplasma. (Huang et al., 2018; Schnell et al., 2013)

EpCAM memiliki sifat ganda yaitu dapat memediasi kontak sel ke sel tetapi juga mentransmisikan sinyal dari membran plasma ke dalam nukleus untuk mengatur transkripsi gen (Imrich et al., 2012). Sinyal EpCAM membutuhkan proteolisis intramembran teregulasi (RIP/ *regulated intramembrane proteolysis*), mekanisme transduksi sinyal yang memungkinkan transit informasi yang melewati kompartemen seluler (Eslami-S et al., 2020). Pemrosesan proteolitik yang terkait dengan proliferasi yang dimediasi EpCAM melalui RIP membutuhkan kontak sel-ke-sel sebagai pemicu awal (Schnell et al., 2013).

EpCAM, sebagai substrat dari RIP, pertama kali dipotong oleh *metalloprotease tumor necrosis factor-alpha converting enzyme* (TACE/ADAM17), yang menyebabkan pelepasan EpEX. EpEX dapat bertindak sebagai ligan yang dilepaskan untuk menginduksi pembelahan lebih lanjut dari molekul EpCAM utuh. Pemotongan kedua dimediasi oleh komponen protease dari kompleks *γ-sekretase presenilin 2* (PS-2) yang memotong EpiCD. Selanjutnya terjadi pembebasan EpiCD ke sitoplasma yang kemudian terlibat dalam jalur Wnt melalui kompleks transkripsi

dengan *lymphoid enhancer-binding factor 1* (LEF-1), *four and a half LIM domain protein 2* (FHL2), dan  $\beta$ -catenin yang merupakan efektor hilir dari jalur pensinyalan Wnt. Kompleks ini ditranslokasikan ke inti dan kemudian mengikat promotor gen yang terlibat dalam siklus sel dan regulasi stem sel dengan mengaktifkan jalur transkripsi gen c-Myc dan cyclin D1 sehingga memicu proliferasi sel kanker. (Aiman Mohtar et al., 2020; Eslami-S et al., 2020; Imrich et al., 2012)

Proto-onkogen c-Myc memainkan peran kunci sebagai faktor transkripsi dalam proliferasi, apoptosis, pertumbuhan dan diferensiasi sel dalam sel normal, serta pembaruan sel punca. Hal ini sering diregulasi pada kanker dan merupakan target dari Wnt dan jalur pensinyalan protein-kinase yang diaktivasi oleh mitogen (MAPK), yaitu sering berubah pada kanker kolorektal. (Munro et al., 2018)

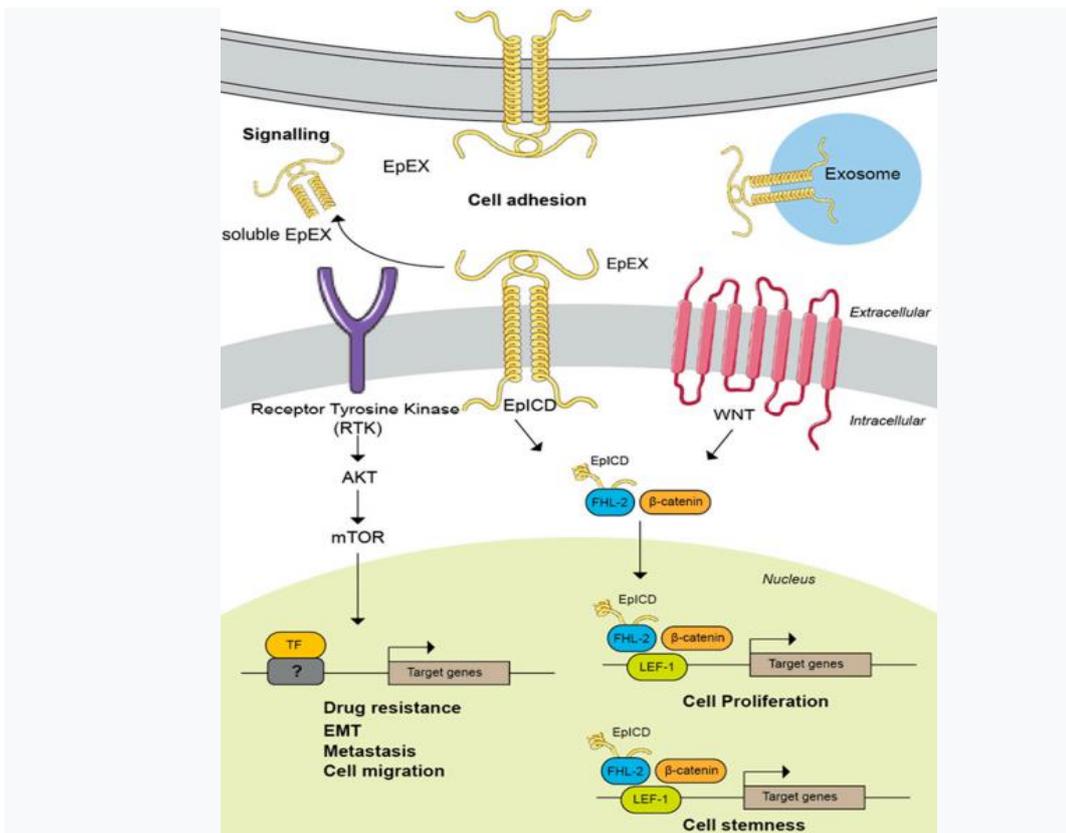
Selain mempromosikan proliferasi sel, jalur pensinyalan Wnt juga berperan dalam mengatur ekspresi gen yang terkait dengan pemeliharaan *cell stemness*, pembaruan diri dan diferensiasi. Dalam konteks EpCAM, pelepasan EpiCD dari membran dan translokasi ke dalam nukleus telah dibuktikan untuk memodulasi ekspresi gen terkait *cells stemness* melalui pengikatannya ke efektor hilir dari jalur pensinyalan Wnt. FHL2 menghubungkan EpCAM ke jalur Wnt melalui interaksi dengan komponen utama jalur sentral ini, yaitu,  $\beta$ -catenin dan Lef-1. Secara keseluruhan, ada umpan balik positif antara EpCAM, melalui EpiCD sitoplasma, dan jalur pensinyalan Wnt dalam mempromosikan tumorigenesis. (Aiman Mohtar et al., 2020; Imrich et al., 2012)

Sampai saat ini, masih belum diketahui di titik mana dalam kaskade pensinyalan EpCAM dan *cross-talk* Wnt terjadi. Namun, EpiCD tidak hanya berinteraksi dengan  $\beta$ -catenin dan Lef-1, tetapi juga berikatan dengan bagian dari Lef-1 dalam promotor gen target Wnt seperti cyclin D1. EpiCD tampaknya penting untuk pembentukan salah satu dari dua protein inti utama / kompleks DNA yang terbentuk pada bagian Lef-1 dalam sel karsinoma positif EpCAM, menunjukkan bahwa EpiCD dapat

memberikan tingkat regulasi tambahan pada gen target Wnt, yang merupakan pusat dalam regulasi siklus sel dan dengan demikian dapat berperan penting dalam pembaruan diri. (Imrich et al., 2012)

Transduksi sinyal EGF / EGFR memicu pembelahan EpCAM permukaan sel, yang mengarah ke internalisasi inti EpICD, yang mengaktifkan gen yang terlibat dalam fungsi onkogenik, terutama EMT. Mekanisme ini diblokir oleh pengobatan dengan penghambat  $\gamma$ -sekretase yang biasanya mengatur proteolisis intramembran EpCAM dan menghasilkan pelepasan EpEX dari permukaan sel dan pelepasan EpICD di sitoplasma (Eslami-S et al., 2020). EpICD yang ditranslokasi dari sitoplasma ke nukleus juga mengatur ekspresi gen faktor pemrograman ulang (c-Myc, Okt3/4, Nanog, Sox2) baik dalam bentuk sel induk embrionik atau menginduksi sel induk pluripotent. (Liang et al., 2018; Lin et al., 2012)

Setelah proteolisis intramembran teregulasi EpCAM, domain ekstraseluler yang terlarut dapat bertindak sebagai ligan untuk reseptor tirosin kinase (RTKs) dan mengaktifkan beberapa jalur pensinyalan onkogenik yang kemudian akan mendukung pertumbuhan sel kanker. EpCAM juga telah dilaporkan mempromosikan tumorigenesis pada prostat dan kanker nasofaring dengan memodulasi aktivitas jalur PI3K/AKT/mTOR. Namun, belum ada penelitian lebih lanjut apakah modulasi jalur PI3K/AKT/mTOR itu dicapai melalui EpEX terlarut atau EpICD sitoplasma. (Aiman Mohtar et al., 2020)



**Gambar 7.** Lokalisasi EpCAM dan modulasi gen targetnya pada kanker.  
(Aiman Mohtar et al., 2020)

EpEX juga terungkap sebagai ligan baru untuk EGFR pada karsinoma sel squamous kepala leher dan sel kanker usus besar (Gires et al., 2020). EpCAM dapat mengaktifkan *epidermal growth factor receptor* (EGFR) melalui domain EpEX-nya (Eslami-S et al., 2020). EpEX mengikat EGFR mengaktifkan ERK1/2 dan fosforilasi AKT, sehingga mempromosikan proliferasi sel dan migrasi sel kanker kolorektal (Eslami-S et al., 2020; Liang et al., 2018). Secara mekanis, EpEX-EGFR-ERK1/2 memberi sinyal RIP dari EpCAM dan pelepasan intraseluler domain (EpiCD). Pengobatan dengan inhibitor EGFR menghilangkan fosforilasi ERK1/2 dan AKT yang diinduksi EpEX dan menurunkan pelepasan EpiCD yang diinduksi EpEX. (Liang et al., 2018)

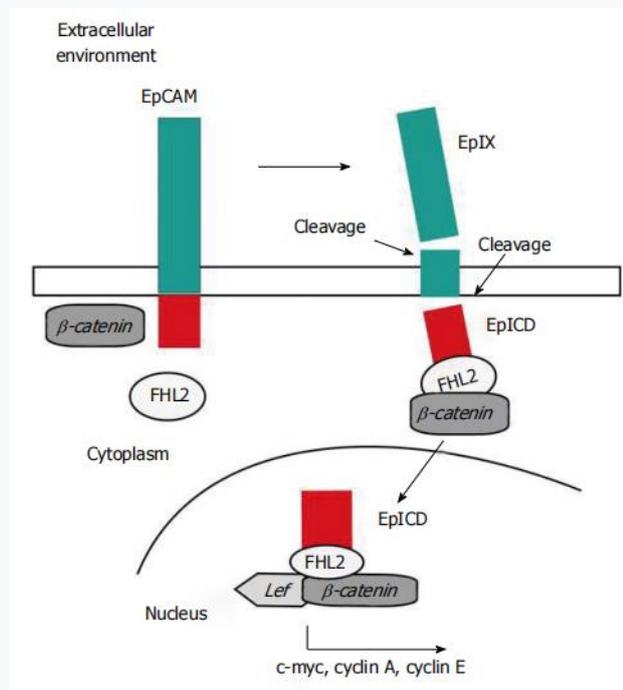
Kemampuan EpEX bertindak sebagai ligan untuk EGFR sejalan dengan fakta bahwa domain terminal N dari EpCAM (bagian EpEX terlarut)

berisi dua domain *EGF-like motif*, sehingga memungkinkannya untuk berinteraksi dan mengikat EGFR dan memungkinkan protein berfungsi sebagai faktor pertumbuhan yang larut dalam lingkungan mikro lokal tumor. Aktivasi EGFR dapat memicu EpCAM RIP menghasilkan generasi EpICD. EpICD diperlukan untuk akumulasi  $\beta$ -catenin di inti dan untuk aktivasi faktor 1 alfa yang diinduksi hipoksia (HIF1 $\alpha$ ).  $\beta$ -catenin dapat meningkatkan aktivitas transkripsi yang dimediasi HIF1 $\alpha$  dan mempromosikan adaptasi seluler pada kanker kolon. Selain itu, lingkungan mikro hipoksia mempromosikan dan memelihara kemampuan pembaruan diri CSC. EGFR adalah reseptor tirosin kinase (RTK) yang sangat relevan dalam banyak jenis kanker. Pensinyalan EGFR memainkan peran penting dalam pemeliharaan CSC. Beberapa bukti menunjukkan bahwa EpEX mungkin terkait erat dengan EGFR; namun, sifat mekanis tautan ini belum dilaporkan. (Gires et al., 2020; Liang et al., 2018)

Pembelahan proteolitik dari domain intraseluler EpCAM (EpICD) telah terbukti memberi sinyal mitogenik (Spizzo et al., 2011). Pada sel tumor ganas, Maetzel et al., menunjukkan fragmen proteolitik dari EpCAM yang mengandung bentuk kompleks EpICD dengan  $\beta$ -catenin dan LEF-1, berpindah dari sitoplasma ke inti dan mengaktifkan transkripsi gen yang terkait dengan proliferasi sel, seperti c-Myc serta cyclins A dan E, dengan demikian mempromosikan onkogenesis (Boesch et al., 2018; Huang et al., 2018). Hal ini selanjutnya dikonfirmasi oleh pengamatan bahwa EpICD inti dan sitoplasma dalam kanker epitel solid (seperti pada usus besar) meningkat, sedangkan ekspresi membran EpEx (domain ekstraseluler dari EPCAM), tidak ada atau berkurang. (Fanali et al., 2014)

Munz et al., menjelaskan bahwa hilangnya pewarnaan EpCAM pada *tumor budding* kanker kolorektal setelah pewarnaan dengan antibodi khusus EpEX mungkin terkait dengan aktivasi sinyal EpCAM melalui RIP, pelepasan EpEX, dan pelepasan EpICD ke dalam sitoplasma yang selanjutnya menjadi bagian dari kompleks inti yang mengandung regulator

transkripsi  $\beta$ -catenin dan Lef, yang merupakan komponen jalur Wnt. Pewarnaan EpICD mungkin diperlukan untuk mengetahui apakah ekspresi EpCAM berkurang yang diamati pada margin invasif tumor rektal adalah hasil pembelahan EpEX, diikuti dengan pembelahan dan translokasi EpICD ke nukleus yang mempromosikan fenotipe yang lebih tumorigenik karena adanya penelitian tentang karsinoma tiroid yang melaporkan bahwa hilangnya membran EpEX disertai dengan peningkatan EpICD sitoplasma dan nuklear, lokalisasi  $\beta$ -catenin nuklear, serta berkorelasi dengan penurunan kelangsungan hidup pasien. (Munz et al., 2009; van der Gun et al., 2010)



**Gambar 8.** Skema representasi pengaktifan molekul adhesi sel epitel.  
(Fanali et al., 2014)

Lokalisasi EpICD di inti pada pasien karsinoma usus besar dikaitkan dengan pembentukan metastasis dan prognosis yang buruk. Liang et al., melaporkan bahwa ekspresi EpICD pada inti dalam karsinoma yang bermetastasis secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan tumor yang tidak bermetastasis. Oleh karena itu, antibodi terapeutik menargetkan EpCAM atau penghambatan translokasi EpICD memiliki

potensi besar sebagai strategi terapi baru untuk pengobatan. (Gires et al., 2020; Liang et al., 2018)

Analisis sampel kanker kolorektal dan tiroid menunjukkan bahwa akumulasi EpICD pada nukleus sangat berkorelasi dengan prognosis yang buruk. Perbandingan lokalisasi EpICD pada mukosa kolon normal dan karsinoma kolon menunjukkan perbedaan. EpICD ditranslokasi ke dalam nukleus, di mana menyebarkan fungsinya pada sel ganas tetapi tidak pada sel usus besar yang normal. Mekanisme molekuler yang mendasari pengamatan ini masih belum diketahui. (Eslami-S et al., 2020; Imrich et al., 2012)

EpCAM terlibat dalam regulasi adhesi sel kanker, proliferasi, migrasi, invasi, *stemness*, dan transisi epitel ke mesenkim (EMT) selama perkembangan kanker. Secara khusus, ekspresi EpCAM berkorelasi positif dengan penanda proliferasi Ki67, ekspresi tinggi dan lokalisasi inti siklin D1, dan fosforilasi Rb. Temuan ini menunjukkan bahwa EpCAM mendorong perkembangan siklus sel melalui jalur klasik yang diatur oleh siklin. (Eslami-S et al., 2020)

Berbeda dengan perannya dalam menginisiasi pembentukan tumor, EpCAM juga digambarkan sebagai protein penekan tumor. EpCAM pertama kali diteliti sebagai molekul adhesi sel karena mampu memediasi interaksi perekat homofilik, sehingga mencegah hamburan sel. Karena sifat perekat ini, EpCAM kemungkinan berperan dalam penghambatan invasi. EpCAM dapat berperan sebagai gen penekan tumor atau sebagai onkogen bergantung pada lingkungan mikro. Karena regulasi epigenetik berhubungan dengan ekspresi EpCAM. Dalam beberapa jenis karsinoma, EpCAM bersifat baik, dikaitkan dengan peningkatan kelangsungan hidup, sedangkan pada jenis karsinoma lainnya, EpCAM juga bersifat buruk dikaitkan dengan penurunan kelangsungan hidup (van der Gun et al., 2010)

Metastasis melibatkan hilangnya adhesi sel-sel dan polaritas sel, peningkatan motilitas sel dan invasi. Saat ini peran EpCAM dalam proses

penyebaran metastasis belum dipahami dengan baik. Sifat perekat EpCAM seharusnya dapat mencegah metastasis karena perlekatan antar sel harusnya dikurangi untuk mendapatkan kemampuan bermigrasi. Tumor primer dan metastasis besar ( $\geq 30$  sel) mengekspresikan EpCAM yang tinggi, sedangkan mikrometastasis/ metastasis yang lebih kecil ( $<15$  sel) tidak mengekspresikan EpCAM. Kehilangan EpCAM bertepatan dengan peningkatan ekspresi penanda mesenkim vimentin pada tumor primer manusia dan sel tumor yang tersebar. Saat ini, telah ditetapkan bahwa EpCAM berpengaruh pada "proses regulasi dalam transisi epitel-mesenkim (EMT) selama metastasis. Langkah awal penyebaran metastasis, yang terkait dengan migrasi dan penurunan laju proliferasi selama sirkulasi dan penyebaran sampai ke organ yang jauh, berhubungan dengan hilangnya ekspresi EpCAM. Pada tikus dengan karsinoma usus besar, metastasis kecil menunjukkan EpCAM negatif tetapi metastasis besar menampilkan tingkat ekspresi yang sama dengan tumor primer. Hal ini mungkin mencerminkan ekspresi ulang di tempat metastasis. (Gires et al., 2020; Imrich et al., 2012; van der Gun et al., 2010)

EMT ditandai dengan hilangnya morfologi dan penanda epitel tetapi bertambahnya fitur dan penanda mesenkim. Sel kanker yang menjalani EMT memperoleh kemampuan untuk bertahan hidup. Sel kanker kolorektal yang menjalani EMT menunjukkan sifat EMT dan CSC, seperti ekspresi tinggi Snail, Lgr5, CD133, CD44 and EpCAM. (Y. Zhou et al., 2018)

Pengaruh EMT (*Epithelial Mesenchymal Transition*) pada ekspresi EpCAM masih belum dipahami dengan baik. Jojovi et al., adalah orang pertama yang menggambarkan hilangnya ekspresi EpCAM selama EMT dengan analisis imunohistokimia dari xenografts dan metastasis sel tumor payudara, usus besar, ovarium dan paru-paru dari tikus imunodefisiensi. Secara khusus, mereka menemukan downregulation EpCAM pada tahap awal migrasi. Studi tambahan menunjukkan bahwa penurunan regulasi

EpCAM dikaitkan dengan struktur mesenkim. Mereka juga menunjukkan bahwa efek ini dimediasi oleh ERK, regulator EMT yang ekspresinya diatur oleh EpCAM. (Eslami-S et al., 2020)

Studi klinis tentang potensi prediksi EpCAM untuk entitas karsinoma yang terkait dengan tingginya resistensi pengobatan diperlukan untuk penggunaan EpCAM sebagai biomarker pada pengambilan keputusan klinis. (Gires et al., 2020)