

KARYA AKHIR

PERBANDINGAN EKSPRESI PROTEIN EGFR DAN P53 PADA ASTROSITOMA IDH-MUTANT DAN IDH-WILDTYPE

COMPARISON OF EGFR AND P53 PROTEIN EXPRESSION IN IDH-MUTANT AND IDH-WILDTYPE ASTROCYTOMA



Disusun oleh:

dr. Nurul Fardillah
C075182005

Pembimbing 1 : dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA
Pembimbing 2 : dr. Cahyono Kaelan, Ph.D, Sp.PA(K), Sp.S
Pembimbing Statistik: Dr. dr. A. Alfian Zainuddin, MKM

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI ANATOMI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
2022

**PERBANDINGAN EKSPRESI PROTEIN EGFR DAN P53 PADA ASTROSITOMA IDH-
MUTANT DAN IDH-WILDTYPE**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis

Patologi Anatomi

Disusun dan diajukan oleh:

dr. Nurul Fardillah

Kepada

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

KARYA AKHIR

**PERBANDINGAN EKSPRESI PROTEIN EGFR DAN P53 PADA
ASTROSITOMA IDH-MUTANT DAN IDH-WILDTYPE**

Disusun dan diajukan oleh :

dr. Nurul Fardillah
C075182005

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 19 September 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama



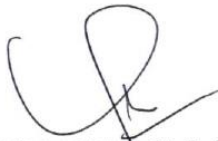
dr. Muh. Husni Cangara, Ph.D Sp.PA
NIP. 19770409 200212 1 002

Pembimbing Pendamping



dr. Cahyono Kaelan, Ph.D Sp.PA(K), Sp.S
NIP. 19501023 197403 1 001

**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

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama mahasiswa : dr. Nurul Fardillah

NPM : C075182005

Program studi : Patologi Anatomi

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

Makassar, 19 September 2022

Yang menyatakan



dr. Nurul Fardillah

PRAKATA

Puji syukur kepada Allah SWT karena rahmat dan hidayah-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan karya akhir ini yang berjudul “**Perbandingan Ekspresi Protein EGFR Dan P53 Pada Astrositoma Idh-Mutant Dan Idh-Wildtype**”. Karya akhir ini disusun sebagai tugas akhir dalam Program Studi Dokter Spesialis-1 (Sp-1) Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Saya menyadari bahwa karya akhir ini masih sangat jauh dari sempurna sehingga dengan segala kerendahan hati saya mengharapkan kritik, saran, dan koreksi dari semua pihak. Pada kesempatan ini pula saya ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. **dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA** sebagai pembimbing I yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan arahan kepada penulis pada waktu penyusunan usulan penelitian ini dan memotivasi untuk menyelesaikan usulan penelitian ini.
2. **dr. Cahyono Kaelan, Ph.D, Sp.PA(K),Sp.S** sebagai pembimbing II yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan arahan kepada penulis pada waktu penyusunan usulan penelitian ini dan memotivasi untuk menyelesaikan usulan penelitian ini.
3. **Dr. dr. A. Alfian Zainuddin, MKM** sebagai pembimbing III yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan arahan kepada penulis pada waktu penyusunan usulan penelitian ini dan memotivasi untuk menyelesaikan usulan penelitian 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-teman PPDS, 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. Anak penulis Mardhiyah Almira, Mahirah Askanah, dan Muhammad Ar Rayyan, atas kesabarannya dan kepada orang tua penulis bapak Abdul Rakhman Baddu dan ibu Rahmah yang senantiasa mendukung dan mendoakan penulis.
10. Pendamping penulis, Mohammad Fadel, S.Ag, atas kesabaran, cinta, doa yang dipanjatkan, dan selalu memberi kepercayaan serta semangat kepada penulis. Untuk itu penulis sampaikan terima kasih dan permohonan maaf atas segala kekurangan penulis. Semoga segala bentuk ikhtiar, doa, dan harapan yang baik diijabah oleh Allah SWT.
11. Semua pihak yang telah membantu penulis, yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

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

Makassar, September 2022

Penulis

ABSTRAK

NURUL FARDILLAH. Perbandingan ekspresi protein EGFR dan P53 pada astrositoma IDH-*mutant* dan IDH-*wildtype* (Dibimbing oleh **Muhammad Husni Cangara, Cahyono Kaelan, A. Alfian Zainuddin, MKM**)

Tujuan Penelitian: Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan ekspresi protein EGFR dan p53 pada astrositoma idh-*mutant* dan idh-*wildtype*

Metode Penelitian: Penelitian *cross sectional* pada 69 sampel blok paraffin jaringan astrositoma. Dilakukan pewarnaan imunohistokimia menggunakan *Rabbit anti-EGFRvIII Monoclonal Antibody* dan antibodi primer *Rabbit anti-P53 Monoclonal Antibody*. Kemudian analisis ekspresi dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX-43. Analisis data secara statistik dengan uji Chi Square serta disajikan dalam tabel menggunakan software SPSS 26.

Kesimpulan dan Saran: Terdapat hubungan signifikan antara pola ekspresi EGFR dan p53 dengan diagnosa Astrositoma berdasarkan grade histopatologi ($p=0,012$). Tidak terdapat hubungan signifikan antara pola ekspresi EGFR dan p53 dengan Difus Astrositoma IDH-*mutant* dan IDH-*wildtype* ($p=0,657$), tidak terdapat hubungan signifikan antara pola ekspresi EGFR dan p53 dengan Anaplastik Astrositoma IDH-*mutant* dan IDH-*wildtype* ($p=0,587$), dan tidak terdapat hubungan signifikan antara pola ekspresi EGFR dan p53 dengan Glioblastoma IDH-*mutant* dan IDH-*wildtype* ($p=0,053$). EGFR dan p53 dapat digunakan sebagai penanda prognostic pada astrositoma.

Kata Kunci: Astrositoma, EGFR, P53, IDH-*Mutant*, IDH-*Wildtype*

ABSTRACT

NURUL FARDILLAH. Comparison of EGFR and P53 protein expression in idh-mutant and idh-wildtype astrocytomas (Supervised by **Muhammad Husni Cangara, Cahyono Kaelan, A. Alfian Zainuddin, MKM**)

Research Objectives: This study aimed to compare the expression of EGFR and P53 proteins in IDH-mutant and IDH-wildtype astrocytomas.

Research Methods: Cross sectional study on 69 samples of paraffin block astrocytoma tissue. Immunohistochemical staining was performed using Rabbit anti-EGFRvIII Monoclonal Antibody and Rabbit anti-P53 Monoclonal Antibody primary antibody. Then expression analysis was performed using an Olympus CX-43 light microscope. Statistical data analysis with Chi Square test and presented in a table using SPSS 26 software.

Conclusions and Suggestions: There was a significant relationship between EGFR and p53 expression patterns with astrocytoma diagnosis based on histopathological grade ($p = 0.012$). There was no significant relationship between EGFR and p53 expression patterns with IDH-mutant and IDH-wildtype diffuse astrocytoma ($p = 0.657$), there was no significant relationship between EGFR and p53 expression patterns with IDH-mutant and IDH-wildtype anaplastic astrocytoma ($p = 0.587$), and there was no significant relationship between EGFR and p53 expression patterns with IDH-mutant and IDH-wildtype glioblastoma ($p = 0.053$). EGFR and p53 can be used as prognostic markers in astrocytoma.

Keywords: Astrocytoma, EGFR, P53, IDH-Mutant, IDH-Wildtype

DAFTAR ISI

KARYA AKHIR	<i>i</i>
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN	<i>Error! Bookmark not defined.</i>
PRAKATA	<i>v</i>
ABSTRAK	<i>vii</i>
DAFTAR ISI	<i>ix</i>
DAFTAR SINGKATAN	<i>xii</i>
DAFTAR TABEL	<i>xiii</i>
DAFTAR GAMBAR	<i>xiv</i>
BAB I	<i>1</i>
PENDAHULUAN	<i>1</i>
I.1 Latar Belakang	<i>1</i>
I.2. Rumusan Masalah	<i>8</i>
I.3. Tujuan Penelitian	<i>8</i>
I.3.1. Tujuan Umum.....	<i>8</i>
I.3.2. Tujuan Khusus.....	<i>8</i>
I.4. Hipotesis	<i>9</i>
I.5. Manfaat Penelitian	<i>10</i>
I.5.1. Manfaat di bidang akademik.....	<i>10</i>
I.5.2 Manfaat di bidang profesi.....	<i>10</i>
I.5.3 Manfaat di bidang klinis.....	<i>10</i>
I.5.4 Manfaat di bidang penelitian.....	<i>10</i>
BAB II	<i>11</i>
TINJAUAN PUSTAKA	<i>11</i>
II.1 Astrositoma	<i>11</i>
II.1.1. Astrositoma Difus.....	<i>13</i>
II.1.2. Astrositoma Anaplastik.....	<i>15</i>
II.1.3. Glioblastoma.....	<i>19</i>
II.2 Epidermal Growth Factor Reseptor (EGFR)	<i>23</i>
II.3 P53	<i>28</i>
II.4 Hubungan Antara Astrocytoma IDH-<i>mutant</i> dan IDH-<i>wildtype</i> dengan EGFR dan P53	<i>31</i>

BAB III	41
KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP	41
III.1 Kerangka Teori	41
III.2 Kerangka Konsep	42
III.3 Variabel Penelitian.....	42
BAB IV.....	43
METODOLOGI PENELITIAN	43
IV.1. Desain Penelitian	43
IV.2. Tempat dan Waktu Penelitian.....	43
IV.3. Populasi Penelitian	43
IV.4. Sampel dan Cara Pengambilan Sampel.....	43
IV.5. Perkiraan Besar Sampel	44
IV.6. Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	44
IV.6.1. Kriteria Inklusi	44
IV.6.2. Kriteria Eksklusi	44
IV.7. Cara Kerja	45
IV.7.1 Alokasi Subyek	45
IV.7.2 Prosedur pewarnaan Hematoxylin Eosin	45
IV.7.3 Prosedur pewarnaan imunohistokimia	46
IV.7.4 Interpretasi Hasil Pewarnaan Imunohistokimia	47
IV.8 Definisi Operasional dan Kriteria Obyektif	47
IV.9. Pengolahan dan Analisa Data	49
IV.10. Alur Penelitian	50
BAB V.....	51
V.1. Hasil Penelitian.....	51
V.1.1 Jumlah Sampel	51
V.1.2 Karakteristik Sampel.....	52
V.1.3 Ekspresi EGFR pada Astrositoma.....	55
V.1.4 Ekspresi P53 pada Astrositoma	56
V.1.5 Analisis perbandingan ekspresi EGFR berdasarkan diagnosa histopatologi Astrositoma	57
V.1.6 Analisis perbandingan ekspresi P53 berdasarkan diagnose histopatologi Astrositoma	58
V.1.7 Analisa perbandingan ekspresi EGFR pada Astrositoma berdasarkan status IDH1	59
V.1.8 Analisa perbandingan ekspresi P53 pada Astrositoma berdasarkan status IDH1.....	60
V.1.9 Analisis perbandingan co-ekspresi EGFR dan P53 berdasarkan diagnosa histopatologi	61
V.1.10 Analisis perbandingan co-ekspresi EGFR dan P53 pada Astrositoma berdasarkan status IDH-1	62
V.2 Pembahasan.....	64

BAB VI	87
VI.1 Kesimpulan	87
VI.2 Saran	88
DAFTAR PUSTAKA	90

DAFTAR SINGKATAN

α -KG	Alpha-ketoglutarate
ATRX	Alpha Thallasemia/mental retardation, X linked
AKT	Serine-thryonine Kinase
AR	Amphiregulin
CDKN2A	Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A
D-2HG	D-2-Hidroksiglutarat
DNA	Deoxyribonucleic Acid
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
EGF	Epidermal Growth Factor
FISH	Flouresence in situ Hybriditation
GBM	Glioblastoma Multiforme
H&E	Haematoxilin dan Eosin
HER	Human Epidermal Growth Factor Receptor
HIF1 α	Hypoxic Inducing Factor 1 Alpha
HGG	High Grade Glioma
LOH	Losses of Heterozigosity
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
MGMT	Methylguanine-DNA methyltransferase
MDM2	Mouse Double Minute 2
P53	Protein 53
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor
PHD	Prolyl Hydroxylase
PTEN	Phosphatase Tension Homolog
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
KRAS	Kirsten Rat Sarcoma Viral Onkogen Homolog
RTK	Reseptor Tirosin Kinase
SSP	Sistem Saraf Pusat
TERT	Telomerase Reverse Transcriptase
TGF	Transforming Growth Factor
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WHO	World Health Organization

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Distribusi sampel berdasarkan Demografi dan Karakteristik Klinik.....	52
Tabel 2 Perbandingan ekspresi EGFR berdasarkan diagnosa histopatologi Astrositoma	57
Tabel 3 Perbandingan ekspresi P53 berdasarkan diagnosa histopatologi Astrositoma	58
Tabel 4 Perbandingan ekspresi EGFR pada berdasarkan status IDH1	59
Tabel 5 Perbandingan ekspresi P53 pada Astrositoma berdasarkan status IDH1	60
Tabel 6 . Perbandingan co-ekspresi EGFR dan P53 berdasarkan diagnosa histopatologi	61
Tabel 7 Perbandingan co-ekspresi EGFR dan P53 pada Astrositoma berdasarkan status IDH-1	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Jalur Gliomagenesis.....	12
Gambar 2 Diffuse Astrositoma	15
Gambar 3 Astrositoma Anaplastik	18
Gambar 4 Pathways Glioblastoma Primer dan Sekunder	19
Gambar 5 Histopatologi glioblastoma: sel-sel neoplastik	20
Gambar 6 Klasifikasi Tumor Astrositik Derajat Tinggi berdasarkan WHO 2016.....	21
Gambar 7 Jalur pensinyalan mediasi EGFR.....	24
Gambar 8 Skema jalur pensinyalan pathogenesis tumor glial	26
Gambar 9 Aktivasi dan downstream pensinyalan p53	29
Gambar 10 Pathway perkembangan tumor astrositik dan oligodendrositik.....	35
Gambar 11 Pathway IDH dalam Fisiologi dan Penyakit.	36
Gambar 12 Skema pensinyalan EGFR, p53, dan IDH1.....	37
Gambar 13 Ekspresi protein EGFR berdasarkan diagnosa histopatologik Astrositoma. Ekspresi pada membran dan sitoplasma sel tumor (lensa objektif 40x)	55
Gambar 14 Ekspresi protein P53 berdasarkan diagnosa histopatologik Astrositoma. Ekspresi pada inti sel tumor (lensa objektif 40x).....	56

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Kanker otak meliputi sekitar 85-90% dari seluruh kanker sistem saraf pusat. Insiden tumor otak primer yang ganas secara signifikan lebih rendah di Asia Timur, Asia Tenggara, dan India. Insiden tertinggi ditemukan di Eropa, Kanada, Amerika Serikat, dan Australia. Data dari Globocan 2020 menunjukkan insiden dari tumor otak dan sistem saraf di seluruh dunia adalah 308 ribu (1,6%) dengan angka mortalitas 251 ribu (2,5%) (Globocan Observatory, 2020). Dari seluruh tumor primer susunan saraf pusat, astrositoma anaplastik dan glioblastoma meliputi sekitar 38% dari jumlah keseluruhan, dan meningioma serta tumor mesenkim lainnya 27%. Sisanya terdiri dari tumor otak primer yang bervariasi, meliputi tumor hipofisis, schwannoma, limfoma SSP, oligodendroGlioma, ependimoma, astrositoma derajat rendah, dan meduloblastoma (KPKN, 2017; Leece et al., 2017).

Di Indonesia sendiri, belum ada data epidemiologi secara nasional yang jelas mengenai tumor otak primer khususnya astrositoma. Sebuah penelitian di Bandar Lampung melaporkan selama periode 2009-2013 terdapat 173 pasien dengan diagnosis tumor otak berdasarkan hasil histopatologi. Pada penelitian tersebut pasien berjenis kelamin perempuan lebih banyak daripada laki-laki (1,8:1). Jenis tumor yang paling banyak ditemukan adalah meningioma (57,8%) dan astrositoma (28,9%) dengan lokasi tumor terbanyak di regio frontal

(30,1%).(EDY, 2013) Pada penelitian lain di RSUP Dr. Kariadi Semarang sepanjang periode Januari 2017 sampai Desember 2018 ditemukan 71 pasien dengan tumor otak primer. Insiden tumor otak primer pada laki-laki lebih banyak (26 kasus, 72,2%) dibandingkan dengan perempuan (27,8%). Kelompok umur kejadian tumor otak primer pada laki-laki yang paling sering adalah kelompok usia 50-59 tahun ditemukan sebanyak 7 orang (19%), diikuti oleh kelompok umur 40-49 sebanyak 6 orang (16%). Jenis tumor otak primer yang paling sering adalah tumor astrositik (22 kasus, 61.1%), diikuti oleh meningeal (6 kasus, 16,7%), oligoastrocitoma (4 kasus, 11,1%) (Madani Hastutyosunu, 2020).

Glioma adalah tumor primer intraserebral yang paling sering pada orang dewasa. Meskipun tumor otak dan tumor sistem saraf pusat lainnya jarang, tumor ini menyebabkan morbiditas dan angka kematian yang tidak proporsional dengan kejadiannya. Sebagian besar pasien dengan Glioma memiliki prognosis yang fatal, dan penyakit ini memiliki dampak yang besar pada pasien dan status fisik, psikologis, ekonomi dan sosial keluarga mereka (Rasmussen et al., 2017).

Glioma diklasifikasikan dalam subtype sesuai dengan histologi sel glial dan dibagi ke dalam *grade* I sampai *grade* IV berdasarkan morfologi dan perilaku ganas, serta menggunakan informasi molekular seperti yang ditentukan dalam klasifikasi *World Health Organization 2016* (WHO). *High grade* Glioma atau disebut pula malignant Glioma mengalami pertumbuhan tumor yang cepat walaupun jarang metastasis ke luar SSP. Glioblastoma diklasifikasikan sebagai HGG WHO grade IV, dengan kejadian sekitar 75 % dari HGG (Rasmussen et al., 2017).

Pada klasifikasi baru ini, kategori Glioma difus mencakup tumor astrositik WHO derajat II dan III, oligodendroglioma derajat II dan III, oligoastrocitoma derajat II dan III, glioblastoma derajat IV, dan yang terkait Glioma difus (misalnya pada masa kanak-kanak). Pendekatan ini memisahkan astrocitoma yang memiliki pola pertumbuhan lebih terbatas, kekurangan gen IDH, dan kadang-kadang memiliki mutasi BRAF (misalnya astrocitoma pilositik, xanthoastrocitoma pleomorfik, dan subependimal giant cell astrocitoma) dari Glioma difus. Adanya mutasi IDH1 dan IDH2 ditemukan hampir pada semua glioblastoma yang berkembang dari astrocitoma (glioblastoma sekunder). Secara klinis, glioblastoma primer dengan mutasi IDH1 dapat salah diklasifikasikan dan mungkin sebenarnya merupakan suatu Glioma derajat rendah asimtomatik yang telah berkembang dan kemudian bergejala setelah menjadi glioblastoma. Dengan demikian, mutasi IDH1 merupakan tanda molekular yang dapat digunakan untuk memisahkan kelompok glioblastoma yang secara klinis maupun secara histopatologi mungkin identik dengan tipe sekunder (D. N. Louis et al., 2016).

Perubahan klasifikasi dengan memasukkan parameter molekular berdasarkan pada genotipe menciptakan tantangan baru sehubungan dengan pengujian dan pelaporan diagnosa Glioma. Pembaharuan klasifikasi tahun 2016 dari klasifikasi WHO 2007 ini menggabungkan parameter molekular ke dalam klasifikasi Glioma difus, dan pergeseran ini telah mempengaruhi klasifikasi dalam beberapa cara. Semua tumor astrositik sebelumnya dikelompokkan bersama, namun saat ini, semua Glioma difus (asal astrositik atau tidak) dikelompokkan

bersama, atas dasar tidak hanya pola dan perilaku pertumbuhannya, tetapi juga pada ekspresi status genetik IDH1 dan IDH2 (Isocitrate dehydrogenase 1 dan 2) (D. N. Louis et al., 2016).(Adam Cohen, 2013)

Penelitian genetik dan epigenetik terbaru menunjukkan bahwa mutasi pada gen IDH berperan penting pada patogenesis dan prognosis Glioma sehingga identifikasi mutasi IDH1 pada populasi sampel dapat menjadi penanda penting, tidak hanya untuk membantu diagnosis dan menentukan prognosis glioma tersebut, tapi juga untuk pengembangan terapi target seperti kemoterapi yang saat ini sudah menjadi bagian dari pelayanan rutin yang dapat membantu dalam pengambilan keputusan klinis.

Salah satu cara untuk mendeteksi IDH1 selain dengan metode *DNA-sequencing* adalah dengan pemeriksaan imunohistokimia. Pemeriksaan imunohistokimia ini sangat berguna karena cepat, tidak memerlukan peralatan khusus, dan memungkinkan identifikasi sel tumor yang mengandung mutasi IDH1 pada biopsi kecil. Proporsi sel-sel neoplastik mungkin bermasalah untuk *DNA-sequencing* pada kasus biopsi *stereotactic* yang kecil pada Glioma derajat rendah. Dalam penelitian Capper *et al*, sekuensing memberikan hasil negatif dalam delapan kasus (8/186) yang ditemukan positif oleh imunohistokimia (Loussouarn et al., 2012).

Banyak penanda molekular yang digunakan sebagai penanda prognostik pada Glioma termasuk mutasi IDH, kodelesi 1p/19q, metilasi promotor MGMT, mutasi promotor TERT dan amplifikasi EGFR. Mutasi gen isositrat

dehydrogenase (IDH1, IDH2) dan TP53 dianggap sebagai bagian awal dari perkembangan neoplasma ini. Studi genetik molekular telah mengungkapkan perbedaan glioblastoma yang telah berkembang bertahun-tahun dari astrocytoma *low-grade* (sekunder) dengan yang berkembang secara *de novo* (primer). Secara khusus, ekspresi berlebihan EGFR biasanya terjadi pada glioblastoma primer, sedangkan mutasi IDH1 biasanya terjadi pada glioblastoma sekunder (Abdulghani et al., 2019).

Salah satu perubahan dasar pada sel kanker adalah adanya proliferasi sel yang tidak terkendali. Hal ini terutama akibat aktivasi reseptor factor pertumbuhan (EGFR) yang berperan penting pada regulasi pertumbuhan sel, diferensiasi, siklus sel, dan tumorigenesis. Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) adalah protein transmembran yang merupakan reseptor bagi protein ligand yang tergolong dalam kelompok Epidermal Growth Factor (Herbst RS, 2004). Berkurangnya sinyal EGFR dan reseptor tirosin kinase lainnya pada manusia berkaitan dengan penyakit seperti Alzheimer. Sementara itu ekspresi EGFR yang berlebihan berhubungan dengan perkembangan berbagai jenis tumor. Mutasi yang memengaruhi ekspresi atau aktivitas EGFR dapat menyebabkan kanker. Penghambatan signal EGFR, baik dengan menghambat pada binding site EGFR di domain ekstraseluler atau dengan menghambat aktivitas tirosin kinase intraseluler, dapat mencegah pertumbuhan tumor yang mengekspresikan EGFR dan memperbaiki kondisi pasien (Zhang H, 2007)

Pada astrositoma, ekspresi berlebihan EGFR menjadi factor yang mengakibatkan perkembangan malignant menjadi glioblastoma, dengan

amplifikasi dan sering bersamaan dengan terjadinya mutasi. Amplifikasi EGFR pada astrositoma grade II, III, dan IV bervariasi antara 0-4%, 0-33%, dan 34%-64%. Amplifikasi ini berhubungan dengan tingkatan malignansi berdasarkan gambaran histopatologi dan berhubungan dengan tingkat survival yang rendah. Selain itu, amplifikasi EGFR juga berpengaruh terhadap invasi, proliferasi, dan resistensi radioterapi dan kemoterapi (Abdulghani et al., 2019).

Mutasi gen isositrat dehydrogenase (IDH1, IDH2) dan TP53 dianggap sebagai bagian awal dari perkembangan astrositoma. Ada bukti yang berkembang bahwa alterasi gen p53 berperan dalam inisiasi, rekurensi, dan progresifitas tumor astrosit untuk grade II,III, dan IV (Nayak et al., 2004). P53 adalah protein isoform yang dikodekan oleh gen TP53 pada manusia. Protein ini sangat penting pada manusia, dimana P53 dapat mencegah pembentukan kanker (Surget S, 2013). P53 disebut juga sebagai “the guardian of the genome” karena perannya dalam menjaga stabilitas dengan mencegah mutasi gen. Oleh karena itu, TP53 disebut juga tumor suppressor gen (Bourdon JC, 2005). Gen TP53 manusia mengkode sejumlah 15 protein, dengan ukuran dari 3,5 hingga 43,7 kDa. Semua protein P53 ini disebut isoform P53 (Surget S, 2013). Gen TP53 adalah gen yang paling sering bermutasi (>50%) pada kanker manusia. Hal ini menunjukkan bahwa gen ini berperan penting dalam mencegah pembentukan kanker. Gen TP53 mengkode protein yang akan mengikat DNA dan mengatur ekspresi gen untuk mencegah mutasi genom (Levine AJ, 2010).

Beberapa teknik laboratorium dapat digunakan untuk membedakan antara glioblastoma primer dan sekunder dengan menggunakan pemeriksaan

imunohistokimia, hibridisasi fluoresensi in situ (FISH), pyrosequencing, dan sekuensing langsung dengan reaksi berantai polimerase yang terdiri dari metode utama. FISH, pyrosequencing, dan direct sequencing adalah teknik yang lebih canggih, namun teknik molekular ini mahal dan memakan waktu. Sebaliknya, imunohistokimia sangat cepat dan ekonomis, dan cocok untuk tes skrining untuk menentukan strategi pengobatan. Pemeriksaan imunohistokimia banyak digunakan di laboratorium patologi, dan evaluasi imunohistokimia dari EGFR dan overekspresi p53 secara rutin tersedia dalam praktek sehari-hari untuk diagnosis patologis. Sebuah studi baru-baru ini melaporkan kegunaan deteksi imunohistokimia IDH1 dibandingkan dengan sekuensing DNA langsung pada specimen glioma, menunjukkan bahwa ada korelasi yang signifikan secara statistic antara imunohistokimia antibody monoclonal dan mutasi relevan yang terdeteksi oleh sekuensing DNA langsung. Dengan demikian, imunohistokimia IDH1 berguna untuk mengevaluasi dan mendiagnosis glioma yang membawa mutasi serta untuk menentukan strategi pengobatan (Lee et al., 2013).

Di Makassar, data yang tercatat di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo dan Sentra Diagnostik Patologia Makassar dari tahun 2012 sampai 2020 adalah terdapat 72 pasien didiagnosa sebagai Glioma WHO derajat II (paling banyak astrositoma difus), 32 pasien didiagnosa sebagai Glioma WHO derajat III (paling banyak anaplastik astrositoma) dan 38 pasien didiagnosa sebagai Glioma WHO derajat IV (glioblastoma).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai deteksi ekspresi EGFR dan p53 pada sediaan blok parafin jaringan astrositoma dengan metode imunohistokimia. Sehingga diharapkan mampu menjawab beberapa masalah kesehatan khususnya yang terkait dengan diagnosis astrositoma.

Penelitian ini pertama kali dilakukan khususnya dengan menggunakan sampel di Makassar untuk melihat ekspresi EFGR dan P53 pada Astrositoma IDH-*mutant* dan IDH-*wildtype* berdasarkan klasifikasi WHO 2016 yang menggunakan parameter karakteristik molekular melalui pemeriksaan imunohistokimia. (Lee et al., 2013)

I.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat dirumuskan pertanyaan penelitian yaitu bagaimana ekspresi EGFR dan P53 pada astrocytoma IDH-*mutant* dan IDH-*wildtype*.

I.3. Tujuan Penelitian

I.3.1. Tujuan Umum

Membandingkan ekspresi protein EGFR dan p53 pada astrocytoma IDH-*mutant* dan IDH-*wildtype*.

I.3.2. Tujuan Khusus

1. Menentukan diagnosa astrositoma dengan pewarnaan HE.
2. Menentukan status ekspresi IDH pada astrositoma dengan pewarnaan imunohistokimia.

3. Menentukan ekspresi protein EGFR dan P53 pada astrositoma berdasarkan grade histopatologi.
4. Membandingkan *co*-ekspresi EGFR dan P53 pada astrositoma berdasarkan grade histopatologi.
5. Menentukan ekspresi protein EGFR dan P53 pada astrositoma *IDH-mutant* dan *IDH-wildtype*.
6. Membandingkan *co*-ekspresi EGFR dan P53 pada astrositoma *IDH-mutant* dan *IDH-wildtype*.

I.4. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Ekspresi EGFR dan P53 meningkat seiring dengan peningkatan grading astrositoma.
2. *Co*-ekspresi EGFR(+) P53(+) meningkat seiring dengan peningkatan grading astrositoma.
3. Ekspresi EGFR lebih tinggi pada astrositoma *IDH-wildtype* dibandingkan pada astrositoma *IDH-mutan*.
4. Ekspresi P53 lebih tinggi pada astrositoma *IDH-mutan* dibandingkan dengan astrositoma *IDH-wildtype*.
5. *Co*-ekspresi EGFR(+) P53(+) lebih tinggi pada astrositoma *IDH-mutan* dibandingkan pada astrositoma *IDH-wildtype*.

I.5. Manfaat Penelitian

I.5.1. Manfaat di bidang akademik

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang ekspresi EGFR dan P53 pada astrocytoma IDH-*mutant* dan IDH-*wildtype*.
2. Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan ilmiah terkait peran EGFR dan P53 dalam proses tumorigenesis pada astrocytoma IDH-*mutant* dan IDH-*wildtype*.

I.5.2 Manfaat di bidang profesi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi ahli patologi untuk menegakkan diagnosis tidak hanya dari gambaran histopatologi namun juga berdasarkan tipe molekular sesuai dengan kriteria WHO.

I.5.3 Manfaat di bidang klinis

1. Identifikasi amplifikasi EGFR dan mutasi P53 pada populasi sampel dapat menjadi penanda penting, tidak hanya untuk membantu diagnosis tapi juga untuk pengembangan terapi target yang membantu dalam pengambilan keputusan klinis.
2. Dengan mengetahui status ekspresi EGFR dan P53 pada astrocytoma IDH-*mutant* dan IDH-*wildtype*, diharapkan dapat memberikan nilai prediktif, prognosis, dan menilai respon terapi.

I.5.4 Manfaat di bidang penelitian

Hasil penelitian ini dapat menjadi data/ informasi dalam melakukan penelitian selanjutnya.

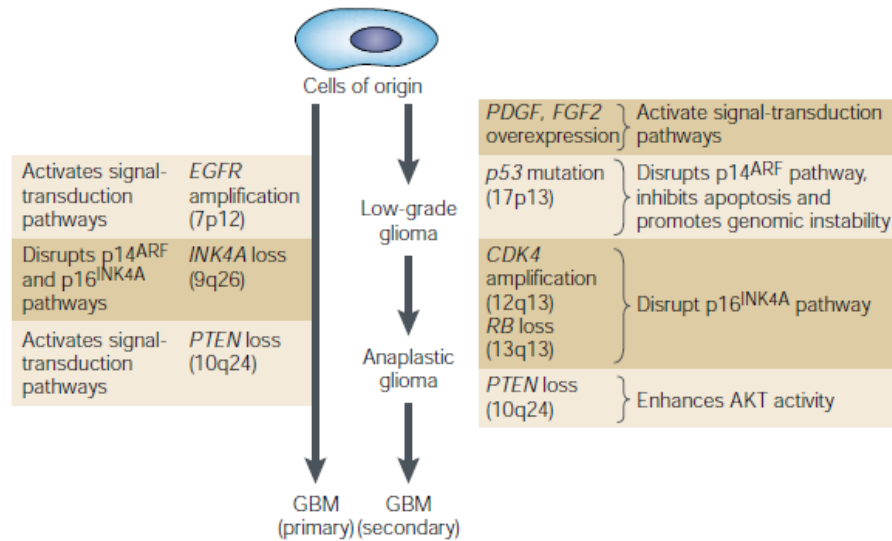
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Astrositoma

Astrositoma berasal dari sel astrosit, yang merupakan salah satu jenis sel glial yang ada di cerebrum yang berbentuk seperti bintang. Astrositoma merupakan jenis glioma yang paling sering, biasanya mengenai otak dan kadang-kadang di spinal cord. Astrositoma merupakan tipe tumor susunan saraf pusat yang paling banyak (38,6%). Astrositoma paling sering mengakibatkan mortalitas dan morbiditas pada pasien usia muda dan juga tua. Astrositoma adalah sekelompok neoplasma heterogen yang memberi gambaran lesi berbatas tegas, tumbuh lambat seperti astrositoma pilositik hingga neoplasma infiltratif yang sangat ganas seperti glioblastoma. Tumor astrositik dapat dibagi menjadi astrositoma pilositik, astrositoma infiltratif dan beberapa varian yang jarang (Frosch & Anthony, 2015).

Perkembangan astrositoma dipengaruhi oleh aktivasi beberapa onkogen dan inaktivasi gen supresi tumor. Aktivasi onkogen dapat berupa amplifikasi dan ekspresi berlebihan, sedangkan inaktivasi gen supresi tumor terjadi akibat mutasi, kehilangan atau delesi. Onkogen yang berperan seperti *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) dan *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF), sedangkan gen supresi tumor yang berperan adalah p53 (Heberland, 2007).



Gambar 1 Jalur Gliomagenesis(Holland, 2001)

Secara klinis dan berdasarkan gambaran histopatologi tumor ini dapat dibagi menjadi 4 *grade* menurut klasifikasi *World Health Organization* (WHO). *Grading astrocytoma* ini dilihat berdasarkan derajat diferensiasi sel, sejauh apa perbedaan sel tumor dibandingkan sel normal, selularitas sel, atipia inti dan aktivitas mitosis, proliferasi vaskular serta adanya nekrosis. *Pilocytic astrocytoma* (WHO *grade* I) umumnya tumbuh lambat dan merupakan tumor pada anak-anak yang bersifat *non-infiltrating* dan jarang bersifat fatal. *Infiltrating astrocytoma*, angka harapan hidupnya menurun dengan meningkatnya *grading*. *Grade* II *astrocytoma* rata-rata dapat bertahan lebih dari 5 tahun, namun angka harapan hidupnya menurun menjadi 3 tahun untuk tipe *anaplastic astrocytoma* (*grade* III). *Grade* IV *glioblastoma multiforme* (GBM) merupakan tumor terbanyak dari seluruh tumor astrosit, rata-rata dapat bertahan hidup kurang dari satu tahun. *Astrocytoma* WHO *grade* I dan II disebut *low grade* astrocytoma sedangkan

astrocytoma WHO *grade* III dan IV disebut *high grade* dan bersifat agresif, walaupun metastasis keluar susunan saraf pusat jarang ditemukan.

Astrocitoma pilositik merupakan tumor WHO grade I yang timbul lambat dan berbatas tegas. Pada penampang mikroskopis sering ditemukan daerah kistik, serat Rosenthal yang eosinofilik terang dan butir-butir eosinofilik kaya protein (badan granular hialin). Astrocitoma pilositik merupakan tumor otak Glioma yang paling sering terjadi tanpa predileksi jenis kelamin yang jelas dan biasanya terjadi pada dua dekade pertama kehidupan (Frosch & Anthony, 2015).

Pada klasifikasi WHO 2016, kategori untuk difus glioma terdiri dari WHO tumor astrositik grade II dan III, oligodendroglioma grade II dan III, kasus yang jarang untuk oligoastrocitoma grade II dan III, glioblastoma grade IV, dan yang berhubungan dengan difus glioma (seperti glioma pada anak-anak). Pendekatan ini memisahkan secara jelas difus glioma dengan astrositoma yang memiliki pola pertumbuhan yang berbatas tegas, ada atau tidaknya perubahan pada gen IDH, dan adanya mutasi pada BRAF (seperti astrositoma pilositik, xanthoastrocitoma pleomorfik, dan astrositoma subependimal giant cell) (Louis D et al., 2016).

II.1.1. Astrocitoma Difus

Pada astrositoma difus IDH-*mutant* terjadi mutasi gen IDH1 atau IDH2. Astrocitoma difus IDH-*mutant* memiliki gambaran pleomorfik sel yang moderat dan memiliki karakteristik diferensiasi sel yang sangat tinggi serta pertumbuhan yang lambat. Diagnosis difus astrositoma didukung oleh adanya mutasi ATRX dan TP53. Neoplasma astrositik difus merupakan tumor yang biasa terjadi pada dewasa muda dan ditandai dengan tingkat differensiasi seluler yang tinggi dan

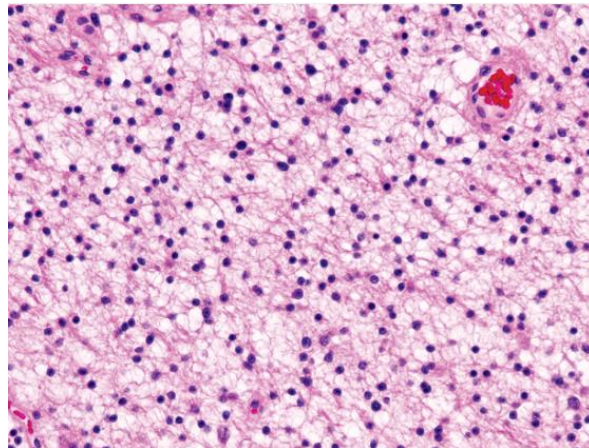
pertumbuhan yang lambat. Astrositoma difus memiliki kecenderungan intrinsik untuk berkembang menjadi astrositoma anaplastik dan akhirnya menjadi glioblastoma (Frosch & Anthony, 2015).

Astrositoma difus *IDH-mutant* bisa berlokasi di berbagai area system saraf pusat, tetapi paling sering terjadi pada supratentorial di lobus frontal. Permukaan potongan tumor astrositoma difus bisa keras atau lunak dan seperti gelatin, kistik degenerasi dapat juga terlihat. Tumor mungkin tampak berbatas tegas dari jaringan otak sehat di sekitarnya, tetapi infiltrasi di luar margin luar selalu ada. Secara mikroskopis, astrositoma difus memiliki kepadatan seluler lebih besar dari substansia alba normal. Transisi antara jaringan neoplastik dan normal tidak jelas, dan sel-sel tumor menginfiltrasi jaringan normal agak jauh dari lesi utama (Frosch & Anthony, 2015).

Astrositoma difus *IDH-wildtype* merupakan astrositoma yang tidak mengalami mutasi pada gen IDH. Astrositoma difus *IDH-wildtype* sangat jarang ditemukan. Sebagian besar glioma dengan tampilan histologis menyerupai astrositoma difus tetapi tanpa mutasi IDH dapat direklasifikasi seperti tumor yang lain pada orang dewasa dengan tambahan analisis genetik. Tumor yang didiagnosa astrositoma difus *IDH-wildtype* kebanyakan memiliki berbagai entitas, dan oleh karena itu biasanya diikuti dengan berbagai gambaran klinis (D. Louis, 2016).

Astrositoma difus terdiri dari fibril astrosit yang berdiferensiasi baik dengan latar belakang struktur yang longgar, sering pula tampak matrix tumor mikrokistik.

Selularitas pada astrositoma difus lebih meningkat dibandingkan pada jaringan otak yang normal, dan gambaran yang khas adalah adanya inti yang atipik. Aktivitas mitosis pada umumnya jarang ditemukan. Adanya nekrosis atau proliferasi mikrovaskular tidak sesuai untuk diagnosa astrositoma difus (D. Louis, 2016).



Gambar 2 Diffuse Astrositoma (D. Louis, 2016)

II.1.2. Astrositoma Anaplastik

Astrositoma anaplastik dapat tumbuh dari astrositoma difus (grade II) atau *de novo*, serta mempunyai kecenderungan untuk berkembang menjadi glioblastoma. Astrositoma anaplastik dapat berlanjut menjadi glioblastoma. Umumnya, perkembangan dari *low grade* menjadi *high grade* berhubungan dengan inaktivasi *tumor suppressor genes* dan *losses of heterozigosity* (LOH) tertentu. Mutasi TP53 yang mengkode, ekspresi berlebih *Platelet-derived Growth Factor/Receptor* (PDGF/R), hilangnya gen supresi tumor astrositoma anaplastik di kromosom 19 dan 11, amplifikasi gen EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*),

dan ekspresi gen VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) berakibat perkembangan menjadi glioblastoma (Heberland, 2007).

Astrocitoma anaplastik lebih padat, lebih seluler dan memiliki pleomorfisme inti yang lebih besar; angka mitosis sering didapatkan. Istilah astrocitoma gemistositik digunakan untuk tumor dimana astrocit neoplastik dominan menunjukkan sel eosinofilik yang cerah berasal dari prosesus yang tebal (Frosch & Anthony, 2015).

Astrocitoma anaplastik WHO grade III kini dibagi menjadi *IDH-mutant* dan *IDH-wildtype*. Grade III Glioma tanpa IDH mutan dapat dianggap "preglioblastomas", memiliki prognosis yang lebih buruk daripada IDH tumor mutan. Mutasi IDH1 dapat berfungsi sebagai biomarker prediksi untuk melihat agresifitas tumor. Pasien dengan astrocitoma *IDH1-mutant* ditemukan memiliki prognosis yang lebih baik daripada astrocitoma dengan *IDH1-wildtype* (Sarkar & Chiocca, 2012).

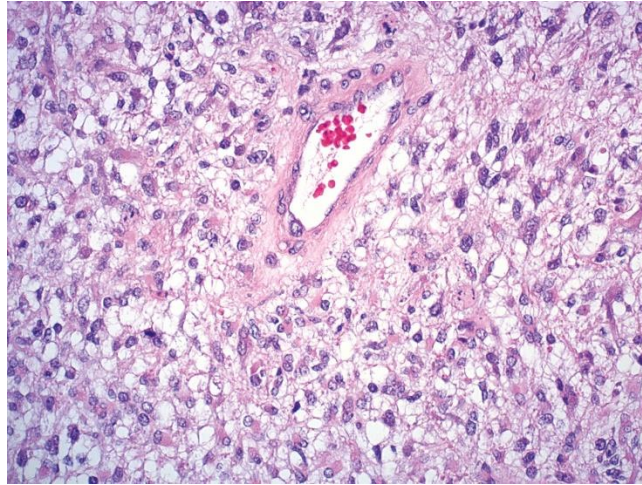
Astrocitoma anaplastic *IDH-mutant* merupakan astrocitoma difus yang infiltrative dengan anaplasia fokal atau tersebar, aktivitas proliferasi yang tinggi, dan diikuti dengan adanya mutasi pada gen IDH1 atau IDH2. Astrocitoma anaplastic dapat berkembang dari astrocitoma difus *low-grade*, tetapi sering didiagnosa tanpa adanya indikasi lesi prekursor suatu keganasan. Adanya morfologi komponen yang menyerupai oligodendroglioma sesuai untuk diagnosis astrocitoma anaplastic jika tidak terdapat kodelesi 1p/19q. Astrocitoma anaplastic

memiliki kecenderungan untuk berkembang menjadi glioblastoma IDH-*mutant* (D. Louis, 2016).

Astrocitoma anaplastik secara makroskopik sama halnya dengan astrocitoma difus grade II cenderung menginfiltrasi jaringan otak di sekitarnya tanpa kerusakan pada jaringan sekitar. Hal ini sering mengakibatkan pembesaran pada struktur yang diinvasi, seperti pada gyrus yang berdekatan dengan ganglia basalis. Pada penampang irisan, tampak selularitas yang meningkat dari astrocitoma anaplastic yang terlihat pada massa tumor, yang pada beberapa kasus dapat dibedakan dengan jelas dari struktur jaringan otak yang tampak pada astrocitoma difus grade II. Secara makroskopik jarang terlihat adanya kista, tetapi lebih sering tampak area yang bergranular, gelap, dan konsistensi lunak. Kadang masih sulit dibedakan secara makroskopik astrocitoma anaplastic WHO grade III dengan astrocitoma difus WHO grade II (D. Louis, 2016).

Secara mikroskopik gambaran histopatologi pada astrocitoma yang infiltrative pada prinsipnya akan tampak peningkatan aktivitas mitosis dibandingkan dengan kelainan pada WHO grade II lainnya. Aktivitas mitosis harus selalu dievaluasi berdasarkan ukuran jaringan. Hiperseluler pada sebagian atau keseluruhan merupakan kriteria yang penting, tetapi pada keadaan selularitas yang rendah tetapi memiliki aktivitas mitosis yang cukup tinggi, maka sudah dapat didiagnosa sebagai astrocitoma anaplastic WHO grade III. Pada anaplasia yang progresif, morfologi inti semakin atipik. Dengan peningkatan variasi ukuran inti, bentuk, kromatin inti kasar, dan penyebaran kromatin, nucleoli prominent, dan kuantitas yang meningkat. Gambaran lainnya pada anaplasia termasuk sel tumor

berinti banyak dan mitosis yang abnormal, walaupun ini tidak wajib untuk WHO grade III. Dari definisi, proliferasi mikrovaskular dan nekrosis tidak ditemukan (D. Louis, 2016).



Gambar 3 Astrocitoma Anaplastik (D. Louis, 2016)

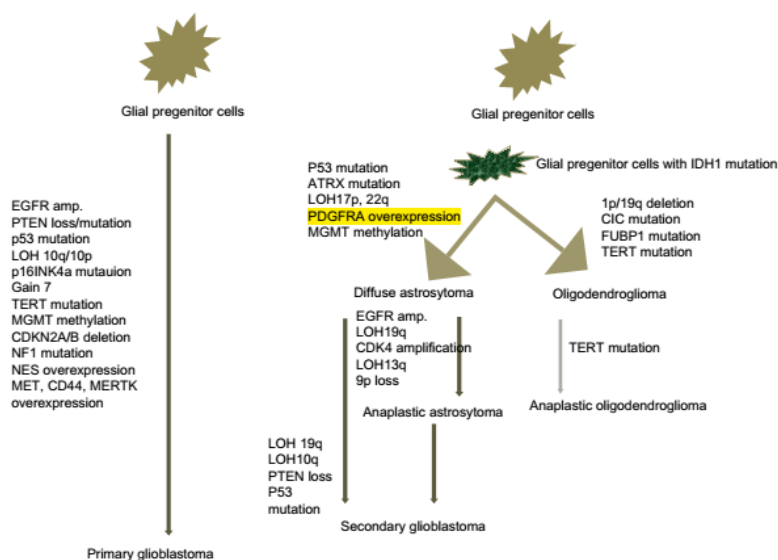
Astrocitoma anaplastik IDH-*mutant* dikaitkan dengan hasil yang lebih baik, sementara astrocitoma anaplastik IDH-*wildtype* memiliki hasil akhir yang sama dengan glioblastoma IDH-*wildtype*. Amplifikasi EGFR dan genotype 7q dan kehilangan 10q berkaitan dengan hasil yang lebih buruk. Mutasi IDH berfungsi sebagai biomarker prediktif yang dapat digunakan untuk target terapi (D. Louis, 2016).

Astrocitoma anaplastik IDH-*wildtype* merupakan astrocitoma yang infiltrative dengan anaplasia yang terjadi sebagian atau tersebar dan aktivitas proliferative yang signifikan tetapi tanpa mutasi gen IDH. Astrocitoma anaplastik IDH-*wildtype* jarang terjadi dan ada sekitar 20% dari keseluruhan angka kejadian astrocitoma anaplastik. Namun, secara histologi astrocitoma anaplastik memiliki

angka kejadian tertinggi dari semua jenis *wildtype* IDH1 dan IDH2 untuk semua glioma WHO grade II dan grade III (D. Louis, 2016).

II.1.3. Glioblastoma

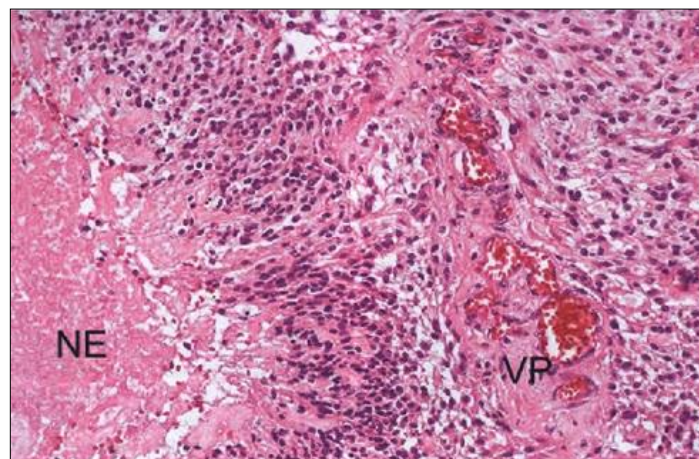
Glioblastoma adalah astrositoma *high grade* (WHO grade IV) dapat timbul cepat secara *de novo*, tanpa lesi prekursor yang sering disebut glioblastoma primer. Sedangkan glioblastoma sekunder berkembang secara perlahan dari astrositoma difus (WHO grade II) atau astrositoma anaplastik (WHO grade III). Glioblastoma timbul dari jaringan otak normal, menyerang dan bermigrasi jauh dari tumor utama di dalam otak; namun, glioblastoma jarang menyebar di tempat lain di dalam tubuh.(Sarkar & Chiocca, 2012). Karena sifatnya yang invasif, glioblastoma tidak dapat sepenuhnya direseksi dan meskipun mendapat radioterapi atau kemoterapi, kurang dari setengah pasien yang dapat bertahan lebih dari satu tahun. Prognosis lebih jelek pada pasien usia tua dibandingkan pasien muda (Frosch & Anthony, 2015).



Gambar 4 Pathways Glioblastoma Primer dan Sekunder(Kalkan, 2015)

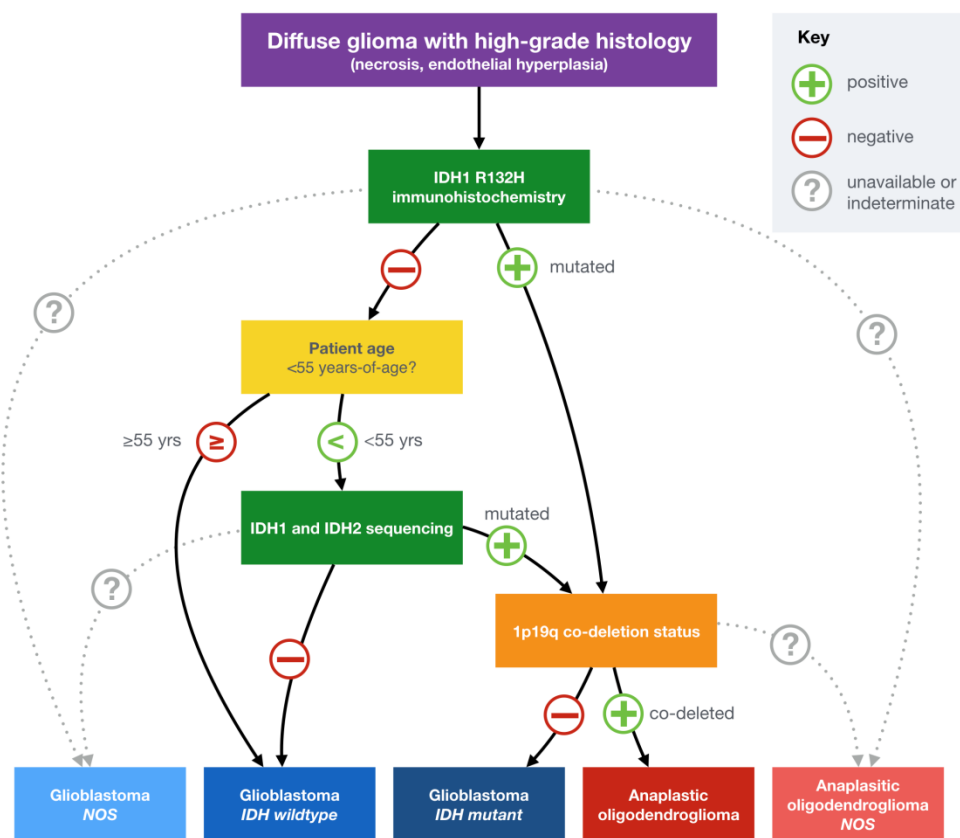
Glioblastoma dapat bermanifestasi pada usia berapa pun, tetapi paling sering terdapat pada orang dewasa, dengan puncak kejadian di antara usia 45 dan 75 tahun. Infiltrasi dari glioblastoma sering meluas ke korteks yang berdekatan dan melalui corpus callosum ke belahan kontralateral. Glioblastoma yang berlokasi di ganglia basal dan talamus juga tidak jarang, terutama pada anak-anak. Gambaran mikroskopiknya menunjukkan aktivitas mitosis sangat tinggi dengan proliferasi vaskuler, hiperseluler, bentuk sel dan inti sel bermacam-macam, cenderung nekrosis dan umumnya berhubungan dengan pertumbuhan tumor yang cepat (Weingart, JD;McGirt, 2010).

Secara histologis, glioblastoma dibagi menjadi beberapa klasifikasi, yaitu Small Cell Glioblastoma, Primitive Neuronal Component Glioblastoma, Granular Cell Glioblastoma, Epithelioid Glioblastoma, Adenoid Glioblastoma, Giant Cell Glioblastoma dan Gliosarkoma (Kumar, V, 2017).



Gambar 5 Histopatologi glioblastoma: sel-sel neoplastik (D. N. Louis et al., 2016)

Ada dua sub tipe glioblastoma: 1) glioblastoma, tipe *IDH-wildtype* (90%), sering didefinisikan sebagai glioblastoma primer atau *de novo* yang didominasi pada pasien di atas usia 55 tahun; 2) glioblastoma, *IDH-mutant* (10%) yang disebut glioblastoma sekunder dengan transformasi ganas dari Glioma tingkat rendah, umumnya terjadi pada pasien yang lebih muda di bawah 45 tahun (Sarkar & Chiocca, 2012).



Gambar 6 Klasifikasi Tumor Astroitik Derajat Tinggi berdasarkan WHO 2016(D. Louis, 2016)

Glioblastoma dapat tumbuh secara *de novo* dari sisa sel-sel glia embrional atau *stem cells* (glioblastoma primer) dan transformasi maligna dari astrositoma *lower grade* atau astrositoma anaplastik (glioblastoma sekunder).

Glioblastoma primer terutama terjadi pada usia tua dengan riwayat gejala klinis singkat dari beberapa minggu hingga beberapa bulan. Perubahan ciri khas glioblastoma primer ini termasuk mutasi gen dan amplifikasi *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR), over ekspresi *Mouse Double Minute 2* (MDM2), delesi p16 dan hilangnya heterozigositas (LOH) dari kromosom 10q yang memegang fosfatase dan tensin homolog (PTEN), mutasi promotor TERT dan mutasi gen INK4aARF (Hanif et al., 2017; Heberland, 2007).

Fitur karakteristik glioblastoma sekunder termasuk ekspresi berlebihan dari *Platelet-derived Growth Factor A*, dan *Platelet-derived Growth Factor Receptor Alpha* (PDGFA/ PDGFRa), retinoblastoma (RB), LOH 19q dan mutasi *Isocitrate Dehydrogenase 1/2* (IDH1 / 2), TP53 dan ATRX.(Cloughesy et al., 2014; Hanif et al., 2017). Glioblastoma sekunder lebih jarang terjadi, hanya kurang dari 10% dari seluruh Glioma dan khususnya menyerang pasien dengan usia yang lebih muda (Hanif et al., 2017; Heberland, 2007).

Perubahan genotip yang beragam tersebut adalah yang paling mempengaruhi dua *hallmark* kanker, yaitu sinyal proliferasi dan penghindaran dari gen penekan pertumbuhan. Tirosin kinase merangsang RAS dan PI3K / AKT signaling, yang bekerja bersama untuk mendorong sel dari fase G1 ke fase S pada siklus sel dan untuk menyebabkan deregulasi metabolisme selular untuk mendorong pertumbuhan. Peristiwa lainnya secara langsung atau tidak langsung menghambat fungsi RB dan p53. Berdasarkan seluruh urutan genom, diperkirakan mutasi tersebut yang mengaktifkan RAS dan PI3 kinase dan

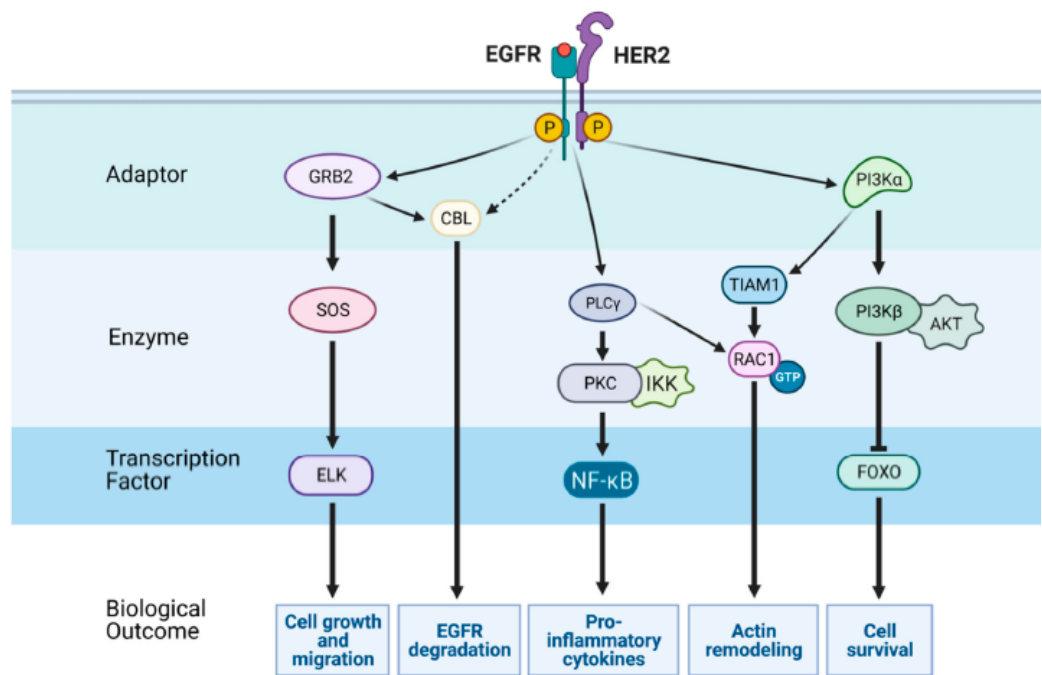
menonaktifkan p53 dan BPR pada 80% hingga 90% glioblastoma primer (Frosch & Anthony, 2015).

Di era baru ini, Klasifikasi WHO 2016 telah memasukkan informasi molekuler ke dalam diagnosis . Diagnosis tumor sistem saraf pusat (SSP) dibuat dengan mengidentifikasi dan mengkarakterisasi penampilan fisik dan tingkat pertumbuhan serta fitur genetik. Gen IDH1 mengkodekan enzim metabolisme yang disebut *isocitrate dehydrogenase 1*, yang mengkatalisis konversi dari *isocitrate* ke *alpha-ketoglutarate* (α -KG) sebagai bagian dari fungsi normal metabolisme otak. Mutasi pada gen ini ditemukan dalam persentase kecil pada sampel glioblastoma tahun 2008, dan mayoritas ditemukan pada Glioma *low grade* dan Glioma sekunder yang *high grade* (Sarkar & Chiocca, 2012).

II.2 Epidermal Growth Factor Reseptor (EGFR)

Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) adalah protein transmembran yang merupakan reseptor bagi protein ligand yang tergolong dalam kelompok Epidermal Growth Factor. EGFR merupakan reseptor transmembran yang menginisiasi sinyal secara bertahap melalui dimerisasi ligand dan mengaktivasi *tyrosine kinase* serta efektor persinyalan di bawahnya. Ada berbagai macam ligand yang dapat mengaktifkan EGFR, seperti *amphiregulin* (AR), *betacellulin*, *epidermal growth factor* (EGF), *heparin-binding EGF-like growth factor*, dan *transforming growth factor* (TGF) $-\alpha$. EGFR mengaktifkan reaksi fosforilasi yang dipengaruhi oleh signal yang terjadi secara bertahap. EGFR dikenal juga sebagai HER-1 atau ERBB-1, yang terdiri dari domain pengikat ligand ekstraseluler, suatu region hidrofobik transmembran, suatu domain reseptor intraseluler tyrosine

kinase, dan domain C-terminal. Pada akhirnya akan berpengaruh pada proses embriogenesis dan pembelahan stem sel. Ikatan ligan oleh EGFR menghasilkan demerisasi dan autofosforilasi reseptor, seperti fosforilasi pada substrat sel, yang memicu aktivasi sinyal secara bertahap dalam sitoplasma dan ini yang melibatkan protein terkait dalam pembelahan sel dan proliferasi (Sabbah et al., 2020) (Konovalov et al., 2019).



Gambar 7 Jalur pensinyalan mediasi EGFR (Uribe et al., 2021)

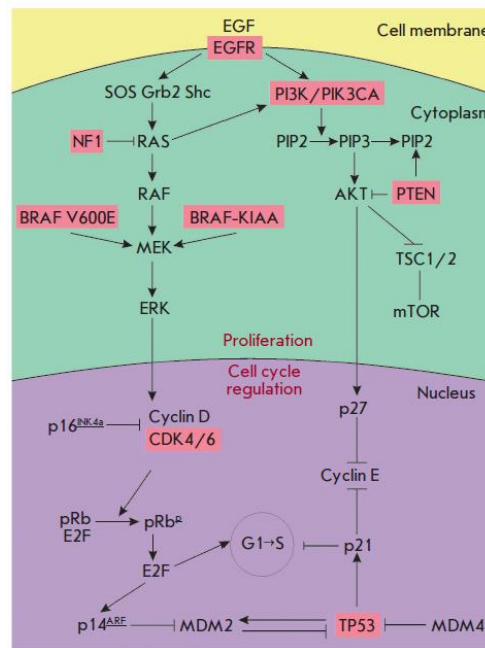
Dalam kondisi istirahat, EGFR sebagian besar ada dalam monomer yang dihambat secara otomatis, tetapi pengikatan ligan memberikan informasi yang siap untuk membentuk homodimer atau heterodimer yang mengandung HER2 atau reseptor lainnya. Aktivasi reseptor tergantung pada pembentukan dimer asimetris domain kinase, dimana satu domain kinase secara alosterik

mengaktifkan yang lain. Dalam domer asimetris, Clobe domain kinase dari “activator kinase” berinteraksi dengan lobus-N dari “kinase penerima” yang mengkatalisis stimulasi berikutnya. Setelah itu, penerima sisa kinase trans-fosforilasi tirosin spesifik dari activator kinase. Tirosin yang baru terfosforilasi berfungsi menyediakan tempat melekat untuk berbagai adaptor (seperti GRB2), enzim sitoplasmik (seperti PLC-gamma) atau factor spesifik yang terlibat dalam regulasi transkripsi (seperti STAT3). Bersama-sama, efektor pensinyalan dan protein adaptor ini menghubungkan reseptor yang diaktifkan secara langsung atau tidak langsung ke jalur intraseluler kanonik, serta ke endositik, yang mendesensitisasi reseptor aktif (Uribe et al., 2021).

Jalur pensinyalan yang dimediasi EGFR. Reseptor tirosin kinase (RTK), mengalami aktivasi cepat melalui pengikatan factor pertumbuhan, dan selanjutnya mereka mengirimkan sinyal melalui beberapa jalur, untuk mendorong perubahan dalam fenotipe sel. Pada skema di atas ditampilkan heterodimer EGFR dan HER2, bersama dengan pensinyalan generik yang terdiri dari adaptor (lapisan hijau), enzim (lapisan biru muda), dan factor transkripsi (lapisan biru). Perhatikan bahwa CBL, ligase ubiquitin E3, direkrut secara langsung atau tidak langsung (melalui GRB2) ke EGFR aktif dan mengurutkan yang terakhir untuk didegradasi di lisosom. TIAM1 dan fosfolipase C-gamma, yang bertindak sebagai GEF dan pendegradasi PI(4,5)P2 (Uribe et al., 2021).

EGFR, dengan bantuan tirosin kinase, yang terlibat dalam proliferasi sel, pembelahan, dan mitosis, termasuk dalam perkembangan suatu kanker. EGFR juga memiliki peranan dalam perkembangan resistensi terhadap obat-obatan.

Mutasi onkogenik pada domain katalisis EGFR dapat diidentifikasi dari dua titik: exon 19 dan 21; mutasi delesi (Del746-750) dan mutasi L858R. Ekspresi berlebihan atau peningkatan aktivitas EGFR mengakibatkan perkembangan kanker pada manusia. Ekspresi berlebih EGFR dapat terjadi pada kebanyakan tumor padat, seperti pada payudara, usus, kepala dan leher, ginjal, ovarium, dan kanker paru *non-small-cell* (NSCLC). Kanker tersebut ditandai dengan agresivitas, pertumbuhan substansial, metastasis, dan resisten terhadap pengobatan. Oleh karena itu, EGFR merupakan target yang penting untuk pengobatan kanker dan perkembangannya. Kaskade pensinyalan EGFR yang menyimpang telah terdeteksi berpengaruh pada prognosis suatu kanker. Amplifikasi, mutasi delesi, dan ekspresi berlebihan EGFR yang mengaktifkan tyrosine kinase pada akhirnya akan berkontribusi terhadap perkembangan suatu kanker ganas (Sabbah et al., 2020).



Gambar 8 Skema jalur pensinyalan pathogenesis tumor glial (Konovalov et al., 2019)

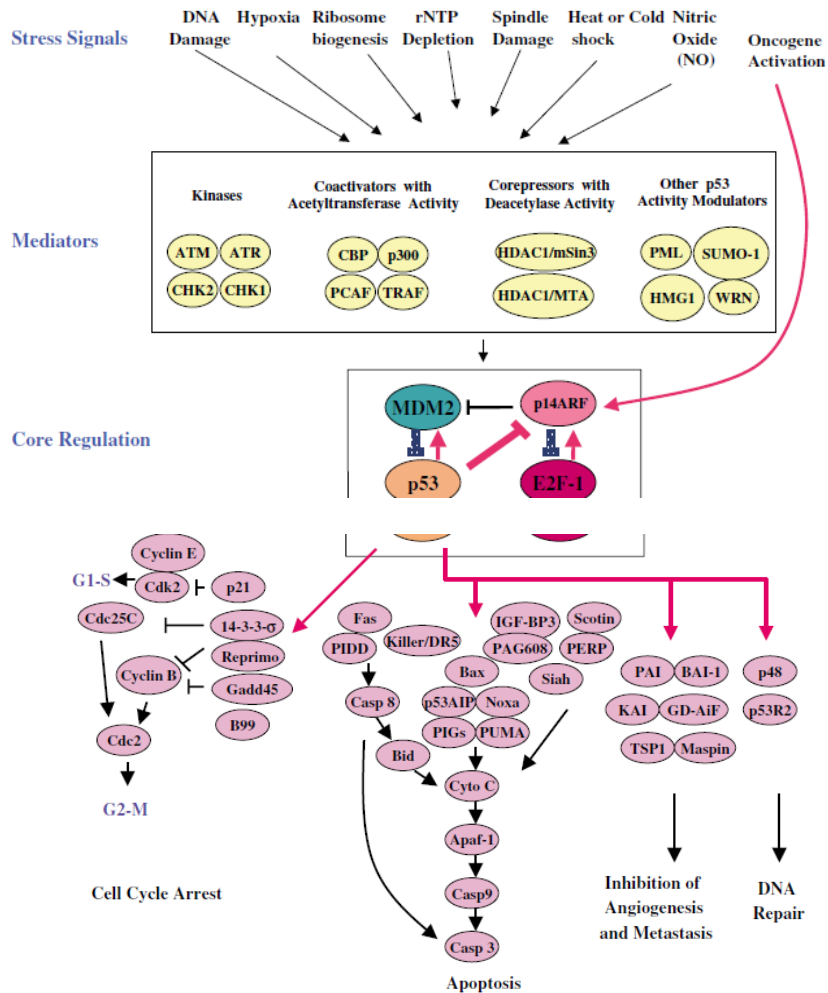
Epidermal growth factor dan reseptornya (EGFR) merupakan sistem mitogenik yang penting dan dikenal dengan baik di berbagai jaringan ectodermal, termasuk sel-sel glial. Ekspresi berlebihan dari EGFR akibat amplifikasi gen telah dilaporkan pada tumor otak primer yang berasal dari sel-sel glial. Amplifikasi ini mendorong terjadi invasi, proliferasi dan resistensi terhadap radioterapi dan kemoterapi sehingga berkorelasi dengan tingkat keganasan secara histologi dan rendahnya tingkat kelangsungan hidup. Ekspresi EGFR penting pada klasifikasi molekular dan disadari menjadi suatu parameter prognosis yang baru untuk tumor astrositik (Abdulghani et al., 2019).

Amplifikasi EGFR jarang terjadi pada glioma low-grade. Namun, banyak penelitian yang telah melaporkan amplifikasi EGFR yang bervariasi sekitar 0-4% pada astrositoma grade II, 0-33% pada astrositoma grade III, dan 34-64% pada astrositoma grade IV. Maiti et al. dan van der Valk et al., dalam penelitiannya, menunjukkan bahwa semua kasus astrositoma grade I menunjukkan gambaran negatif untuk imunohistokimia EGFR. Namun, EGFR positif pada astrositoma grade II-IV yang diteliti menunjukkan peningkatan ekspresi berhubungan dengan peningkatan grading pada astrositoma. Shinojima et al. menemukan bahwa ekspresi berlebihan EGFR dan amplifikasi gen sering terjadi pada glioma dan terbatas pada tumor high-grade, khususnya astrositoma anaplastic dan glioblastoma multiforme (Abdulghani et al., 2019).

II.3 P53

p53 adalah protein multifungsi yang luar biasa, mengatur regulasi siklus sel, differensiasi, inflamasi, respon imun, metabolisme, proses yang menginduksi hormon, transkripsi, perbaikan DNA, epigenom, penuaan dan autofagi. Menjadi induktor apoptosis yang kuat, protein p53 dipertahankan pada tingkat rendah dalam sel normal. Menanggapi beragam kondisi stress, level p53 distabilkan melalui berbagai modifikasi *posttranslasi* yang berbeda, yang sering mengatur pengikatan p53 dengan destruktur alami hdm2 dan membuat banyak loop umpan balik. Dengan demikian, *kinase* p38 MAPK yang responsif terhadap stres memfosforilasi p53 pada *serin* 33 dan *serin* 46, yang berkontribusi pada stabilisasi dan aktivasi p53. Sebaliknya, p53 yang diaktifkan menginduksi ekspresi fosfatase Wip1, yang memfasilitasi umpan balik regulasi negatif pada jalur p38 MAPK/p53 (Issaeva, 2019).

p53 adalah faktor transkripsi yang kuat dan transkripsi yang bergantung pada p53 diatur oleh banyak kofaktor. Misalnya, protein Junctional Mediating and Regulating Y (JMY) bersama p300 mengikat p53 terfosforilasi dan meningkatkan aktivitas transkripsi, yang mengarah ke induksi selektif apoptosis. Menariknya, selain stimulasi transkripsi yang kuat, aktivasi p53 dapat menurunkan secara efisien regulasi gen yang terlibat dalam pemeliharaan telomere, perbaikan DNA, struktur sentromer, dan pemotongan telomere. Pada gilirannya, penurunan perbaikan DNA mengaktifkan p53 yang mengakibatkan loop umpan balik positif, yang dikontrol ketat dalam sel normal melalui degradasi p53 yang dimediasi hDM2 (Issaeva, 2019).



Gambar 9 Aktivasi dan downstream pensinyalan p53 (Harris & Levine, 2005)

Protein p53 memberikan perbedaan yang mendasar antara sel normal dan sel kanker. Fungsi p53 wildtype secara umum dinonaktifkan pada kanker manusia. Inaktivasi p53 terjadi melalui mekanisme yang bervariasi: secara langsung melalui mutasi, melalui ikatan pada protein virus atau secara tidak langsung sebagai akibat dari perubahan gen yang produknya mengaktifkan, mengatur atau membawa sinyal dari p53. Misalnya, pada tumor glioblastoma ganas yang mematikan, mutasi pada gen TP53 terdeteksi sekitar 27% dari tumor tersebut, sedangkan perubahan genetic paling sering pada tumor yang membawa

p53 wildtype yang melibatkan penghapusan pada regulator negatif hdm2 CDKN2A/ARF (57%) atau amplifikasi gen HDM2. Studi terbaru menetapkan bahwa selain pengatur protein, p53 dikendalikan oleh miRNA pada tumor (Issaeva, 2019).

Mutasi inaktivasi gen TP53 terjadi sekitar 50% dari semua tumor manusia dan terkait dengan perkembangan tumor yang cepat dan resistensi terhadap terapi antikanker. Data yang muncul dengan kuat mendukung peran onkogenik untuk p53 mutant dan bersama-sama dengan stabilisasi p53 mutant pada tumor, data menunjukkan bahwa target p53 mutant mungkin merupakan strategi pengobatan antikanker yang menjanjikan (Issaeva, 2019).

Protein p53 adalah faktor transkripsi yang mengatur regulasi transkripsi ratusan gen yang terlibat dalam siklus sel, differensiasi sel, dan apoptosis. Mutasi pada TP53 merupakan salah satu perubahan genetik awal pada sel tumor dan ditemukan pada 60% sel precursor pada astrositoma *low-grade*. Mutasi ini ditemukan paling banyak pada glioblastoma sekunder (65%), utamanya pada kodon 248 dan 273. Pada glioblastoma primer, mutasi pada berbagai kodon pada TP53 ditemukan pada 30% pasien (Konovalov et al., 2019). (Khani et al., 2019)

Mutasi TP53 mencetuskan perkembangan yang lebih agresif dari astrositoma grade I-II, dan ini merupakan pertanda faktor prognosis yang kurang baik. Seperti pada kasus ATRX, mutasi pada TP53 saling mendukung dengan kodelesi 1p/19q yang khas pada oligodendroglioma. Deteksi mutasi ini dapat menjadi bukti untuk suatu diagnosa astrositoma. Hal ini menjadi fakta yang

menarik, karena berbeda dengan glioblastoma intracranial, mutasi TP53 pada glioblastoma yang terjadi pada sumsum tulang belakang yang sering ditemukan tidak adanya mutasi IDH1 (Konovalov et al., 2019).

II.4 Hubungan Antara Astrocytoma IDH-*mutant* dan IDH-*wildtype* dengan EGFR dan P53

Analisis histopatologi dibutuhkan untuk menentukan jenis neoplasma astrositik. Namun, kesulitan dalam mendiagnosis bisa saja timbul karena heterogenitas tumor, morfologi astrositoma bisa tumpang tindih dengan glioma lainnya atau pengambilan sampel yang hanya sebagian dari keseluruhan lesi. Akibatnya, dalam beberapa dekade terakhir, beberapa penelitian menggunakan teknik molekular yang bertujuan untuk menemukan biomarker yang relevan dengan diagnostik dan atau prognosisnya. Studi seperti ini tidak hanya memungkinkan identifikasi penanda tersebut, tetapi juga dapat meningkatkan secara signifikan pengetahuan tentang pathogenesis glioma dan mengidentifikasi target potensial untuk pendekatan terapeutik yang baru (Montgomery et al.,2015, Nweke et al.,2020).

Dalam beberapa tahun terakhir, temuan molekuler diidentifikasi sebagai penanda biologis yang penting bagi hasil klinis dan atau respon terapeutik. Molekular tersebut yaitu overekspresi *epidermal growth factor reseptor* (EGFR), mutasi gen TP53 dan derivat proteinnya (p53), dan mutasi *isocitrate dehydrogenase-1* (IDH-1) (Montgomery et al.,2015).

Amplifikasi/ekspresi berlebihan EGFR adalah patogenesis kunci dalam perkembangan glioblastoma primer. Amplifikasi EGFR dan overekspresi mRNA sangat terkait dengan peningkatan level protein EGFR. Peningkatan kadar protein

EGFR dapat ditunjukkan sebagai ekspresi berlebih dari EGFR dengan menggunakan imunohistokimia. Dalam penelitian sebelumnya, ekspresi berlebihan EGFR telah diamati pada lebih dari 60% glioblastoma. Demikian juga dalam penelitian Lee et al. mendapatkan ekspresi berlebihan EGFR terdeteksi pada 62,7% kasus (Lee et al., 2013).

Kadar protein EGFR yang tinggi terjadi pada 90% tumor astrositik, menunjukkan bahwa perubahan dalam transkripsi dan translasi gen ini dapat berpartisipasi dalam tumorigenesis. Perubahan EGFR lebih sering terjadi ditemukan pada glioblastoma primer. Secara spesifik, amplifikasi EGFR terjadi 40%, overekspresi EGFR pada 60%, dan mutasi pada 20-30% pasien. Amplifikasi dan pengaturan ulang EGFR merupakan indikasi dari glioma *high-grade*, dengan prognosis yang lebih buruk dibandingkan dengan diagnosa dari grading histopatologi.

Dalam dua dekade terakhir, studi genetik molekular telah memberikan pengetahuan yang cukup tentang tumorigenesis pada glioblastoma primer dan sekunder. Glioblastoma primer biasanya menunjukkan ekspresi berlebih EGFR, mutasi PTEN (MMAC1), delesi CDKN2A, hilangnya heterozigositas 10q, dan amplifikasi MDM2 yang lebih jarang, sedangkan mutasi TP53 adalah perubahan genetik awal dan utama yang mengarah ke glioblastoma sekunder. Watanabe et al. menekankan bahwa ekspresi berlebih EGFR dan mutasi p53 memiliki hubungan yang eksklusif pada glioblastoma primer dan sekunder (Lee et al., 2013).

Jalur TP53 memainkan peran penting dalam pengembangan glioma low-grade. Mutasi TP53 terdapat pada lebih dari 70% astrositoma difus, astrositoma anaplastic, dan glioblastoma sekunder. Selain itu, mutasi TP53 tercatat kurang dari 30% glioblastoma primer. Dengan adanya mutasi TP53, pewarnaan positif untuk p53 dapat diharapkan, namun beberapa penelitian mengenai TP53 pada glioblastoma telah melaporkan tingkat imunoreaktivitas yang lebih tinggi dari yang diharapkan berdasarkan mutasi gen yang sebenarnya. Faktanya, imunohistokimia tampaknya tidak mencerminkan mutasi TP53 dengan sempurna. Sejalan dengan itu, beberapa penelitian menunjukkan bahwa berbagai mekanisme perubahan TP53 dapat mengakibatkan akumulasi protein p53 (Lee et al., 2013).

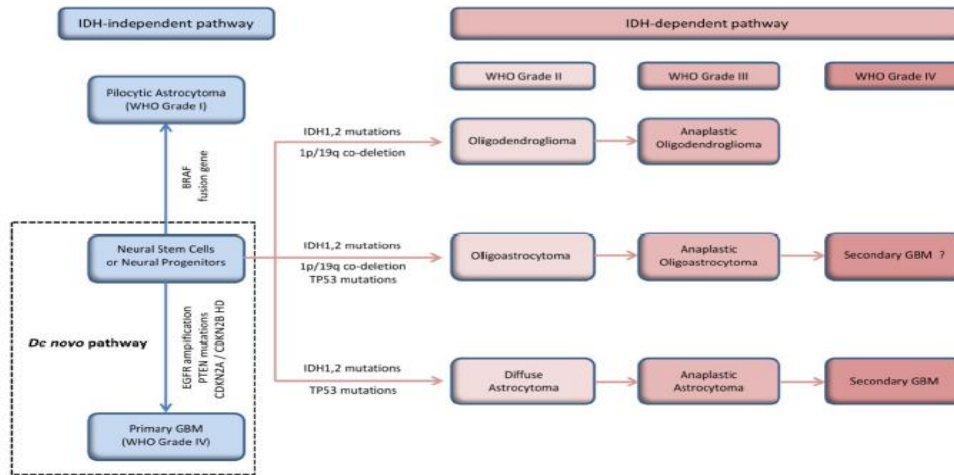
Eksresi berlebihan dari mutasi EGFR dan p53 diketahui saling mendukung dalam evolusi glioblastoma primer dan sekunder. Salah satu penelitian mengungkapkan korelasi terbalik antara EGFR dan p53 yang signifikan secara statistik ($p < 0,001$), namun 30% glioblastoma menunjukkan profil imun yang ambigu. Gambaran imunohistokimia yang khas pada glioblastoma primer, EGFR(+)/p53(-), tercatat pada 41,3% kasus sedangkan imunoprofil yang khas untuk glioblastoma sekunder, EGFR(-)/p53(+), tercatat pada 28,7% kasus. Ekspresi imunohistokimia tidak terduga dari EGFR(+)/p53(+) dan EGFR(-)/p53(-) tercatat masing-masing pada 20,7% dan 9,3% kasus. Klasifikasi glioblastoma dengan kombinasi imunohistokimia EGFR dan p53 memiliki keterbatasan tertentu (Lee et al., 2013).

Karena ketidakmampuan pewarnaan EGFR dan p53 untuk sepenuhnya membedakan antara glioblastoma primer dan sekunder secara klinis, sehingga

pewarnaan imunohistokimia untuk IDH1 perlu dimasukkan karena sangat terkait dengan glioblastoma sekunder. Tiga dari empat kasus glioblastoma sekunder secara klinis menunjukkan profil imunohistokimia khas yang terdiri dari IDH1(+)/EGFR(-)/p53(+), sedangkan imunoprofil khas glioblastoma primer IDH1(-)/EGFR(+)/p53(-), tercatat pada 41.4% kasus. Menariknya, imunoprofil khas glioblastoma sekunder, IDH1(+)/EGFR(-)/p53(+), terdeteksi pada lima kasus (3,6%) diantara 140 kasus glioblastoma primer yang didiagnosa secara klinis. Lima pasien dengan imunoprofil IDH1(+)/EGFR(-)/p53(+) tidak memiliki riwayat tumor astrositik low-grade, namun mereka diamati pada pasien yang lebih muda dengan usia rata-rata 44,6 tahun dan disajikan dengan lesi difus atau multiple pada gambaran MRI. Oleh karena itu, kasus-kasus ini direklasifikasikan sebagai glioblastoma sekunder melalui pemeriksaan imunohistokimia. Namun bisa juga kasus ini kemungkinan glioblastoma sekunder dengan astrositoma difus subklinis atau anaplastic dan kemudian perkembangan yang terjadi sangat cepat dari lesi precursor yang gradingnya lebih rendah (Lee et al., 2013).

Di tahun 2008, sebuah grup penelitian kolaboratif melakukan analisis terhadap lebih dari 20.000 gen pada 22 kasus glioblastoma, suatu astrositoma maligna (derajat IV) yang sering ditemukan dari seluruh Glioma. Hasil penelitian tersebut mengidentifikasi mutasi titik (*point mutation*) pada gen IDH1 pada 12% sampel yang dianalisis. (Adam Cohen, 2013) Ditemukannya mutasi ini memungkinkan diagnosis serta informasi prognosis yang lebih akurat. Mutasi gen IDH1_R132 dilaporkan 55-80% terjadi pada oligodendroglioma dan astrositoma derajat II dan III. Lebih dari 90% mutasi IDH1 ditemukan di glioblastoma

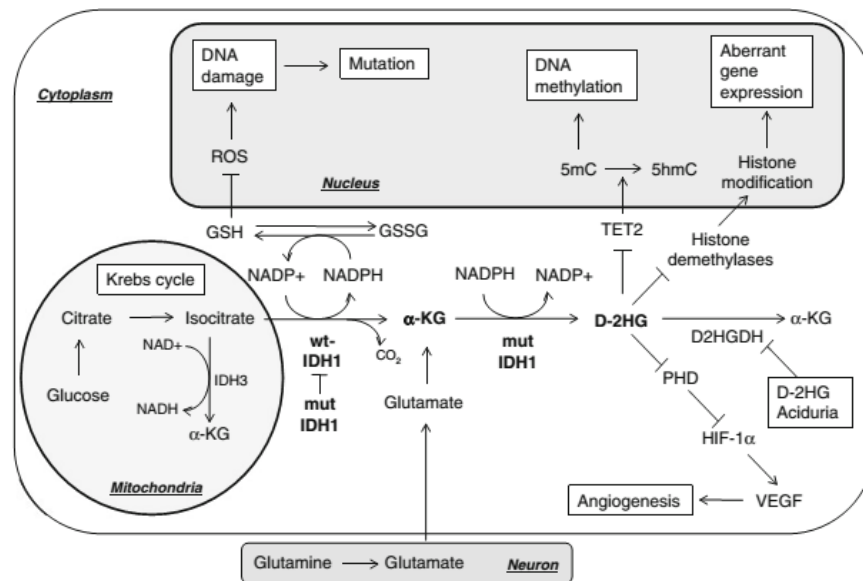
sekunder. Mutasi ini jarang ditemukan pada glioblastoma primer maupun Glioma derajat rendah (WHO derajat 1) dan berkaitan dengan prognosis yang baik. Mutasi gen IDH2 lebih jarang ditemukan, dengan jenis tumor yang paling sering adalah oligodendrogial (Van Den Bent et al., 2010).



Gambar 10 Pathway perkembangan tumor astrositik dan oligodendrositik (Marta Mellai, Valentina Caldera, 2013)

Gen IDH berperan dalam mengode 3 jenis enzim IDH, yaitu IDH 1, 2, dan 3. IDH1 terletak di sitoplasma dan peroksisom, berperan dalam metabolisme lipid dan *glucose sensing*. IDH2 dan IDH3 terletak di mitokondria dan terlibat dalam siklus Krebs. Semua mutasi IDH1 yang dilaporkan berada pada kodon 132, yang paling sering adalah mutasi R132H dan mutasi yang jarang adalah R132C, R132G, R132S dan R132L. Enzim ini berperan dalam mengubah isositrat menjadi alfa-Ketoglutarat (α -KG) dan NADPH yang dalam kondisi normal berfungsi sebagai pertahanan sel terhadap stres oksidatif. Mutasi IDH menimbulkan adanya fungsi gen baru yaitu menurunkan produksi α -KG dan meningkatkan produksi D-2-Hidroksiglutarat (D-2HG). D-2HG memiliki struktur yang mirip dengan α -KG dan

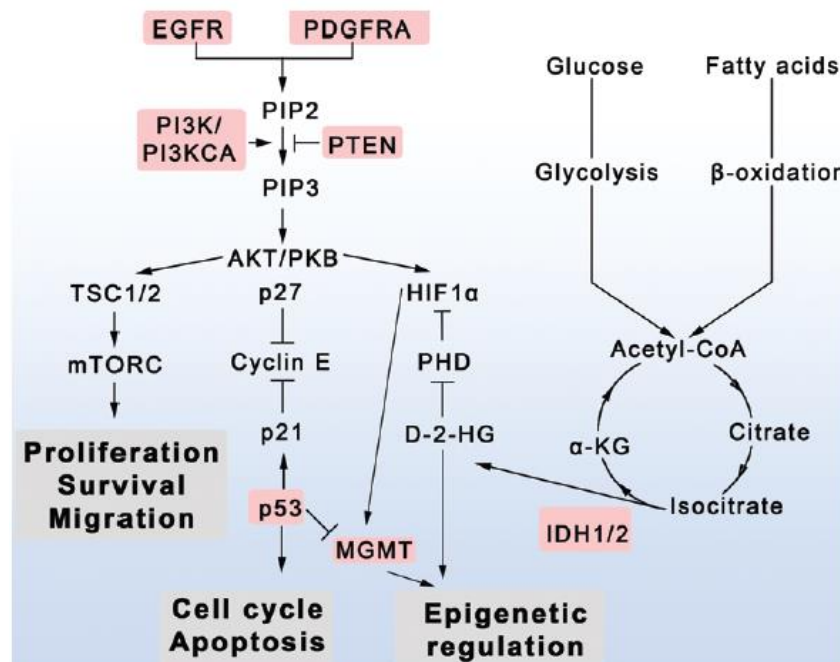
secara kompetitif menghambat aktivitas berbagai macam enzim dioksigenase. Hal inilah yang kemudian berkontribusi terhadap patogenesis Glioma. D-2-hidroksiglutarat juga diketahui menginduksi ekspresi VEGF yang akan mempromosikan angiogenesis untuk meningkatkan pertumbuhan tumor (Ichimura, 2012; Kloosterhof et al., 2011).



Gambar 11 Pathway IDH dalam Fisiologi dan Penyakit.(Ichimura, 2012)

HIF-1 α adalah faktor transkripsi yang sangat penting sebagai respon seluler terhadap hipoksia, transaktivasi beberapa gen *downstream* yang memodulasi apoptosis, kelangsungan hidup sel, dan angiogenesis, terutama VEGF. Upregulasi HIF-1 α berkaitan dengan karsinogenesis, melalui angiogenesis yang dimediasi oleh VEGF. Aktivitas HIF-1 α diatur oleh Prolyl Hydroxylase (PHD), yang mempromosikan degradasi PHD. PHD adalah salah satu dioksigenase independen α -KG. Induksi mutan IDH1 meningkatkan regulasi gen HIF-1 α pada sel Glioma (Ichimura, 2012).

Mutasi IDH1 tidak menginduksi Glioma, tetapi mekanisme perlindungan selanjutnya yang mengganggu metabolisme sel tumor, membuat sel-sel tumor rapuh dan rentan terhadap kematian sel. Proses ini akhirnya membantu pasien yang mengalami mutasi IDH untuk bertahan hidup (Zhu et al., 2011). Diperkirakan peningkatan *survival rate* pada pasien Glioma derajat rendah dengan mutasi IDH merupakan indikasi dari pengaruh mutasi IDH pada respons terhadap kemoterapi, bukan akibat perilaku biologis yang berbeda (Turkalp et al., 2014). Mutasi IDH1/2 akan menurunkan NADPH dan α -KG, yang pada kondisi normal akan mencegah sel mengalami stres oksidatif, sehingga meningkatkan sensitivitas terhadap radioterapi (Kloosterhof et al., 2011). Hal ini didukung oleh Zhu dkk yang melaporkan bahwa mutasi IDH memberikan mekanisme protektif pada pasien Glioma dengan mengganggu metabolisme sel tumor dan membuatnya rentan terhadap kematian sel (Zhu et al., 2011).



Gambar 12 Skema pensinyalan EGFR, p53, dan IDH1 (Karsy et al., 2015)

Mutasi gen isositrat dehydrogenase (IDH) baru-baru ini dikaitkan dengan mekanisme potensial patogenesis glioma. IDH1 dan IDH2 adalah enzim yang bergantung pada NADP yang mengkatalisis produksi α -ketoglutarat dari isositrat selama metabolisme seluler. Mutasi IDH1 dan IDH2 yang lebih jarang diidentifikasi pada glioblastoma, khususnya pada glioblastoma primer. Mutasi IDH1 dilaporkan pada lebih dari 80% glioblastoma sekunder, sedangkan mutasi IDH1 pada glioblastoma primer jarang terjadi (1,8%). Mayoritas mutasi IDH1 diamati dalam kombinasi dengan mutasi TP53 atau kodelesi kromosom 1p/19q, menunjukkan bahwa mutasi IDH1 adalah salah satu peristiwa paling awal pada pathogenesis infiltrasi glioma. Selain itu, seperti pada kodelesi kromosom 1p/19q, metilasi promotor methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) dan jalur EGFR-phosphoinositide 3-kinase serta mutasi IDH1 telah ditunjukkan sebagai penanda prognostic penting pada glioma. Dengan demikian, mutasi IDH1 pada glioblastoma dianggap terkait erat dengan glioblastoma sekunder dan memberikan prognosis yang baik (Lee et al., 2013).

Pada penelitian Lee et al. yang terdiri dari 146 diagnosa klinis glioblastoma primer dan 4 glioblastoma sekunder, yang memiliki ekspresi imunohistokimia EGFR, p53, dan IDH1 yaitu masing-masing 62,6%, 49,3%, dan 11,1%. Profil imunohistokimia EGFR(+)/p53(-), IDH1(-)/EGFR(+)/p53(-), dan EGFR(-)/p53(+) tercatat masing-masing pada 41,3%, 40,2%, dan 28,7%. Selain itu, ekspresi IDH1 dan EGFR(-)/p53(+) berkorelasi positif dengan usia muda. Pada penelitian tersebut juga menunjukkan korelasi positif antara IDH1 dan p53, tetapi tidak ada korelasi antara IDH1 dan EGFR. Menariknya 3,6% dari

glioblastoma primer secara klinis menunjukkan profil imunohistokimia IDH1(+)/EGFR(-)/p53(+) yang khas dari glioblastoma sekunder (Lee et al., 2013).

Dari beberapa penelitian di atas menunjukkan pentingnya pemeriksaan molekular pada astrositoma untuk menentukan biomarker yang relevan agar dapat digunakan untuk nilai diagnostik, prognostik, maupun untuk terapeutik. Molekular yang penting untuk menjadi biomarker tersebut yaitu *epidermal growth factor reseptor* (EGFR), protein p53, dan *isocitrate dehydrogenase-1* (IDH-1). EGFR sangat berperan dalam penentuan diagnostik dan grading astrositoma khususnya pada *high-grade*. Selain itu, inhibitor EGFR bertujuan untuk promote apoptosis dari sel kanker dan meningkatkan sensitivitas tumor terhadap terapi adjuvant. Sementara itu, peningkatan ekspresi gen TP53 merupakan respon agresi terhadap DNA. Sel dengan fungsi p53 yang berubah dapat mengakibatkan penyimpangan genetik dan mengarah pada perkembangan keganasan. Alterasi gen TP53 sering terjadi pada glioblastoma sekunder, sementara pada glioblastoma primer yang terjadi adalah mutasi p53. Selain peranan molekular EGFR dan p53, secara spesifik mutasi gen IDH-1 juga bisa diidentifikasi pada glioma *low-grade* dan *high-grade*. Mutasi IDH-1 pada umumnya ditemukan pada individu usia muda, keganasan sekunder, dengan tingkat survival yang lebih tinggi (Montgomery et al., 2015).

Glioblastoma primer yang terjadi de-novo dengan riwayat klinis singkat menunjukkan perubahan molekular yang berbeda bila dibandingkan dengan glioblastoma sekunder yang berkembang dari glioma *low-grade* yang sudah terjadi sebelumnya. Pada glioblastoma primer tidak terjadi mutasi IDH-1, tetapi

menunjukkan amplifikasi EGFR. Pada glioblastoma sekunder terjadi hal sebaliknya yaitu seringnya terjadi mutasi gen IDH-1 dan p53. Perubahan molekuler ini memiliki implikasi diagnostik dan prognostik, serta secara histologi berkaitan dengan tipe tumor atau grade tumor. Penggunaan metode molekuler kombinasi dari EGFR, p53, dan IDH-1 memungkinkan terbentuknya klasifikasi yang lebih jelas dan tepat yang dapat diintegrasikan ke dalam algoritma diagnostik yang dapat digunakan dalam manajemen dan pengobatan klinis dari pasien (Nweke et al.,2020)