

Hubungan antara Ekspresi ALDH-1 dan EGFR-1 dengan Karakteristik Klinikopatologi Karsinoma Kolorektal

Lini Sunaryo, Prijono Tirtoprodjo, Harijadi

Bagian/SMF Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas GajahMada
RSUP. Dr. Sardjito
Yogyakarta

ABSTRAK

Latar belakang

Ekspresi ALDH-1 mempunyai peran penting dalam identifikasi sel yang diduga *cancer stem cell* sedangkan ekspresi EGFR-1 pada karsinoma kolorektal dinyatakan meningkat dan hubungan ekspresi keduanya dengan prognosis karsinoma kolorektal masih kontroversial.

Tujuan

Mengetahui hubungan antara ekspresi ALDH-1 dan EGFR-1 dengan karakteristik klinikopatologi karsinoma kolorektal.

Metode

Studi potong lintang retrospektif (*retrospective cross sectional*), dengan 50 sampel karsinoma kolorektal tahun 2009-2010 di RSUP Sardjito, Yogyakarta. Data klinikopatologi yang meliputi usia, jenis kelamin, lokasi tumor, derajat diferensiasi histopatologi, dilihat dari data pasien dan hasil evaluasi histopatologi di Instalasi Patologi Anatomi RSUP. Sardjito, Yogyakarta. Dilakukan pewarnaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal anti ALDH-1 dan EGFR-1. Hubungan antara ekspresi ALDH-1 dan EGFR-1 dan tiap variabel klinikopatologi akan dievaluasi menggunakan metoda analisis Pearson Chi-Square, Fisher dan Kruskal Wallis.

Hasil

Tidak didapatkan hubungan yang bermakna antara ekspresi ALDH-1 dengan usia ($p=0,697$), jenis kelamin ($p=0,615$), lokasi tumor ($p=0,525$), EGFR-1 ($p=0,279$), namun didapatkan hubungan yang bermakna dengan derajat diferensiasi histopatologi ($p=0,021$). Ekspresi EGFR-1 tidak didapatkan hubungan yang bermakna dengan usia ($p=0,074$), jenis kelamin ($p=1,0$), dan lokasi tumor ($p=0,293$), tetapi didapatkan hubungan yang bermakna dengan derajat diferensiasi sel tumor pada histopatologi ($p=0,014$).

Kesimpulan

Adanya hubungan ekspresi ALDH-1 dan EGFR-1 dengan derajat diferensiasi histopatologi menunjukkan peran sel punca dan EGFR-1 dalam perkembangan diferensiasi karsinoma kolorektal.

Kata kunci: *aldehyde dehydrogenase-1, epithelial growth factor receptor-1*, karakteristik klinikopatologi, karsinoma kolorektal, sel punca.

ABSTRACT

Background

Expression ALDH-1 is important to identification cells as cancer stem cells, while expression EGFR-1 increase in colorectal carcinoma, however there is still controversion result in correlation between the expression of ALDH-1 and EGFR-1 with prognosis.

Aim

To investigate the correlation expression of ALDH-1 and EGFR-1 with clinicopathological characteristic of colorectal carcinoma.

Methods

Cross sectional retrospective study which 50 cases of colorectal carcinoma during 2009-2010 from Sardjito Hospital, Yogyakarta. Clinicopathological data consist of gender, age, tumor location, and differentiated histological type were collected from Instalation of Pathology Sardjito Hospital, Yogyakarta. Paraffin embedded tissue stained immunohistochemically with monoclonal antibody against ALDH-1 and EGFR-1. The correlation between ALDH-1 and EGFR-1 expression and each variable will be evaluated using Pearson Chi-Square analysis, Fisher and Kruskal Wallis.

Results

There are no significant correlation between ALDH-1 with age ($p=0.697$), gender ($p=0.615$), location of tumor ($p=0.525$), and EGFR-1 ($p=0.279$), but there is a significant correlation with differentiation of histopathological grading ($p=0.021$). There are no correlation between ekspresion EGFR-1 with age ($p=0.074$), gender ($p=1.0$), location of tumor ($p=0.293$), but there is a significant correlation with differentiation of histopathological grading ($p=0.014$).

Conclusion

There are significant correlations between expression ALDH-1 and EGFR-1 with differentiation of histopathological grading indicate the role of stem cells in development of differentiation of cancer cells in colorectal carcinoma.

Key words: *aldehyde dehydrogenase-1, clinicopathologic characteristic, colorectal carcinoma, epithelial growth factor receptor-1, stem cell.*

PENDAHULUAN

Karsinoma kolorektal merupakan keganasan tumor epitelial kolon dan rektum yang stadiumnya berdasarkan infiltrasinya pada submukosa dan muskularis mukosa ke bawah serta adanya anak sebar ke kelenjar limfe.¹ Insidensi sering terjadi pada pria dibandingkan wanita, dengan insidensi puncak usia 60-70 tahunan dan 20% muncul pada usia lebih muda dari 50 tahun.² Karsinoma kolorektal yang muncul pada usia sebelum 40 tahun biasanya memiliki predisposisi genetik seperti *inflammatory bowel disease*.¹ Di Amerika Serikat didapatkan lebih dari 130.000 kasus baru dan 55.000 orang meninggal karena karsinoma kolorektal.²

Pada perkembangan penelitian ditemukan adanya sel punca (*stem cell*), yang berpotensi untuk deferensiasi dan memperbaharui kembali sel. Sel kanker punca (*cancer stem cell*) dapat memperbaharui sendiri dan memproduksi sel karsinoma di samping memproduksi sel normal. Sel kanker punca disebabkan oleh mutasi transformasi yang pada sel punca multipoten.³ Sel punca kolon membesar inisiasi dan progresi tumor, contohnya ekspansi populasi sel punca yang mengacu perluasan populasi sel yang berproliferasi, yang kesemuanya merupakan peningkatan populasi sel yang berproliferasi selama progresi karsinoma kolon.⁴ Sel kanker punca bersifat tidak aktif proliferasi, sedikit diferensiasi dan tahan terhadap apoptosis.⁵ Sel kanker punca menghindari kematian sel dengan cara memberi sinyal NF- κ B, ekspresi berlebih Bcl-2, meningkatkan inhibitor apoptosis protein (IAPs), dan meningkatkan sinyal kelangsungan hidup (*survivin*, *cFLIP*) yang berhubungan dengan 2 sinyal utama yang menjalani apoptosis.⁵

Aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH-1) merupakan enzim detoksifikasi yang mengoksidasi aldehyd intraseluler dan membuat resisten terhadap agen alkilasi. ALDH-1 merupakan antibodi spesifik untuk mendeteksi sel kanker punca pada spesimen blok parafin, yang mampu memberikan gambaran prognosis keganasan.⁴ Ada penelitian yang mengemukakan bahwa ALDH-1 lebih spesifik untuk sel punca di kolon, baik sel punca di kript normal maupun pada tumor ganas kolon.⁴ Pada karsinoma kolorektal ekspresi ALDH-1 meningkat dan meluas ke bagian atas kript. Populasi sel punca yang berlebih adalah kunci tingkat selular

dimana awal terjadinya mutasi *antigen presenting cell* (APC) pada tingkat selular, dan merupakan tahap paling awal terjadinya proliferasi abnormal pada tingkat jaringan, sehingga baik sel punca dan proliferasi sel yang cepat meningkat selama tumorigenesis kolon.⁴ Proliferasi populasi sel yang meliputi sel punca dan proliferasi cepat dari sel-sel meningkat selama tumorigenesis.⁴ Namun demikian masih terdapat kontroversi dalam penggunaan ALDH-1 sebagai petanda spesifik *cancer stem cell*.⁶ Penelitian pada hewan coba, mendapatkan hasil ekspresi ALDH-1 meningkat pada kolon yang diberi paparan karsinogen, juga peningkatan ekspresi ALDH-1 dan peningkatan ekspresi EGFR-1 di mukosa kolorektal yang mengalami penuaan dan paparan karsinogen.⁷

Epidermal growth factor receptor (EGFR) adalah glikoprotein transmembran yang terdapat pada kelompok reseptor *human epidermal growth factor receptor* (HER). EGFR juga dikenal sebagai HER dan ErbB, yang terdiri dari empat kelompok, EGFR-1 (juga dikenal sebagai EGFR atau HER1 dan ErbB-1). EGFR-1 diekspresikan berlebih pada karsinoma sel skuamosa paru, glioblastoma, tumor kepala-leher, ginjal, dan kanker jenis lain.² EGFR mempunyai *ligand* utama TGF- α , amphiregulin, dan betacellulin. *Ligand* mencegah induksi dimerisasi reseptor dan autofosforilasi yang mengaktifkan jalur ketahanan hidup sel dan proliferasi seperti pada PI3K/Akt, Stat, Src dan MAPK. Modulasi EGFR-1 berkaitan dengan proliferasi tumor atau regresi tumor pada penelitian hewan coba. Pada kenyataannya semakin tinggi stadium, semakin tinggi ekspresi EGFR-1.⁸ Modifikasi EGFR-1 telah diuraikan pada banyak kanker sebagai konsekuensi mutasi gena atau amplifikasi gena yang menginduksi ekspresi berlebih protein, penyusunan struktur ulang protein dan simpul autokrin. Kelainan EGFR-1 mungkin berkaitan dengan karsinogenesis dan progresi klinik kolorektal kanker. Modifikasi dan amplifikasi EGFR-1 merupakan hasil dari mutasi gen yang menyebabkan peningkatan ekspresi protein. EGFR-1 yang tidak normal berkaitan dengan karsinogenesis dan gejala klinik yang berkaitan dengan gambaran klinis yang berkembang ke arah keganasan.⁸ Peningkatan ekspresi EGFR-1 pada sel yang mengalami mutasi genetik dan amplifikasi gen.⁹ Aktivasi EGFR-1 merupakan pemicu terjadinya signaling interselular yang

mengatur proliferasi, diferensiasi, apoptosis dan metastasis.¹⁰ Ekspresi intensitas EGFR-1 berhubungan dengan *worse disease-free survival* (DFS) dan *overall survival*, EGFR-1 merupakan prediktor independent DFS setelah stadium, derajat, dan usia.¹¹

Pada sel karsinoma kolorektal didapatkan peningkatan ekspresi EGFR-1 dan terdapat hubungan yang signifikan antara ekspresi EGFR-1 dengan derajat diferensiasi/stadium tumor¹², namun masih ada hal yang belum dapat dijawab efek dari *EGFR-1 signaling pathway* pada karsinogenesis kolorektal dan prognosis pasien kolorektal.¹³ Sel kanker punca pada mukosa normal, didapatkan bertambah pada penuaan dan seiring peningkatan ekspresi EGFR, yang mungkin sebagian berkaitan dengan usia.¹⁵ Penuaan meningkatkan kemungkinan peningkatan paparan karsinogen terutama pada saluran pencernaan, yang memicu pada peningkatan *cancer stem-like cells* yang mengekspresikan marker sel kanker punca pada mukosa kolon. Penuaan berhubungan dengan peningkatan ekspresi petanda *cancer stem-like cell* seperti ALDH-1.¹⁵

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan antara ekspresi ALDH-1 dan EGFR-1 dengan faktor klinikopatologi (usia, jenis kelamin, lokasi tumor, dan derajat diferensiasi) yang sampai saat ini hasil-hasilnya masih kontroversial.^{13,16,17,18} Dari penelitian ini diharapkan manfaatnya untuk deteksi dini adanya sel kanker punca pada lesi karsinoma kolorektal dan untuk menentukan prognosis dan penentuan terapi awal pada kasus-kasus karsinoma kolorektal.

METODE PENELITIAN

Desain dan sampel penelitian

Studi potong lintang retrospektif (*retrospective cross sectional*), dengan 50 sampel karsinoma kolorektal dari tahun 2009-2010 di RSUP. Sardjito, Yogyakarta. Data klinikopatologi meliputi usia, jenis kelamin, lokasi tumor, derajat diferensiasi histopatologi yang diperoleh dari data pasien dan hasil evaluasi histopatologi di Instalasi Patologi Anatomik RSUP. Sardjito, Yogyakarta. Usia dibagi menjadi dua, kurang dari 40 tahun dan lebih sama dengan 40 tahun, sedangkan lokasi dibagi menjadi usus besar bagian atas (caecum, kolon askendens, kolon transversum) sedangkan lokasi bawah (kolon

transversum fleksura lienalis, kolon deskendens, rektum). Derajat diferensiasi didasarkan atas gambaran histopatologis pengecatan rutin *hematoxilin eosin* (HE).

Pulasan imunohistokimia ALDH-1 dan EGFR-1

Blok parafin dipotong dengan mikrotom dengan ketebalan 4 mikron dan diletakkan pada *object glass poly L-lysin* dengan *waterbath*, kemudian dipindahkan ke inkubator suhu 37°C selama satu malam. Dilakukan *deparafinisasi* dengan memasukkan preparat secara berurutan xylol I selama 1 menit, xylol II selama 2 menit, xylol III selama 2 menit, dilanjutkan dengan alkohol abasolut selama 2 menit, alkohol 95% selama 2 menit, alkohol 80%, alkohol 70% selama 1 menit. Kemudian dicuci dengan air mengalir, dilanjutkan dengan *aquadest*. Sediaan ditetesi *hydrogen peroksida* (H₂O₂) 3% dalam methanol selama 15-20 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan *aquadest*. Sediaan dicuci dengan *phosphat buffer serum* (PBS) 3 kali, masing-masing selama 3-5 menit. Antigen *retrieval* dilakukan dengan direndam dalam *buffer citrate* (*Tris buffer HCl*) I dan dipanaskan dalam *microwave* selama 10 menit dalam 600 watt, *buffer citrate* (*Triss buffer HCl*) II selama 10 menit dalam 450 watt. Kemudian didinginkan dalam suhu ruangan selama 20 menit, lalu dicuci dengan PBS 3 kali, masing-masing 3-5 menit. *Blocking agent* (*Background eraser*) selama 5 menit, tanpa dicuci, kemudian dibersihkan tepi *object glass*. Diinkubasi dengan antibodi primer monoklonal anti ALDH-1 (*clone EP1933Y, Biocare*) dengan pengenceran 1:200, (untuk prosedur pulasan EGFR-1 digunakan anti EGFR-1 (*clone H11, Biocare*) dengan pengenceran 1:50) dilakukan selama satu malam dalam almari pendingin. Dicuci dalam PBD 3 kali, masing-masing selama 3-5 menit. Ditetesi antibodi sekunder (*Trekkie Universal link*) selama 15 menit. Sediaan ditetesi *streptavidine peroksidase* (*Trek Avidin HRP*) selama 10 menit, lalu dicuci dengan PBS 3 kali, masing-masing selama 3-5 menit. Sediaan ditetesi zat *kromogen diamino benzidine* (DAB) selama 5-15 menit, lalu dicuci air mengalir selama 5-15 menit. *Counterstain Haematoxilline Mayer* selama 3-4 menit, lalu dicuci dengan air mengalir selama 5-15 menit. Dilakukan dehidasi, dimasukkan ke dalam alkohol 80%, alkohol 90%, dan

alkohol absolut, masing-masing 3 celup. Setelah kering diberi *xylo*l dan dilakukan *mounting*. Penilaian ekspresi ALDH-1 dan EGFR-1 menggunakan mikroskop Olympus BH41 dengan pembesaran 400x pada lima lapang pandang besar.²⁰

Interpretasi pewarnaan imunohistokimia

Ekspresi ALDH-1 dinilai dalam 5 lapang pandang dengan perbesaran 400x, dinyatakan positif jika ekspresinya pada inti dan sitoplasma berwarna coklat, yang secara proporsi dinyatakan dalam derajat, sebagai berikut: derajat 0, <10%, 10%-25%, 25%-50%, dan 50%-75%. Intensitas ekspresi dinyatakan berdasarkan kuatnya ekspresi ALDH-1, tidak nampak (0), lemah (1), sedang (2), kuat (3). Perhitungan ekspresi ALDH-1 dilakukan secara semikuantitatif, dengan cara perkalian hasil dari perhitungan intensitas dan proporsi. Untuk analisis statistik, hasil evaluasinya dibagi menjadi 2 kelompok, ekspresi rendah (skor <2) dan ekspresi tinggi (skor ≥2).^{10,19-21}

Ekspresi EGFR-1 positif bila pada membran sel atau dan sitoplasma tercat warna coklat dalam 5 lapang pandang dengan perbesaran 400x. Intensitas ekspresi dibagi menjadi negatif (0), positif 1 (+1) bila sekeliling membran sel tumor utuh ataupun sebagian tercat lemah. Positif 2 (+2) bila sekeliling membran sel tumor tercat dengan intensitas sedang. Positif 3 (+3) bila secara utuh membran sel tumor tercat kuat.²² Penilaian secara proporsi ekspresi EGFR-1 berdasarkan persentase jumlah sitoplasma dan membran sitoplasma yang tercat, yang dibagi menjadi derajat 0, <30%, 30%-50%, dan 50%. Perhitungan ekspresi EGFR-1 dilakukan secara semikuantitatif, dengan cara perkalian hasil dari perhitungan intensitas dan proporsi. Penelitian ini digunakan *cut of point* 6, disebut nilai tinggi lebih sama dengan 6 dan rendah bila kurang dari 6.²³

Analisis statistik

Hubungan antara ekspresi ALDH-1 dan EGFR-1 dan usia, jenis kelamin, dan lokasi tumor dievaluasi menggunakan metoda analisis *Pearson Chi-Square*, uji Fisher, sedangkan hubungan antara ekspresi ALDH-1 dan EGFR-1 dengan derajat diferensiasi tumor dievaluasi menggunakan metoda analisa Kurskal Wallis kemudian dilakukan analisa *Post Hoc* dengan *Mann-Whitney*, yang diolah dengan *Statistical*

Package for The Social Service (SPSS) 15. Statistik signifikan menggunakan $p < 0,05$.

HASIL

Penderita karsinoma kolorektal penelitian ini berusia 24-76 tahun, dengan rerata 50,42 tahun, usia <40 tahun terdapat 16 (32%) dan ≥40 tahun 34 (68%). Jenis kelamin pria 22 kasus (44%) dan wanita 28 kasus (56%). Lokasi tumor pada kolon bagian atas (saekum, kolon askenden, sampai kolon transversum fleksura lienalis) ada 9 kasus (18%) dan kolon bagian bawah (kolon transversum fleksura lienalis, kolon deskenden, rektum, anus) ada 41 kasus (82%). Berdasarkan derajat diferensiasinya masing-masing didapatkan 20 kasus (40%) dengan diferensiasi baik, 16 kasus (32%) dengan diferensiasi sedang dan 14 kasus (28%) dengan diferensiasi buruk. Hasil pewarnaan ekspresi ALDH-1 tinggi/kuat 23 kasus (46%) dan ekspresi ALDH-1 rendah/lemah 27 kasus (54%). Ekspresi EGFR-1 tinggi/kuat 6 kasus (12%) dan ekspresi EGFR-1 rendah/lemah 44 kasus (88%) (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik klinikopatologi penderita karsinoma kolorektal dan hasil ekspresi ALDH-1 dan EGFR-1.

Karakteristik	Jumlah (%)
Usia	24 -76 tahun (± 50,42 tahun)
• <40 tahun	16 (32%)
• ≥ 40 tahun	34 (68%)
Jenis kelamin	
• Pria	22 (44%)
• Wanita	28 (56%)
Lokasi tumor	
• Atas	9 (18%)
• Bawah	41 (82%)
Derajat diferensiasi	
• Baik	20 (40%)
• Sedang	16 (32%)
• Buruk	14 (28%)
Ekspresi ALDH-1	
• Tinggi (≥ 2)	23 (46%)
• Rendah (< 2)	27 (54%)
Ekspresi EGFR-1	
• Tinggi (≥6)	6 (12%)
• Rendah (<6)	44 (88%)

Pada penelitian ini tidak terdapat hubungan bermakna antara ekspresi ALDH-1 dengan faktor usia, jenis kelamin, dan lokasi tumor, namun didapatkan hubungan bermakna antara ALDH-1 dengan derajat diferensiasi karsinoma kolorektal (Tabel 2).

Tabel 2. Hubungan antara ekspresi ALDH-1 dan faktor klinikopatologi

Faktor Klinikopatologi	Tinggi = 23 n (%)	Rendah = 27 n (%)	RR (95%CI)	p
Usia				
•<40 tahun	8 (34,8)	8 (29,6)	1,133 (0,61-2,11)	0,697
•≥ 40 tahun	15 (65,2)	19 (70,4)		
Jenis kelamin				
•Pria	11 (47,8)	11 (40,7)	1,167 (0,642-2,121)	0,615
•Wanita	12 (52,2)	16 (59,3)		
Lokasi				
•Atas	5 (21,7)	4 (14,8)	1,265 (0,642-2,496)	0,525
•Bawah	18 (78,3)	23 (85,2)		
Deferensiasi				
•Baik	12 (52,2)	8 (29,6)	-	0,021
•Sedang	9 (39,1)	7 (25,9)		
•Buruk	2 (8,7)	12 (44,4)		

Uji Kruskal Wallis. Uji post hoc Mann Whitney diferensiasi baik vs diferensiasi sedang p=0,823. Diferensiasi baik vs diferensiasi buruk p=0,009. Diferensiasi sedang vs diferensiasi buruk p=0,019.

Hubungan antara ekspresi ALDH-1 dengan EGFR-1 pada penelitian ini tidak menunjukkan adanya hubungan yang bermakna (Tabel 3).

Tabel 3. Hubungan antara ekspresi ALDH-1 dan ekspresi EGFR-1

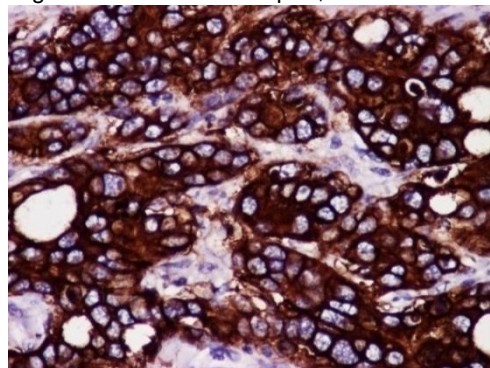
Ekspresi EGFR-1	Tinggi = 23 n (%)	Rendah = 27 n (%)	RR (95% CI)	p
Tinggi (≥ 6)	4 (17,4)	2 (7,4)	1,544 (0,798-2,906)	0,279
Rendah (<6)	19 (82,6)	25 (92,6)		

Ekspresi EGFR-1 pada penelitian ini tidak didapatkan hubungan yang bermakna dengan faktor usia, jenis kelamin, maupun lokasi tumor karsinoma kolorektal, yang dihitung dengan uji Fisher. Namun didapatkan hubungan yang bermakna dengan derajat diferensiasi tumor yang dihitung dengan menggunakan Kruskal Wallis (Tabel 4).

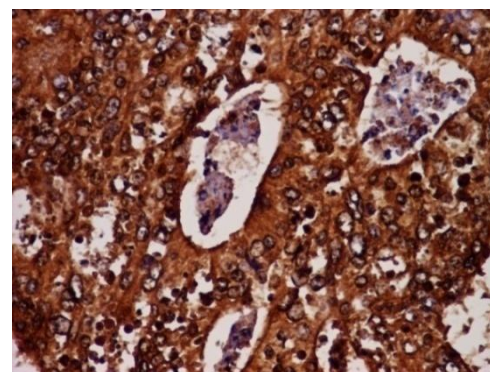
Tabel 4. Hubungan antara ekspresi EGFR-1 dan faktor klinikopatologi

Faktor klinikopatologi	Tinggi=6 n (%)	Rendah=44 n (%)	RR (95%CI)	p
Usia				
•<40 tahun	4 (66,7)	12 (27,3)	4,250 (0,867-20,84)	0,074
•≥ 40 tahun	2 (33,3)	32 (72,7)		
Jenis kelamin				
•Pria	3 (50,0)	19 (43,0)	1,273 (0,284-5,702)	1,000
•Wanita	3 (50,0)	25 (56,8)		
Lokasi				
•Atas	2 (33,7)	7 (15,9)	2,278 (0,490-10,587)	0,293
•Bawah	4 (66,7)	37 (84,1)		
Deferensiasi				
•Baik	0 (0)	20 (45,0)	-	0,014
•Sedang	5 (83,3)	11 (25,0)		
•Buruk	1 (16,7)	13 (29,5)		

Uji Kruskal Wallis. Uji post-hoc Mann Whitney diferensiasi baik vs diferensiasi sedang p=0,008. Diferensiasi baik vs diferensiasi sedang p=0,232. Diferensiasi sedang vs diferensiasi buruk p=0,105.



Gambar 1. Ekspresi kuat EGFR-1 pada membran dan sitoplasma sel-sel tumor kolorektal.



Gambar 2. Ekspresi kuat ALDH-1 pada sitoplasma dan inti sel-sel punca.

DISKUSI

Insidensi karsinoma kolorektal lebih banyak pada pria dibandingkan wanita¹, pada penelitian ini diharapkan lebih banyak ekspresi ALDH-1 dan EGFR-1 pada pria dibandingkan pada wanita, namun hasil penelitian yang didapatkan tidak didapatkan hubungan yang signifikan antara ekspresi ALDH-1 dan EGFR-1 dengan jenis kelamin.

Pada penelitian ini diperoleh hasil ada hubungan yang signifikan antara ekspresi ALDH-1 yang antara ekspresi ALDH-1 dan derajat diferensiasi histopatologi, semakin baik derajat diferensiasi, semakin tinggi ekspresi ALDH-1, hal ini menunjukkan bahwa lebih banyak dijumpai sel kanker punca pada tumor yang berdiferensiasi baik. Sedangkan ekspresi rendah ALDH-1 lebih banyak pada tumor diferensiasi buruk. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ying C *et al*²⁴ dan pada sediaan ovarium yang diteliti oleh Bin C *et al*.²⁰ Perhitungan Mann-Withney didapatkan hasil hubungan antara ekspresi ALDH-1 dengan derajat diferensiasi baik dan diferensiasi buruk ($p=0,009$) serta ekspresi ALDH-1 dengan derajat diferensiasi sedang dan diferensiasi buruk ($p=0,019$). Hal ini dimungkinkan semakin sedikit sel kanker punca pada diferensiasi buruk. Hal ini sesuai hipotesis yang dikemukakan oleh Michela S *et al*,²⁵ bahwa sel karsinoma kolo-rektal dapat muncul dari sel punca, sel progenitor, dan sel diferensiasi. Dalam hal ini sel diferensiasi atau sel dewasa mengalami de-diferensiasi sehingga mirip dengan sel punca. Dibutuhkan mutasi genetik onkogen untuk menimbulkan proses de-diferensiasi seperti proliferasi sel untuk *self-renewal* lebih lanjut. Sehingga pada teori ini memungkinkan adanya sel yang berpotensi tumorigenik di antara sarang-sarang tumor, yang dalam jumlah kecil dapat menjadi calon sel tumor. Dibutuhkan mekanisme spesifik untuk menentukan sel mana yang akan mengalami de-diferensiasi belum dapat ditentukan. Bagaimanapun jika jaringan tumor mengandung cukup populasi sel diferensiasi, kemungkinan adanya kelompok kecil sel diferensiasi yang mengalami de-diferensiasi.²⁵

Penilaian hubungan antara ekspresi ALDH-1 dan usia, jenis kelamin serta lokasi tumor tidak didapatkan hubungan, ini seperti yang dikemukakan oleh Tobias *et al*.¹⁸ Ini dimungkinkan tidak ada perbedaan jumlah sel kanker punca antara usia, jenis kelamin, dan

lokasi tumor. Namun demikian perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, mengingat studi pada proses penebaran meningkatkan adanya sel kanker punca.⁵

EGFR gena mengkode kromosom 7p12, yang dipercaya memegang peran penting sebagai regulator proliferasi dan apoptosis. Mutasi atau amplifikasi gen ini menyebabkan ekspresi berlebih EGFR protein dan menyebabkan karsinogenesis. Pada penelitian ini ada hubungan yang bermakna antara ekspresi EGFR-1 dengan derajat diferensiasi histopatologi. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh MacKay *et al*,¹² Spano JP *et al*,²³ dan Steele *et al*²⁶ tetapi tidak sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Muhammadi *et al*.¹⁰ Pada penelitian ini, awalnya diprediksikan ekspresi EGFR-1 akan diekspresikan lebih kuat pada tumor diferensiasi buruk dibandingkan pada tumor diferensiasi baik. Hasil dari penelitian ini diperoleh ekspresi tinggi EGFR-1 lebih sedikit dibandingkan pada ekspresi lemah. Jumlah sampel yang diferensiasi sedang lebih tinggi dibandingkan yang diferensiasi baik ataupun buruk, ini seperti hasil penelitian yang dilakukan oleh Cheirsilpa *et al*.²² Pada analisis statistik Mann Whitney diperoleh hubungan yang signifikan antara ekspresi EGFR-1 dengan diferensiasi baik dan diferensiasi sedang dengan $p=0,008$. Hasil penelitian ini, dengan ekspresi EGFR-1 yang berlebih terutama pada diferensiasi sedang, mungkin bisa digunakan sebagai indikator prognosis dan kekambuhan, seperti yang diungkapkan oleh Cheirsilpa *et al*.²² Pada penghitungan statistik ekspresi EGFR-1 tidak ada hubungan yang bermakna dengan usia, jenis kelamin serta lokasi tumor, sehingga sama seperti penelitian yang dilakukan oleh Muhammadi *et al*,¹¹ Cheirsilpa *et al*.²² Hal ini mungkin karena jumlah sampel berdasar kelompok usia, jenis kelamin dan lokasi tumor yang kurang merata dan mungkin disebabkan karena perbedaan teknik pemeriksaan, metoda peneltiandan interpretasi hasil.

Pada penelitian ini diharapkan ekspresi ALDH-1 meningkat seiring dengan meningkatnya ekspresi EGFR-1. Namun hasil yang diperoleh dengan perhitungan statistik ekspresi ALDH-1 dan ekspresi EGFR-1 pada penelitian ini tidak didapatkan hubungan keduanya yang signifikan $p=0,395$ dengan menggunakan uji Fisher. Hasil ini tidak sesuai dengan penelitian Levi *et al*⁷ pada hewan coba. Hal ini dimungkin-

kan karena metode penelitian yang berbeda dan jumlah sampel yang kurang.

Pada penelitian ini didapatkan hasil ekspresi kuat ALDH-1 lebih banyak pada kelompok karsinoma kolorektal diferensiasi baik. Hal ini menunjukkan didapatkan kesesuaian hipotesis bahwa sel kanker dapat berasal dari sel yang diferensiasi.²⁵ Hal ini serupa pada karsinoma payudara yang dikemukakan oleh Nalwoga *et al*,²⁷ bahwa ada hubungan antara ekspresi ALDH-1 dengan derajat diferensiasi histopatologi menunjukkan peran sel punca dan EGFR-1. Ekspresi kuat EGFR-1 lebih banyak didapatkan pada tumor dengan diferensiasi sedang, hal ini serupa dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Cheirsilpa *et al*.²²

KESIMPULAN

Ekspresi ALDH-1 dan EGFR-1 berhubungan dengan derajat difrensiasi histopatologi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hamilton SR, Volgestein B, Kudo S, Riboli E, Nakamura S, Halnaut P. Tumours of the Colon and Rectum. In: Hamilton S, Aaltonen LA, editors. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. France: IARC Press, Lyon. 2000. p.103-44.
2. Turner JR. The gastrointestinal tract. In: Schmitt W, Grulioiw R, Kumar V, Abbas A, Fausto N. Robbins and Cotran: Pathologic basis of disease, 7th.ed, Elsevier Saunders. Philadelphia. 2010.p.1120-53.
3. Wu XZ. Origin of Cancer Stem Cells: The Role of Self-Renewal and Differentiation. *Ann Surg Oncol*. 2007;15:407-14.
4. Huang EH, Hynes MJ, Tao Z, Ginestier C, Dontu G, Appelman H, *et al*. Aldehyde dehydrogenase 1 is a marker for normal and malignant human colonic stem cells (SC) and tracks SC overpopulation during colon tumorigenesis. *Cancer Res*. 2009;69:3382-9.
5. Catalano V, Gaggianesi M, Spina V, Iovino F, Dielu F, Stassi G, *et al*. Colorectal Cancer Stem Cells and Cell Death. *Cancer* 2011; 3:1929-46.
6. Neumeister V, Rimm D. Is ALDH-1 a Good Method for Detection of Breast Cancer Stem Cells? *Breast Cancer Res Treat*. 2010;123: 109-11.
7. Levi E, Misra S, Du JH, Patel BB, Majumdar APN. Combination of aging and dimethylhydrazine treatment cause an increase in cancer-stem cell population of rat colonic crypts. *Biochem Biophys Res Comm*. 2009; 385:430-3.
8. Javier CC, Cristobal BI, Enrique CS, Elena HA, Jaime FB, Manuel GB. EGFR and colon cancer : a clinical view. *Clin Transl Oncol*. 2008;10:6-13.
9. Fromm JA, Johnson SAS, and Johnson DL. Epidermal Growth Factor Receptor 1 (EGFR1) and Its Variant EGFRvIII Regulate TATA-Binding Protein Expression through Distinct Pathways. *Mol Cell Biol*. 2008;28: 6483-95.
10. Muhammadi G, Jamialahmadi K, Lary S, Ghaffarzadegan K. Expression of Membranous Epidermal Growth Factor Receptor in Colorectal Adenocarcinoma and It's Correlation with Clinicopathological Features. *Pakistan J Biol Sci*. 2011;14:5: 357-62.
11. Rego R, Foster NR, Smyrk TC, Le M, O'Connell MJ, Sargent DJ, *et al*. Prognostic Effect of Activated EGFR Expression in Human Colon Carcinomas: Comparison with EGFR status. *Br J Cancer*. 2010;102:165-72.
12. McKay JA, Marray LJ, Curran S, Ross VG, Clark C, Murray GI, *et al*. Evaluation of Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) in Colorectal Tumours and Lymph Nodes Metastases. *Eur J Cancer*. 2002;38:2258-64.
13. Krasinskas AM. EGFR Signaling in Colorectal Carcinoma. *Pathol Res Int*. 2011; 932.
14. Patel BP, Yu YJ, Du JH, Levi E, Philip PA, Majumdar APN. Age-Related Increased in Colorectal Cancer Stem Cell in Macroscopically Normal Mucosa of Patients with Adenomas : A Risk Factor for Colon Cancer, *Biochem Biophys Res Commun*. 2009; 378:344-7.
15. Jyoti Nautiyal, Jianhua Du, Yingjie Yu, Shailender S Kanwar, Edi Levi, Adhip P. N. Majumdar. EGFR regulation of colon cancer stem-like cells during aging and in response to the colonic carcinogen dimethylhydrazine. *Am Phys*. 2012;302:7:655-63.
16. Dacic S. EGFR Assays in Lung Cancer. *Adv Anat Pathol*. 2008; 15: 4:241-7.
17. Lungli A, Iezzi G, Hostettler I, Muraro MG, Mele V, Tornillo L, *et al*. Prognostic Impact of Expression of Putative Cancer Stem Cell

- Markers CD 133, CD166, CD44s, EpCAM, and ALDH1 in Colorectal Cancer, *Bri J Cancer*. 2010;103:382-90.
18. Tobias V, Lydia Krieffl, David H, Jutta E, Sabine S, Achim JS, *et al*. The Expression pattern of Aldehyde Dehydrogenase 1 (ALDH 1) is an Independent Prognostic Marker for Low Survival in Colorectal Tumors *Exp & Mol Pathol*. 2012;92:111-7.
 19. Ting L, Yun S, Yuping M, Qixin L, Bingjie L, Zennqiu L, *et al*. ALDH1A1 is a Marker for Malignant Prostate Stem Cells and Predictor of Prostate Cancer Patients' Outcome. *Lab Invest*. 2010;90:234-44.
 20. Bin C, Guangzhe L, Fwngxia X, Daniel GR, Lianchun X, Xuemei W, *et al*. ALDH1 expression correlates with favorable prognosis in ovarian cancers. *Mod Pathol*. 2009; 22: 817-23.
 21. Marise RHV, Petra G, Joost B, Elsken W, Paul JD. Expression of the stem cell marker ALDH-1 in BRCA-1 related breast cancer. *Cellular Oncol*. 2011;34:3-10.
 22. Cheirsilpa A, Ruangvejvorachai P, Karalak A, Sangprakarn S, Pummai S, Sangrajrang S. Determination of epidermal growth factor receptor (EGFR) in patients with colorectal cancer (Institutional series). *Cancer Ther*. 2007;5:137-42.
 23. Spano JP, Lagorce C, Altan D, Milano G, Domont, Benamouzig R, *et al*. Impact of EGFR expression on colorectal cancer patient prognosis and survival. *Ann Oncol*. 2004;16:102-8.
 24. Ying C, David JO, Akiko M, Surendra S, David CT, Vasilis V. Aldehyde Dehydrogenase 1B1 (ALDH1B1) is a Potential Biomarker for Human Colon Cancer. *Biochem Biophy Res Comm*. 2011; 405:173-9.
 25. Michela S, Vanoni M, Parmiani G. Immunobiological properties of cancer stem cells isolated from colorectal cancer patients. *Ann Acad Milano* 2010-2011;36-9.
 26. Steele RJC, Kelly P, Eliul B, Eremin O. Epidermal Growth Factor Receptor Expression in Colorectal Cancer. *Br J Surg*. 1990; 77:1352-4.
 27. Nalwoga H, Arnes JB, Wahinga H, Akslen LA. Expression of Aldehyde Dehydrogenase 1 (ALDH1) is Associated with Basal-like Markers and Features of Aggressive Tumors in African. *Breast Cancer. Br J Cancer*. 2010;102:369-75.