

EKSPRESI MESENCHYMAL EPITHELIAL TRANSITION FACTOR RECEPTOR (C-MET) PADA KARSINOMA SEROSUM OVARIUM

*Deasy Halik¹, Rina Masadah¹, Berti Nelwan¹, Halidah Rahawarin², Andi Alfian Zainuddin³, Syamsu Rijal⁴

¹Department of Pathology Anatomy, Faculty of Medicine, Hasanuddin University – Makassar, INDONESIA

²Department of Pathology Anatomy, Faculty of Medicine, Pattimura University – Ambon, INDONESIA

³Department of Public Health, Faculty of Medicine, Hasanuddin University – Makassar, INDONESIA

⁴Department of Histology, Faculty of Medicine, Indonesian Moeslem University – Makassar, INDONESIA

*Correspondent Author : desches87@gmail.com

ABSTRACT

Ovarian cancer is the eight most common caused of death of women malignancy disease in the world. Many of cases have been found in advanced stages with metastatic. Early detection of metastatic would be helpful to perform optimal prevention and therapy in order to increase morbidity and mortality rates. Mesenchymal Epithelial Transition Factor Receptor (C-met) with its Hepatocyte growth factor/ Scatter factor ligand (SF) is a membrane receptor that stimulate cell proliferation, differentiation, motility, and invasion, through mitogenic intracellular signalling.

The purpose of this study was to evaluate the role of c-met in progression of serous ovarian carcinoma (SOC) by histopathological grading. We did retrospective cross-sectional study to 82 samples of serous ovarian carcinoma which consist of low-grade SOC and high-grade SOC, using immunohistochemical analysis. The analysis revealed that there were no significant differences ($p=0.184$) between expression of c-met in low-grade SOC and high – grade SOC.

These results indicate that the expression of c-met could not be used to differentiate the histopathological grading in serous ovarian carcinoma.

Keywords : *ovarian serous carcinoma, metastatic, C-met*

PENDAHULUAN

Karsinoma ovarium menduduki urutan kedelapan sebagai keganasan yang paling sering terjadi pada wanita, merupakan penyebab kematian utama dan memiliki prognosis yang paling buruk diantara keganasan ginekologik lainnya.¹ Beberapa faktor prognostik telah diteliti untuk memprediksi angka bertahan hidup pada karsinoma ovarium.² C-met adalah suatu reseptor membran yang berperan dalam pertumbuhan tumor melalui aktivasi jalur sinyal mitogenik dan memainkan peranan penting dalam tumorigenesis.³ *Hepatocyte growth factor/ Scatter factor (SF)* merupakan satu-satunya ligan untuk reseptor c-met. Sebagai suatu faktor pertumbuhan, HGF menstimulasi proliferasi sel, morfogenesis, motilitas sel, dan kemampuan invasi.^{4,5,6,7,8} Beberapa penelitian

menunjukkan bahwa c-met memainkan peranan penting dalam transformasi sel-sel epitel permukaan ovarium, perkembangan karsinoma ovarium dan diseminasinya.⁹ Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat perbedaan ekspresi c-met pada karsinoma ovarium serosum *low-grade* dan karsinoma ovarium serosum *high-grade*.

CARA KERJA

1. Pengambilan sampel

Penelitian ini merupakan penelitian retrospektif *cross-sectional*. Populasi penelitian ini adalah jaringan reseksi asal ovarium yang dikirim ke Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Laboratorium Patologi

Anatomi RS Dr. Wahidin Sudirohosodo, dan Sentra Diagnostik Patologia Makassar yang didiagnosis sebagai karsinoma serosum ovarium dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin mulai dari Januari 2014 sampai Desember 2017. Kriteria inklusi adalah jaringan asal tumor ovarium yang terkirim dengan omentum dan/atau limfonodus peritoneum, dan organ peritoneum lainnya, yang didiagnosis oleh ahli patologi sebagai karsinoma serosum ovarium. Kriteria eksklusif adalah jaringan yang habis potong dan rusak saat diproses ulang untuk pemeriksaan imunohistokimia c-met.

2. Prosedur Laboratorium

85 sampel blok parafin dari pasien dengan karsinoma ovarium serosum dipotong dengan ketebalan 4 mikron dan diletakkan pada kaca objek. Sampel ini kemudian diwarnai dengan Hematoksilin-Eosin dan imunohistokimia dengan menggunakan antibodi poliklonal c-met reseptor dengan prosedur standar. Sampel kemudian diperiksa untuk menentukan diagnosis histopatologi dan ekspresi c-met.

3. Interpretasi imunohistokimia

Ekspresi c-met adalah akumulasi protein pada sitoplasma sel yang dideteksi dengan metode imunohistokimia. Ekspresi dihitung menggunakan sistem skoring berdasarkan intensitas warna dan proporsi sel yang terwarnai. Intensitas dan proporsi daerah terwarnai digabungkan dan dijabarkan menjadi tingkatan skor:^{6,7}

- 0 : Tidak terwarnai atau <50% sel tumor yang terwarnai dengan intensitas lemah
- +1 : $\geq 50\%$ sel tumor yang terwarnai dengan intensitas lemah atau < 50% sel tumor yang terwarnai dengan intensitas sedang
- +2 : $\geq 50\%$ sel tumor yang terwarnai dengan intensitas sedang atau < 50% sel tumor yang terwarnai dengan

intensitas kuat.

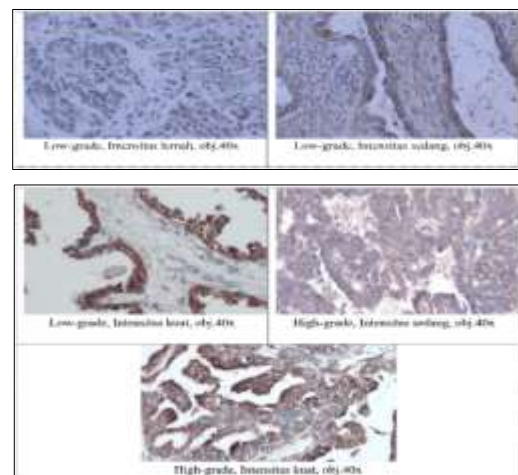
- +3 : $\geq 50\%$ sel tumor yang terwarnai dengan intensitas kuat.

Evaluasi imunohisto kimia dilakukan oleh dua orang ahli patologi yang tidak mengetahui status metastasis sampel yang diperiksa.

4. Analisis Statistik

Analisis data menggunakan SPSS (Statistical Package for Social Sciences) version 17. Perbandingan ekspresi c-met antara karsinoma ovarium serosum yang bermetastasis dengan yang tidak bermetastasis dinilai dengan analisis Chi-square.

HASIL



82 sampel yang memenuhi syarat diperiksa dengan karakteristik sebagai berikut:

Tabel 1. Karakteristik sampel

Karakteristik	Keterangan	Jumlah
Umur (tahun)	Rerata \pm SD	48,9 \pm 11,4

Karakteristik	Keterangan	Jumlah	%
Diagnosa histopatologi	low-grade	21	25,6
	high-grade	61	74,4
Intensitas	0	4	4,9
	1	7	8,5
	2	13	15,9
	3	58	70,7
Proporsi	0	4	4,9
	1	29	35,4
	2	49	59,8
	3	10	12,2
Skor	0	10	12,2
	1	11	13,4
	2	28	34,1
	3	33	40,2

Berdasarkan tabel diatas didapatkan usia rata-rata pasien karsinoma ovarium tipe serosum adalah usia 48 tahun dengan rentang 11 tahun.

Distribusi sampel berdasarkan diagnosis histopatologi didapatkan kasus karsinoma serosum *low-grade* sebanyak 21 kasus (25,6%), kasus karsinoma serosum *high-grade* sebanyak 61 kasus (74,4%).

Hasil pemeriksaan dengan menggunakan metode imunohistokimia c-met didapatkan interpretasi intensitas c-met yang positif kuat pada 58 kasus (70,7%), positif sedang pada 13 kasus (15,9%), positif lemah pada 7 kasus (8,5%), dan 4 kasus (4,9%) tidak terwarnai. Kasus dengan proporsi daerah yang terwarnai dengan antibodi c-met >50% adalah sebanyak 49 kasus (59,8%), kasus dengan proporsi daerah yang terwarnai kurang dari 50% adalah 29 kasus (35,4%), sisanya sebanyak 4 kasus (4,9%) tidak terwarnai.

Dari hasil pemeriksaan intensitas dan proporsi pewarnaan imunohistokimia didapatkan skor imunohistokimia c-met yang terbanyak adalah skor 3 yakni sebanyak 33 kasus (40,2%), skor 2 sebanyak 28 kasus (34,1%), skor 1 sebanyak 11 kasus (13,4%), dan skor 0 sebanyak 10 kasus (12,2%).

1. Hubungan umur dengan ekspresi c-met

Tabel 2. Korelasi umur dengan ekspresi c-met

		UMUR
ekspresi c-met	r	0,067
	p	0,550
	n	82
Uji Spearman		p> 0,05

Dari tabel diatas diperoleh hasil uji analisis korelasi antara umur dengan ekspresi c-met dengan menggunakan uji Spearman menunjukkan nilai $p= 0,550$ ($p>0,05$) yang berarti tidak terdapat hubungan bermakna antara umur dengan ekspresi c-met. Nilai korelasi koefisien (r) = 0,067 menunjukkan korelasi yang sangat lemah.

2. Analisis perbedaan skor ekspresi c-met antara karsinoma serosum *low-grade* dengan karsinoma serosum *high-grade*.

Tabel 3. Perbedaan skor ekspresi c-met antara karsinoma serosum *low-grade* dengan karsinoma serosum *high-grade*.

	Diagnosa		Total
	Low Grade	High Grade	
SKOR	0	6	10
		40,0%	60,0%
		100,0%	100,0%
	1	9	11
	18,2%	81,8%	100,0%
	10	28	38
	35,7%	64,3%	100,0%
	5	28	33
	15,2%	84,8%	100,0%
Total	21	61	82
	25,6%	74,4%	100,0%
Likelihood ratio		$p=0,184$	$p=0,85$

Tabel di atas memperlihatkan jumlah kasus karsinoma serosum yang tidak mengekspresikan c-met adalah sebanyak 10 kasus, yang terdiri dari 4 kasus karsinoma serosum *low-grade* dan 6 kasus karsinoma serosum *high-grade*. Kasus yang memperlihatkan skor ekspresi 1 adalah sebanyak 11 kasus, yang terdiri dari 2 kasus karsinoma

serosum *low-grade* dan 9 kasus karsinoma serosum *high-grade*. Skor ekspresi 2 diperlihatkan pada 28 kasus, 10 kasus diantaranya adalah kasus karsinoma serosum *low-grade* dan 18 kasus lainnya adalah kasus karsinoma serosum *high-grade*. Sebanyak 33 sampel memperlihatkan skor ekspresi 3, yang terdiri dari 5 kasus karsinoma serosum *low-grade* dan 28 kasus karsinoma serosum *high-grade*.

Dari analisa statistik menggunakan uji Chi-Square diperoleh $p = 0,184$ ($p > 0,05$) yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna ekspresi c-met antara karsinoma serosum *low-grade* dan karsinoma serosum *high-grade*.

PEMBAHASAN

Karsinoma ovarium merupakan penyebab utama kematian pada keganasan ginekologi dan 90% kasus berasal dari epitel permukaan ovarium. Karsinoma ovarium memiliki angka mortalitas yang tinggi karena kebanyakan kasus didiagnosa pada stadium lanjut dengan adanya metastasis intraperitoneal. Metastasis intraperitoneal ini sangat mempengaruhi angka mortalitas, dimana keganasan ovarium yang didiagnosa sebelum adanya metastasis memberikan angka harapan hidup lebih dari 90%, sedangkan pada kasus dimana telah terjadi metastasis intraperitoneal angka harapan hidup 5 tahunnya kurang dari 30%.¹⁰

Walaupun telah banyak penelitian klinis dan histopatologi yang dilakukan untuk menentukan faktor prognostik pada karsinoma ovarium, masih diperlukan faktor prognostik yang lebih sensitif. Penelitian yang dilakukan terhadap beberapa *growth factor* dan reseptor mengindikasikan hubungan dengan prognosis karsinoma ovarium, namun pengaruhnya terhadap harapan hidup (survival) belum dapat dijelaskan. Hal

lain yang dapat menjelaskan kondisi ini adalah bahwa karsinogenesis maupun proses metastasis dipengaruhi oleh banyak faktor.¹¹

Berbeda dengan tumor lain yang bermetastasis melalui jalur hematogen, karsinoma ovarium berdiseminasi ke rongga peritonium dan invasinya bersifat superfisial. Walaupun demikian, karsinoma ovarium berkembang dengan sangat cepat, menekan organ lain di peritoneum, dan memiliki sensitifitas terhadap kemoterapi yang terbatas. Beberapa perubahan genetik dan epigenetik berperan dalam transformasi sel karsinoma ovarium. Karsinoma ovarium dapat berasal dari epitel permukaan ovarium, epitel tuba, dan sel-sel mesotel yang melapisi rongga peritoneum.¹²

Penelitian terkait ekspresi c-met masih terbatas dan kontroversial. Kebanyakan jenis tumor yang diteliti bermetastasis melalui jalur hematogen, limfatik, dan *direct extension*, berbeda dengan karsinoma ovarium yang bermetastasis melalui diseminasi peritoneum, yang kemungkinan memiliki mekanisme molekular yang berbeda.⁹

Pada penelitian ini dikumpulkan sampel sebanyak 82 kasus, yang terdiri dari karsinoma serosum *low-grade* dan karsinoma serosum *high-grade* baik yang bermetastasis maupun yang tidak bermetastasis.

Tabel 3 menunjukkan analisa statistik menggunakan uji Chi-Square yang membandingkan antara skor ekspresi c-met antara karsinoma serosum *low-grade* dengan karsinoma serosum *high-grade*. Dari analisa tersebut didapatkan nilai $p = 0,184$ ($p > 0,05$) yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna ekspresi c-met antara karsinoma serosum *low-grade* dan karsinoma serosum *high-grade*.

Beberapa penelitian terdahulu memiliki hasil yang kontroversial. Penelitian yang dilakukan oleh Fracchioli et al tidak dapat menemukan korelasi antara ekspresi c-met dengan tipe histopatologi, grading, staging, dan respon terhadap kemoterapi.¹³ Berbeda dengan penelitian lain yang dilakukan oleh Ayhan et al, yang menunjukkan hubungan yang bermakna antara ekspresi c-met dengan derajat histopatologi.¹¹ Penelitian yang dilakukan oleh Battista et al menunjukkan bahwa c-met lebih diekspresikan pada karsinoma ovarium tipe 1.¹⁴ Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Yamamoto et al, yang membandingkan ekspresi c-met pada sampel karsinoma ovarium *clear-cell* dan *non clear-cell*. Telah dijelaskan sebelumnya bahwa karsinoma serosum *low-grade* dan karsinoma ovarium *clear-cell* termasuk dalam tipe 1.¹⁵

Penelitian yang dilakukan oleh Battista et al menjelaskan bahwa c-met berperan dalam interaksi (*cross-talk*) beberapa jalur, seperti jalur RAS-MAPK dan PI3-AKT yang diketahui berperan dalam perkembangan karsinoma ovarium tipe 1.¹⁴ Penelitian-penelitian tersebut tidak membandingkan antara karsinoma ovarium serosum *low-grade* yang termasuk dalam tipe 1 dan karsinoma ovarium serosum *high-grade* yang termasuk dalam tipe 2.

Pada penelitian ini, diperoleh hasil bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara ekspresi c-met pada karsinoma ovarium serosum *low-grade* dan *high-grade*. Perbedaan hasil yang diperoleh dengan penelitian sebelumnya mungkin disebabkan karena perbedaan jenis karsinoma yang diteliti dan jumlah sampel yang tidak seimbang.

KESIMPULAN

Tidak terdapat perbedaan bermakna skor ekspresi c-met antara karsinoma serosum ovarium *low-grade* dan karsinoma serosum ovarium *high-grade*. Hal ini mengindikasikan bahwa c-met tidak dapat digunakan untuk membedakan grading histopatologi pada karsinoma ovarium serosum.

REFERENSI

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. 2015. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2015. . **65**,: p. 5-29.
2. Wimberger P., Lehmann N., Kimmig R., Burges A., Meier W., and Du Bois A. Prognostic factors for complete debulking in advanced ovarian cancer and its impact on survival. An exploratory analysis of a prospectively randomized phase III study of the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie ovarian cancer study group (AGO-OVAR). *Gynecologic Oncology*. 2007. **106**(1): p. 69–74
3. Bottaro D. P., Rubin J. S., Faletto D. L. et al. Identification of the hepatocyte growth factor receptor as the met protooncogene product. *Hepatology*, 1991.. **251**, p. 802–4.
4. Paulette M.F., Michelle A., and Tanja P. Review Articles: MET/HGF Signaling Pathway in Ovarian Carcinoma: Clinical Implications and Future Direction. Hindawi Publishing Corporation Pathology Research International Volume 2012, Article ID 960327.

5. Organ S.L, Tsao M.S. An Overview of the c-met signaling pathway. Therapeutic Advances in Medical Oncology. 2001.
6. Basilico, C., Arnesano, A., Galluzzo, M., Comoglio, P.M. and Michieli, P. A High Affinity Hepatocyte Growth Factor-Binding Site In The Immunoglobulin-Like Region Of Met. J Biol Chem. 2008. . **283**,: p. 21267-77.
7. Birchmeier, C., Birchmeier, W., Gherardi, E. and Vande Woude, G.F. Met, Metastasis, Motility And More. Nat Rev Mol Cell Biol. 2003. . **4**,: p. 915-25.
8. Trusolino, L. and Comoglio, P.M. Scatter factor and semaphorin receptors: cell signalling for invasive growth. Nat Rev Cancer. 2002.. **2**,: p. 289-300.
9. Sawada K., Radjabi A.R., Shinomiya N., Kistner E., Kenny H., Becker A.R., Turkyilmaz M.A., Salgia R., Yamada S.D., Vande Woude G.F., *et al.* C-Met Overexpression Is A Prognostic Factor In Ovarian Cancer And An Effective Target For Inhibition Of Peritoneal Dissemination And Invasion. Cancer Res. 2007.. **67**, : p. 1670-9.
10. Liu Y., Metzinger M.N., Lewellen K.A., Crisps S.N., Carey K.D., Harper E.I., Shi Z., Tarwater L, Grisoli A., Lee E., Sluzars A., Yang J., Loughran E.A., Conley K., Johnson J.J., Klymenko Y., Bruney L., Liang Z., Dovichi N.J., Cheatham B., Leevy W.M., and Stack M.S. Obesity Contributes to Ovarian Cancer Metastatic Success through Increase Lipogenesis, Enhanced Vascularity, and Decreased Infiltration of M1 Macrophage. Cancer Res. 2015. . **75**: p. 5046-57.
11. Ayhan A., Ertunc D., Tok E.C., Ayhan A. Expression of the c-Met in Advanced Epithelial Ovarian Cancer and its prognostic significance. Int J Gynecol Cancer. 2005. **15**: p. 618-23.
12. Lengyel, E. Ovarian cancer development and metastasis. Am J Pathol. 2010. **177**,: p. 1053-64.
13. Fracchioli S, Katsaros D, Maggiora P, Di Renzo MF, Massobrio M. Evaluation of Ron and Met proto-oncogene expression in epithelial ovarian tumors [Abstract]. Minerva Ginecol. 1999. **51**: p. 359–64.
14. Battista M.J., Schmidt M., Jakobi S., Cotarelo C., Almstedt K., Heimes A.S, Makris G.M., Weyer V., Lebrecht A., Hoffmann G., and Eichbaum M. C-Met Is Overexpressed In Type I Ovarian Cancer:Results Of An Investigative Analysis In A Cohort Of Consecutive Ovarian Cancer Patients. Oncology Letters. 2016. . **12**,: p. 2001-7.
15. Yamamoto S., Tsuda H., Miyai K., Takano M., Tamai S., and Matsubara O. Gene Amplification and Protein Overexpression of met are Common Events in Ovarian Clear-cell Adenocarcinoma: Their Roles in Tumor Progression and Prognostication of the Patient. Mod Pathol. 2011. . **24**, : p.1146-55.