

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Ependimoma adalah salah satu tumor jarang pada sistem saraf pusat dengan fenotip sel glia radial yang melapisi sistem ventrikel dan medula spinalis, umumnya ditemukan pada anak-anak dan menjadi salah satu penyebab utama kematian akibat kanker, walaupun juga dapat ditemukan pada orang dewasa.<sup>1,2,3,4</sup> *Collaborative Ependimoma Research Network* (CERN) dan *Central Brain Tumor Registry of the United States* (CBTRUS) menyebutkan angka kejadian ependimoma 1,9 % dari keganasan primer SSP. Sekitar 1.340 orang per tahun terdiagnosis ependimoma di Amerika Serikat.<sup>5,6,7</sup> Di Indonesia, khususnya Semarang, dari data epidemiologi angka kejadian ependimoma 2,3% dari 175 kasus tumor otak primer pada periode tahun 2015-2018.<sup>8</sup>

*World Health Organization* (WHO) dan studi penelitian sebelumnya, menyebutkan ependimoma diklasifikasikan menjadi : supratentorial (ST), fosa posterior (FP), dan spinalis (SP), klasifikasi ini didasarkan atas lokasi dan fitur genetik. Ependimoma dengan fusi RELA, adalah salah satu ependimoma ST yang didefinisikan sebagai entitas baru, ditandai dengan transkrip fusi gen RELA dan melibatkan aktivasi patologis jalur NF $\kappa$ B (*nuclear factor kappa  $\beta$* ), entitas ini memiliki nilai prognosis yang buruk, dengan menggunakan imunohistokimia p65-RelA dan *L1 cell adhesion molecule* (L1CAM), memiliki nilai sensitivitas dan spesifisitas yang baik untuk EPN-RELA (ependimoma-RELA).<sup>1,2,5,6</sup>

Di Indonesia sendiri, khususnya di RSUP Dr. Kariadi Semarang, penelitian terkait klasifikasi diagnosis ependimoma terkini belum pernah dilakukan dan untuk diagnosis histopatologi ependimoma saat ini masih berdasarkan pengecatan *hematoxyline* dan *eosin* (HE), tanpa mengelompokkan berdasarkan klasifikasinya. Selain itu karena subyektifitas yang berbeda antara ahli patologis, sangat mempengaruhi penegakkan diagnosis ependimoma yang pada beberapa kasus dilaporkan terdiagnosis suatu meningioma. Adapun salah satu prediktor untuk penentuan klasifikasi diagnosis ependimoma adalah dengan menggunakan pengecatan panel imunohistokimia (IHK), diantaranya menggunakan antibodi p65, L1CAM dan Ki-67.<sup>9,10</sup>

RELA/p65 adalah gen yang mengalami penataan ulang, diduga akibat kromotripsis. Pada ependimoma gen ini berfusi dengan gen *C11orf95* pada kromosom 11q13.1 yang melibatkan aktivasi jalur NF- $\kappa$ B sebagai faktor transkripsi, fungsinya sebagai gen anti apoptosis, merangsang pertumbuhan dan metastasis tumor. Fusi gen C11orf95-RELA ini ditemukan 70%- 72% pada ependimoma ST, diantaranya 70% terjadi pada anak dan 20% pada dewasa. Ekspresi berlebihan p65 pada inti sel adalah salah satu penanda yang mengindikasikan patogenesis ependimoma ditingkat molekuler, sehingga dapat digunakan untuk membantu menentukan klasifikasi diagnosis, hingga prognosis ependimoma.<sup>6,11,12,13</sup>

*L1 cell adhesion molecule* (L1CAM) adalah molekul adhesi sel dari superfamili immunoglobulin transmembran, terletak di lokus q28 kromosom X, berfungsi mengatur interaksi antara sel, migrasi sel saraf dan pertumbuhan neurit.<sup>14,15</sup> Pada ependimoma ekspresi berlebih dari L1CAM di sitoplasma sel

mengindikasikan sel bersifat lebih motil dan agresif, sebagai akibat dari mutasi pada lokus gen dan adanya pemisahan serta pelepasan struktur L1CAM pada membran sel oleh protein proteolitik. L1CAM ektodomain dapat berikatan secara autokrin/parakrin dengan integrin dan bagian terlarut L1CAM betranslokasi menuju inti sel mengaktifkan faktor transkripsi yang mempengaruhi proliferasi sel, invasi, dan metastasis.<sup>16,17</sup> Beberapa penelitian menyebutkan ekspresi L1CAM berkorelasi dengan fusi gen RELA pada ependimoma ST, sehingga ekspresi L1CAM juga mengindikasikan patogenesis ependimoma seperti p65 dan pada penelitian retrospektif L1CAM dapat digunakan sebagai salah satu marker pengganti p65.<sup>18</sup>

*Marker Of Proliferation Ki-67 (Ki-67/MKi-67)* adalah marker biologi pada kromosom 10q26.2. Ki-67 merupakan protein inti yang terekspresi pada sel yang sedang mengalami proliferasi dengan tingkat ekspresi yang berubah sepanjang siklus sel. Ki-67 terekspresi pada semua fase siklus sel kecuali G<sub>0</sub>, marker ini selain sebagai marker diagnosis terkait grading tumor, dan juga menggambarkan prognosis dari ependimoma.<sup>10,19,20</sup>

Berdasarkan uraian di atas, latar belakang dilakukannya penelitian ini adalah karena belum pernah ada penelitian sebelumnya, khususnya bagian patologi anatomi di RSUP Dr. Kariadi Semarang dalam mendiagnosis ependimoma berdasarkan klasifikasi terkini dengan menggunakan salah satu penanda yaitu IHK yang dapat memberikan informasi penting bagi klinis terkait prognosis dan terapi, sehingga peneliti tertarik untuk melihat ekspresi p65, L1CAM dan Ki-67 sebagai salah satu penanda klasifikasi terkini ependimoma di RSUP Dr. Kariadi Semarang.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Bagaimana tingkat ekspresi p65, L1CAM dan ki-67 sebagai salah satu penanda klasifikasi endimoma terkini di RSUP Dr. kariadi semarang.

## **1.3. Tujuan Penelitian**

### **1.3.1. Tujuan Umum**

Mengetahui profil ekspresi p65, L1CAM dan Ki-67 sebagai salah satu penanda klasifikasi endimoma terkini di RSUP Dr. kariadi semarang, periode 1 Januari 2017 - 31 Desember 2021.

### **1.3.2. Tujuan Khusus**

1. Mengetahui profil ekspresi p65 pada pasien endimoma.
2. Mengetahui profil ekspresi L1CAM pada pasien endimoma.
3. Mengetahui profil ekspresi Ki-67 pada pasien endimoma.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Aspek pendidikan dan ilmu pengetahuan Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan tentang tingkat pengaruh ekspresi p65, L1CAM dan Ki-67 sebagai salah satu penanda klasifikasi endimoma terkini di RSUP Dr. kariadi semarang. Sumbangan terhadap Patologi Anatomi terutama mengenai manfaat penggunaan imunohistokimia p65, L1CAM dan Ki-67 pada pasien endimoma.
2. Aspek pelayanan kesehatan Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi masukan bagi para klinisi tentang manfaat penggunaan imunohistokimia dari

ekspresi p65, L1CAM dan Ki-67 sebagai salah satu penanda klasifikasi ependimoma terkini di RSUP Dr. kariadi semarang.

3. Aspek penelitian Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar penelitian bagi peneliti selanjutnya terkait pengaruh ekspresi p65, L1CAM dan Ki-67 sebagai salah satu penanda klasifikasi ependimoma terkini di RSUP Dr. kariadi semarang.

### 1.5. Originalitas Penelitian

NO	Nama penulis, Judul Artikel, dan jurnal publikasi	Metode Penelitian	Hasil
1.	Pajtler KW, Witt H, Sill M, Jones DTW, Hovestadt V, Kratochwil F, et al. Molecular Classification of Ependymal Tumors across All CNS Compartments, Histopathological Grades, and Age Groups. <i>Cancer Cell</i> . 2015;27(5):728–43. <sup>6</sup>	<b>Desain:</b> Kohort. <b>Sampel:</b> 500 sampel tumor, masing-masing kompartemen anatomi dari SSP, tulang belakang, fossa posterior, dan supratentorial. <b>Metode:</b> Profil metilasi DNA dengan menggunakan Illumina 450k methylation array, mengidentifikasi sembilan subgrup molekul yang berbeda dari tumor ependimal pada semua kelompok umur, dan setiap kompartemen anatomi CNS (SP, PF, dan ST).	Profil metilasi DNA ependimoma mengidentifikasi sembilan subgrup molekul. Fusi YAP1 dan RELA mencirikan dua kelompok ependimoma supratentorial berbeda. Pasien dengan PFA atau RELA positif-supratentorial ependimoma menunjukkan prognosis yang buruk. Stratifikasi risiko dengan pengelompokan subkelompok molekuler lebih baik dari pada penilaian histologis.

2. Sasaki A, Hirato J, Hirose T, Fukuoka K, Kanemura Y, Hashimoto N, et al. Review of ependymomas: assessment of consensus in pathological diagnosis and correlations with genetic profiles and outcome. *Brain Tumor Pathol* [Internet]. 2019; Available from: <https://doi.org/10.1007/s10014-019-00338-x>.<sup>21</sup>
- Desain:** Kohort  
**Sampel:** Sebanyak 130 tumor, termasuk 129 Ependimoma dan satu ependymoblastoma (EBL): jumlah sampel): ST (43), PF (72), dan SC (15).  
**Metode:** Tiga ahli neuropatologi meninjau 130 sampel dari studi Kelompok Neuro-Onkologi. Kasus yang dikonfirmasi dinilai untuk histologi, penanda pengganti, subkelompok molekuler, dan data kelangsungan hidup. Konsensus mengenai diagnosis EPN pada 100% tumor sumsum tulang belakang dan 93% tumor posterior fossa (PF) yang telah didiagnosis sebagai EPN oleh ahli patologi lokal, sedangkan kami mencapai konsensus mengenai hanya 77% dari diagnosis lokal supratentorial (ST) EPN. Blok paraffin sampel tumor dilakukan pengecatan immunohistokimia, antibodi primer LAMA2 dan NELL2 digunakan untuk mewarnai spesimen dari 32 pasien, L1CAM digunakan untuk 60 pasien dan RELA untuk 12 pasien.
- Di antara PF-EPN, sebagian besar ependimoma anaplastik (AEPN) didefinisikan sebagai EPN-A dengan profil metilasi, yang secara signifikan berkorelasi dengan subkelompok ( $p = 0,01$ ). Secara histologis, semua ependimoma, RELA fusi-positif (EPN-RELA) memenuhi syarat sebagai Grade III. Kedua molekul adhesi sel L1 dan antibodi faktor inti kappa B p65 menunjukkan sensitivitas yang baik untuk mendeteksi EPN-RELA. Studi ini menunjukkan bahwa konsensus diagnosis ahli patologis, bahwa adanya korelasi baik dengan klasifikasi molekuler di EPN.
-

3. Gessi M, Giagnacovo M, Modena P, Elefante G, Gianni F, Buttarelli FR, et al. Role of immunohistochemistry in the identification of supratentorial C11ORF95-RELA fused ependymoma in routine neuropathology. *Am J Surg Pathol.* 2019;43(1):56–63.<sup>5</sup>
- Desain:** Kohort.
- Sampel:** 42 kasus (21 perempuan dan 21 laki-laki), didiagnosis sejak 2002 dan 2016. Tiga puluh adalah kasus pediatrik termasuk 10 bayi (<3 tahun) dan 20 anak, sisanya 12 pasien adalah orang dewasa. Semua kasus adalah ST dan sebagian besar berlokasi lobus frontal (19 kasus, 44%) dan lobus parietal (12 kasus, 28%).
- Metode:** Pengecatan imunohistokimia protein p65 / RELA dan L1CAM untuk kemampuannya memprediksi status fusi RELA pada 42 sampe blok paraffin. Antibodi yang digunakan monoklonal anti-NFkB p65 / RELA kelinci dan mouse monoclonal anti-L1 cell adhesion molecule (L1CAM) antibody.
- Dari 42 pasien diidentifikasi adanya gen RELAfusion dalam 17 kasus. L1CAM immunostaining menampilkan sensitivitas 94%, spesifik 76%. P65 / RELA sensitivitas 100%, spesifisitas 92%. Imunohistokimia p65 / RELA dan L1CAM berguna untuk diagnosis ST-EP-RELA: negativitas dengan kedua antibodi secara konsisten tidak memprediksi tidak adanya fusi RELA.
-

4. de Sousa GR, Marie SKN, Oba-Shinjo SM, Ramalho LNZ, Tone LG, Valera ET. A novel type of C11orf95-LOC-RELA fusion in a grade II supratentorial ependymoma: report of a case with literature review. *Child's Nerv Syst.* 2019;35(4):689–94.<sup>9</sup>
- Desain:** Diskriptif.  
**Sampel:** Anak laki-laki usia 4 tahun dengan ependimoma supratentorial, dengan metastatik leptomeningeal, dan adanya nodul paru. Dilakukan total reseksi massa dan didiagnosis sebagai ependimoma grade II.  
**Metode:** RNA diekstraksi dari mikrodiseksi beku-segar tumor menggunakan kit AllPrep DNA / RNA / Protein (Qiagen, Valencia, CA, AS). RT-PCR konvensional dilakukan menggunakan satu set primer. Analisis imunohistokimia juga dilakukan (C11orf95-LOCRELA), antibodi monoklonal anti-NF-κB/p65-RELA.
- Sekitar 70% dari ST-EPN memperlihatkan fusi gen pada kromosom 11 yang melibatkan Gen (C11orf95) dan RELA, sebuah faktor transkripsi dalam jalur NF-κB. Adanya Rela-fusi pada anak Sesuai dengan WHO grade II ST-EPN memiliki sifat agresif, ditandai dengan adanya akumulasi pada inti dari hasil imunohistokimia p65 / RELA, pada kasus positif kuat yang ditemukan inti sel tumor berwarna coklat  $\geq$  10%.
- 
5. Chavali P, Rao S, Palavalasa S, Bevinahalli N, Muthane YTC, Sadashiva N, et al. L1CAM Immunopositivity in Anaplastic Supratentorial Ependymomas: Correlation With Clinical and Histological Parameters. *Int J Surg Pathol.* 2019;27(3):251–8.<sup>18</sup>
- Desain:** Kohort  
**Sampel:** 72 sampel (Januari 2011 hingga Juni 2016), 65 diantaranya ST EPN (ST-AE) anaplastik, usia 9 bulan sampai 60 tahun.  
**Metode:** seluruh blok jaringan dengan formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE), dilakukan Panel IHC termasuk GFAP, EMA, IDH1 (R132H), ATRX, H3K27M, synaptophysin, p53, dan Ki-67, serta penanda baru untuk ST EPN-LICAM dan p65 (NF-κB).
- Studi ini menggambarkan spektrum klinis dan histomorfologi ST-AE yang bervariasi, yang menekankan hubungan imunopositif L1CAM dengan spektrum parameter histologis yang luas. ST EPN-RELA adalah tumor dengan perilaku agresif.
-

- |                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>6. Zawrocki A, Izycka-Świeszewska E, Papierz W, Liberski PP, Zakrzewski K, Biernat W. Analysis of the prognostic significance of selected morphological and immunohistochemical markers in ependymomas, with literature review. <i>Folia Neuropathol.</i> 2011;49(2):94–102.<sup>10</sup></p> | <p><b>Desain:</b> Deskriptif analitik<br/> <b>Sampel:</b> 39 pasien dengan ependimoma derajat II (30) dan ependimoma anaplastik (9). Dua puluh delapan tumor berkembang pada anak-anak dan 11 pasien sisanya adalah orang dewasa dengan tumor intrakranial dan intraspinal.<br/> <b>Metode:</b> Menganalisis gambaran histologis dan imunohistokimia dari tumor (blok paraffin) dengan Ki-67, cyclin D1, EGFR, hTERT, Olig2 dan menghubungkannya dengan hasil klinis.</p> | <p>Kelangsungan hidup secara keseluruhan berkurang secara signifikan untuk pasien anak-anak dan pasien dengan tumor intrakranial. Tumor derajat tinggi, peningkatan indeks mitosis dan peningkatan seluler memiliki pengaruh buruk pada kelangsungan hidup. Parameter histologis lain seperti atipia nukleus, nekrosis, dan proliferasi mikrovaskuler tidak mengubah tingkat kelangsungan hidup. Peningkatan indeks Ki-67 dan cyclin D1 berkorelasi dengan prognosis yang lebih buruk.</p> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Tabel 1. Originalitas penelitian

Perbedaan dengan penelitian Kristian *et al*, 2015 yaitu menggunakan desain kohort, sampel yang lebih banyak ada 500 sampel, dan metode berupa pemeriksaan molekular dari profil metilasi DNA. Adapun hasil yang didapatkan ada sembilan subgrup molekular dengan nilai prognosis buruk pada ependimoma supratentorial dengan RELA positif. Adapun persamaan dengan penelitian ini yaitu jenis sampel tumor yang diambil adalah seluruh pasien yang terdiagnosis ependimoma dengan lokasi supratentorial, infratentorial dan spinal.<sup>6</sup>

Perbedaan dengan penelitian Sasaki *et al*, 2019. Desain yang digunakan adalah kohort, sampel yang lebih banyak yaitu 130 sampel, dan antibodi IHK yang digunakan ada 4 yaitu: LAMA2, NELL2, L1CAM dan RELA. Adapun hasil yang didapatkan secara histologis, semua ependimoma RELA fusi-positif (EPN-RELA) memenuhi syarat sebagai Grade III. Pada molekul adhesi sel L1 dan antibodi faktor

inti kappa B p65 menunjukkan sensitivitas yang baik untuk mendeteksi EPN-RELA. Studi ini menunjukkan bahwa konsensus diagnosis ahli patologis, menunjukkan korelasi baik dengan klasifikasi molekuler di EPN. Persamaan dengan penelitian ini yaitu penggunaan antibodi P65 dan L1CAM, yang ekspresi terbanyak diperlihatkan pada kasus ependimoma dengan lokasi ST.<sup>21</sup>

Perbedaan dengan penelitian Marco *et al*, 2019. Desain yang digunakan adalah kohort, jumlah sampel yang lebih banyak yaitu 42 kasus ependimoma lokasi ST lobus frontal dan parietal. Hasil yang diperoleh L1CAM immunostaining menampilkan sensitivitas 94%, spesifik 76%. p65 / RELA sensitivitas 100%, spesifitas 92%. Imunohistokimia p65 / RELA dan L1CAM berguna untuk diagnosis ST-EP-RELA: negativitas dengan kedua antibodi secara konsisten memprediksi tidak adanya fusi RELA. Persamaan dengan penelitian ini yaitu penggunaan antibodi P65 dan L1CAM, yang ekspresi terbanyak diperlihatkan pada kasus ependimoma dengan lokasi ST.<sup>5</sup>

Perbedaan dengan laporan kasus oleh Graziella ribeiro de souza, 2019. Laporan kasus ini hanya menggunakan 1 kasus anak laki-laki usia 4 tahun dengan ependimoma grade II, dilakukan pemeriksaan DNA/RNA/ protein menggunakan PCR dan massa tumor juga dianalisa dengan IHK menggunakan antibodi p65. Hasilnya memperlihatkan adanya fusi gen pada kromosom 11 yang melibatkan Gen (C11orf95) dan RELA, adapun hasil IHK dari p65 menunjukkan adanya ekspresi positif ditandai dengan akumulasi warna coklat kuat pada inti sel tumor  $\geq 10\%$ . Persamaan dengan penelitian ini adalah, desain yang digunakan deskriptif dan penggunaan antibodi p65, dimana ekspresi positif dinilai jika inti sel tumor tercatat

coklat  $\geq 10\%$  dan negatif jika  $< 10\%$ .<sup>9</sup>

Perbedaan dengan penelitian Chavali *et al*, 2019. Desain kohort, sampel yang digunakan lebih banyak yaitu 72 kasus anaplastik ependimoma ST, menggunakan blok paraffin yang dilakukan pulasan IHK antibodi GFAP, EMA, IDH1 (R132H), ATRX, H3K27M, synaptophysin, p53, dan Ki-67, serta penanda baru untuk ST EPN-L1CAM dan p65 (NF- $\kappa$ B). Hasil yang diperoleh ditekankan pada hubungan imunopositif L1CAM dengan histomorfologi tumor, dan ST EPN-RELA adalah tumor yang memiliki perilaku agresif. Persamaan dengan penelitian ini yaitu penggunaan antibodi P65 dan L1CAM, yang ekspresi terbanyak diperlihatkan pada kasus ependimoma dengan lokasi ST grade II.<sup>18</sup>

Perbedaan dengan penelitian Zawrocki *et al*, 2011. Sampel yang digunakan lebih banyak yaitu 39 kasus ependimoma derajat II dan derajat III, lokasi intrakranial dan intraspinal, dengan menganalisa blok paraffin menggunakan IHK antibodi Ki-67, cyclin D1, EGFR, hTERT, serta Olig2. Hasilnya menunjukkan tumor derajat tinggi dengan peningkatan indeks mitosis dan peningkatan seluler memiliki pengaruh buruk pada kelangsungan hidup. Parameter histologis lain seperti atipia nukleus, nekrosis, dan proliferasi mikrovaskuler tidak mengubah tingkat kelangsungan hidup. Peningkatan indeks Ki-67 dan cyclin D1 berkorelasi dengan prognosis yang lebih buruk. Persamaan dengan penelitian ini yaitu desain penelitian, sampel yang digunakan termasuk ependimoma derajat II dan III, lokasi tumor, dan antibodi Ki-67, serta analisa hasil dari ekspresi Ki-67 positif lebih banyak ditemukan pada ependimoma ST derajat II dan III.<sup>10</sup>