

Hubungan Antara Protein EGFR(*Epidermal Growth Factor Receptor*) dan ERK-1(*Extracellular Signal-Regulated Protein Kinase-1*) pada Kejadian Bibir Sumbing Ras Protomalayid di Provinsi Nusa Tenggara Timur

David Chandra*, Herman Yosef LW**, Danik Agustin***

ABSTRAK

Bibir sumbing disebabkan oleh banyak faktor dan salah satunya adalah genetik. EGFR adalah salah satu *growth factor* yang mengaktifkan proliferasi sel dan ERK-1 merupakan salah satu jalur dari MAPK yang diaktifkan oleh EGFR. Sampai saat ini masih belum ada penelitian yang menjelaskan apakah ada ekspresi dari protein EGFR dan ERK-1 pada kejadian bibir sumbing. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara protein EGFR dan ERK-1 pada kejadian bibir sumbing ras Protomalayid di provinsi Nusa Tenggara Timur. Penelitian ini menggunakan desain penelitian *cross sectional analytic*. Sampel penelitian adalah jaringan bibir sumbing hasil operasi oleh tim bedah plastik rumah sakit Saiful Anwar Malang pada kegiatan bakti sosial tanggal 3,6,7,8 dan 12 Desember 2012 di RSUD Larantuka Kupang, RSUD Kupang, RSUD Alor Nusa Tenggara Timur yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Jaringan bibir sumbing dianalisis dengan metode imunohistokimia menggunakan antibodi monoklonal EGFR dan antibodi monoklonal ERK-1. Hasil pewarnaan tersebut kemudian dipindai dan dihitung menggunakan program OlyVia. Analisis korelasi antara protein EGFR dan ERK-1 diuji dengan uji Pearson. Hasil penelitian menunjukkan hubungan yang bermakna antara protein EGFR dan protein ERK-1 dengan koefisien korelasi yang cukup yaitu 0,369. Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat hubungan yang positif dan bermakna dengan koefisien korelasi yang cukup kuat antara ekspresi protein EGFR dan ekspresi protein ERK-1 pada kejadian bibir sumbing ras Protomalayid provinsi Nusa Tenggara Timur.

Kata kunci: Bibir sumbing, Protein EGFR, Protein ERK-1.

The Relationship of Epidermal Growth Factor Receptor Protein (EGFR) and Extracellular Signal - Regulated Protein Kinase-1 (ERK-1) in the Incidence of Protomalayid Race Cleft Lip in East Nusa Tenggara

ABSTRACT

Cleft lip is caused by many factors and one of those factors is genetic. EGFR is one of growth factor that activating proliferation process and ERK-1 is one of MAPK pathway which is activated by EGFR. This research is conducted to investigate the correlation between EGFR protein and ERK-1 protein on Protomalayid people with cleft lip in East Nusa Tenggara. The design of this research is cross sectional analytic. The sample is cleft lip tissue acquired by Saiful Anwar Hospital's plastic surgeon team taken during social event which held on 3,6,7,8 and 12 December 2012 at Larantuka Hospital of Kupang, Hospital of Kupang, Hospital of Alor which all located in East Nusa Tenggara that fulfill the exclusion and inclusion criteria. Each of the cleft lip tissue is stained with immunohistochemistry staining process by using monoclonal antibody EGFR and monoclonal antibody ERK-1 then scanned and counted by OlyVia programme. Correlation analysis between EGFR and ERK-1 is done by Pearson test. The result reveals a significance correlation between EGFR and ERK-1 protein expression with moderate coefficient correlation (0.369). The conclusion is EGFR protein and ERK-1 protein have a significance correlation with moderate coefficient correlation on Protomalayid race with cleft lip in East Nusa Tenggara province.

Keywords: Cleft lip, EGFR protein, ERK-1 protein.

* Program Studi Pendidikan Dokter, FKUB

** Lab Ilmu Bedah, RSSA-FKUB

*** Lab Anatomi Histologi, FKUB

PENDAHULUAN

Bibir sumbing adalah penyakit cacat sejak lahir yang ditandai dengan adanya celah pada bibir bagian atas, yang terletak di antara mulut dan hidung, dengan penyebab yang multifaktorial, seperti faktor genetik, faktor nutrisi, faktor lingkungan, dan faktor sosial.^{1,2} Kelainan ini dapat berbentuk celah kecil pada bagian bibir yang berwarna, atau celah yang lebih besar, bahkan pemisahan komplis antara satu atau dua sisi bibir, yang memanjang dari sisi bibir ke sisi hidung.³

Kejadian bibir sumbing mencapai 1:700 per angka kelahiran hidup. Benua Asia dan Amerika, memiliki angka kejadian bibir sumbing tertinggi, yang mencapai 1:500 per angka kelahiran hidup, sedangkan Benua Eropa, mencapai 1:1.000 per angka kelahiran hidup, dan Benua Afrika mencapai 1:2.500 per angka kelahiran hidup.⁴ Kejadian bibir sumbing di Indonesia, selalu bertambah 3.000-6.000 kejadian setiap tahun. Prevalensi nasional untuk kejadian bibir sumbing mencapai 2,4 %. Prevalensi untuk Provinsi Jakarta mencapai 13,9 %, sedangkan untuk provinsi lain seperti Provinsi Riau, mencapai 9,9 % dan, Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam mencapai 7,8 %. Provinsi Nusa Tenggara Timur, memiliki jumlah kejadian bibir sumbing tertinggi di Indonesia, yaitu mencapai 6-9 kejadian per 1.000 penduduk. Dengan angka kejadian bibir sumbing mencapai 5-6 per 1.000 kelahiran hidup di Kabupaten Timor Tengah Utara, dan Kabupaten Timor Tengah Selatan, serta di Pulau Timor yang mencapai 6-9 per 1.000 kelahiran hidup.⁵

Teori klasik menjelaskan bahwa bibir sumbing, merupakan hasil dari kegagalan penyatuan antara bakal dari hidung bagian medial dan hidung bagian lateral. Namun teori penetrasi mesodermal menjelaskan bahwa pada awalnya ada dua lapisan epitelial pada bagian wajah hingga terjadi migrasi dari mesodermal di antara dua lapisan epitelial sehingga terjadi proses pembentukan wajah. Kegagalan migrasi dari mesodermal akan menghasilkan celah atau bibir sumbing.⁷ Mekanisme genetik yang berhubungan dengan bibir sumbing telah diketahui berhubungan dengan proliferasi sel, diferensiasi sel, apoptosis sel, dan terutama migrasi dari *neural crest*.⁹ Apabila ada gangguan secara genetik,

maka akan menghambat perkembangan sel *neural crest*, atau mengurangi jumlah sel *neural crest*, sehingga menyebabkan kontak antara *prominence* wajah tidak dapat terjadi.¹⁰

Epidermal growth factor receptor (EGFR) adalah anggota dari keluarga besar reseptor tirosin kinase (RTKs), yang mengaktifkan berbagai respon biologis termasuk mitogenesis, migrasi, diferensiasi, dan apoptosis.¹¹ Jalur *signaling* utama yang dilalui adalah jalur Ras-Raf-MAPK. Induksi jalur ini akan menstimulasi rentetan fosforilasi yang melibatkan aktivasi MAPKs, ERK-1, dan ERK-2. ERK-1 dan ERK-2 bertugas meregulasi transkripsi molekul yang berhubungan dengan proliferasi, migrasi, adhesi, survival dan mutasi.¹²

ERK-1/MAPK3 merupakan protein serine/threonin kinase yang ikut serta dalam kaskade transduksi sinyal Ras-Raf-MEK-ERK. Kaskade ini berperan dalam proses regulasi termasuk pengatur jalur embriogenesis, adhesi sel, kemajuan siklus sel, migrasi sel, ketahanan sel, diferensiasi, metabolisme, proliferasi dan transkripsi.^{13,14} Sebagian *growth factor* seperti PDGF, EGFR, dan TGF- β akan berikatan dengan reseptornya yang ada di permukaan sel dan akhirnya bisa mengaktifkan MAPK *signaling pathway* yang melibatkan ERK-1 dalam regulasinya. Kelainan transkripsi juga akan memicu terjadinya kesalahan pengkodean gen, sehingga proses yang seharusnya berjalan dengan normal, tidak dapat berjalan dengan baik.

Sampai saat ini, belum ada penelitian yang spesifik mengenai proses proliferasi melalui protein ERK-1 yang diaktifkan oleh protein EGFR pada kejadian bibir sumbing di Provinsi Nusa Tenggara Timur. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hubungan protein EGFR dan protein ERK-1 yang berperan dalam proses proliferasi pada kejadian bibir sumbing di Provinsi Nusa Tenggara Timur.

BAHAN DAN METODE

Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah *cross sectional analytic*.

Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah jaringan sisa operasi bakti sosial bibir sumbing yang diadakan di Provinsi Nusa Tenggara Timur.

Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah sel epitel jaringan bibir sumbing ras Protomalayid sedangkan variabel tergantung adalah protein EGFR dan protein ERK-1.

Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Sebelum dilakukan penelitian, dipisahkan terlebih dahulu jaringan sisa hasil operasi pasien celah bibir dan celah palatum. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jaringan celah bibir.

Pewarnaan Imunohistokimia dan Penghitungan Ekspresi Protein ERK-1 dan EGFR

Pertama dilakukan konfirmasi bahwa jaringan yang digunakan sebagai sampel adalah jaringan celah bibir yang didapat setelah operasi. Berikutnya dilakukan

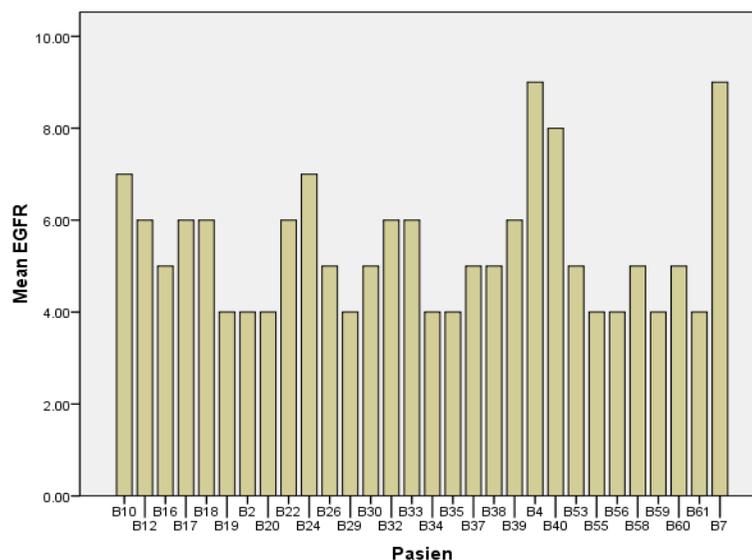
pembuatan sediaan parafin blok dan pemotongan jaringan setebal 4-6 μm . Hasil parafin blok dideparafinisasi menggunakan xilol, alkohol, dan dH_2O . Setelah proses deparafinisasi dilakukan pewarnaan hematoxilen-eosin menggunakan PBS pH 7,4, dH_2O , dan alkohol. Setelah itu, dilakukan pewarnaan imunohistokimia pada 30 slide dengan meneteskan antibodi monoklonal EGFR dan ERK-1. Kemudian dilakukan pengamatan ekspresi pada jaringan bibir sumbing dengan indikator warna coklat pada sitoplasma sel. Pengamatan dan penghitungan dilakukan dengan program komputer OlyVia setelah dilakukan *scan* mikroskop.

Analisis Data

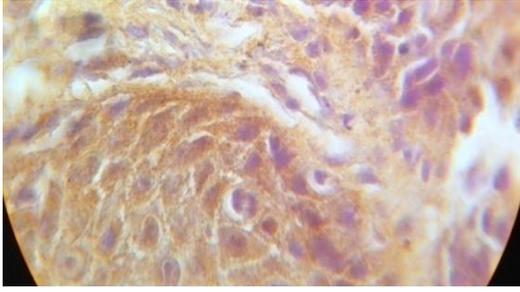
Analisis data yang digunakan adalah uji korelasi Pearson. Sebelum dilakukan uji korelasi tersebut dilakukan uji normalitas pada data yang didapatkan untuk menentukan apakah distribusi data normal atau tidak.

HASIL

Hasil Penghitungan Ekspresi Protein EGFR

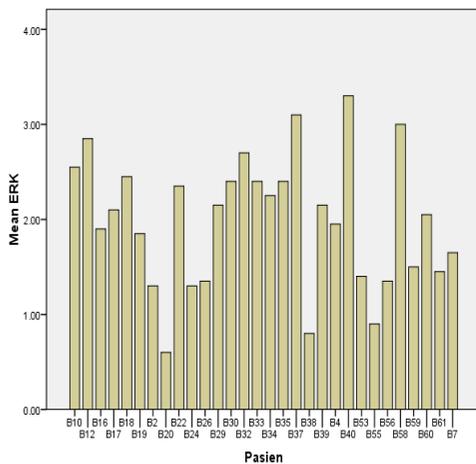


Gambar 1. Rerata per lapang pandang protein EGFR

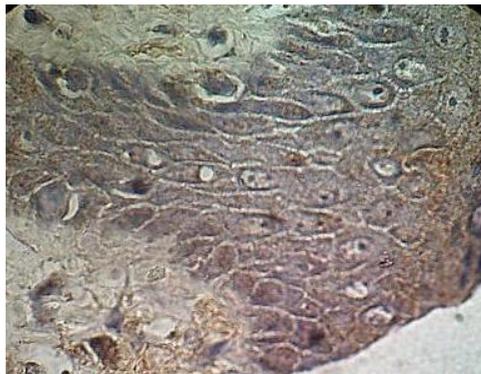


Gambar 2. Ekspresi EGFR pada sel epitel pasien bibir sumbing ras protomalayid

Hasil Penghitungan Ekspresi ERK-1



Gambar 3. Rerata per lapang pandang protein ERK-1



Gambar 4. Ekspresi ERK-1 pada sel epitel pasien bibir sumbing ras Protomalayid

Hasil Analisis Data

Dari hasil uji korelasi Pearson didapatkan bahwa hubungan antara protein EGFR dan ERK-1 pada sel epitel jaringan bibir sumbing ras Protomalayid di Provinsi Nusa Tenggara Timur memiliki hubungan positif dengan regulasinya. Aktivasi EGFR menyebabkan induksi persisten pada jalur klasik MAPK khususnya ERK-1 dan ERK-2 (ERK1/2), yang memainkan peran fundamental dalam EGFR-

korelasi yang cukup tinggi dengan nilai $r = -0,369$ dan signifikansi 0,045.

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara protein EGFR dengan ERK-1 pada kejadian bibir sumbing ras Protomalayid di Provinsi Nusa Tenggara Timur. Penelitian ini menggunakan desain penelitian *cross sectional analytic*. Variabel bebas pada penelitian ini adalah sel epitel jaringan bibir sumbing ras Protomalayid sedangkan variabel tergantung pada penelitian ini adalah protein EGFR dan protein ERK-1. Kemudian diuji hubungannya menggunakan uji korelasi linier Pearson.

Hasil pengamatan pada sel epitel jaringan bibir sumbing ras Protomalayid menunjukkan adanya ekspresi protein EGFR dan ERK-1. *Epidermal growth factor receptor* (EGFR) adalah anggota keluarga besar reseptor tirosin kinase (RTKs) yang mengaktifkan berbagai respon biologis termasuk mitogenesis, migrasi, diferensiasi, apoptosis dan dediferensiasi.¹¹ Jalur *signaling* utama yang dilalui adalah jalur Ras-Raf-MAPK. Adanya induksi pada jalur ini akan menstimulasi rentetan fosforilasi yang melibatkan aktivasi MAPKs, ERK-1, dan ERK-2. Protein ERK-1 dan ERK-2 akan meregulasi transkripsi molekul yang berhubungan dengan proliferasi, migrasi, adhesi, survival, dan mutasi.¹² Hasil penghitungan sel epitel epidermis jaringan bibir sumbing ras Protomalayid yang mengekspresikan protein EGFR berjumlah rata-rata 5 sel per lapangan pandang.

ERK-1/MAPK3 merupakan protein serine/threonin kinase yang ikut serta dalam kaskade transduksi sinyal Ras-Raf-MEK-ERK. Kaskade ini berperan dalam proses regulasi termasuk pengatur jalur embriogenesis, adhesi sel, kemajuan siklus sel, migrasi sel, ketahanan sel, diferensiasi, metabolisme, proliferasi dan transkripsi.^{13,14} Sebagian *growth factor* seperti EGFR akan berikatan dengan reseptornya yang ada dipermukaan sel dan akhirnya bisa mengaktifkan MAPK *signaling pathway* yang melibatkan ERK-1 dalam *driven control* proliferasi epidermis. Aktivasi ERK1/2 sangat tergantung pada sinyal EGFR pada keratinosit kulit, dan inhibitor EGFR secara selektif dan konstitutif menekan ERK

1/2. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya ekspresi protein ERK-1 pada sel epitel epidermis jaringan bibir sumbing ras Protomalayid dengan jumlah rata-rata 2 sel per lapangan pandang.

Dari hasil analisis statistik dengan SPSS ver. 16.0, didapatkan hubungan yang positif dan signifikan antara protein EGFR dan ERK-1 dengan koefisien korelasi 0,369 dan signifikansi 0,045. Menurut Sarwono (2006), kekuatan korelasi dari hubungan antara protein EGFR dan ERK-1 tergolong dalam korelasi cukup, walaupun hal tersebut menunjukkan bahwa penyebab kejadian bibir sumbing adalah poligenik multifaktorial. Hasil ini juga menunjukkan bahwa hubungan protein EGFR dan ERK-1 mempengaruhi proses proliferasi dalam kejadian bibir sumbing.¹⁵

MAPK memiliki 3 jalur kaskade yaitu ERK-1, JNK dan p38 MAPK. Pada jalur ERK-1 telah dibuktikan bahwa EGFR dan ERK-1 memiliki hubungan dalam mempengaruhi proses proliferasi. Pada jalur JNK beberapa penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa EGFR juga berperan dalam mengaktifasi jalur ini, tetapi hubungan EGFR dan JNK tidak mempengaruhi proses proliferasi melainkan diferensiasi, pertumbuhan dan *remodelling*. Sedangkan pada jalur p38 MAPK, beberapa penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa EGFR adalah salah satu protein yang mengaktifasi jalur tersebut dengan mempengaruhi proses apoptosis. Jadi dapat diasumsikan bahwa proses proliferasi bukanlah satu-satunya proses yang mempengaruhi terjadinya bibir sumbing. Hal ini mendukung teori bahwa penyebab bibir sumbing adalah multifaktorial.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ada hubungan yang positif antara protein EGFR dan ERK-1 pada sel epitel jaringan bibir sumbing ras Protomalayid di provinsi Nusa Tenggara Timur.

DAFTAR PUSTAKA

1. Thomson. *Genetic in Medicine*. 4th edition. Philadelphia : WB Saunders. 1986.
2. Sjamsuhidajat R, De Jong W. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Jilid 2. Jakarta: ECG. 2005.
3. Nurul P, Hayati RS. Perawatan Celah Bibir dan Langitan pada Anak Usia 4 Tahun. *Indonesian Journal of Dentistry*. 2008; 15(3): 232-238.
4. Murray JC. Gene/Environment cause of Cleft Lip and/or Palate. *Clin Genet*. 2002; 61:248–256.
5. Pardjianto B. Pengaruh Defisiensi Zn Kronis terhadap Kadar TGF-alpha Darah pada Kejadian Celah Bibir dan Langit-langit Non Sindromik. Disertasi. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. 2005.
6. Berkowitz S. *Cleft Lip and Palate, Diagnosis and Management*. 2nd Edition. South Miami: Springer. 2006.
7. Prabhu S, Krishnapillai R, Jose M, Prabhu V. Etiopathogenesis of Orofacial Clefting Revisited. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. 2012; 16(2):228-232.
8. Wells A. EGF Receptor. *Int J Biochem Cell Biol*. 1999; 31:637–643.
9. Stainer P, Moore GE. Genetic of Cleft Lip and Palate: Syndromic Genes Contribute to the Incidence of Non-Syndromic Cleft. Vol 13. *Human Molecular Genetics*. London: Institute of Reproductive and Developmental Biology, Imperial College London. 2004.
10. Watanabe D, Yamada K, Nishina Y *et al*. 1994. Molecular Cloning of A Novel Ca(2+)-Binding Protein (Calmegin) Specifically Expressed During Male Meiotic Germ Cell Development. *J Biol Chem*. 269(10):7744–9. [PMID 8126001](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8126001/).
11. Roskoski Jr. ERK1/2 MAP Kinases: Structure, Function, and Regulation. *Pharmacological Research*. 2012; 66:105–143.
12. Pearson G, Robinson F, Gibson TB, Xu B, Karandikar M, Berman K., Cobb MH. Mitogen-Activated Protein (MAP) Kinase Pathways: Regulation and Physiological Functions. *Endocrine Reviews*. 2001. 22(2):153–183.