

Peran *Enhancer of Zeste Homologue 2* (EZH2) sebagai Penanda Keganasan pada *Serous Effusion*

Widya Ariaty¹,
Yayi Dwina Bilianti²,
Endah Zuraidah²

¹Peserta Program
Pendidikan Dokter Spesialis,²
Staf Pengajar
Departemen Patologi Anatomi,
Fakultas Kedokteran,
Universitas Indonesia/
RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo
Jakarta

Penulis korespondensi:
Dra. Endah Zuraidah, S.Si, M.Epid.
Departemen Patologi Anatomi,
Fakultas Kedokteran UI/RSUPN
Dr. Cipto Mangunkusumo
Jl. Salemba Raya No. 6,
Jakarta 10430;
email: endahzuraidah@gmail.com

ABSTRAK

Penegakan diagnosis *serous effusion* masih menjadi tantangan tersendiri, khususnya pada sediaan yang secara morfologi sulit dibedakan antara mesotelial reaktif dengan keganasan. Protokol diagnostik saat ini masih membutuhkan minimal 4 biomarker antibodi primer untuk membedakan antara mesotelial reaktif atau mesotelioma dengan anak sebar karsinoma, namun ketersediaannya terkadang sulit dipenuhi terutama di negara berkembang. Selain itu, spesimen sitologi seringkali hanya mengandung sedikit sel sehingga tidak memungkinkan untuk dilakukan pulasan dengan banyak biomarker. *Enhancer of zeste homologue 2* (EZH2) merupakan salah satu biomarker yang memiliki peran penting dalam *epigenetic silencing* dan dalam regulasi siklus sel. Selain itu, EZH2 juga dapat menurunkan ekspresi *tumor suppressor gene* dan mengaktifkan onkogen sehingga mendukung terjadinya onkogenesis. Ekspresi EZH2 telah terbukti mengalami peningkatan pada banyak kasus keganasan solid, sehingga berpotensi untuk dijadikan penanda keganasan pada *serous effusion*. Pada beberapa penelitian sebelumnya, EZH2 memiliki spesifisitas dan sensitivitas yang cukup baik dalam membedakan kasus reaktif dan keganasan pada *serous effusion*, baik sebagai biomarker tunggal maupun biomarker penunjang.

Kata kunci: *Serous effusion*, mesotelial reaktif, anak sebar karsinoma, mesotelioma, *Enhancer of zeste homologue 2*

ABSTRACT

The diagnosis of serous effusion is still challenging, especially in specimen that morphologically difficult to distinguish, between reactive mesothelial cells and malignancy. Current diagnostic protocol requires at least four antibody biomarkers to differentiate reactive mesothelial cells or mesothelioma and metastatic carcinoma, but are not available in developing countries. In addition, cytology specimens often contain only a few cells, so it impossible to stain with multiple biomarkers. Enhancer of zeste homologue 2 (EZH2) has an important role in epigenetic silencing and in cell cycle regulation. EZH2 also can reduce the expression of tumor suppressor genes and activate oncogenes, thus supporting the oncogenesis. Overexpression of EZH2 has been shown in many solid malignancies, so EZH2 is a promising diagnostic biomarker for malignancy in serous effusion. In previous studies, EZH2, as a single and a supporting biomarker, has good specificity and sensitivity in differentiating reactive mesothelial cells and malignancy in serous effusion.

Key words: Serous effusion, reactive mesothelial cells, metastatic carcinoma, mesothelioma, Enhancer of zeste homologue 2.

PENDAHULUAN

Beberapa keganasan seperti karsinoma, sarkoma dan keganasan hematolimfoid memiliki potensi untuk bermetastasis ke rongga

serosa, baik pleura, peritoneal dan perikardial. Rasio keganasan *serous effusion* sekitar 15-50%, dan 15-42% di antaranya merupakan manifestasi dari suatu keganasan stadium lanjut.¹ Oleh karena itu, dibutuhkan pemeriksaan sitologi yang relatif mudah dan akurat untuk membedakan kasus non neoplastik atau reaktif dan keganasan. Namun pada prakteknya, penegakan diagnosis *serous effusion* masih menjadi tantangan tersendiri, khususnya pada sediaan yang secara morfologi sulit dibedakan antara mesotelial reaktif dengan keganasan. Tantangan juga bertambah dengan adanya kemampuan sel mesotelial untuk terus berproliferasi di dalam cairan setelah tereksfoliasi dan fenomena *round up* dari sel ganas.² Oleh karena itu, pada keadaan tertentu diperlukan pemeriksaan tambahan dengan immunositokimia untuk meningkatkan akurasi diagnostik, meminimalisir interpretasi *atypia of undetermined significance* (AUS) dan juga untuk mengurangi interpretasi *false positive*. Protokol diagnostik saat ini masih membutuhkan minimal 4 biomarker antibodi primer, yaitu 2 biomarker mesotelial dan 2 biomarker epitelial untuk membedakan antara mesotelial reaktif atau mesotelioma dan anak sebar karsinoma, namun ketersediaannya masih terbatas terutama di negara berkembang. Selain itu, spesimen sitologi seringkali hanya mengandung sedikit sel sehingga tidak memungkinkan untuk dilakukan pulasan dengan banyak biomarker.³

Enhancer of zeste homologue 2 (EZH2) memiliki peran penting dalam *epigenetic silencing* dan dalam regulasi siklus sel. EZH2 dapat menurunkan ekspresi *tumor suppressor gene* dan mengaktivasi onkogen, yang mendukung terjadinya onkogenesis.⁴ Ekspresi EZH2 telah terbukti mengalami peningkatan pada banyak kasus keganasan solid. Oleh karena itu, dihipotesiskan bahwa ekspresi EZH2 juga dapat meningkat pada keganasan *serous effusion*. EZH2 telah diteliti dapat digunakan sebagai penanda keganasan pada *serous effusion*, yaitu anak sebar karsinoma atau mesotelioma, namun hasilnya bervariasi. Saat ini juga sedang diteliti dan dikembangkan obat inhibitor EZH2, yang dapat menjadi target terapi pada berbagai jenis keganasan. Oleh karena itu, penulis merasa perlu mengangkat tema tersebut, untuk mengetahui sifat biologis EZH2, bagaimana peran dan

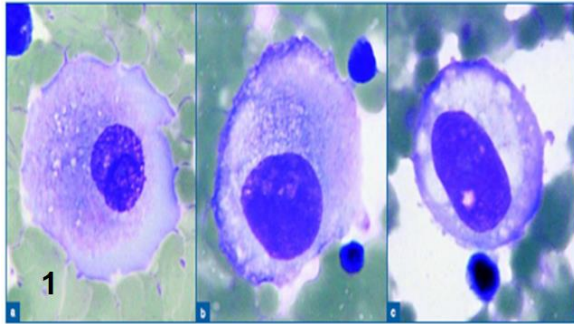
aplikasinya sebagai penanda keganasan *serous effusion* untuk perkembangan ilmu dan manajemen pasien yang lebih baik. Selain itu, pada makalah ini akan dibahas pula mengenai pendekatan diagnosis dan klasifikasi diagnosis sitologi cairan berdasarkan *The International System for Reporting Serous Fluid Cytology* (TIS).

Serous effusion

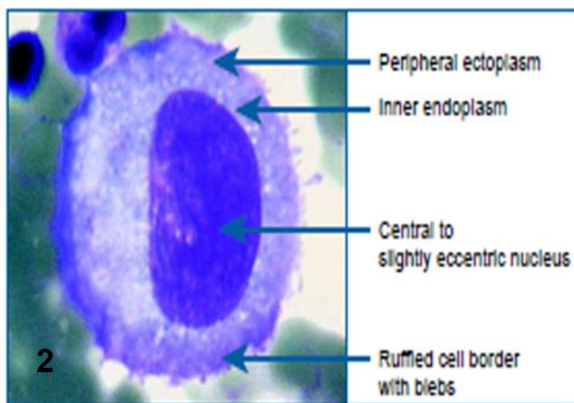
Paru-paru, jantung dan abdomen dilapisi oleh 2 lapis membran serosa, viseral dan parietal. Di antara lapisan viseral dan parietal terdapat rongga potensial yaitu rongga serosa. Pada kondisi normal, kedua lapisan tersebut hanya berisi sedikit cairan dengan volume $\pm 0,25$ ml/kgBB. *Serous effusion* adalah akumulasi cairan yang berlebih pada rongga serosa. Berdasarkan patofisiologinya, *serous effusion* dibagi menjadi transudat dan eksudat, yang terjadi akibat ketidakseimbangan kedua tekanan tersebut, sehingga cairan yang disekresi oleh pembuluh kapiler melebihi kemampuan reabsorpsi oleh pembuluh limfatik, atau sebaliknya.⁵ Dari sudut pandang sitopatologi, *serous effusion* dapat berupa efusi non neoplastik atau reaktif atau jinak dan efusi neoplastik.² Efusi non neoplastik terjadi akibat adanya proses infeksi dan inflamasi, gangguan hemodinamik dan penyakit jaringan ikat seperti pada pasien *systemic lupus erythematosus* dan *rheumatoid arthritis*. Infeksi paling sering oleh bakteri dan jamur, misalnya *tuberculosis*, *aspergillus*, *coccidioides*, *cryptococcus*, *nocardia*, *pneumocystis*, terutama pada pasien dengan penurunan sistem imun. Efusi neoplastik umumnya merupakan anak sebar adenokarsinoma (70-77% kasus), dengan prevalensi tertinggi akibat adenokarsinoma paru, adenokarsinoma payudara dan adenokarsinoma ovarium. Keganasan primer pada mesotelial atau mesotelioma termasuk penyakit yang jarang, namun insidennya mengalami peningkatan dan memiliki prognosis yang buruk.

1. Morfologi Sel Mesotelial

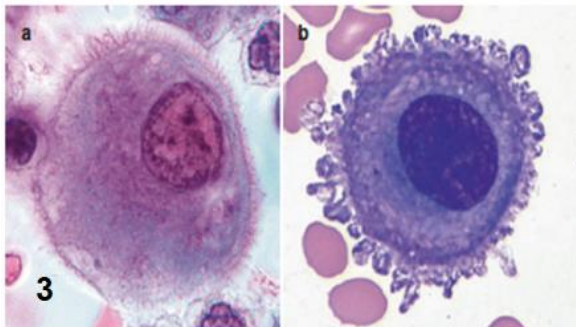
Pengenalan morfologi sel-sel mesotelial sangat penting, terutama untuk membedakan sel tersebut dengan sel-sel keganasan. Morfologi sel mesotelial non neoplastik dapat dilihat pada Gambar 1-4.



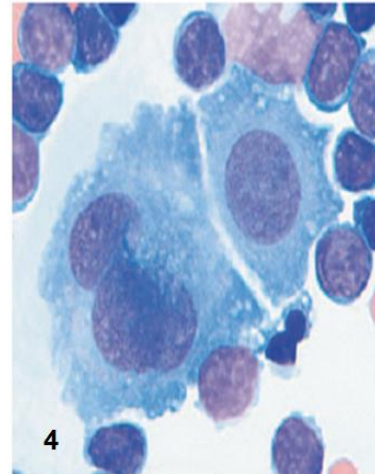
Gambar 1. Sel mesotelial memiliki ukuran diameter 15-30 mikrometer (1,5-2x lebih besar dari neutrofil). Nukleus berbentuk bulat-oval, terdapat di sentral sel atau sedikit ke perifer. Dapat ditemukan nucleolus.²



Gambar 2. Sel mesotelial terdiri dari *peripheral ectoplasm* dan *inner endoplasm* yang memiliki densitas yang berbeda sehingga terlihat seperti ada 2 zona.²



Gambar 3. Permukaan luar sel mesotelial tersusun atas *brush border* atau mikrovili, terlihat seperti berenda.³

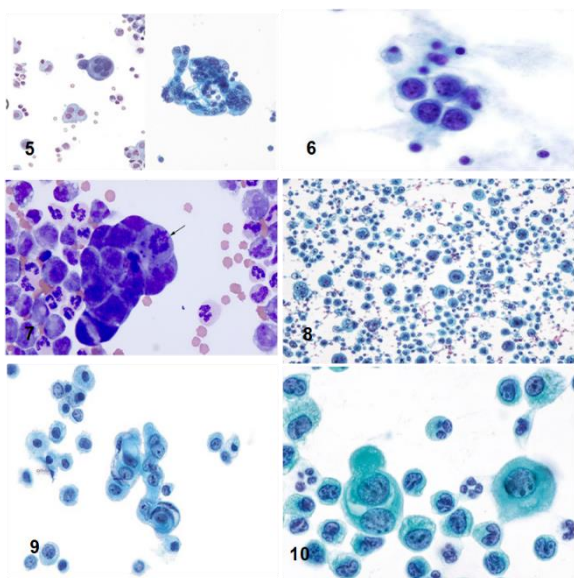


Gambar 4. Ada gap di antara sel mesotel yang berdekatan yang membentuk *mesothelial window*.³

2. Pendekatan Diagnosis *Serous Effusion*

Ada beberapa tantangan dalam mendiagnosis *serous effusion*, di antaranya:

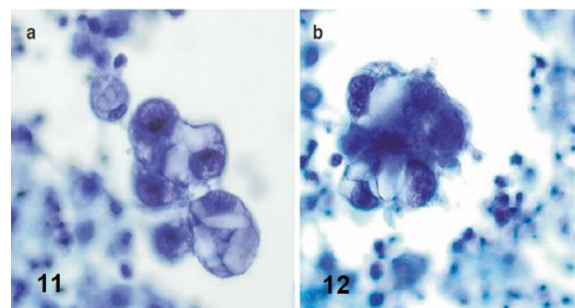
- Sel mesotelial akan mengalami hipertropi dan hiperplasia sebagai respon dari berbagai stimulus, misalnya inflamasi pada membran serosa serta adanya benda asing misalnya darah atau udara di dalam rongga serosa. Sel mesotelial yang tereksfoliasi ini memiliki kemampuan untuk melanjutkan proliferasi dalam *serous effusion* karena merupakan medium naturalnya. Sehingga gambaran sitomorfologi sel mesotelial pada *serous effusion* memiliki spektrum yang luas, seperti pada gambar berikut (5-10).



Gambar 5. Sel mesotelial reaktif yang membesar dengan inti multiple dan hiperkromatik.³ Gambar 6. Sel mesotelial reaktif dengan peningkatan rasio inti dan sitoplasma.² Gambar 7. Sel mesotelial reaktif dengan mitosis.² Gambar 8. Kelompok sel mesotelial reaktif *polymorphism*.³ Gambar 9. Kelompok sel mesotelial reaktif dengan sitoplasma yang bertumpuk/*clasp*ing.³

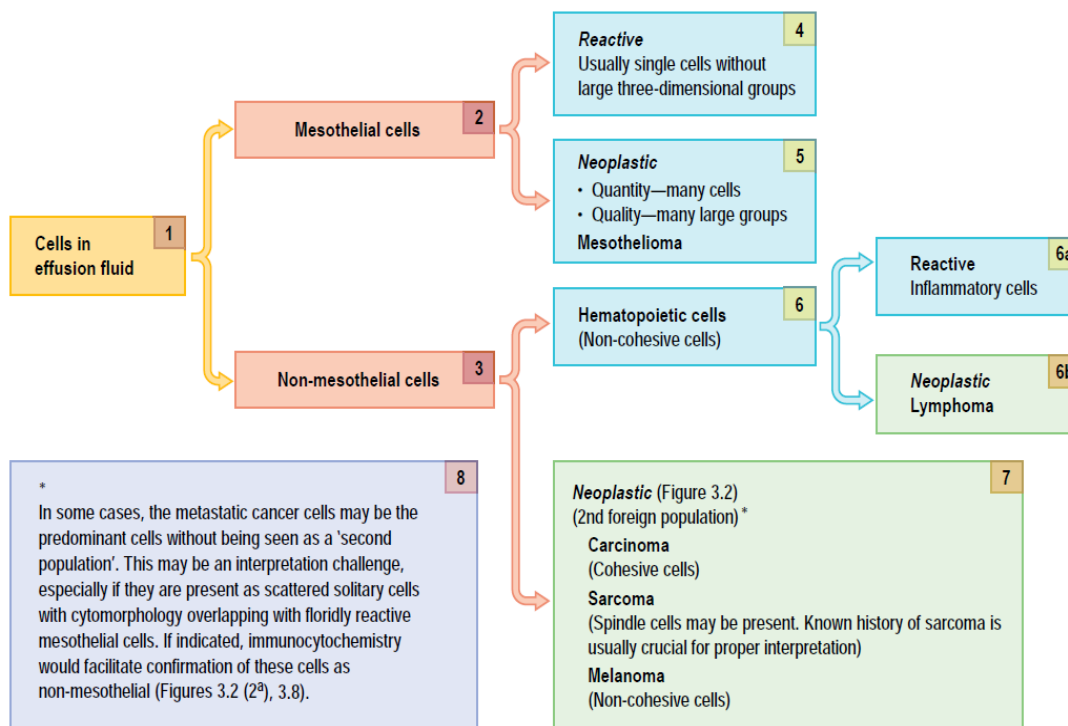
Gambar 10. Kelompok sel mesotelial dengan sitoplasma membentuk punuk/*humping*.³

- Adanya fenomena sitomorfologi sel ganas di dalam *serous effusion* akan cenderung membulat/*round up*, akibat pengaruh tegangan permukaan sel. Sehingga sitomorfologi sel-sel ganas ini menjadi berbeda dengan gambaran aslinya, serta berbeda pula dengan gambaran sitomorfologi spesimen yang diambil dengan cara sitologi eksfoliatif, sikatan, atau biopsi jarum halus. Beberapa morfologi anak sebar karsinoma dapat dilihat pada gambar 11 dan 12.



Gambar 11 dan 12: Anak sebar adenokarsinoma paru.³

Berikut algoritma pendekatan diagnosis pada *serous effusion*:

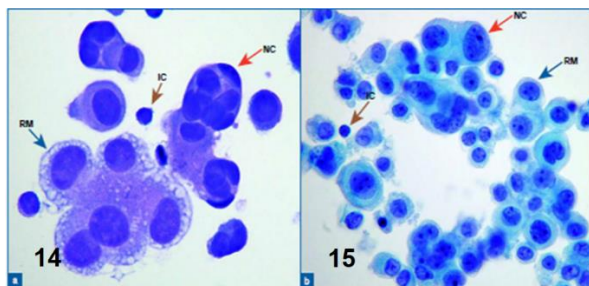


Gambar 13. Algoritma diagnosis *serous effusion*.²

Beberapa pendekatan diagnosis *serous effusion*:²

- Identifikasi makroskopis *serous effusion*.
Penilaian cairan efusi secara makroskopis terkadang dapat mengarahkan diagnosis.
- Secara umum, untuk menegakkan diagnosis suatu keganasan tidak bisa hanya berdasarkan morfologi satu sel saja, kecuali pada spesimen neoplasma *high-grade*.
- *Serous effusion* dapat diinterpretasikan berisi anak sebar karsinoma, sebaiknya berdasarkan temuan variasi morfologi.
- Sitomorfologi sel mesotelial reaktif dapat tumpang tindih dengan sel neoplastik, seperti adanya mitosis, nukleus *pleomorphism* dan hiperkromasia, meningkatnya rasio inti dan sitoplasma, seperti yang sudah dijelaskan sebelumnya.
- Identifikasi *second foreign population*, selain sel mesotelial dan sel inflamasi, biasanya mengarah ke anak sebar karsinoma. Populasi ini biasanya lebih mudah diidentifikasi dengan pewarnaan giemsa dibandingkan pewarnaan *papanicolaou*.

Pemeriksaan tambahan dengan immunositokimia dengan panel yang tepat untuk mengidentifikasi *second foreign population*, dapat memberikan hasil yang objektif. Morfologi *second foreign population* dapat dilihat pada gambar 14 dan 15.



Gambar 14 dan 15. Anak sebar karsinoma.²

NC: *second foreign population*, RM: sel mesotelial reaktif, IC: sel inflamasi.

Gambaran morfologi tertentu dapat mengarahkan diagnosis anak sebar karsinoma, contohnya: susunan *palisading* dan *elongated nuclei* pada adenokarsinoma kolon, *apoptotic bodies* dan *keratinization* pada karsinoma sel skuamosa. *Psammoma bodies* dapat berhubungan dengan karsinoma papiler tiroid, adenokarsinoma *serous ovarium* dan karsinoma sel bronkoalveolar.

2.1. Pemeriksaan Tambahan

Penggunaan panel biomarker untuk mengkonfirmasi diagnosis keganasan pada *serous effusion* sudah cukup sering digunakan. Namun, masih ada beberapa kontroversi, terutama mengenai panel yang terbaik dan jumlah biomarker yang harus dipakai. Untuk membedakan antara mesotelial reaktif dan mesotelioma dengan anak sebar karsinoma membutuhkan minimal 4 marker antibodi primer, yaitu 2 biomarker mesotelial dan 2 biomarker epitelial.³ Sedangkan baku emas untuk membedakan kasus *benign* dan keganasan primer *serous effusion* (mesotelioma) adalah pemeriksaan immunositokimia *BRCA1 associated protein-1* (BAP1) dan delesi *cyclin dependent kinase inhibitor 2A* (CDKN2A) melalui pemeriksaan *fluorescence in situ hybridization* (FISH).⁶ Sensitivitas dan spesifisitas masing-masing biomarker, dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Biomarker mesotelial dan epitelial.⁶

Biomarker mesotelial	Sensitivitas	Spesifisitas	Keterangan tambahan
Calretinin	81-100%	88-100%	Dapat terpulas positif pada 19-57% adenokarsinoma; 38% pada karsinoma payudara <i>triple negative</i>
Podoplanin/D2-40	83-100%	49-100%	Dapat terpulas positif pada 7% keganasan ovarium dan 50% pada KSS
WT1	>90%	bervariasi	Dapat terpulas positif pada 20-23% anak sebar adenokarsinoma
HEG1	99%	92%	Dapat terpulas positif pada 28,6% keganasan ovarium
CK5/6	90-100%	bervariasi	Dapat terpulas positif pada 48% anak sebar karsinoma, 10-58% anak sebar adenokarsinoma, 43-65% pada adenokarsinoma paru
GATA3	58%	bervariasi	Penting untuk membedakan mesotelioma sarkomatoid dan karsinoma

WT1: *wilm's tumor gene*; CK5/6: *cytokeratin 5/6*

Biomarker epitelial	Sensitivitas	Spesifisitas	Keterangan tambahan
Claudin 4	85-99%	100%	Sangat bermanfaat
MOC31	70-100%	97%	Dapat terpulas positif pada 5-53% keganasan mesotelial
BerEP4	76-94%	90%	Dapat terpulas positif pada 20% mesotelioma
B72.3	69-94%	95%	Dapat terpulas positif beberapa kasus mesotelioma
CEA monoclonal	bervariasi	90-100%	-
EMA	90-100%	86-100%	Dapat terpulas positif beberapa kasus mesotelioma
CK20	bervariasi	bervariasi	Dapat terpulas positif beberapa kasus karsinoma kolorektal

MOC31: *monoclonal antibody-31*; CEA: *carcinoembryonic antigen*; EMA: *epithelial membrane antigen*; CK20: *cytokeratin 20*

Tabel 2. Biomarker mesotelioma.⁶

Biomarker mesotelioma	Sensitivitas	Spesifisitas	Keterangan tambahan
BAP1	27-57%	100%	BAP1 dan MTAP: sensitivitas menjadi 78%
MTAP	42%	100%	BAP1 dan MTAP: sensitivitas menjadi 78%
IMP3	36-91%	90-100%	Sensitivitas rendah, dapat terpulas positif pada 6% kasus efusi jinak

BAP1: *BRCA1 associated protein-1*; MTAP: *methylthioadenosine phosphorylase*; IMP3: *insulin-like growth factor 2 messenger RNA binding protein 3*.

2.2. The International System for Reporting Serous Fluid Cytology (TIS)

Pelaporan hasil diagnosis spesimen sitologi cairan masih belum seragam. Oleh karena itu, dibuat suatu sistem pelaporan baru berdasarkan hasil data terbaru dan konsensus para ahli di bidang sitologi pada tahun 2020, yaitu *The International System for Reporting Serous Fluid Cytology (TIS)*.³ Pada setiap klasifikasi mencakup informasi *risk of malignancy (ROM)* dan manajemen klinis, sehingga meningkatkan kualitas tatalaksana pasien. Klasifikasi pelaporan diagnosis sitopatologi berdasarkan TIS, dibagi menjadi:

1. ND (*Non Diagnostic*), ROM: 17,4%±8,9%.

Sediaan berisi spesimen yang tidak memberikan informasi diagnostik, biasanya hanya ditemukan sedikit sel (<10 sel) atau aseluler, terdapat banyak perdarahan dan sel inflamasi seperti makrofag dan limfosit. Pelaporan. Asal cairan: cairan asites/efusi pleura. Interpretasi: jumlah sel sedikit atau aseluler/kontaminasi/fiksasi yang tidak baik. *Non Diagnostic*. Saran: aspirasi ulang apabila terjadi reakupulasi cairan dengan volume minimal 50-75ml.

2. NFM (*Negative for Malignancy*), ROM: 21%±0,3%.

Pada sediaan ditemukan morfologi sel mesotelial normal yang soliter atau berkelompok, makrofag dan limfosit. Tidak ditemukan sel dengan inti atipik, atau atipia ringan, dapat ditemukan juga komponen-komponen jinak, misalnya, *collagen balls* dan *organisms*. Pelaporan. Asal cairan: cairan asites/efusi pleura. Diagnosis: *Negative for Malignancy*, ditemukan sel mesotelial reaktif/ditemukan populasi limfoid hiperplasia. Saran: *follow up* gejala klinis.

3. AUS (*Atypia of Undetermined Significance*), ROM: 66%±10,6%.

Pada sediaan ditemukan beberapa sel atipik, namun belum memenuhi kriteria malignansi. Morfologi sel yang ditemukan misalnya sel atipik derajat ringan. Kategori ini termasuk kasus yang secara klinis dicurigai jinak, namun pada pemeriksaan sitologi ditemukan sel-sel atipik. Pelaporan. Asal cairan: cairan asites/efusi pleura. Diagnosis: *Atypia of Undetermined Significance*. Saran: pemeriksaan lanjutan dengan immunositokimia, biopsi dan *follow up* klinis pasien.

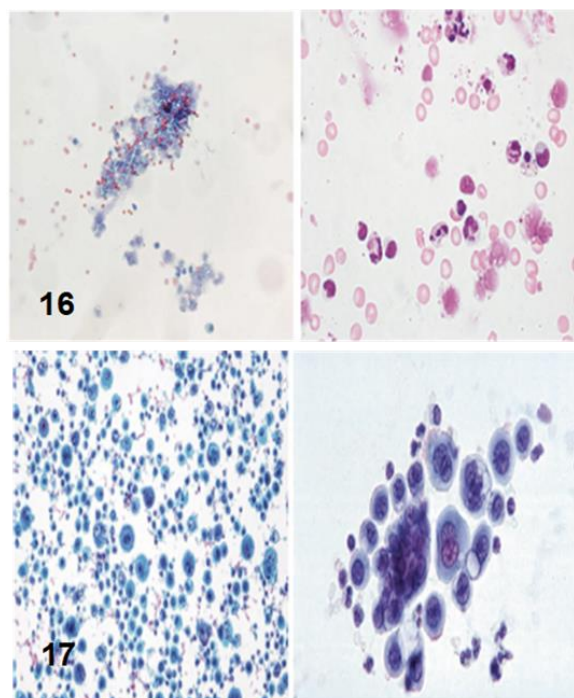
4. SFM (*Suspicious for Malignancy*), ROM: 82%±4,8%.

Pada sediaan dapat ditemukan populasi sel atipik derajat sedang-tinggi. Diagnosis tidak bisa ditegakkan hanya berdasarkan sitomorfologi, dibutuhkan pemeriksaan tambahan dengan immunositokimia. Pelaporan. Asal cairan: cairan asites/efusi pleura. Diagnosis: *Suspicious for Malignancy*. Saran: pemeriksaan lanjutan dengan immunositokimia, biopsi dan *follow up* klinis pasien.

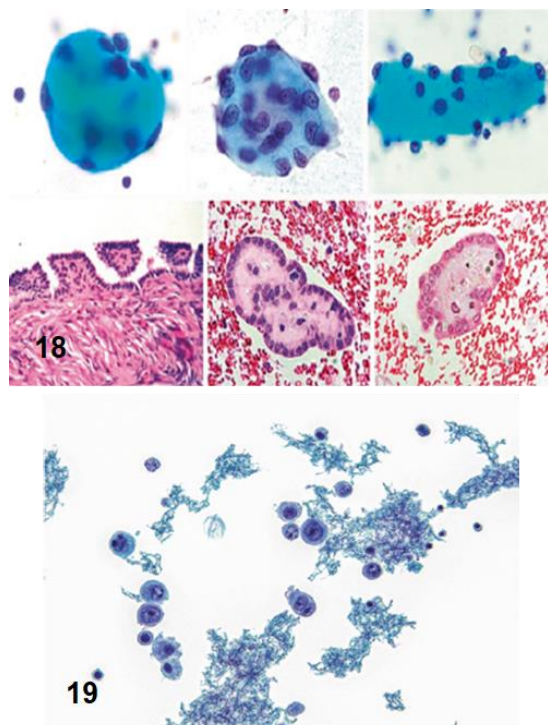
5. MAL (*Malignancy*), ROM: 99%±0,1%.

Kategori *Malignancy* dibagi menjadi *Malignant-Primary (MAL-P)* atau mesotelioma dan *Malignant-Secondary (MAL-S)* atau anak sebar karsinoma. Pelaporan. *Malignant-Primary (MAL-P)*. Asal cairan: cairan asites/efusi pleura. Diagnosis: Mesotelioma. Note: Hasil pemeriksaan immunositokimia: biomarker mesotelial positif, biomarker epitelial negatif. Pelaporan *Malignant-Secondary (MAL-S)*. Asal cairan: cairan asites/efusi pleura. Diagnosis: Malignansi sekunder. Note: Efusi berisi sel-sel ganas, konsisten dengan anak sebar karsinoma payudara.

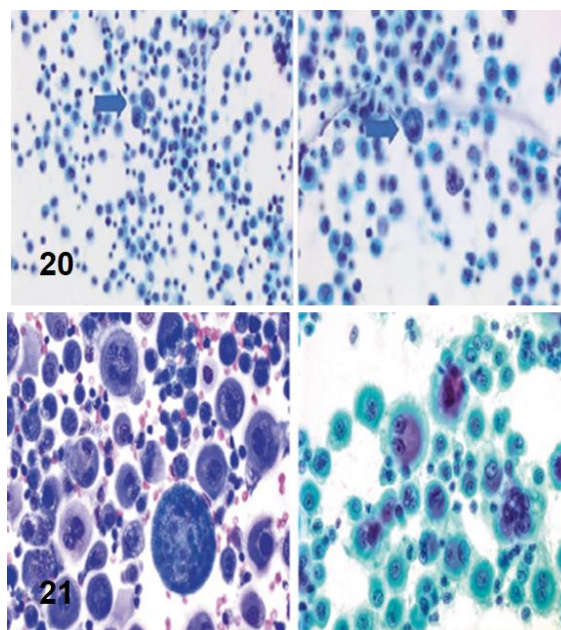
Gambaran morfologi berdasarkan klasifikasi TIS dapat dilihat pada Gambar 16-21.



Gambar 16: Morfologi spesimen *non diagnostic*.³
Gambar 17: Morfologi sel mesotelial reaktif, *negative for malignancy*.³



Gambar 18. Morfologi *collagen balls*, *negative for malignancy*.³ Gambar 19. Morfologi *atypia of undetermined significance*.³

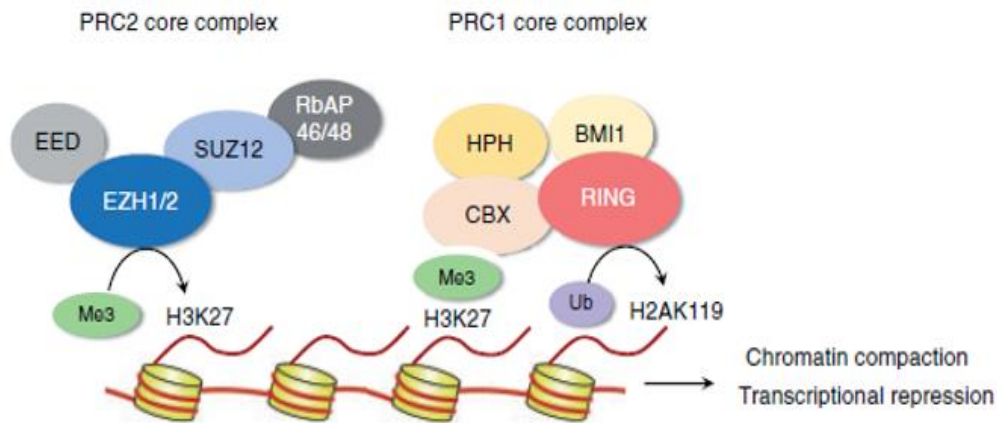


Gambar 20: Morfologi *suspicious for malignancy*.³
Gambar 21: Morfologi *Malignant-Primary* (MAL-P) atau mesotelioma.³

3. *Enhancer of zeste homologue 2* (EZH2)

3.1. Karakteristik gen *enhancer of zeste homologue 2* (EZH2)

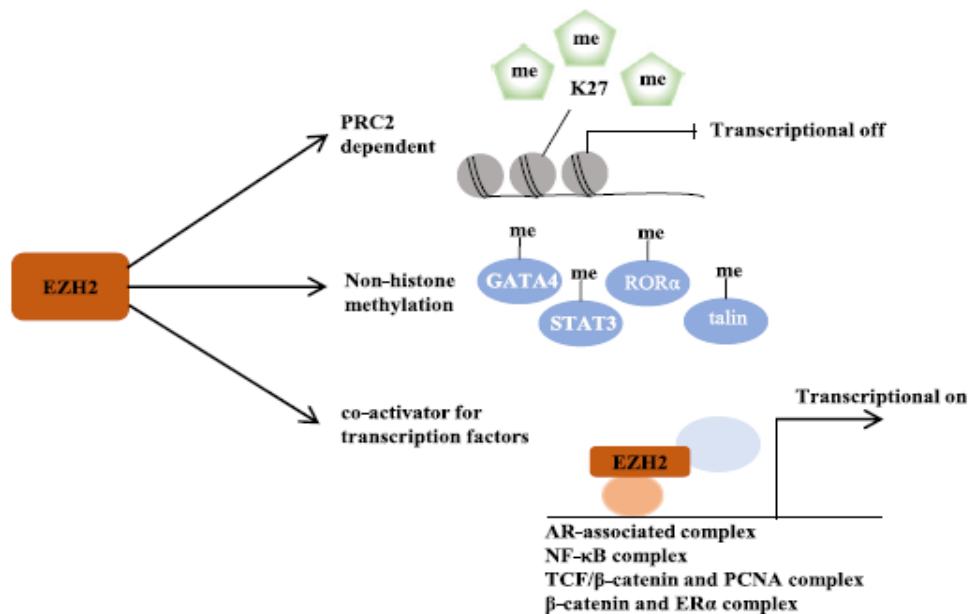
Aktivitas suatu gen dipengaruhi oleh faktor genetik dan epigenetik. Mekanisme regulasi epigenetik melibatkan protein *polycomb group family* yang terdiri dari 2 kelompok protein, yaitu *polycomb repressive complex 1* (PRC1) dan *polycomb repressive complex 2* (PRC2). Gen EZH2 terletak pada kromosom 7q35, tersusun atas 20 exons, yang mengkodekan 746 asam amino. Gen EZH2 memiliki 5 domain, yaitu *EED-interaction domain* (EID), Domain I, Domain II, *cysteine-rich domain* (CXC domain) dan *C-terminal suppressor of variegation 39, enhancer of zeste* dan *trithorax domain* (SET domain). EZH2 merupakan subunit PRC2, berperan sebagai *master* dalam regulasi siklus sel, regulasi proses autofagia, apoptosis dan penuaan sel dan regulasi perbaikan DNA. Mekanisme kerja EZH2 melalui 3 jalur. Jalur yang pertama adalah *PRC2-dependent H3K27 methylation*. Sebagai subunit dari PRC2, SET domain EZH2 berperan sebagai *histone methyltransferase*. Mekanisme ini akan memfasilitasi perubahan struktur kromosom menjadi lebih padat sehingga terjadi *transcriptional silencing* pada gen target, termasuk lebih dari 200 *tumor suppressor gene*.⁷ Mekanisme jalur ini dapat dilihat pada Gambar 22.



Gambar 22. Komponen PRC1 dan PRC2, dan perannya dalam meregulasi proses transkripsi melalui modifikasi histon.⁸

Jalur yang kedua adalah *PRC2-dependent non-histone protein methylation*. EZH2 juga dapat memetilasi protein non histon di sitosol melalui jalur PRC2-dependen. Mekanisme ini akan memfasilitasi perubahan struktur kromosom menjadi lebih padat atau lebih longgar, sehingga terjadi *transcriptional silencing* atau *transcriptional activation*. Penelitian terbaru menunjukkan

bahwa EZH2 dapat memetilasi protein non histon tanpa melalui jalur PRC2. EZH2 dapat secara langsung berinteraksi dengan protein target yang mengaktivasi onkogenesis, seperti ikatan EZH2 dan STAT3 dapat mendukung terjadinya onkogenesis glioblastoma.⁹ Mekanisme jalur kedua dan ketiga dapat dilihat pada Gambar 23.

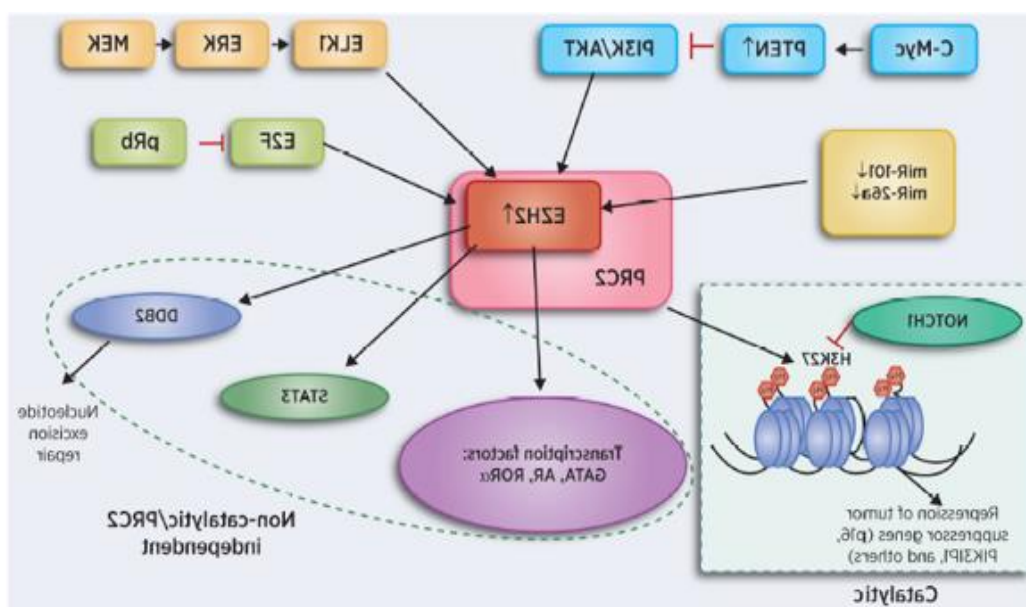


Gambar 23. Jalur kedua: EZH2 dapat memetilasi beberapa protein non histon seperti GATA4, RORα, STAT3, talin, yang dapat memfasilitasi terjadinya *transcriptional silencing* atau *transcriptional activation*. Jalur ketiga: EZH2 dapat bekerja sebagai ko-aktivator beberapa faktor transkripsi lainnya, misalnya AR-associated complex, NF-κB complex, TCF/β-catenin and PCNA complex dan β-catenin and Era complex.⁹

3.2. Peran *EZH2 enhancer of zeste homologue 2* (EZH2) pada keganasan

Regulasi aktivitas gen *EZH2* dan ekspresinya terjadi pada level genetik, transkripsi dan post transkripsi.⁷ Pada level genetik, mutasi gen *EZH2* telah diteliti terjadi pada keganasan limfoid. Aktivasi onkogen *NOTCH1* pada limfoma, menghambat kerja *PRC2* yang menyebabkan tidak terjadinya proses trimetilasi *H3K27me*, sehingga mendukung terjadinya onkogenesis. Pada level transkripsi, ada banyak faktor transkripsi lain yang mendukung onkogenesis, misalnya *C-myc* (faktor transkripsi pada keganasan prostat), *E2F* (faktor transkripsi pada keganasan paru), dan lainnya, yang dapat berikatan dengan promotor *EZH2* sehingga menyebabkan terjadinya overekspresi *EZH2*.

Pada level post transkripsi, downregulasi *microRNAs* yang terjadi pada keganasan hepar, limfoma, *rhabdomyosarcoma* dapat menyebabkan overekspresi *EZH2*. Overekspresi *EZH2* yang terjadi pada level transkripsi dan post transkripsi tersebut dapat meningkatkan proses trimetilasi *H3K27*. Produk *H3K27me3* yang berlebihan ini selanjutnya akan merepresi fungsi *tumor suppressor gene*, seperti *p16*, *PI3KIP1*, dan lainnya. Selain itu, overekspresi *EZH2* dapat mengaktifkan mekanisme jalur kedua atau ketiga. Overekspresi *EZH2* berhubungan dengan agresivitas, metastatis dan prognosis yang buruk pada keganasan.¹⁰ Mekanisme disregulasi *EZH2* dapat dilihat pada Gambar 24.



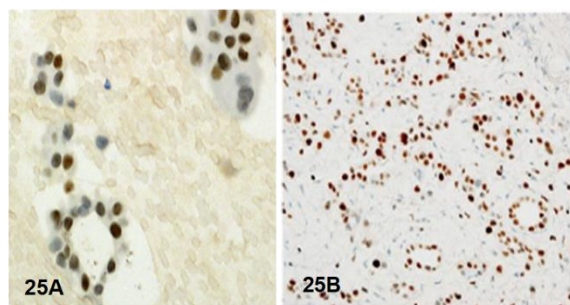
Gambar 24. Mekanisme *EZH2* pada keganasan.¹⁰

3.3. Peran *enhancer of zeste homologue 2* (EZH2) dalam diagnosis keganasan pada *serous effusion*.

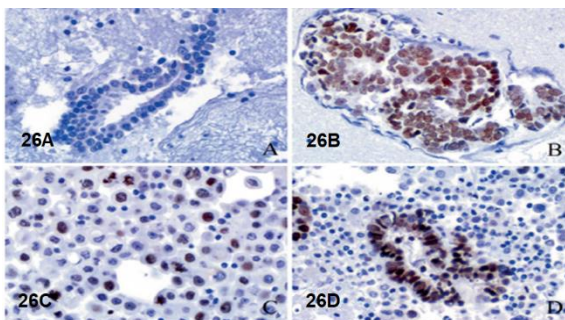
EZH2 telah diteliti sebagai penanda keganasan pada *serous effusion*, yaitu anak sebar karsinoma atau mesotelioma, Pulasan *EZH2* akan mewarnai nukleus sehingga dapat lebih mudah dilihat. Berdasarkan 7 penelitian sejak tahun 2013 sampai tahun 2020, *EZH2* memiliki nilai spesifisitas 100% sebagai biomarker tunggal, bahkan lebih tinggi daripada biomarker MOC-31 dan BerEP4 dalam membedakan kasus reaktif dan anak sebar karsinoma pada *serous effusion*.¹¹ *EZH2* juga memiliki nilai spesifisitas 100% sebagai biomarker tunggal

dalam membedakan kasus reaktif dan mesotelioma, setara dengan BAP1 dan MTAP.¹² Nilai sensitivitasnya bervariasi, baik sebagai biomarker penunjang dan biomarker tunggal. Sensitivitas MOC-31 dan *EZH2* sebesar 100% dalam membedakan kasus reaktif dan anak sebar karsinoma pada *serous effusion*.¹³ Sensitivitas BAP1 dan *EZH2* sebesar 87,5% untuk membedakan kasus reaktif dan mesotelioma pada *serous effusion*.¹³ Sebagai biomarker tunggal, sensitivitas *EZH2* sebesar 44% dan 65% untuk membedakan kasus reaktif dan mesotelioma pada *serous effusion*.^{12,14} Sensitivitas *EZH2* sebesar 93% dan 95,5% dalam membedakan kasus reaktif dan anak sebar karsinoma pada

serous effusion.¹⁵ Dengan hasil spesifisitas dan sensitivitas yang cukup baik, maka EZH2 berpotensi menjadi biomarker tunggal dalam membedakan kasus reaktif dan keganasan pada *serous effusion*, yang dapat dijadikan pilihan terutama di negara berkembang, yang sering menghadapi keterbatasan reagen. Gambaran sel dengan pulasan EZH2 positif dapat dilihat pada Gambar 25 dan 26.



Gambar 25A. Anak sebar karsinoma, EZH2 terpulas positif kuat.¹⁵ 25B. Mesotelioma, EZH2 terpulas positif kuat.¹⁴



Gambar 26A-D.¹¹ A. Negatif EZH2. B. Anak sebar karsinoma paru, EZH2 terpulas positif. C. Anak sebar karsinoma payudara, EZH2 terpulas positif. D. Anak sebar karsinoma ovarium, EZH2 terpulas positif.

RINGKASAN

Variasi sitomorfologi sel mesotelial reaktif pada *serous effusion*, dapat menyerupai morfologi sel-sel ganas. Dengan melakukan pendekatan diagnosis yang tepat dan dengan adanya klasifikasi pelaporan diagnosis terbaru (TIS), diharapkan dapat meningkatkan akurasi diagnostik dan mengurangi interpretasi *false positive maupun negatif*. Selain itu, pemeriksaan tambahan dengan immunositokimia dengan panel yang tepat untuk mengidentifikasi *second foreign population*, dapat memberikan hasil yang objektif. EZH2 berpotensi menjadi biomarker tunggal dalam membedakan kasus reaktif dan

keganasan pada *serous effusion*, khususnya anak sebar karsinoma.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lepus CM, Vivero M. Updates in Effusion Cytology. Surg Pathol Clin. 2018;11(3):523-44.
2. Shidham VB LL. Approach to Diagnostic Cytopathology of Serous Effusions. News. Ge. 2018.
3. Schmitt F. The International System for Serous Fluid Cytopathology. The International System for Serous Fluid Cytopathology. 2020.
4. Gan L, Yang Y, Li Q, Feng Y, Liu T, Guo W. Epigenetic regulation of cancer progression by EZH2: From biological insights to therapeutic potential. Biomark Res. 2018;6(1):1-10.
5. Kumar V, Abbas A, Aster J, Turner J. Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease Tenth Edition. Elsevier. 2021. 112-112 p.
6. Mneimneh WS, Jiang Y, Harbhajanka A, Michael CW. Immunohistochemistry in the work-up of mesothelioma and its differential diagnosis and mimickers. Diagn Cytopathol. 2021;49(5):582-95.
7. Wu H, Zeng H, Dong A, Li F, He H, Senisterra G, et al. Structure of the catalytic domain of EZH2 reveals conformational plasticity in cofactor and substrate binding sites and explains oncogenic mutations. PLoS One. 2013;8(12):1-12.
8. Hanaki S, Shimada M. Targeting EZH2 as cancer therapy. J Biochem. 2021;170(1):1-4.
9. Duan R, Du W, Guo W. EZH2: A novel target for cancer treatment. J Hematol Oncol. 2020;13(1):1-12.
10. Eich M lisa, Athar M, Arbor A. Modern Epigenetics Methods in Biological Research. 2021;80(24):5449-58.
11. Jiang H, D P, Gupta R, Somma J. EZH2 , A Unique Marker of Malignancy in Effusion Cytology. 00(00):1-6.
12. Yoshimura M, Hamasaki M, Kinoshita Y, Matsumoto S, Sato A, Tsujimura T, et al. Utility of highly expressed EZH2 in pleural effusion cytology for the diagnosis of mesothelioma. Pathol Int. 2020;70(10):831-3.
13. Sadullahoglu C, Nart D, Veral A. The importance of EZH2 and MOC-31 expression in the differential diagnosis of benign and malignant effusions. Diagn Cytopathol. 2017

- Feb;45(2):118-24.
14. Shinozaki-Ushiku A, Ushiku T, Morita S, Anraku M, Nakajima J, Fukayama M. Diagnostic utility of BAP1 and EZH2 expression in malignant mesothelioma. *Histopathology*. 2017;70(5):722-33.
 15. Ang PP, Tan GC, Karim N, Wong YP. Diagnostic Value of the EZH2 Immunomarker in Malignant Effusion Cytology. *Acta Cytol*. 2020 Apr 1;64(3):248-55.