

Eksresi Ki-67 dan HER-2/neu Berhubungan dengan Derajat Histopatologik Karsinoma Payudara Invasif *No Special Type* (NST)

Sanggam B. Hutagalung, I Ketut Mulyadi, I Gusti Alit Artha

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar-Bali

ABSTRAK

Latar belakang

Peranan protein Ki-67 dan HER-2/neu sebagai faktor prognostik dan faktor prediktif pada karsinoma payudara invasif (NST) sering diteliti pada dekade terakhir ini. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan ekspresi Ki-67 dan HER-2/neu dengan derajat histopatologik karsinoma payudara invasif (NST).

Metode

Penelitian ini menggunakan metode potong lintang. Sampel penelitian yaitu sediaan blok parafin dari penderita karsinoma payudara NST yang didapat dari arsip Departemen Patologi Anatomi RSUP Sanglah antara periode Juli 2012 hingga September 2013. Derajat histopatologik dievaluasi dengan pemeriksaan histopatologik pada sediaan dengan pulasan Hematoksin Eosin, selanjutnya dilakukan pulasan imunohistokimia dengan antibody Ki-67 dan HER-2/neu. Hubungan antara ekspresi Ki-67 dan HER-2/neu dengan derajat histopatologik tumor diuji dengan *Spearman correlation*.

Hasil

Didapatkan 60 sampel, dengan rerata usia penderita 55 tahun (rentang usia 28-71 tahun). Berdasarkan derajat histopatologik didapatkan tumor derajat rendah sebanyak 29 kasus (48,3%) dan derajat tinggi 31 kasus (51,7%). Terdapat hubungan bermakna antara overekspresi Ki-67 dengan derajat histopatologik tumor ($r=0,650$; $p=0,000$). Terdapat hubungan (nilai $r=0,311$) bermakna antara overekspresi HER-2/neu dengan derajat histopatologik tumor yang tinggi ($p=0,016$).

Kesimpulan

Eksresi Ki-67 dan ekspresi HER-2/neu berhubungan bermakna dengan derajat histopatologik *invasive carcinoma of no special type* payudara.

Kata kunci: *grade* histopatologi, HER-2/neu, karsinoma payudara NST, Ki-67.

ABSTRACT

Background

The role of Ki-67 and HER-2 /neu protein as a prognostic and predictive factor in invasive ductal breast carcinoma of no special type has been studied since the last decade. The aim of this study was to evaluate correlation between expression of Ki-67 and HER-2/neu with histopathological grade of invasive carcinoma of no special type breast.

Methods

This study was a cross-sectional study, which performed on paraffin embedded tissue of patients with invasive breast carcinoma of no special type who were diagnosed between Juli 2012 to September 2013. Histopathological grade was investigated by hematoxylin eosin and immunohistochemistry stain were made for Ki-67 and HER2/neu. Then the correlation between Ki-67 and HER-2/neu overexpression with histopathological grade tested by Spearman Correlation.

Results

We found 60 samples, mean age was 55 years old (range 28-71 years). According to histopathological grade of the tumor, we found cases of low grade were 29 cases (48.3%) and high grade were 31 cases (51.7%). There was significant positive correlation between Ki-67 overexpression and high histopathological grade of tumor ($r=0.650$; $p=0.000$). There was significant correlation between HER-2/neu overexpression and high histopathological grade of tumor ($r=0.311$; $p=0.016$).

Conclusion

It was concluded that the expression of Ki-67 and HER-2/neu have significant correlation with histopathological grade of invasive ductal breast carcinoma of no special type.

Key words: HER-2/neu, histopathological grade, invasive ductal breast carcinoma no special type, Ki-67.

PENDAHULUAN

Karsinoma payudara adalah salah satu keganasan yang sering dijumpai di antara kasus keganasan pada wanita. Sampai saat ini merupakan penyebab morbiditas dan mortalitas hampir di seluruh dunia. Perkembangan teknik diagnostik dan terapi belum mampu menurunkan angka morbiditas dan mortalitas pada penderita karsinoma payudara. Karsinoma duktal invasif merupakan kelompok terbesar dari tumor payudara yaitu sekitar 40-75% dari seluruh karsinoma payudara. Secara umum yang dimaksud *invasive carcinoma of no special type* adalah karsinoma yang tidak dapat disubklasifikasikan ke dalam salah satu tipe khusus. Karsinoma payudara invasif (NST) terdiri atas kelompok tumor yang heterogen serta tidak menunjukkan karakteristik yang sesuai dengan tipe histologi berdasarkan klasifikasi *World Health Organisation* (WHO).

Karsinoma payudara memiliki perilaku biologik yang sangat heterogen, sehingga diperlukan banyak parameter untuk penentuan prognostik dan terapi yang akurat. Sedangkan faktor prediktif lebih menunjukkan perkiraan respon dari karsinoma payudara terhadap satu atau lebih modalitas pengobatan tertentu. Terdapat berbagai faktor yang dapat mempengaruhi prognostik penderita karsinoma payudara. Faktor-faktor tersebut terdiri dari faktor prognostik mayor dan minor. Yang termasuk faktor prognostik mayor adalah: usia penderita, ukuran tumor, derajat keganasan, invasi vaskular, status kelenjar limfe. Sedangkan faktor prognostik minor adalah: subtipe histologi, status reseptor estrogen (ER), reseptor progesterone (PR), *human epidermal growth factor receptor-2* (HER-2/neu), indeks proliferasi (Ki-67), overekspresi COX-2, invasi limfovaskular, dan respon terhadap terapi neoajuvan.^{1,2}

Proliferasi sel adalah pembelahan sel yang didasari oleh adanya aktivitas dari siklus sel. Aktivitas proliferasi sel dapat dideteksi menggunakan pulasan dengan teknik imunohistokimia Ki-67. Indeks Ki-67 akan mengekspresikan sel yang berproliferasi pada fase G1, S, G2, M kecuali fase G0 dari siklus sel. Sebagai faktor prediktif, indeks proliferasi Ki-67 merupakan suatu marker biologi yang digunakan untuk menilai aktivitas proliferasi sel yang sering digunakan di dalam mendeteksi keberadaan karsinoma payudara. Indeks proliferasi Ki-67 dapat membantu para klinisi di dalam

memperbaiki kemampuan memprediksi prognosis karsinoma payudara dan membedakan pasien dengan risiko rendah dengan pasien yang memiliki risiko yang tinggi terhadap rekurensi.^{3,4}

HER-2/neu (erbB2) merupakan anggota family erbB/HER dari reseptor transmembran tirosin kinase yang dikode oleh gen HER-2. Overekspresi dan amplifikasi gen ErbB2 tampak pada beberapa jenis karsinoma, terutama karsinoma payudara. Famili gen HER berperan penting untuk mengatur pertumbuhan, kelangsungan hidup dan diferensiasi sel. Gen HER-2 berperan dalam regulasi pertumbuhan, proliferasi dan pembelahan sel normal namun mengekspresikan reseptor di permukaan sel dalam jumlah sedikit. Semua sel epitel yang normal mengandung 2 kopi gen HER-2 dan mengekspresikan reseptor HER-2 di permukaan sel dalam jumlah sedikit. Selama transformasi onkogenik jumlah gen HER-2 meningkat sehingga menyebabkan peningkatan transkripsi m-RNA dan peningkatan jumlah reseptor HER-2 dipermukaan sel. HER-2 onkogen berhubungan dengan keagresifan tumor dan meningkatnya amplifikasi dari gen tersebut. Selain itu juga berperan dalam tumorigenesis dan metastasis. Oleh karena itu overekspresi HER-2 dan amplifikasi gen HER-2 memiliki nilai prognostik pada karsinoma payudara dan dapat digunakan sebagai petanda target terapi. Imunohistokimia HER-2/neu sudah merupakan suatu prosedur standar pada kasus karsinoma payudara duktal invasif.^{5,6}

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian analitik potong lintang untuk menilai hubungan antara ekspresi protein Ki-67 dan ekspresi reseptor HER-2/neu dengan derajat histopatologi karsinoma payudara NST.

Populasi penelitian ini adalah semua sediaan blok parafin dari bahan biopsi maupun operasi penderita karsinoma payudara NST yang telah didiagnosis secara histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi FK Universitas Udayana/RSU Sanglah Denpasar Bali.

Sampel adalah sediaan blok parafin dari bahan biopsi maupun operasi penderita karsinoma payudara NST yang telah didiagnosis secara histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSU Sanglah Denpasar Bali sejak Juli

2012 sampai dengan September 2013 yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, didapatkan 60 buah blok parafin sebagai sampel penelitian.

Pada penelitian ini, pulasan imunohistokimia dilakukan menggunakan antibodi primer monoklonal *liquid mouse antihuman* Ki-67 (Novocastra, UK) dan menggunakan antibodi monoklonal *rabbit antihuman* HER-2/neu (Novocastra, UK). Imunoekspresi Ki-67 dinilai positif bila inti sel tumor terpulas warna coklat. Jumlah sel yang imunoreaktif dihitung di bawah mikroskop cahaya pada lima LPB pembesaran 400x. Imunoekspresi Ki-67 dinyatakan rendah bila inti sel tumor terpulas kurang dari 14%, dan dinyatakan tinggi bila nilainya sama atau lebih dari 14%. Imunoekspresi HER-2/neu dinilai tereksresi bila membran sel tumor terpulas warna coklat. Jumlah sel yang imunoreaktif dihitung di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Dihitung pada bagian tumor dengan ekspresi terkuat ke bagian yang lemah, penilaian dinyatakan tidak tereksresi, tereksresi lemah, tereksresi sedang dan kuat. Hasil dinyatakan negatif jika tidak tereksresi dan positif jika tereksresi sedang dan kuat.^{7,8}

HASIL

Distribusi sampel berdasarkan data klinis usia ditunjukkan pada Tabel 1. Rentang usia pasien pada penelitian ini bervariasi, dengan usia termuda adalah 28 tahun dan tertua adalah 71 tahun. Rentang usia penderita terbanyak adalah antara 41-50 tahun (36,6%) dengan rata-rata usia pasien adalah 55,5 tahun.

Distribusi sampel berdasarkan data derajat diferensiasi tumor ditunjukkan pada Tabel 1. Berdasarkan karakteristik derajat diferensiasi tumor, didapatkan karsinoma NST sebanyak 29 kasus (48,3%) derajat rendah (*low grade*), yang terdiri atas 4 kasus (6,7%) derajat 1 dan 25 kasus (41,7%) derajat 2. Sedangkan 31 kasus (51,7%) termasuk derajat tinggi (*high grade*).

Distribusi sampel berdasarkan hasil pemeriksaan IHK Ki-67 dan derajat diferensiasi tumor ditunjukkan pada Tabel 3. Berdasarkan hasil pemeriksaan IHK Ki-67 didapatkan hasil ekspresi rendah sebanyak 17 kasus (28,3%) pada *low grade*, dan 9 kasus (15,0%) pada *high grade*.

Tabel 1. Distribusi sampel berdasarkan kelompok usia dan derajat diferensiasi tumor.

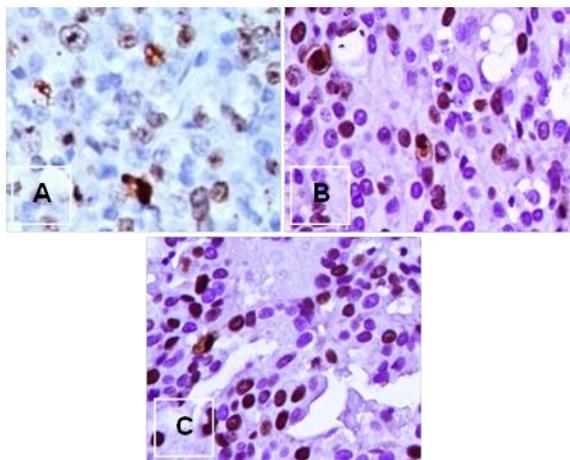
	n	%
Kelompok usia		
<30	4	6,7
30-40	11	18,3
41-50	22	36,6
51-60	12	20,0
61-70	8	13,3
>70	3	5,0
Diferensiasi tumor		
<i>Low grade</i>	29	48,3
<i>High grade</i>	31	51,7

Ekspresi tinggi terdiri dari 12 kasus (20,0%) pada *low grade* dan 22 kasus (36,7%) pada *high grade*. Berdasarkan perhitungan statistik menggunakan *SPSS 19.0 for window*, menggunakan uji Spearman, didapatkan nilai $r=0,650$ dan $p=0,000$. Jadi terdapat hubungan positif yang bermakna, antara ekspresi Ki-67 dengan derajat histopatologik karsinoma payudara NST.

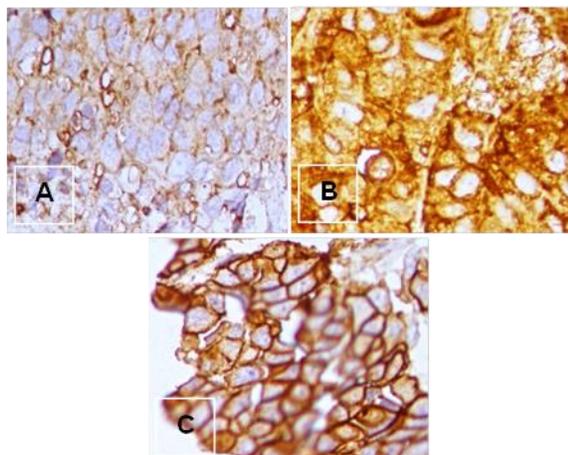
Tabel 2. Distribusi sampel berdasarkan hasil pemeriksaan IHK Ki-67 dan Her-2/neu.

Pemeriksaan IHK	Karsinoma NST				Total	r	p
	<i>Low grade</i>		<i>High grade</i>				
	n	%	n	%			
Ki-67							
Tinggi	12	20,0	22	36,7	34	56,7	0,650 0,000
Rendah	17	28,3	9	15,0	26	43,3	
Her-2/neu							
Positif	14	23,3	25		39	65,0	0,311 0,016
Negatif	15	25,0	6		21	35,0	

Distribusi kasus berdasarkan hasil pemeriksaan IHK HER-2/neu dan derajat diferensiasi tumor ditunjukkan pada Tabel 2. Berdasarkan hasil pemeriksaan IHK HER-2/neu didapatkan hasil positif pada 39 kasus (65,0%) yang terdiri dari 14 kasus (23,3%) derajat diferensiasi *low grade* dan 25 kasus (41,7%) derajat diferensiasi *high grade*. Sebanyak 21 kasus (35,0%) IHK HER-2/neu negatif, yang terdiri dari 15 kasus (25,0%) derajat diferensiasi *low grade* dan 6 kasus (10,0%) derajat diferensiasi *high grade*. Berdasarkan perhitungan statistik menggunakan *SPSS 19.0* menggunakan uji Spearman didapatkan nilai $r=0,311$ dan $p=0,016$. Jadi terdapat hubungan bermakna, antara ekspresi HER-2/neu dengan derajat histopatologik karsinoma NST.



Gambar 1. Pemeriksaan IHK Ki-67, hasil positif terekspresi pada inti sel tumor berwarna coklat. A. Ekspresi Ki-67 positif dengan intensitas ringan. B. Ekspresi Ki-67 positif intensitas sedang. C. Ekspresi Ki-67 positif intensitas kuat (400x).



Gambar 2. Pemeriksaan IHK HER-2/neu, hasil positif terekspresi pada membran sel tumor berwarna coklat. A. Ekspresi HER-2/neu positif intensitas ringan, B. Ekspresi HER-2/neu positif intensitas sedang, C. Ekspresi HER-2/neu positif intensitas kuat (100x).

DISKUSI

Pada penelitian ini, didapatkan bahwa penderita karsinoma NST terbanyak dijumpai pada wanita kelompok umur 41-50 tahun (36%) tahun dengan insiden puncak pada umur 70 tahun. Usia rata-rata pasien saat terdiagnosis adalah 55,5 tahun sedangkan usia termuda adalah 28 tahun. Usia penderita pada penelitian ini relatif muda dibandingkan dengan negara Eropa dan negara maju lainnya yang 80-90% penderitanya

berada pada usia 50-60 tahun dan jarang pada usia 20 tahun. Karsinoma payudara duktal invasif jarang terjadi pada usia muda dihubungkan dengan sifat tumor yang lebih agresif, derajat diferensiasi yang lebih tinggi dan prognosis yang lebih buruk.^{2,9}

Pada penelitian ini karsinoma NST dengan derajat histopatologik rendah ditemukan pada 29 kasus (48%) dan derajat diferensiasi tinggi ditemukan pada 31 (51%) kasus. Derajat histopatologik tumor yang lebih tinggi berhubungan dengan sifat tumor yang lebih agresif dan prognosis yang lebih buruk. Derajat diferensiasi histologi termasuk faktor prognostik minor atau faktor prediktif, yaitu faktor-faktor yang dinilai dalam memprediksi respon terapi. Semakin tinggi derajat diferensiasi tumor, maka semakin jelek prognosinya dan hasil terapinya juga lebih jelek dibandingkan dengan derajat yang rendah. Semakin buruk derajat diferensiasi dihubungkan juga dengan tingkat proliferasi sel yang lebih tinggi, sehingga tidak lepas dari peranan Ki-67 yang lebih aktif pada proses pembelahan sel tumor. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Kontzoglou dkk. (2013) mengemukakan Ki-67 sebagai marker yang dipakai untuk menentukan prognosis pada karsinoma payudara.¹⁰

Ekspresi Ki-67 dinilai sebagai suatu petanda proliferasi sel pada kanker payudara invasif telah digunakan untuk mengelompokkan pasien kedalam kategori prognosis baik dan buruk. Penelitian ini terdiri dari 34 (56%) sampel Ki-67 dengan ekspresi tinggi dan 26 (43%) sampel Ki-67 dengan ekspresi rendah. Setelah dilakukan uji statistik didapat hasil yang menunjukkan adanya hubungan positif bermakna antara Ki-67 dengan derajat histopatologik karsinoma NST ($r=0,650$; $p=0,000$). Penelitian oleh Kontzoglou dkk (2013) yang menganalisis 78 penelitian menyebutkan bahwa Ki-67 positif merupakan faktor prognostik pada karsinoma payudara.¹⁰ Hal ini juga sesuai dengan penelitian Wiesner dkk (2009) yang menyebutkan bahwa Ki-67 positif dapat digunakan sebagai faktor prognostik dan pemilihan terapi neoadjuvan.¹¹

Pada kasus karsinoma payudara duktal invasif, amplifikasi suatu gen melalui mekanisme genetik yang dominan sehingga mengaktivasi onkogen. HER-2/neu adalah onkogen yang paling sering teramplifikasi pada karsinoma payudara duktal invasif dan overekspresi pro-

teinnya berhubungan dengan prognosis pasien yang buruk. Sifat onkogenik dari HER-2/neu teraktivasi melalui mekanisme genetik yaitu *point mutation*, sehingga berakibat amplifikasi dari protoonkogen yang tidak termutasi. Dari berbagai mekanisme tersebut: amplifikasi gen merupakan mekanisme paling umum terjadi serta menimbulkan overekspresi dari protein HER-2/neu itu sendiri. Pada kepustakaan dikatakan bahwa karsinoma payudara duktal invasif dengan derajat diferensiasi yang rendah akan mengekspresikan HER-2/neu tereksresi rendah dan karsinoma dengan derajat diferensiasi tinggi akan mengekspresikan HER-2/neu positif. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Bhagat dkk (2012) yang mengemukakan bahwa ekspresi HER-2/neu positif bila dihubungkan dengan ukuran dan derajat diferensiasi yang tinggi tetapi tidak berhubungan dengan usia.¹²

Berdasarkan hasil pemeriksaan IHK HER-2/neu pada penelitian ini, didapatkan proporsi hasil pemeriksaan IHK HER-2/neu positif (65%) lebih tinggi dari hasil IHK HER-2/neu negatif (35%). Sedangkan hasil pemeriksaan IHK HER-2/neu negatif lebih banyak pada derajat diferensiasi tumor yang rendah. Penelitian ini mirip dengan yang dilakukannya oleh Singhai dkk (2011) dengan hasil ekspresi HER-2/neu positif lebih tinggi dari ekspresi HER-2/neu negatif. Penelitian Singhai dkk (2011) sejalan dengan penelitian Mustac dkk (2008).^{13,14} Setelah dilakukan uji statistik antara ekspresi HER-2/neu dengan derajat diferensiasi tumor, didapatkan hubungan positif yang bermakna ($V=0,311$; $p=0,016$). Hal ini sesuai dengan penelitian Ayadi dkk (2008) yang mendapatkan hubungan positif antara HER-2/neu dengan derajat diferensiasi. Penelitian ini juga menunjukkan hubungan positif dengan agresifitas tumor, metastasis pada kelenjar getah bening dan status ER/PR negatif.¹⁵

KESIMPULAN

Terdapat hubungan antara ekspresi protein Ki-67 dengan *grade* histopatologik dan antara ekspresi HER-2/neu dengan *grade* histopatologik karsinoma payudara NST.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ellis IO, Collins L, Ichihara S, Macbrogan G. Invasive breast carcinoma. in: Tavassoli FA, Devilee P (eds). WHO: Pathology and

genetics of tumours of the breast and female genital organs, Lyon: IARC; 2012.

2. Lester SC. The breast. In: Kumar V, Abbas AK., Fausto N, Aster JC, eds. Robbin and Cotran's Pathology Basic of Diseases. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010.

3. Nishimura R, Osako T, Okumura Y, Tashima R, Toyozumi Y, Arima N. Changes in the ER, PgR, HER-2, P53, and KI-67 biological markers between primary and recurrent breast cancer: discordance rates and prognosis. *W J Surg Oncol.* 2011;9:131.

4. Mohsefinar J, Aghdam MA, Taheri ZM, Zare K, Jafari B, Atri M, Mortazavi, SH, Azadeh P. Prognostic values of proliferatif markers KI 67 and repp86 in breast cancer. *Arch Iranian Med.* 2007; 10: 27-31.

5. Gray MJ, Gallick GE. The role of oncogenic activation in tumor progression. Mechanisms of oncogenesis. New York: Springer; 2010.

6. Grushko TA, Olopade OI. Genetic markers in breast tumors with hereditary predisposition. *Principle of Molecular Oncology 3rd Ed.* New Jersey: Springer; 2008.

7. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, Watson M, Davies S, Bernard PS, Parker JS, Perou CM, Nielsen TO. Ki-67 index, HER status and prognosis of patient with luminal B breast cancer. *J Nat Cancer.* 2009; 101: 736-50.

8. Menard S, Basari A, Tagliabue E, Camerini T, Casalini P. Biology prognosis and response to therapy of breast carcinomas according to HER-2 score. *Ann Oncol.* 2008; 19: 1706-12.

9. Hortobagyi GN, Singletary SE, Strom EA. Locally advanced breast cancer. *diseases of the breast.* 3rd Edition. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins; 2004.

10. Konzoglou K, Palla V, Karaolanis G, Karaikos I, Alexiou I, Pateras I. Corelation between KI-67 and breast cancer prognosis. *Oncol.* 2013; 84: 219-25.

11. Weisner FG, Magener A, Fasching PA. KI 67 as a prognostic molecular marker in routine clinical use in breast cancer patients. *Breast.* 2009; 18: 135-41.

12. Bhagat VM, Jha MB, Patel PR. Correlation of hormonal reseptor and HER-2/NEU expression in breast cancer. A study at tertiary care hospital in south Gujarat. *Natl Med Res.* 2012; 2: 295-8.

13. Singhai R, Patil VW, Patil AV. Status of HER-2/NEU receptor and KI-67 in breast cancer of Indian women. *Int J Appl Basic Med Res.* 2011; 1: 15-19.
14. Mustac E, Zamalo G, Petkovic M, Dordevic G, Radic J, Gregurevic E, Batinac T. Breast infiltrating ductal carcinoma analysis of hormone HER-2/neu receptor and KI-67 proliferation marker. *Call Antropol.* 2008; 32: 741-6.
15. Ayadi L, Khabir A, Amouri H, Karray S, Dammak A, Guermazi M. Correlation of HER-2 overexpression with clinicopathological parameters in tunisian breast carcinoma. *W J Surg Oncol.* 2008; 6:112.