

Ekspresi Protein Ki-67 pada Biopsi Kolonoskopi Adenoma dan Karsinoma Kolorektal

Ni Made Maharini Rahayu, Moestikaningsih, Ketut Mulyadi

*Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar*

ABSTRAK

Latar belakang

Lesi neoplastik pada kolorektal dapat berupa adenoma dan karsinoma kolorektal (KKR). Adanya invasi pada muskularis mukosa merupakan kriteria untuk KKR. Diagnosis ditegakkan dengan interpretasi histopatologi. Menentukan invasi pada interpretasi sediaan biopsi kolorektal yang terbatas kadang agak sulit sehingga memerlukan alat bantu diagnostik lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi perbedaan rerata ekspresi Ki-67 pada adenoma dan KKR.

Metode

Penelitian ini menggunakan metode analitik potong lintang pada kasus biopsi kolonoskopi yang didiagnosis adenoma dan KKR pada tahun 2011 sampai 2012. Dilakukan reinterpretasi sediaan HE untuk diagnosis adenoma atau KKR serta menentukan derajat diferensiasi dari adenoma dan KKR tersebut. Dilakukan pulasan imunohistokimia Ki-67, kemudian diinterpretasi dengan menggunakan mikroskop cahaya dihitung prosentase sel tumor yang terpulasa. Perbedaan rerata Ki-67 adenoma dan KKR dianalisis dengan uji t dengan kemaknaan $p < 0,05$.

Hasil

Rerata ekspresi Ki-67 pada KKR lebih tinggi dibandingkan dengan adenoma ($p=0,000$). Uji t ekspresi Ki-67 antara KKR derajat rendah dan tinggi menunjukkan hasil yang berbeda bermakna ($p=0,018$). Sedangkan, pada adenoma derajat rendah dan derajat tinggi tidak didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik ($p=0,110$).

Kesimpulan

Ekspresi Ki-67 dapat digunakan untuk menegaskan diagnosa adenoma dan KKR.

Kata kunci : adenoma, biopsi kolonoskopi, karsinoma kolorektal, Ki-67.

ABSTRACT

Background

Neoplastic lesion in colorectal could be adenoma and colorectal carcinoma (CRC). An invasion in muscularis mucosa is a criteria for colorectal carcinoma. Diagnosis is formed with histopatologic interpretation. In colorectal-biopsy preparation interpretation, determining limited invasion is sometimes difficult so that it needs other diagnostic tools. The aim of this study was to evaluating the difference of Ki-67 mean expression in colorectal adenoma and CRC.

Methods

This study was cross-sectional study on colorectal adenoma and CRC. Cases were diagnosed by colonoscopy-biopsy between 2011 and 2012. It did re-interpretation of HE preparation of adenoma or colorectal carcinoma diagnosis and determination of the degree of differentiation of those adenoma and colorectal carcinoma. Immunohistochemical Ki-67 staining was interpreted with light microscope. The percentage of the stained tumour cells was counted. The difference of mean in Ki-67 expression of colorectal adenoma and CRC was analyzed with t-test with significance level at $p < 0.05$.

Results

The mean of Ki-67 expression in colorectal carcinoma was higher compared to adenoma ($p=0.000$). The Ki-67 expression was significantly difference in colorectal carcinomas between low and high grade ($p=0.018$). On low and high grade adenoma, the Ki-67 expression was no significantly difference ($p=0.110$).

Conclusion

Ki-67 expression could be used as a basic to confirm conventional diagnostic of adenoma and colorectal carcinoma.

Key words: adenoma, colonoscopy biopsy, colorectal carcinoma, Ki-67.

PENDAHULUAN

Karsinoma kolorektal adalah salah satu neoplasma yang kejadiannya cukup sering, terutama mengenai penduduk yang tinggal di negara-negara industri. Insidennya lebih tinggi di Negara-negara maju dan dikaitkan dengan pola makan dan gaya hidup. Di Indonesia, KKR menempati peringkat keempat sebagai kanker tersering setelah kanker payudara, kanker serviks uteri, dan kanker kulit.¹

Skrining KKR sebaiknya dilakukan pada semua orang yang berumur diatas 50 tahun, dengan menggunakan beberapa strategi seperti *fecal occult blood testing* (FOBT), *flexible sigmoidoscopy*, kombinasi dari FOBT dan sigmoidoskopi, kolonoskopi dan *double contrast barium enema*.² Untuk orang yang berusia lebih dari 50 tahun dengan risiko rata-rata, skrining KKR dilakukan dengan metode noninvasif yaitu FOBT. Sedangkan untuk orang dengan risiko tinggi, metode skrining yang digunakan adalah metode invasif. Deteksi dengan menggunakan metode invasif seperti kolonoskopi masih tetap merupakan pilihan karena akurasi yang tinggi mencapai 95%.³ Namun seringkali jaringan yang didapat dari kolonoskopi hanya mengandung mukosa tanpa disertai lapisan submukosa. Hal ini menyulitkan ahli patologi untuk menentukan diagnosis, apakah suatu adenoma murni, ataukah karsinoma kolorektal. Sedangkan kriteria diagnostik untuk karsinoma kolorektal adalah dengan ditemukannya invasi ke lamina propria dan atau submukosa.

Sel neoplastik adalah sel-sel yang aktif berproliferasi. Tingkat proliferasi sel yang lebih tinggi menunjukkan tingkat diferensiasi yang lebih tinggi. Hal ini dapat dinilai dengan marker indeks proliferasi Ki-67. Dengan menggunakan marker indeks proliferasi seperti Ki-67 pada adenoma dapat dibuat prediksi progresifitasnya dan pada KKR dapat dibuat sebagai salah satu acuan untuk manajemen terapi pasien. Penelitian ini akan membandingkan ekspresi protein Ki-67 pada adenoma dan KKR.

METODE PENELITIAN

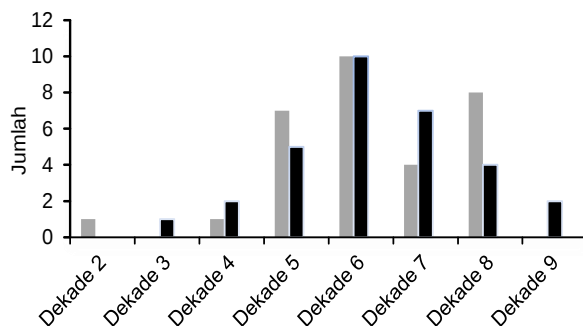
Penelitian ini merupakan penelitian korelasi dengan menggunakan metode analitik *cross sectional*. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah blok parafin dari hasil biopsi kolonoskopi penderita adenoma dan karsinoma kolorektal dari tanggal 1 Januari 2011 sampai 31 Desember 2012 yang diperiksa di Laboratorium

Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP. Sanglah Denpasar yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Selama periode Januari 2011 sampai Desember 2012, berdasarkan data pasien yang diperiksa di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Sanglah dan beberapa laboratorium swasta di Denpasar, didapatkan sebanyak 62 sediaan pasien dengan diagnosis adenoma kolorektal dan sebanyak 159 sediaan pasien dengan diagnosis adenokarsinoma kolorektal yang diambil dengan biopsi kolonoskopi. Dipilih masing-masing 31 sampel adenoma dan KKR secara random. Dilakukan interpretasi ulang pada sediaan histologi dan hasil interpretasi dikelompokkan menjadi adenoma dan KKR. Sediaan adenoma dan KKR juga ditentukan derajat diferensiasinya dan dikelompokkan menjadi derajat rendah dan tinggi. Pulasan imunohistokimia Ki-67 dilakukan dengan menggunakan *monoclonal mouse anti-human Ki-67 antibody* (DAKO, Biocare medical, USA), yang diencerkan dengan pengenceran 1:100. Kontrol positif yang digunakan diperoleh dari sediaan karsinoma payudara yang menunjukkan ekspresi Ki-67 yang tinggi. Interpretasi ekspresi Ki-67 dihitung pada area yang terpulas paling padat. Setelah itu dihitung prosentase sel yang terpulas coklat dengan berbagai intensitas dari 100 sel yang dievaluasi. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *SPSS for window 16.0*. Dari data yang terkumpul diolah secara deskriptif untuk mengetahui karakteristik sampel. Analisis yang dilakukan adalah deskriptif dan komparatif. Analisis deskriptif dilakukan untuk mengetahui rerata Ki-67 pada adenoma dan karsinoma kolorektal. Analisa komparatif dilakukan untuk mengetahui perbedaan rerata Ki-67 pada adenoma dengan KKR dengan menggunakan uji t. Perbedaan dianggap bermakna secara statistik bila $p < 0,05$.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi perbedaan rerata ekspresi Ki-67 pada adenoma dan KKR.

HASIL

Umur rata-rata pasien dalam penelitian ini adalah 56,9 tahun dengan rentang umur 19 sampai 87 tahun. Dari keseluruhan sediaan yang didapat pada tahun 2011 sampai 2012, kasus adenoma dan KKR tertinggi ditemukan pada dekade keenam (Gambar 1).



Gambar 1. Jumlah adenoma dan KKR per kelompok umur dari sampel penelitian antara tahun 2011 sampai tahun 2012. ■ Adenoma ■ KKR

Kasus adenoma maupun KKR pada penelitian ini lebih banyak ditemukan pada laki-laki dibanding pada wanita. Pada penelitian ini, kasus adenoma pada laki-laki sebanyak 18 orang (58,06%), dan pada wanita sebanyak 13 orang (41,93%), sementara kasus KKR pada laki-laki sebanyak 17 orang (54,84%), dan pada wanita sebanyak 14 orang (45,16%).

Dari 31 kasus adenoma, 17 kasus (54,8%) merupakan adenoma derajat rendah dan 14 kasus (45,2%) merupakan adenoma derajat tinggi. Sedangkan untuk kasus KKR, 5 kasus (16,1%) dengan derajat rendah, 26 kasus (83,9%) dengan derajat tinggi. Pemeriksaan imunohistokimia terhadap protein Ki-67 pada kasus adenoma derajat rendah kolorektal menunjukkan rentang ekspresi yang bervariasi, mulai 5% sampai 25% (rerata 11,47 dengan SD 5,77%). Pada adenoma derajat tinggi menunjukkan ekspresi yang lebih tinggi dibandingkan adenoma derajat rendah dengan rentang 8% sampai 24% (rerata 14,57% dengan SD 4,43%) Tabel 1. Ekspresi protein Ki-67 pada 10% sel sel ganas pada adenoma derajat rendah ditunjukkan pada Gambar 2A.

Tabel 1. Perbedaan skor ekspresi protein Ki-67 antara kelompok adenoma kolorektal derajat rendah dan derajat tinggi.

Kelompok adenoma	Rerata ±SD	t	Beda rerata	CI beda rerata	Nilai p
Derajat rendah	11,47 ± 5,77	1,649			
Derajat tinggi	37,55 ± 7,55	1,649	-3,101	-6,948 s/d 0,746	0,110

Uji beda rerata antara ekspresi protein Ki-67 pada adenoma derajat rendah dan derajat

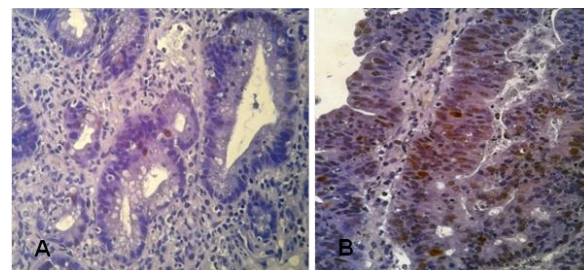
tinggi dengan menggunakan uji t menunjukkan hasil yang tidak bermakna dengan $p=0,110$ (beda mean -3,101; 95% CI = -6,948-0,746).

Pemeriksaan terhadap protein Ki-67 pada KKR derajat rendah menunjukkan rentang ekspresi yang bervariasi, mulai 25% sampai 37% (rerata 30,4% dengan SD 4,67%). Pada KKR derajat tinggi menunjukkan rerata ekspresi yang lebih tinggi dibandingkan KKR derajat rendah dengan rentang 30% sampai 60% (rerata 38,9% dengan SD 7,26%) Tabel 2. Ekspresi protein Ki-67 pada 60% sel ganas pada KKR derajat tinggi ditunjukkan pada Gambar 2B.

Tabel 2. Perbedaan skor ekspresi protein Ki-67 antara kelompok karsinoma kolorektal derajat rendah dan derajat tinggi.

Kelompok karsinoma	Rerata SD	t	Beda rerata	CI beda rerata	Nilai p
Derajat rendah	30,40 4,67	-2,507			
Derajat tinggi	38,92 7,26	-3,372	-8,523	-15,475 s/d -1,571	0,018

Uji beda rerata antara ekspresi protein Ki-67 pada KKR derajat rendah dan derajat tinggi dengan menggunakan uji t menunjukkan hasil yang bermakna dengan $p=0,018$ (beda mean -8,523; 95% CI = -15,475-1,571).



Gambar 2. A. Ekspresi protein Ki-67 pada 10% sel ganas pada adenoma derajat rendah. B. Ekspresi Ki-67 pada 60% sel ganas pada KKR derajat tinggi. Pulasan positif menunjukkan inti yang terpulas berwarna coklat.

Tabel 3. Perbedaan skor ekspresi protein Ki-67 antara kelompok adenoma kolorektal dan karsinoma kolorektal (KKR).

Kelompok	Rerata SD	t	Beda rerata	CI beda rerata	Nilai p
Adenoma	12,87 5,36	14,841			
KKR	37,55 7,55	14,481	-24,68	-28,00 s/d -21,35	0,000

Uji beda rerata antara ekspresi protein Ki-67 pada adenoma dan KKR dengan menggunakan uji t menunjukkan hasil yang bermakna dengan $p=0,000$ (beda mean -24,68; 95% CI= -28,00-21,35).

DISKUSI

Populasi sel di dalam suatu jaringan ditentukan oleh laju proliferasi dan apoptosis dari sel penyusun jaringan tersebut. Proliferasi sel yang berlebih merupakan perubahan yang selalu terjadi pada proses karsinogenesis. Indeks proliferasi sel penyusun tumor dapat dievaluasi dengan beberapa metode, mulai evaluasi indeks mitosis dari sediaan histopatologi konvensional, pemeriksaan marka proliferasi sel seperti ekspresi protein Ki-67 dengan pemeriksaan imunohistokimia, atau pemeriksaan molekuler lainnya.

Pada penelitian ini ditemukan ekspresi protein Ki-67 pada kasus adenoma kolorektal dengan rentang yang bervariasi mulai 5% sampai 25%. Ekspresi protein Ki-67 pada adenoma derajat tinggi cenderung memiliki derajat lebih tinggi dibandingkan dengan adenoma derajat rendah meskipun perbedaan ini tidak signifikan secara statistik. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya dimana penelitian tersebut mengevaluasi ekspresi protein Ki-67 pada adenoma kolorektal dan menilai hubungannya dengan beberapa parameter klinikopatologi seperti usia dan jenis kelamin pasien, tipe dan lokasi tumor, serta ukuran dan derajat diferensiasi tumor. Pada penelitian ini ekspresi protein Ki-67 berkorelasi secara bermakna dengan ukuran dan derajat diferensiasi tumor, tetapi tidak berkorelasi bermakna dengan usia dan jenis kelamin pasien serta tipe dan lokasi tumor.⁴⁻⁷ Pulasan imunohistokimia Ki-67 dapat dipergunakan sebagai metode tambahan untuk evaluasi histopatologi konvensional pada penderita adenoma kolorektal terutama dalam mengkonfirmasi derajat diferensiasi tumor serta kemungkinan progresivitasnya.

Pada kasus KKR ekspresi Ki-67 ditemukan dalam rentang 25% sampai 60%. Ekspresi Ki-67 pada KKR dengan derajat diferensiasi tinggi lebih tinggi dibandingkan dengan KKR dengan derajat diferensiasi baik. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian-penelitian sebelumnya dimana dalam penelitian ini terdapat korelasi yang signifikan antara indeks proliferasi

Ki-67 dengan tipe histologik dan derajat diferensiasi dari KKR tetapi tidak berkorelasi dengan parameter klinikopatologi lain seperti usia dan jenis kelamin penderita, ukuran tumor, lokasi, kedalaman invasi, stadium, status nodal, dan invasi vaskuler.⁸⁻⁹ Pada penelitian lain dilaporkan bahwa derajat diferensiasi tumor pada KKR laju proliferasi sel ekspresi Ki-67 yang semakin rendah.¹⁰⁻¹¹ Beberapa kemungkinan yang mendasari perbedaan hasil penelitian ini adalah berbedanya jenis jaringan yang dipergunakan, perbedaan prosedur pulasan, perbedaan cara interpretasi Ki-67, serta perbedaan karakteristik subjek penelitian.

Perbedaan ekspresi Ki-67 pada adenoma dan KKR terbukti signifikan pada penelitian ini. Ekspresi Ki-67 pada KKR lebih tinggi dibandingkan pada adenoma. Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian sebelumnya yang menemukan bahwa ekspresi Ki-67 secara signifikan lebih tinggi pada KKR dibandingkan pada adenoma serta mukosa normal kolon. Pada penelitian ini juga ditemukan bahwa ekspresi Ki-67 berhubungan dengan usia pasien, adanya metastasis jauh, serta stadium TNM tumor.¹² Pada penelitian lain ekspresi Ki-67 pada adenoma dan KKR tipe familial dan sporadik juga menunjukkan hasil yang serupa baik pada kasus KKR familial maupun sporadik.¹³

Perbedaan ekspresi Ki-67 yang signifikan antara kasus adenoma kolorektal dan KKR yang dijumpai pada penelitian ini maupun pada penelitian oleh peneliti-peneliti lain juga dijumpai pada beberapa keganasan di tempat lain seperti pada rongga mulut dan prostat.¹⁴⁻¹⁵

Dari hasil penelitian ini yang sesuai dengan penelitian-penelitian lain baik pada lesi di kolorektal maupun pada keganasan di tempat lain, tampaknya Ki-67 dapat merupakan marka yang dapat membantu dalam menegakkan diagnosis suatu lesi displastik atau karsinoma invasif, termasuk pada lesi kolorektal, dimana diagnosis ini sering menimbulkan kesulitan pada diagnosis histopatologi konvensional dari jaringan biopsi kolonoskopi di mana spesimen hanya mengandung bagian mukosa sehingga adanya invasi sulit dievaluasi. Perlu penelitian lanjutan untuk menentukan *cutt of point* ekspresi protein Ki-67 untuk membedakan adenoma dan KKR, karena pada penelitian ini tidak menentukan *cutt of point* tersebut.

KESIMPULAN

Ekspresi protein Ki-67 dapat dipergunakan sebagai marka untuk membantu menegakkan diagnosa adenoma dan karsinoma kolorektal dengan sediaan konvensional pada jaringan biopsi kolonoskopi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Anatomi. Kanker di Indonesia tahun 2008: data histopatologik. Jakarta: Direktorat Jenderal Pelayanan Medik Departemen Kesehatan RI: 2008.
2. Fenoglio-Preiser CM. editor. Gastrointestinal Pathology: An Atlas and Text. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
3. Jechart G. General Information Regarding Examination. In Mesmann H., ed. Atlas of Colonoscopy. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2006.
4. Nussrat F, Ali HH, Husein GH, Al-Ukashi J. Immunohistochemical expression of Ki-67 and p53 in colorectal adenomas: a clinicopathological study. Oman Med J. 2011; 26: 229-34.
5. Yinghao S, Martha S, Reid N, Qiuyin C, Nobuhiko K, Kay W, *et al.* Immunohistochemical expression of Ki-67, cyclin D1, b-catenin, cyclooxygenase-2, and epidermal growth factor receptor in human colorectal carcinoma. Cancer Epidemiol Bio-markers Prev. 2006; 15: 325-8.
6. Abdulamir AS, Hafidh R, Mahdi L, Al-Jaboori L, Abubakar F, Abbas KA. The interplay between p53 and p21 tumor suppressor proteins in the transformation of colorectal adenoma to carcinoma. Am J Immunol. 2008; 4: 14-22.
7. Radovanick-Dinic B, Nagorni A, Katic V, Starnenkovic I, Zlatic A. An immunohistochemical study of Ki-67 in colorectal adenoma. NCBI. 2009; 63: 16-8.
8. Ahmed N, Ismail AT, Kareem TS. A clinicopathologic study of Ki-67 proliferation index in colorectal carcinoma. Saudi Med J. 2012; 33: 841-5.
9. Valentina V, Yokoyama N, Walter B, Okamoto H, Suda T, Hatakeyama K. Clinical significance of Ki-67 proliferation index in disease progression and prognosis of patients with resected colorectal carcinoma. Br J Surg. 2005; 92: 1002-7.
10. Saleh HA, Jackson H, Khatib G, Banerjee M. Correlation of Bcl-2 oncoprotein immunohistochemical expression with proliferation index and histopathologic parameters in colorectal neoplasia. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2000; 8: 175-82.
11. Nabi U, Nagi AH, Sami W. Ki-67 Proliferatif index and histological grade, type and stage of colorectal carcinoma. J Ayub Med Coll Abbotabad. 2008; 20: 44-7.
12. Lin M, Wen Z, Feng Z, He D. Expression and significance of Bmi-1 and Ki67 in colorectal carcinoma tissues. Chin J Cancer 2008; 27: 568-73.
13. Wang J, El-Masry N, Talbot J, Tomlinson I, Alison MR, El-Bahrawy M. Expression profiling of proliferation and apoptotic markers along the adenoma-carcinoma sequence in familial adenomatous polyposis patient. Gastroenteropathol Res Pract. 2013: 1-7.
14. Zhong W, Peng J, He H, Wu D, Han Z, Xuecheng, *et al.* Ki-67 and PCNA expression in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. Clin Invest Med. 2008; 31: E8-E15.
15. Angiero F, Berenzi A, Benetti A, Rossi E, Sordo RD, Sidoni A, *et al.* Expression of P16, P53 and Ki-67 proteins in the progression of epithelial dysplasia of the oral cavity. Anticancer Res. 2008; 28: 2535-40.