

Overekspresi HER-2/neu Berhubungan Positif dengan Derajat Diferensiasi, Kedalaman Invasi, dan Metastasis Kelenjar Getah Bening Regional pada Adenokarsinoma Kolorektal di Bali

I Nyoman Sasputra, Herman Saputra, LP. Iin Indrayani Maker

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar

ABSTRAK

Latar belakang

Adenokarsinoma kolorektal masih merupakan masalah kesehatan serius di Bali. Derajat diferensiasi, kedalaman invasi, metastasis dan HER-2/neu penting dipakai sebagai faktor prediktif prognosis adenokarsinoma kolorektal. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui hubungan antara derajat diferensiasi, kedalaman invasi dan metastasis kelenjar getah bening regional dengan ekspresi HER-2/neu.

Metode

Penelitian *cross sectional* dilakukan menggunakan sampel adenokarsinoma kolorektal dari operasi kolonektomi yang menyertakan kelenjar getah bening regional dari tahun 2012 sampai 2014 di Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Sanglah Denpasar. Dilakukan diagnosis ulang faktor prognosis histopatologi (derajat diferensiasi, kedalaman invasi, dan metastasis kelenjar getah bening regional) dan pulasan imunohistokimia HER-2/neu.

Hasil

Diperoleh 44 sampel adenokarsinoma kolorektal. Overekspresi HER-2/neu ditemukan pada 28 kasus dan sisanya 16 kasus dengan ekspresi HER-2/neu negatif. HER2/neu positif terdapat pada sebagian besar tumor berdiferensiasi sedang (75%), tumor dengan T3 (78.6%), dan metastasis kelenjar limfe regional (71%). Uji korelasi Spearman penelitian ini menunjukkan terdapat korelasi kuat antara ekspresi HER-2/neu dengan metastasis kelenjar getah bening regional ($r=0,628$), korelasi sedang dengan derajat diferensiasi ($r=0,481$), dan korelasi sedang dengan kedalaman invasi ($r=0,468$).

Kesimpulan

Terdapat hubungan positif antara overekspresi HER-2/neu dengan derajat diferensiasi, kedalaman invasi, dan metastasis, sehingga penting ditetapkan untuk memprediksi prognosis pasien adenokarsinoma kolorektal.

Kata kunci : adenokarsinoma kolorektal, derajat diferensiasi, kedalaman invasi, metastasis kelenjar getah bening regional, HER-2/neu

ABSTRACT

Background

Colorectal adenocarcinoma still is a serious health problem in Bali. tumor differentiation, depth of invasion, regional lymph node metastasis and HER-2/neu were used as important prognosis predictive factor for colorectal adenocarcinoma. The aim of this study was to find out the correlation between tumor differentiation, depth of invasion and regional lymph node metastasis with HER-2/neu expression.

Methods

A cross sectional study included samples of colorectal adenocarcinoma from colonectomy with regional lymph node from 2012 until 2014 in Anatomical Pathology Laboratory RSUP Sanglah Denpasar. We review the diagnosis, pathological prognostic factor (tumor differentiation, depth of invasion, and regional lymph node metastasis) and HER-2/neu immunohistochemical staining.

Results

Forty four samples were included in this study. HER-2/neu overexpression was found in 28 cases and the remaining 16 cases with negative. HER2/neu positive was found mostly in moderately differentiated tumor (75%), T3 tumor (76.8%) and tumor with regional metastasis (71%). Spearman correlation test analysis of this study showed a strong correlation between expression HER-2/neu with regional lymph node metastasis ($r=0.628$), moderate correlation with grade of differentiation ($r=0.481$), and moderate correlation with depth of invasion ($r=0.468$).

Conclusion

There were positive correlation between tumor differentiation, depth of invasion and regional lymph node metastasis with overexpression HER-2/neu, hence it's role is important to predict the prognosis of colorectal adenocarcinoma patients.

Key words : colorectal adenocarcinoma, grade of differentiation, depth of invasion, regional lymph node metastasis, HER-2/neu.

PENDAHULUAN

Karsinoma kolorektal (KKR) merupakan masalah kesehatan serius yang kejadiannya cukup sering, di negara berkembang. Kanker ini insidennya lebih tinggi di negara maju dan dikaitkan dengan pola makan dan gaya hidup. Pada saat ini karsinoma kolorektal sangat sering kita jumpai. Karsinoma kolorektal menempati urutan keempat sebagai penyebab kematian terbanyak akibat kanker di seluruh dunia dan merupakan keganasan utama urutan ketiga pada laki-laki yaitu 663.000 kasus (10% dari total kasus) dan keempat pada perempuan yaitu 570.000 kasus (9,4% dari total kasus) pada tahun 2008.¹

Di Indonesia belum tersedia angka yang pasti berapa insidens karsinoma kolorektal namun dari data Badan Registrasi Kanker Indonesia tahun 2010 menunjukkan bahwa kanker tersebut menempati urutan ketiga tertinggi (9,89%) dari seluruh kejadian kanker di Indonesia. Angka ini agaknya insiden minimal karena ada kasus yang tidak dilaporkan atau pasien tidak berobat ke rumah sakit. Berdasarkan registrasi dari seluruh pusat Patologi di Indonesia tahun 2010, prevalensi KKR adalah sebanyak 2.472 orang (9,98% dari seluruh keganasan), yaitu pada laki-laki 1.278 kasus (15,22%), pada perempuan 1.172 kasus (7,27%). Di Bali KKR menempati urutan keempat setelah karsinoma payudara, servik, dan tiroid dengan jumlah kasus 52 orang pada laki-laki (13,26%), 35 orang pada perempuan (4,79%).²

Faktor-faktor yang mempengaruhi prognosis pasien dengan KKR antara lain: gambaran morfologi tumor primer (ukuran tumor, luasnya lapisan yang terkena tumor, obstruksi usus, perforasi, pola invasi dan derajat diferensiasi), invasi pembuluh darah (vena ektramural, pembuluh limfatik atau celah perineural yang terkena tumor dan perubahan reaktif kelenjar limfe regional), respon penderita (angiogenesis, inflamasi lokal dan respon desmoplastik) serta konsekuensi dari teknik pembedahan (jarak antara batas reseksi dengan tumor dan adanya sisa tumor). Hal-hal tersebut tidak secara keseluruhan secara rutin diperiksa dan dilaporkan pada kesimpulan diagnosis histopatologi dari bahan operasi. Keseluruhan faktor-faktor tersebut merupakan faktor signifikan yang menentukan prognosis penderita.^{3,4}

HER-2/neu merupakan suatu protein yang diekspresikan pada membran sel, yang berfungsi sebagai reseptor yang memiliki aktivitas tirosin kinase intrinsik. Reseptor ini termasuk kedalam kelompok yang sama dengan EGFR. HER-2/neu mulai diteliti dan ditemukan pada beberapa jenis kanker pada manusia, di antaranya karsinoma payudara, kolon dan ovarium.⁵ Berbagai data penelitian tentang prevalensi overekspresi HER-2/neu pada karsinoma kolorektal menunjukkan hasil yang berbeda antara penelitian satu dengan yang lainnya, dengan nilai perbedaan berkisar antara 0-83%, seperti hubungan overekspresi HER-2/neu dengan gambaran klinikopatologinya antara lain klasifikasi *Dukes* dan *survival*. Tidak ada hubungan bermakna antara grading tumor, jenis kelamin, lokasi tumor primer dan survival dengan overekspresi HER-2/neu. Angka ekspresi HER-2/neu tinggi pada karsinoma kolon, tidak ada korelasi antara HER-2/neu dengan umur, jenis kelamin, lokasi dan tipe tumor.^{5,6}

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui peran marka biologi HER-2/neu terhadap faktor prognosis derajat diferensiasi, kedalaman invasi, serta kejadian metastasis pada adenokarsinoma kolorektal.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif analitik dengan pendekatan *cross sectional* yang dilakukan di Bagian/SMF Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah, sejak 2 Juli 2014 sampai dengan 25 Nopember 2014. Populasi penelitian ini adalah semua sediaan blok parafin dari bahan operasi kolonektomi penderita karsinoma kolorektal dari tanggal 1 Januari 2012 sampai 30 September 2014 yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang ditetapkan peneliti. Untuk memenuhi jumlah kasus yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi maka sampel ditentukan dengan cara random. Kriteria inklusi adalah pemeriksaan histopatologi karsinoma kolorektal dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah Denpasar, blok parafin dari bahan operasi karsinoma kolorektal yang masih mempunyai jaringan tumor yang cukup untuk pemeriksaan imunohistokimia. Sedangkan kriteria eksklusi adalah sediaan jaringan yang tidak cukup mengandung massa tumor, blok parafin

rusak, bahan operasi yang tidak menyertakan kelenjar getah bening regional.

Sampel adalah yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Adenokarsinoma kolorektal adalah keganasan epitel kelenjar kolorektal yang menunjukkan invasi ke dalam muskularis mukosa dan atau submukosa. Kriteria diagnostik dari karsinoma kolorektal: gambaran kelenjar yang dominan dengan sedikit stroma, arsitektur kelenjar dengan pola *back to back*, *cribriform*, proliferasi kelenjar berukuran kecil yang ireguler, sel tumor berbentuk kolumnar tinggi dan berubah menjadi lebih kuboid pada diferensiasi buruk, infiltrasi sel individual dan kelenjar kedalam lamina propria dan atau muskularis mukosa.³

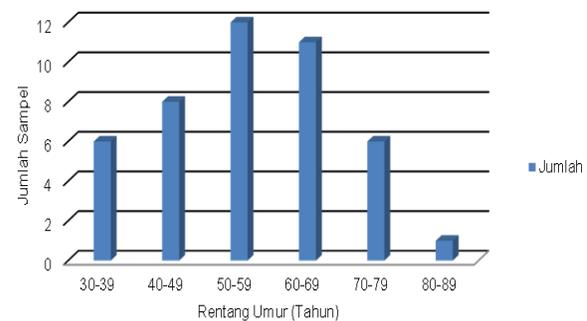
Preparat hasil pulasan hematoxilin dan eosin (H&E), dievaluasi ulang oleh peneliti dan dua ahli patologi untuk memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sehingga didapat tiga kelompok data berdasarkan derajat diferensiasi, kedalaman invasi dan kemampuan metastasis. Preparat yang sulit dievaluasi dilakukan potong ulang blok dan dipulas dengan pulasan rutin menggunakan Harris's hematoxilin dan eosin. Setelah itu baru dilakukan pemotongan ulang blok parafin, untuk diwarnai dengan pewarnaan imunohistokimia HER-2/neu dengan menggunakan antibodi primer monoklonal HER-2/neu Novocastra Lyophilized Mouse Monoclonal Antibody c-erbB-2 Oncoprotein (Leica Biosystem Newcastle, United Kingdom) dengan dilusi 1:100 dan antibody sekunder menggunakan Novocastra (biotin dan streptavidin). Penilaian pulasan dilakukan secara semikuantitatif dengan mikroskop cahaya binokuler merk Olympus dengan pembesaran 400 kali. Penghitungan dilakukan pada seluruh bagian tumor dengan ekspresi protein HER-2/neu. Sel yang mengekspresikan HER-2/neu akan tampak berwarna coklat pada membrane. Penilaian ekspresi HER-2/neu menurut Ghaffarza dkk ditentukan berdasarkan analisis persentase sel tumor yang negatif sampai dengan positif 3 (+++) dan intensitas lemah sampai kuat.⁶ Kontrol positif berasal dari jaringan payudara yang telah diketahui positif terhadap HER-2/neu.

Data-data pengamatan karakteristik pasien yaitu klinis, dan histopatologi akan disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel, sedangkan hubungan antara faktor prognosis derajat diferensiasi, kedalaman invasi, dan kejadian metastasis dengan ekspresi marka

HER-2/neu dianalisis menggunakan tabel silang dan besarnya hubungan dinilai dengan rasio prevalensi dan kemaknaannya diuji dengan table 2x2. Uji kemaknaan ditentukan pada $p < 0,05$. Presisi data ditentukan dengan nilai *Confidence Interval* (CI) 95%, analisis korelasi Spearman, Regresi Logistik Kategorikal. Pada penelitian ini, analisa statistik terhadap data penelitian dengan menggunakan program komputer SPSS 16,0 for windows.

HASIL

Diperoleh 44 sampel yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Berdasarkan jenis kelamin didapatkan sebanyak 21 orang (47,7%) berjenis kelamin laki-laki dan 23 orang (52,3%) berjenis kelamin perempuan.



Gambar 1. Grafik distribusi kasus adeno KKR berdasarkan kelompok umur.

Pada grafik kelompok umur menunjukkan jumlah terbanyak penderita pada rentang umur 50-59 tahun (27,3%) dengan rentang umur pasien yang cukup bervariasi yaitu berkisar mulai 30 sampai 82 tahun dan rerata umur $55,66 \pm 12,52$.

Tabel 1. Distribusi kasus berdasarkan derajat diferensiasi dan ekspresi HER-2/neu.

Derajat differensiasi	HER-2/neu		Jumlah n (%)	Nilai r	Nilai P
	Positif n (%)	Negatif n (%)			
Baik	0 (0)	4 (25)	4 (9,1)	0,481	0,004
Sedang	21 (75)	12 (75)	33 (75)		
Buruk	7 (25)	0 (0)	7 (15,9)		
Jumlah	28 (100)	16 (100)	44		

Pada Tabel 1 didapatkan nilai korelasi Spearman sebesar 0,481 menunjukkan arah korelasi positif dengan kekuatan korelasi sedang. Pada uji *chi-square* nilai p sebesar

0,004 yang menunjukkan hubungan bermakna antara derajat diferensiasi dan ekspresi HER-2/neu.

Tabel 2. Distribusi kasus berdasarkan kedalaman invasi dan ekspresi HER-2/neu.

Kedalaman invasi	HER-2/neu			Nilai r	Nilai p
	Positif n (%)	Negatif n (%)	Jumlah n (%)		
T1	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,468	0,005
T2	0 (0)	4 (25)	4 (9,1)		
T3	22 (78,6)	12 (75)	34 (77,3)		
T4	6 (21,4)	0 (0)	6 (13,6)		
Jumlah	28 (100)	16 (100)	44 (100)		

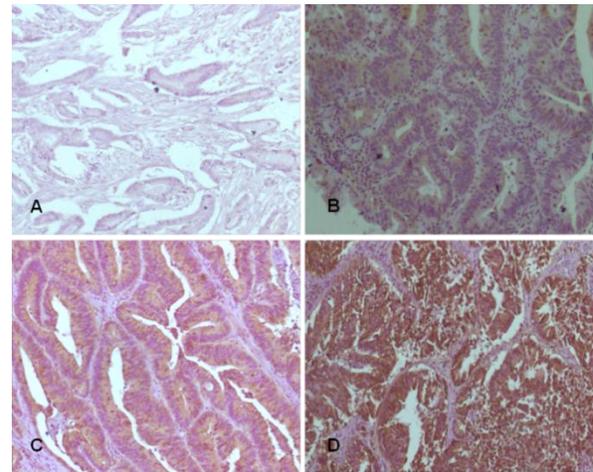
Keterangan: T1=Invasi sel-sel ganas sampai lamina propria atau submukosa dan ukuran kurang dari 2 cm. T2=Invasi sel-sel ganas sampai muskularis propria atau ukuran lebih besar dari 2 cm. T3=Invasi sel-sel ganas sampai subserosa atau sampai jaringan perirektal. T4=Invasi sel-sel ganas sampai perforasi peritoneum atau invasi sampai ke organ lain.³

Pada Tabel 2 didapatkan nilai korelasi Spearman sebesar 0,468 menunjukkan arah korelasi positif dengan kekuatan korelasi sedang. Pada uji *chi-square* nilai p sebesar 0,005 yang menunjukkan hubungan bermakna antara kedalaman invasi dan ekspresi HER-2/neu.

Tabel 3. Distribusi kasus berdasarkan metastasis KGB regional dan ekspresi HER-2/neu

Meta-stasis	HER-2/neu			Nilai r	Nilai p
	Positif N (%)	Negatif N (%)	Jumlah N (%)		
Positif	20 (71,4)	1 (6,2)	21 (47,7)	0,628	0,000
Negatif	8 (28,6)	15 (93,8)	23 (52,3)		
Jumlah	28 (100)	16 (100)	44 (100)		

Pada Tabel 3 didapatkan nilai korelasi Spearman sebesar 0,628 menunjukkan arah korelasi positif dengan kekuatan korelasi kuat. Pada uji *chi-square* nilai p sebesar 0,000 yang menunjukkan hubungan bermakna antara metastasis kelenjar getah bening regional dan ekspresi HER-2/neu.



Gambar 2. Ekspresi HER-2/neu pada Adenokarsinoma Kolorektal dengan pembesaran 100x. A. Negatif. Tidak terpulas pada membran sel tumor (Kasus 3414 PP 2012). B. Positif 1 (+1). Protein HER-2/neu terpulas pada 10-40 % membran sel tumor dengan intensitas pewarnaan lemah (Kasus 0322 PP 2012). C. Positif 2 (+2). Protein HER-2/neu terpulas pada 41-70 % membran sel tumor dengan intensitas pewarnaan sedang (Kasus 0432 PP 2014). D. Positif 3 (+3). Protein HER-2/neu terpulas pada lebih dari 71 % membran sel tumor dengan intensitas pewarnaan kuat (Kasus 3311 PP 2014)

DISKUSI

Rerata usia penderita karsinoma kolorektal di Bali menunjukkan hampir sama dengan penderita karsinoma kolorektal di tempat lain yaitu pada dekade ke-6. Sampel penelitian adenokarsinoma kolorektal menunjukkan rentang umur pasien yang cukup bervariasi yaitu berkisar antara usia 30 sampai 82 tahun dengan rerata umur 55,66±12,52. Jumlah terbanyak penderita pada rentang usia 50-59 tahun (27,3%). Pada rentang umur 50 tahun sampai 69 tahun terjadi peningkatan insiden karsinoma kolorektal dan terjadi penurunan pada usia sebelum umur 50 tahun dan setelah umur 69 tahun. Pada penelitian lain dilakukan oleh Schuell didapatkan rerata usia sampel penelitian 52,5 tahun, Insiden karsinoma kolorektal meningkat sesuai dengan peningkatan umur, jarang terjadi sebelum usia dibawah 40 tahun, kecuali orang-orang dengan faktor predisposisi genetik dan faktor predisposisi penyakit lainnya seperti *chronic inflammatory bowel disease*.³

Pada banyak penelitian menunjukkan jenis kelamin laki-laki lebih banyak daripada

perempuan, dan tidak ada hubungan yang bermakna antara jenis kelamin dengan ekspresi HER-2/neu pada penderita karsinoma kolorektal.^{3,6-8} Hal ini disebabkan oleh adanya perbedaan pola makan dan gaya hidup antara laki-laki dan perempuan, seperti minum alkohol dan merokok. Di Indonesia, berdasarkan registrasi dari seluruh pusat Patologi di Indonesia tahun 2010, prevalensi karsinoma kolorektal adalah sebanyak 2.472 orang, yaitu pada laki-laki 1.278 kasus (15,22%), pada perempuan 1.172 kasus (7,27%), sedangkan di Bali jumlah kasus karsinoma kolorektal 52 orang pada laki-laki (13,26%), 35 orang pada perempuan (4,79%).² Pada penelitian ini didapatkan sampel penelitian jenis kelamin perempuan lebih banyak daripada laki-laki.

Semakin buruk derajat diferensiasi tumor menunjukkan perangai yang lebih agresif. Diferensiasi merujuk pada perubahan sel-sel parenkim tumor menyerupai sel parenkim normalnya, baik morfologi maupun fungsinya, hilangnya kemampuan diferensiasi, hal ini disebut anaplasia. Derajat diferensiasi baik, secara keseluruhan (4 kasus) menunjukkan gambaran ekspresi HER-2/neu yang negatif (100%), pada tumor yang berdiferensiasi sedang menunjukkan 21 kasus (63,6%) dengan gambaran ekspresi HER-2/neu yang positif dan 12 kasus (36,4%) dengan ekspresi HER-2/neu negatif, sedangkan tumor dengan diferensiasi buruk (7 kasus) keseluruhan menunjukkan gambaran ekspresi HER-2/neu yang positif (100%). Semakin buruk derajat diferensiasi tumor, semakin kuat ekspresi HER-2/neu.⁹

Kedalaman invasi tumor karsinoma kolorektal selama ini dipakai sebagai pedoman dalam menentukan stadium tumor. Uji *chi-square* menunjukkan hubungan yang bermakna antara kedalaman invasi tumor dengan ekspresi HER-2/neu yang positif dengan nilai *p* sebesar 0,005. Sebagian besar sampel pada penelitian ini menunjukkan invasi sel tumor sampai subserosa atau sampai jaringan perirektal sebanyak 34 kasus (72,3%). Pada penelitian-penelitian lain juga sebagian besar sampel menunjukkan invasi sel tumor sampai subserosa atau sampai jaringan perirektal.⁷

Proses terjadinya metastasis terutama disebabkan oleh perubahan sifat sel ganas. Sifat sel ganas itu antara lain perubahan biokimia permukaan sel, penambahan motilitas, kemam-

puan mengeluarkan zat litik, dapat membentuk pembuluh darah baru (angiogenesis), berkurangnya adhesi sel tumor satu dengan lainnya dan hilangnya daya pertumbuhan bersama antara sesama sel tumor dan sel normal di antaranya.⁹

Pada penelitian yang dilakukan oleh Manmeet, dari 20 sampel yang menyertakan kelenjar getah bening regional didapatkan 10 sampel dengan positif metastasis ke kelenjar limfe regional dan 10 dengan hanya mengalami reaktif. Keseluruhan dari sampel KGB regional yang metastasis menunjukkan ekspresi positif terhadap HER-2/neu. Hal ini menunjukkan korelasi antara peningkatan ekspresi HER-2/neu dengan metastasis KGB regional, dibuktikan dengan perhitungan statistik tes *chi-square* yang signifikan *p-value* 0,015.⁸ Penelitian lain yang dilakukan pada karsinoma kolorektal secara konsisten menyebutkan adanya korelasi antara kejadian metastasis dengan peningkatan ekspresi HER-2/neu.^{10,11} Hasil uji *chi-square* penelitian ini menunjukkan hubungan bermakna antara metastasis KGB regional dan ekspresi HER-2/neu dengan nilai *p* sebesar 0,000. Pada kelompok metastasis didapatkan 1 kasus yang tidak mengekspresikan HER-2/neu dan pada kelompok tidak metastasis didapatkan ekspresi HER-2/neu yang berbeda, hal ini kemungkinan disebabkan oleh karena tidak teraktivasi fungsi potensial onkogenik dari HER-2/neu, dimana teraktivasi melalui beberapa macam mekanisme genetik yaitu point mutation, pemotongan protein, atau amplifikasi dari protoonkogen yang tidak termutasi. Proses karsinogenesis terjadinya karsinoma kolorektal yang selama ini dikenal, yaitu jalur instabilitas kromosom/*chromosomal instability* (CIN), jalur instabilitas mikrosatelit/*micro-satellite instability* (MSI), dan jalur metilasi/*CpG island methylator phenotype* (CIMP).¹²⁻¹⁵

Ekspresi HER-2/neu pada penelitian ini memiliki korelasi yang kuat dengan derajat diferensiasi tumor, kedalaman invasi tumor dan metastasis. Banyak penelitian lain yang menilai korelasi antara ekspresi HER-2/neu dengan berbagai faktor prognostik lainnya menunjukkan hasil yang tidak konsisten, termasuk dengan derajat diferensiasi tumor, kedalaman invasi tumor dan metastasis.^{16,17}

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa, terdapat hubungan positif antara ekspresi HER-2/neu dengan derajat diferensiasi, kedalaman invasi dan metastasis (kelenjar limfe regional) pada adenokarsinoma kolorektal.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Cancer Incidence and Mortality Worldwide. Lyon: IARC Cancer Base: 2010.
2. Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Anatomi. Kanker di Indonesia tahun 2010, Data Histopatologik. Direktorat Jenderal Pelayanan Medik Departemen Kesehatan RI, Jakarta; 2010.
3. Hamilton SR, Vogelstein B, Kudo S, Riboli E, Nakamura S, Hainaut P. Tumours of the colon and rectum. In: Hamilton SR, Aaltonen A, editors. World Health Organization: classification of tumours, pathology and genetics of tumours of the digestive system. 4th ed. Lyon: IARC Press; 2010. p. 131-82.
4. Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 10th ed. Mosby; 2011. p 731-75.
5. Schuell B, Gruenberger T, Scheithauer W, Zielinski C, Wrba F. HER2/neu protein expression in colorectal cancer, research article. *BioMed Central Cancer*. 2006;40:1-6.
6. Ghaffarzagdegan K, Sharifi N, Vosooghyna H, Shakeri T, Moghadam TG, Khafi SG, Lari S, Nassiri G. HER2/neu in colon adenocarcinoma and its correlation with clinico-pathologic variables. *IJBMS*. 2006; 9: 64-9.
7. Dalal AE, Ahmed MAE, Samar AE, Heba AE. Immunohistochemical expression of HER2/neu in colorectal carcinoma. *Med J Cairo Univ*. 2012; 80: 467-77.
8. Manmeet KG, Kalpana J, Mridu M, Tanveer K. Expression of HER-2/neu in colon carcinoma and its correlation with the histological grade and the lymph node status. *J Clin Diag Res*. 2011; 5: 1564-8.
9. Kumar V, Stricker T. 'Neoplasia', in Kumar, Abbas, Fausto, Aster (ed.), Robbins and Cotran pathologic basis of disease. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010. pp. 1225-6.
10. Park DI, Oh SJ, Park SH. Clinical significance of HER-2/neu expression in colon cancer. *Korean J Gastroenterol*. 2004; 44: 147-52.
11. Tavangar SM, Sharifatabris A, Soroush AR. HER-2/neu over-expression correlates with a more advanced disease in Iranian colorectal cancer patients. *Med Sci Monit*. 2005; 11: 123-6.
12. Antonia RS, Dara L, Aisner. Molecular basis of disease of the Gastrointestinal Tract. In: William B. Coleman, Gregory J. Tsongalis, Essential Concepts in Molecular Pathology. Elsevier: 2010. p.243-61.
13. Moasser MM. The oncogene HER2; Its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene*. 2007; 26: 6469-87.
14. Bhargava R, Lal P, Chen B. HER-2/neu and topoisomerase II (Gene amplification and protein expression in invasive breast carcinoma). *Am J Clin Pathol*. 2005; 123: 889-95.
15. Erik JB, Peter JK, Jeroen EM, Cornelis FM. 2013. Cytoplasmic overexpression of HER2: A key factor in colorectal cancer. *Clinical Medicine Insights: Oncol*. 2013; 7:41-51.
16. Half E, Broaddus R, Danenberg KD. HER2 receptor expression, localization, and activation in colorectal cancer cell lines and human tumors. *Int J Cancer* 2004; 108: 540-8.
17. Jass JR. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathol*. 2007; 50: 113-30.