

Hubungan Ekspresi Ki-67 dengan *Grading* Histopatologi Liposarkoma

Afiati, Bethy S. Hernowo

Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran
Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin Bandung

Abstrak

Liposarkoma merupakan salah satu tumor ganas jaringan lunak dan terbanyak ditemukan pada usia dewasa antara dekade 5 dan 7 serta jarang terjadi pada usia anak. Liposarkoma sering terjadi pada ekstremitas bawah (fosa poplitea dan paha bagian tengah), retroperitoneal, perirenal, *mesenteric region*, dan area bahu. Penelitian ini bersifat retrospektif dari 30 kasus liposarkoma yang diambil dari data Departemen Patologi Anatomi Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin Bandung yang terdiri atas 20 kasus *low-grade liposarcoma* dan 10 kasus *high-grade liposarcoma*. Penelitian dilakukan periode Februari–Mei 2011. Dilakukan pemeriksaan khusus imunohistokimia dengan menggunakan antibodi monoklonal Ki-67 yang berfungsi sebagai marker proliferasi sel, dengan tujuan melihat ekspresi Ki-67 dan apakah terdapat hubungan antara ekspresi Ki-67 dan *grading* histopatologi liposarkoma. Ekspresi dan intensitas warna Ki-67 pada sel tumor dibagi menjadi sangat rendah (<20% positif), rendah (20–50% positif), sedang (50–80% positif) dan tinggi (>80% positif), sedangkan untuk intensitas warna Ki-67 dibagi menjadi lemah, sedang, dan kuat. Terdapat perbedaan yang signifikan antara ekspresi dan intensitas Ki-67 pada *low-grade liposarcoma* dan *high-grade liposarcoma* ($p < 0,0001$). Simpulan, ekspresi Ki-67 yang tinggi dengan intensitas yang kuat hanya didapatkan pada *high-grade liposarcoma* yang juga berhubungan dengan progresivitas tumor. [MKB. 2013;45(3):187–91]

Kata kunci: Ki-67, liposarkoma

Correlation of Ki-67 Expression with Histopathological Grading of Liposarcoma

Abstract

Liposarcoma, a malignant tumor of mesenchymal origin, was one of the most common sarcomas of adults and occurs primarily in the fifth through seventh decades of life. The occurrence in children was rare. Liposarcoma were occur most frequently in the lower extremities (popliteal fossa and medial thigh), retroperitoneal, perirenal, mesenteric region and shoulder area. Retrospective study was conducted by reviewing the data from Pathology Anatomy Department Dr. Hasan Sadikin Hospital Bandung. There were 30 cases of liposarcoma, whereas low-grade of liposarcoma 20 cases and high-grade of liposarcoma 10 cases. Research was done during February–May 2011. Immunohistochemical staining examination used monoclonal antibody Ki-67 as marker cell proliferation with the aim for looking Ki-67 expression and related with histopatholgy grade of liposarcoma. The tumor cells which showed Ki-67 expression were divided into very low (<20% positive), low (20–50% positive), moderate (50–80% positive) and high (>80% positive), whereas the intensity of Ki-67 staining was into weak, moderate and strong. There were significant differences between the Ki-67 expression and intensity level according to the histopathological types of liposarcoma ($p < 0.0001$). In conclusions, Ki-67 expression increases with strong intensity of Ki-67 only in high-grade liposarcoma, so relates with progressivity of tumor. [MKB. 2013;45(3):187–91]

Key words: Ki-67, liposarcoma

Korespondensi: Afiati, dr., Sp.PA, Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran-Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin Bandung, *mobile* 081320747413

Pendahuluan

Liposarkoma adalah tumor ganas yang berasal dari unsur mesenkimal (sarkoma) dan merupakan salah satu sarkoma yang paling banyak terjadi pada usia dewasa antara dekade 5 sampai 7 serta jarang terjadi pada anak.^{1,2} Insidensi liposarkoma diperkirakan sekitar 2,5 per juta populasi di negara Swedia dan 9,8–16% dari sarkoma lainnya.¹

Liposarkoma sering ditemukan pada lokasi di ekstremitas bawah, retroperitoneal, perirenal, daerah mesenterik, area bahu, inguinal, dan juga *spermatid cord*. Frekuensinya bergantung pada sub tipe liposarkoma itu.^{1,4} Liposarkoma tersebut dibagi atas beberapa sub tipe, antara lain *atypical lipomatous neoplasm (ALN)/well differentiated liposarcoma (WDL)*, *myxoid liposarcoma/round cell liposarcoma*, juga *pleomorphic liposarcoma*, *dedifferentiated liposarcoma* (kombinasi ALN/WDL dengan nonpiogenik sarkoma) dan juga liposarkoma tipe campuran (kombinasi *myxoid/round cell liposarcoma* dengan ALN atau WDL atau kombinasi *dedifferentiated liposarcoma*, dengan *pleomorphic liposarcoma*).¹⁻⁸ Pembagian sub tipe ini berdasarkan atas perbedaan histologi, biologi, sitogenetik dan analisis molekuler, serta terdapat perbedaan sifat sel tumor masing-masing sub tipe mulai yang tidak bermetastasis sampai *high-grade sarcoma* yang sangat potensial untuk bermetastasis. Berdasarkan sifat sel-sel tumor dari sub tipe ini, derajat keganasan liposarkoma dibagi menjadi dua, yaitu *low-grade malignancy* seperti ALN/WDL serta *myxoid liposarcoma*, sedangkan *high-grade malignancy* adalah *round cell liposarcoma*, *pleomorphic liposarcoma*, dan *dedifferentiated liposarcoma*.^{1,2,5-7}

Etiologi dan juga patogenesis liposarkoma sampai sekarang belum dapat diketahui dengan pasti, diduga keadaan ini berhubungan dengan kelainan genetik dan lingkungan.¹⁻⁴ Kelainan genetik tersebut berbeda-beda bergantung pada sub tipe liposarkoma seperti ALN/WDL terjadi amplifikasi pada kromosom 12q14-15, *myxoid liposarcoma* terjadi translokasi pada kromosom t(12;16)(q13;p11), *dedifferentiated liposarcoma* terjadi amplifikasi pada kromosom 12q13-21, dan *pleomorphic liposarcoma* terjadi amplifikasi pada kromosom 12q14-15. Pada beberapa kasus liposarkoma dapat diinduksi oleh radiasi.¹⁻⁷

Insidensi ALN/WDL tersebut sebesar 40% sampai 45% dari seluruh liposarkoma, *myxoid liposarcoma* merupakan liposarkoma nomor dua terbanyak yaitu lebih dari 1/3 liposarkoma dan merupakan 10% dari seluruh sarkoma dewasa. *Round cell liposarcoma* disebut juga *cellular myxoid liposarcoma* merupakan bentuk *poorly differentiated myxoid liposarcoma*. *Pleomorphic liposarcoma* jarang terjadi, hanya 5–15% dari

seluruh liposarkoma dan mayoritas terjadi pada usia tua, biasanya di atas 50 tahun, sedangkan insidensi *dedifferentiated liposarcoma* 10% dari ALN/WDL.^{1,2,5,7}

Pada sarkoma jaringan lunak, secara umum sistem *grading* selain berdasarkan diferensiasi tumor/tipe histologi, juga berdasarkan nekrosis dan skor atau nilai imunoekspresi Ki-67.⁹⁻¹¹ Pada penelitian ini dipergunakan pemeriksaan khusus imunohistokimia antibodi monoklonal Ki-67. Dengan menggunakan antibodi monoklonal Ki-67 proliferasi sel akan dapat terdeteksi oleh karena antibodi ini hanya akan terekspresi pada sel yang proliferasi. Prinsip kerja antibodi monoklonal Ki-67 yaitu berupa reaksi antigen dengan antibodi. Antibodi monoklonal Ki-67 akan bereaksi dengan antigen inti sel tumor sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi antigen inti tersebut. Antibodi monoklonal Ki-67 akan diekspresikan oleh inti sel pada fase tertentu dari siklus sel yaitu pada fase sel yang berproliferasi antara lain fase G1, fase S, fase G2 dan fase M, serta tidak diekspresi pada fase istirahat (fase G0) dari siklus.^{3,11-13}

Antibodi monoklonal Ki-67 akan bereaksi positif dengan inti sel-sel tumor dan keadaan ini disebut imunoreaktif. Derajat proliferasi suatu tumor berhubungan erat dengan perilaku biologik tumor tersebut, semakin cepat dan tinggi derajat proliferasi tumor, maka semakin agresif tumor tersebut sehingga prognosinya semakin buruk.⁹⁻¹⁴ Tujuan penelitian ini untuk mengetahui apakah terdapat hubungan ekspresi antibodi monoklonal Ki-67 dengan *grading* histopatologi liposarkoma sehingga dapat merupakan salah satu indikator prognosis.

Metode

Penelitian ini menggunakan analisis retrospektif. Dari 30 kasus liposarkoma yang diambil dari data Departemen Patologi Anatomi Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin Bandung yang dilakukan periode Februari sampai Mei 2011, didapat *low-grade liposarcoma* sebanyak 20 kasus dan *high-grade liposarcoma* 10 kasus. Antibodi primer Ki-67 (DAKO, USA) digunakan sebagai pemeriksaan imunohistokimia dengan metode *streptavidin-biotin peroxidase*. Sebagai kontrol positif dipakai jaringan limfoid (limfoma) yang telah diketahui juga positif dengan antibodi monoklonal Ki-67. Kontrol negatif dipergunakan sediaan *low-grade* dan *high-grade* liposarkoma yang sama tanpa ditetesi antibodi primer melainkan serum normal. Imunoreaktif Ki-67 dinilai berdasarkan kuantitas dan intensitas ekspresi. Ekspresi Ki-67 dihitung dalam 1.000 sel tumor, jumlah yang terekspresi lalu dipersentasekan dengan *cut-off levels* sebesar

Tabel 1 Karakteristik Penderita Liposarkoma

Variabel	n
Median usia (tahun)	
<58,5	21
≥58,5	9
Jenis kelamin	
Pria	13
Wanita	17
Lokasi	
Ekstremitas bawah	11
Retroperitoneal	4
Perirenal	4
Regio mesenterik	1
Area bahu	2
Lain-lain	8

<20% sampai >80%. Intensitas warna ekspresi Ki-67 dibagi menjadi lemah, sedang, dan kuat.¹⁰ Uji statistik memakai uji perbandingan proporsional yang sama (*compare same proportional test*).

Hasil

Dari 30 penderita yang terdiri atas 13 pria dan 17 wanita memiliki median usia rata-rata 58,5 tahun (*range* 27–90 tahun). Lokasi tumor ekstremitas bawah 11, retroperitoneal 4, perirenal 4, regio mesenterik 1, area bahu 2, dan lain-lain 8 (Tabel 1). *Grading* tumor *low-grade* pada 20 penderita

dan *high-grade* pada 10 penderita. Banyaknya inti sel tumor yang imunoreaktif dengan Ki-67 bervariasi, mulai dari 0% sampai >80%, yaitu didapatkan 13 tumor (<20%), 7 tumor (21–50%), 2 tumor (51–80%), juga 8 tumor (>80%) dengan intensitas Ki-67 lemah terdapat pada 15 tumor yang *low-grade*, intensitas sedang pada 5 tumor yang *low-grade* dan 2 tumor yang *high-grade*, serta intensitas kuat hanya pada *high-grade* yaitu 8 tumor (Tabel 2).

Ekspresi Ki-67 di atas 80% hanya terdapat pada *high-grade liposarcoma*, sedangkan <20% hanya pada *low-grade liposarcoma*, begitu pula untuk intensitas Ki-67 yang kuat hanya terdapat pada *high-grade liposarcoma* yaitu 8 tumor dan intensitas Ki-67 lemah hanya terdapat pada *low-grade liposarcoma* yaitu 15 tumor (Gambar 1 dan 2). Nilai atau skor Ki-67 didapatkan berbeda secara bermakna antara tipe *low-grade* dan *high-grade liposarcoma* ($p < 0,0001$) yang dianalisis dengan uji perbandingan proporsional yang sama (*compare same proportional test*).

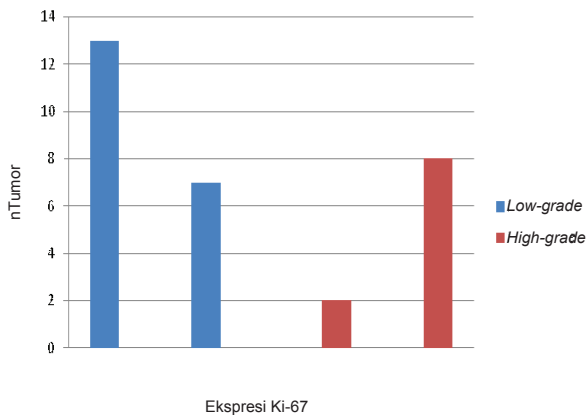
Pembahasan

Tampak pada penelitian ini bahwa 30 penderita liposarkoma didapatkan usia median rata-rata terbanyak <58,5 tahun. Keadaan ini disebabkan karena pada penelitian ini yang terbanyak adalah subtype *myxoid liposarcoma* yaitu 17 penderita. Keadaan ini sesuai dengan pernyataan Tos⁵ yang menyatakan bahwa, subtype *myxoid liposarcoma* ini merupakan penyakit pada usia muda (*young adult*) dibandingkan dengan subtype yang lain.

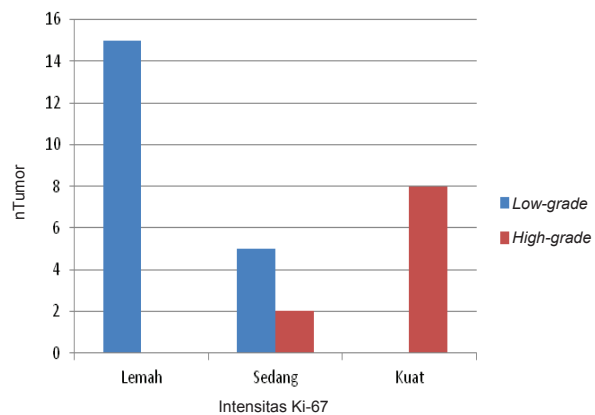
Lokasi terbanyak liposarkoma di ekstremitas bawah, hal ini sesuai dengan pernyataan beberapa literatur yang menyatakan secara umum lokasi

Tabel 2. Ekspresi dan Intensitas Ki-67 pada *Grading* Histopatologi Liposarkoma

Gambaran Histopatologi	n	Ekspresi				Intensitas			P
		<20%	21–50%	51–80%	>80%	Lemah	Sedang	Kuat	
<i>Well differentiated</i>	3	2	1	-	-	2	1	-	<0,00001
<i>Myxoid</i>	17	11	6	-	-	13	4	-	
<i>Round cell</i>	5	-	-	2	3	-	2	3	
<i>Pleomorphic</i>	4	-	-	-	4	-	-	4	
<i>Dedifferentiated</i>	1	-	-	-	1	-	-	1	
Grading									
<i>Low-grade</i>	20	13	7	-	-	15	5	-	
<i>High-grade</i>	10	-	-	2	8	-	2	8	



Gambar 1 Ekspresi Ki-67



Gambar 2 Intensitas Ki-67

liposarkoma berturut-turut yaitu pada ekstremitas bawah, retroperitoneal, perirenal, kemudian regio mesenterik, dan lain-lain.¹⁻⁴ *Myxoid liposarcoma* merupakan tumor yang kaya akan matriks miksoid sehingga akan terlihat sebagai hiposelular dengan *low-grade malignancy*, tetapi bila sudah terjadi peningkatan selularitas, tumor ini akan menjadi subtype *round cell liposarcoma* yang merupakan *high-grade malignancy*. *Pure morphology round cell* jarang terjadi sehingga beberapa literatur pada penulisannya tidak dapat dipisahkan antara *myxoid* dan *round cell liposarcoma*.^{1,5,7,8} *Myxoid liposarcoma* banyak ditemukan pada *deep soft tissue* ekstremitas bawah, tetapi dapat juga pada ekstremitas atas, punggung, dan retroperitoneum dengan sebagian besar penderita tidak merasakan sakit pada massa tumor. Kira-kira 30% *myxoid/round cell liposarcoma* ini dapat bermetastasis jauh ke daerah retroperitoneum, jaringan lunak dan skelet, sedangkan metastasis jauh dari subtype lain ke paru.

Jenis tumor *atypical lipomatous neoplasm/well differentiated liposarcoma* (ALN/WDL) juga dapat ditemukan pada jaringan subkutan dan merupakan tumor dengan *low-grade malignancy* karena sifat tumor yang agresif secara fokal dan sering mengalami rekurensi dan tidak berpotensi untuk bermetastasis, tetapi kadang dapat menjadi *dedifferentiated liposarcoma* yang merupakan *high-grade malignancy*, sekitar 5–10%.

Beberapa literatur telah menyatakan diagnosis histopatologi kedua subtype liposarkoma tersebut merupakan hal yang sangat penting, oleh karena didapatkan bersama-sama dengan fokal *high-grade*, sehingga terjadi perubahan *grading* dari *low-grade* menjadi *high-grade* liposarkoma, dan prognosis menjadi buruk.^{1,2,5,7}

Sistem *grading* sarkoma jaringan lunak secara

internasional yang dipakai berdasarkan *National Cancer Institute* (NCI) dan *French Federation Nationale des Centers de Lutte Contre le Cancers* (FNCLCC) berdasarkan atas diferensiasi tumor, jumlah mitosis, dan nekrosis.^{1,3} Sistem *grading* NCI merupakan sistem yang paling sering dipakai yaitu berdasarkan kombinasi tipe histopatologi, selularitas, pleomorfism, mitosis dan nekrosis, sehingga sistem ini mempunyai 3 grade (grade 1 sampai 3) atau *low-grade* (grade 1) dan *high-grade* (grade 2 dan 3) yang mempunyai nekrosis >15% dan berhubungan dengan prognosis yang buruk. *Grading* sarkoma jaringan lunak penting bagi patolog dengan demikian dapat memberikan kontribusi kepada klinisi mengenai terapi dan manajemen sarkoma tersebut. Penderita sarkoma dengan *grading* histopatologi yang tinggi dengan sifat sel tumor yang lebih agresif akan mempunyai risiko yang tinggi pula untuk bermetastasis jauh.^{1-3,9,13,14}

Seiring dengan penentuan *grading* sarkoma ini, beberapa peneliti menyatakan Ki-67 dapat dipakai secara luas pada patologi sebagai marker proliferasi dari banyak organ termasuk sarkoma jaringan lunak dan merupakan kriteria keganasan atau *grading* yang tentunya berhubungan dengan progresivitas suatu sarkoma, sehingga ekspresi Ki-67 ini berhubungan dengan prognosis sarkoma tersebut.^{9,10,12,13} Didapatkan korelasi ekspresi Ki-67 sebagai marker proliferasi dengan *grading* tumor serta metastasis jauh dari sarkoma jaringan lunak termasuk liposarkoma.⁹⁻¹⁴ Menurut Tateishi dkk.⁹ ekspresi Ki-67 tersebut selain berkorelasi dengan *grading* sarkoma jaringan lunak, juga merupakan salah satu faktor prognostik penderita *myxoid liposarcoma*.⁹

Pada penelitian ini didapatkan ekspresi dan intensitas Ki-67 yang kuat hanya pada *high-grade*

liposarcoma (Gambar 1 dan 2). Ekspresi Ki-67 sebesar 51% sampai 80% dan >80% yaitu pada 2 (dua) penderita *high-grade liposarcoma* dan 8 (delapan) penderita *high-grade liposarcoma*. Sebaliknya pada ekspresi dan intensitas Ki-67 yang lemah hanya didapatkan pada *low-grade liposarcoma*. Ekspresi Ki-67 sebesar <20% dan 21–50% yaitu 13 penderita *low-grade liposarcoma* dan 7 penderita *low-grade liposarcoma*. Tampak perbedaan ekspresi dan intensitas warna Ki-67 pada *high-grade* dengan *low-grade liposarcoma* yang secara statistik berbeda sangat bermakna ($p < 0,0001$). Keadaan ini sesuai dengan beberapa penelitian sebelumnya, yang berarti bahwa makin tinggi *grading* histopatologi liposarkoma, maka semakin tinggi pula ekspresi Ki-67.^{9,11} Begitu pula untuk intensitas warna Ki-67, bahwa makin tinggi *grading* histopatologi liposarkoma, maka semakin kuat pula intensitas warna pulasan Ki-67. Dari beberapa hasil penelitian dilaporkan bahwa persentase ekspresi Ki-67 pada berbagai tumor bervariasi, sehingga hal ini akan menunjukkan gambaran ekspresi dengan *range* yang cukup luas antara tumor jinak dan tumor ganas.^{10,12-14} Pada prinsipnya bahwa makin ganas suatu tumor maka semakin tinggi pula ekspresi Ki-67, sehingga tumor yang memberikan gambaran ekspresi Ki-67 yang lebih tinggi, akan mempunyai prognosis yang lebih buruk bila dibandingkan dengan tumor yang memberikan gambaran ekspresi Ki-67 yang lebih rendah.

Simpulan, ternyata terdapat hubungan antara ekspresi dan intensitas Ki-67 terhadap *grading* liposarkoma. Ekspresi Ki-67 yang tinggi dengan intensitas yang kuat hanya didapatkan pada *high-grade liposarcoma* dan juga berhubungan dengan progresivitas tumor, sehingga prognosis menjadi buruk.

Daftar Pustaka

1. Liposarcoma. Dalam: Weiss SW, Goldblum JR. Enzinger & Weiss's soft tissue tumors. Edisi ke-5. Philadelphia. Mosby-Elsevier Inc; 2008. hlm. 477–510.
2. Tos APD, Pedeutour F. Atypical lipomatous tumour/well differentiated liposarcoma. Dalam: Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F. Pathology & genetics tumours of soft tissue and bone. WHO. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC) Press. 2002. hlm. 35–46.
3. Rosai J. Soft tissues. Dalam: Rosai J, penyunting. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. Edisi ke-10. Philadelphia: Elsevier Inc; 2011. hlm. 2145–50.
4. Rosenberg AE. Bones, joints, and soft-tissue tumors. Dalam: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and Cotran pathologic basis of diseases. Edisi ke-8. Philadelphia: WB Saunders Co; 2010. hlm. 1248–50.
5. Tos APD. Adipocytic tumors. Dalam: Bone and soft tissue pathology a volume in the series. Foundations in diagnostic pathology. Philadelphia: Saunders Elsevier Inc; 2010. hlm. 108–17.
6. Conyers R, Young S, Thomas DM. Liposarcoma: molecular genetics and therapeutics. Hindawi Publishing Corporation. 2011; Sarcoma:1–13.
7. Montgomery E. Liposarcomas. Dalam: International Academy of Pathology (Hong Kong Division). Spring Scientific Meeting 2011; 2011 May 28–29; Hong Kong.
8. Lipomatous tumors. Dalam: Meis-Kindblom JM, Enzinger FM. Color atlas of soft tissue tumors. Philadelphia: Mosby-Wolf; 1996. hlm. 94–105.
9. Tateishi U, Hasegawa T, Beppu Y, Kawai A, Moriyama N. Prognostic significance of grading (MIB-1 system) in patients with myxoid liposarcoma. J Clin Pathol. 2003;56:579–82.
10. Hornick JL. The prognostic role of immunohistochemistry in sarcomas. Companion Meeting of the International Society of Bone and Soft Tissue Pathology; 2010 March 21; Washington, DC, USA; 2010.
11. Hatano H, Morita T, Ogose A, Hotta T, Kobayashi H, Honma K. Well-differentiated liposarcoma associated with benign lipoma. Anticancer Research. 2004;24:1039–41.
12. Aydin O, Ersoz C, Orbalas S, Seydaoglu G. Assessment of proliferative activity in soft tissue sarcomas showing PCNA and Ki-67 reactivity immunohistochemically. Turk J Med Sci. 2000;30:261–9.
13. Dinis G, Perlman EJ, Calaminus G, Sievers S. Alternative prognostic factors in pediatric embryonal rhabdomyosarcoma: Nm23 expression, proliferative activity and angiogenesis. Turkish J Pediatr. 2004;46:239–44.
14. Irene AM, Jeroin AMW, Paffen A, Grefie JMM, Massuger LFAG, Wilde PCM. MIB1 expression in basal cell layer: a diagnostic tool to identify premalignancies of vulva. Modern Pathol. 2007;20:770–7.