

Perbedaan Ekspresi Siklin D1 dan Ki-67 pada *Giant Cell Tumor of Bone* Jinak dan Ganas

Lysa Veterini, Sjahjenny Mustokoweni*Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga
Surabaya***ABSTRAK****Latar belakang**

Giant cell tumor of bone (GCTB) merupakan tumor tulang yang jarang. Di RSUD Dr. Soetomo Surabaya didapatkan 21 kasus GCTB, dengan 7 kasus GCTB ganas dan 14 kasus GCTB jinak, dalam rentang waktu 3 tahun periode Januari 2010-Desember 2012. Siklin D1 memiliki peran dalam siklus sel, sedangkan Ki-67 berhubungan dengan proliferasi sel. Tujuan penelitian ini menganalisis perbedaan ekspresi siklin D1 dan Ki-67 pada GCTB jinak dan ganas.

Metode

Penilaian dilakukan terhadap 21 blok parafin penderita GCTB di RSUD Dr. Soetomo sejak Januari 2010-Desember 2012 dan memenuhi kriteria. Analisis statistik perbedaan masing-masing variabel dengan uji *chi-square* dan Mann-Whitney.

Hasil

Ekspresi Ki-67 lebih tinggi pada GCTB ganas dibandingkan dengan GCTB jinak. Ekspresi siklin D1 dan Ki-67 pada GCTB jinak dan ganas menunjukkan terdapat perbedaan bermakna.

Kesimpulan

Ekspresi siklin D1 dan Ki-67 dapat digunakan untuk membedakan GCTB jinak dan ganas.

Kata kunci : *giant cell tumor of bone*, Ki-67, siklin D1.

ABSTRACT**Background**

Giant cell tumor of bone (GCTB) is a rare bone tumor. Twenty one cases consist of 14 cases benign GCTB and 7 cases malignant GCTB were collected in Dr. Soetomo hospital, from January 2010-December 2012. Cyclin D1 has a role in cell cycles, and Ki-67 is for cell proliferation. This study analyzed the difference between cyclin D1 and Ki-67 expression in benign GCTB and malignant GCTB. This study is to analyses expression cyclin D1 and Ki-67 in benign and malignant GCTB.

Methods

Assessment was performed on 21 paraffin blocks of GCTB patients in Dr. Soetomo Hospitals during January 2010-December 2012 and met the criteria. Statistical analyzed of the data used chi square test and Mann Whitney test.

Results

Ki-67 expression was higher in malignant GCTB than benign GCTB. The cyclin D1 and Ki-67 expression in benign and malignant GCTB showed a significant difference.

Conclusion

Cyclin D1 and Ki-67 expression could be used to differentiate between benign and malignant GCTB.

Key words: cyclin D1, *giant cell tumor of bone*, Ki-67.

PENDAHULUAN

Perubahan dari beberapa protein regulasi siklus sel terutama yang terlibat dalam fase G1 ke S, seperti siklin D1 terdeteksi di banyak tumor manusia¹. Induksi siklin yang disebabkan sinyal eksternal bersama-sama dengan enzim katalitiknya, *cyclin dependent kinase 4/6* (CDK 4/6), melakukan fosforilasi protein retinoblastoma (pRB), yang memungkinkan sel menyeberangi titik perbatasan G1 ke S. Sel-sel kemudian melakukan replikasi DNA dan menyelesaikan siklus sel. Karena siklin D1 berhubungan dengan sinyal eksternal yang akan mengaktifasi siklus sel, dan juga karena fungsi regulasinya dalam transisi G1 ke S, maka overekspresi akan menyebabkan proliferasi sel yang tidak terkendali. Sangat mungkin juga bekerjasama dengan onkogen lain menyebabkan perubahan keganasan.²

Giant cell tumor of bone (GCTB) merupakan neoplasma jinak tetapi mempunyai potensi sebagai *low-grade malignancies* karena kecenderungan untuk kambuh dan kemampuannya bermetastasis,³ juga sifatnya yang agresif lokal. GCTB dalam keganasan tumor tulang, menempati urutan kedua setelah osteosarcoma.

Kasus GCTB di RSUD dr. Soetomo Surabaya mulai tahun 2010-2012 terdapat 21 kasus, 7 kasus di antaranya merupakan keganasan primer.

GCTB menjadi ganas, baik yang terjadi secara *de novo* maupun sekunder, merupakan sarkoma anaplastik berdiferensiasi tinggi tanpa adanya sel-sel raksasa, mempunyai prognosis buruk. Lesi-lesi ini harus dibedakan dari GCTB yang jinak.

Bagi ahli patologi sangat penting membedakan tumorigenesis antara neoplasma jinak dan ganas, karenanya terus dicari cara penentuan kriteria diagnosis yang memudahkan pemisahan keduanya. Parameter lain seperti indeks proliferasi sel tumor dan angiogenesis menjadi penting untuk pertumbuhan tumor, kekambuhan, dan metastasis belum secara penuh diteliti pada GCTB sehingga beberapa kasus memerlukan pemeriksaan tambahan melalui pulasan imunohistokimia. Perilaku biologis dari tumor secara langsung dipengaruhi oleh indeks proliferasinya. Perhitungan indeks proliferasi yang paling mudah adalah dengan melalui pemeriksaan imunohistokimia dengan pulasan Ki-67.⁴

Berdasarkan uraian di atas, diperlukan penelitian mengenai ekspresi siklin D1 dan Ki-67 pada GCTB jinak dan ganas yang bertujuan untuk menganalisis ekspresi siklin D1 dan Ki-67 pada GCTB jinak dan ganas.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional* yang dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo dengan menggunakan blok parafin yang telah didiagnosis sebagai GCTB jinak dan periode Januari 2010-Desember 2012. Data lengkap penderita diperoleh dari rekam medik penderita yang tersimpan di Rekam Medik RSUD Dr. Soetomo.

Dipilih blok parafin yang mengandung cukup sel tumor dan dilakukan pulasan imunohistokimia dengan menggunakan siklin D1 dan Ki-67 (Lab. Dako, Denmark). Ekspresi protein siklin D1 dinilai secara visual dengan mikroskop cahaya binokuler dan dibuat skor secara semikuantitatif dengan menghitung jumlah sel tumor yang menunjukkan imuno-reaktivitas inti pada lapang pandang besar (pembesaran 400x). Skor (-) apabila tidak terwarnai; skor (+) apabila terwarnai pada minimal 5% seluruh sel tumor.⁵

Dilakukan pula pulasan imunohistokimia dengan menggunakan *monoclonal antibody* Ki-67 *for human* (Lab. Biocare Medical, USA). Ekspresi protein Ki-67 dinilai secara visual dengan mikroskop cahaya binokuler dan dibuat skor secara semikuantitatif dengan menghitung jumlah sel tumor yang menunjukkan imuno-reaktivitas pada inti sel dengan lapang pandang besar (pembesaran 400x). Skor dinyatakan dalam persen.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan perangkat lunak *statistical package for the social sciences* (SPSS). Ekspresi siklin D1 dianalisis dengan uji statistik *chi-square* dan ekspresi Ki-67 dengan uji Mann-Whitney.

HASIL

Dari pengumpulan data menurut laporan pemeriksaan histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo Surabaya selama periode Januari 2010 hingga Desember 2012 didapatkan data penderita GCTB jinak dan ganas sebanyak 21 kasus, terdiri atas 7 sampel GCTB jinak, 14 sampel GCTB ganas (Tabel 1).

Pada penelitian ini didapatkan pria 10 sampel dan wanita 11 sampel.

Tabel 1. Distribusi jenis kelamin pada GCTB

	Jinak	Ganas	Total
Pria	7 (50%)	3 (42,9%)	10
Wanita	7 (50%)	4 (57,1%)	11
Total	14 (100%)	7 (100%)	21

Pada Tabel 2 tampak bahwa dari 21 sampel penelitian penderita GCTB jinak dan ganas tampak usia penderita bervariasi dari usia 12 tahun hingga 59 tahun, dapat dilihat bahwa usia penderita GCTB yang paling banyak didiagnosis sebagai jinak berada pada rentang ≤ 25 tahun (50%), sementara pada yang ganas paling banyak pada rentang 36-40 tahun (42,85%).

Tabel 2. Distribusi penderita GCTB berdasarkan usia.

	Jinak	Ganas	Total
≤ 25 th	7 (50%)	0 (0%)	7
26-30 th	3 (21,42%)	0 (0%)	3
31-35 th	2 (14,28%)	2 (28,57%)	4
36-40 th	1 (7,14%)	3 (42,85%)	4
≥ 41 th	1 (7,14%)	2 (28,57%)	3
Total	14 (100%)	7 (100%)	21

Lokasi GCTB tersering pada tulang panjang, meskipun dapat juga didapatkan pada tulang pendek maupun tulang pipih. Pada penelitian ini didapatkan lokasi sampel penelitian pada tulang femur, tibia, dan radius.

Tabel 3. Distribusi penderita *giant cell tumor* berdasarkan lokasi.

Lokasi	Jinak	Ganas	Total
Femur	8 (57,1%)	1 (14,3%)	9
Tibia	4 (28,6%)	4 (57,1%)	8
Radius	2 (14,3%)	2 (28,6%)	4
Total	14 (100%)	7 (100%)	21

Tabel 3 menunjukkan bahwa lokasi tersering untuk GCTB jinak adalah pada femur (57,1%) dan yang ganas adalah pada tibia (57,1%).

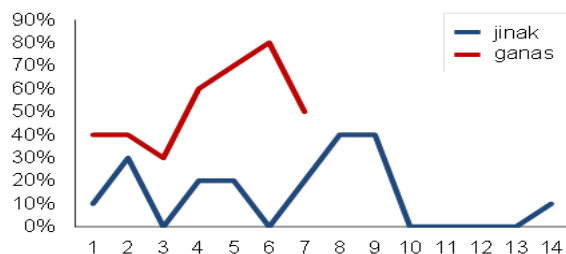
Pada penelitian ini dinilai ekspresi siklin D1 pada GCTB baik yang jinak, dan ganas, dengan penilaian menggunakan penilaian kualitatif.

Tabel 4. Ekspresi siklin D1 pada GCTB

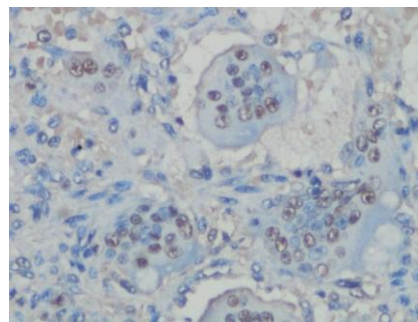
	Jinak	Ganas	Total
Positif	6 (42,9%)	7 (100%)	13
Negatif	8 (57,1%)	0 (0%)	8
Total	14	7	21

Tabel 4 menunjukkan siklin D1 yang positif pada GCTB ganas (100%), positif pada 42,9% dan 57,1% negatif pada GCTB jinak.

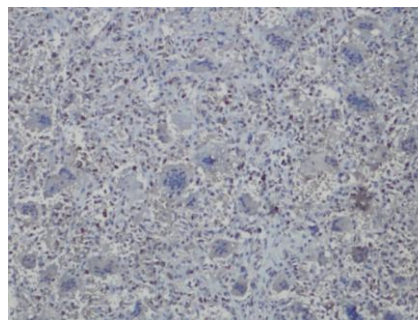
Pada penelitian ini dinilai ekspresi Ki-67 pada GCTB jinak dan ganas menggunakan penilaian kuantitatif. Pada jinak, nilai Ki-67 terendah adalah 0% dan tertinggi adalah 40%, dengan rerata $13,57 \pm 14,99\%$. Pada GCTB ganas nilai Ki-67 yang terendah adalah 40% dan yang tertinggi adalah 80%, dengan rerata $52,86 \pm 17,99\%$; dengan nilai *cut off* pada GCTB ganas sebesar 34,87%. Berikut digambarkan grafik ekspresi Ki-67 pada GCTB :



Gambar 1. Distribusi Ki-67 pada GCTB jinak dan ganas.



Gambar 2. GCTB Ganas, IHC siklin D1 positif (pembesaran 400X).



Gambar 3. GCTB ganas, IHC Ki-67 (score 60%) (pembesaran 200X).

Analisis statistik untuk siklin D1 menggunakan uji *chi-square*, dengan hasil $p=0,001$, yang berarti terdapat ekspresi perbedaan pada GCTB jinak dan ganas. Ekspresi Ki-67 pada GCTB jinak dan ganas yang diuji menggunakan uji Mann-Whitney didapatkan $p=0,018$, yang berarti terdapat perbedaan ekspresi Ki-67 pada GCTB jinak dan ganas.

DISKUSI

Pada penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa usia rerata penderita GCTB banyak ditemukan pada usia 22-44 tahun, dan dengan sedikit lebih banyak menyerang wanita.⁶ Dari beberapa literatur didapatkan perbedaan usia antara GCTB jinak dengan ganas, dengan usia sedikit lebih tua pada GCTB ganas.⁷

Lokasi tersering penelitian ini sesuai dengan literatur bahwa lokasi GCTB umumnya pada tulang panjang, khususnya femur, radius, dan humerus.^{3,8}

Pada penelitian ini didapatkan ekspresi siklin D1 positif baik pada GCTB jinak dan ganas. Dari hasil statistik menggunakan uji *chi-square* didapatkan hasil $p=0,018$ ($p<0,05$) sehingga dapat dinyatakan terdapat perbedaan ekspresi siklin D1 yang signifikan antara GCTB jinak dan ganas.

Penelitian ini sesuai dengan penelitian-penelitian sebelumnya, bahwa overekspresi siklin D1 muncul pada GCTB baik yang jinak maupun yang ganas.⁵ Pulasan imunohistokimia pada penelitian ini menunjukkan bahwa overekspresi protein siklin D1 tampak dalam semua kasus GCTB ganas. Pewarnaan positif juga terlihat di sebagian kasus GCTB jinak dan sel mononuklear, meskipun GCTB ganas lebih menunjukkan ekspresi protein dari sel-sel GCTB jinak.⁵ Tidak ada literatur sebelumnya yang menjelaskan *cut off* ekspresi siklin D1 antara GCTB jinak dengan ganas.

Pulasan imunohistokimia pada penelitian ini menunjukkan bahwa overekspresi protein siklin D1 tampak dalam inti GCT. Tidak ada literatur yang berhubungan dengan overekspresi siklin D1 dalam sitoplasma. Overekspresi siklin D1 terdeteksi dalam semua kasus GCT.⁵ Penelitian ini telah dilaporkan.⁹ Bahwa overekspresi siklin D1 meningkat dalam kaitannya dengan tingkat keparahan lesi, dan bisa dapat membantu dalam membuat *differential diagnosis*.¹⁰ Namun penelitian tambahan diperlukan untuk lebih memperjelas

batasan ekspresi siklin D1 pada GCTB jinak dan ganas.

Pada penelitian ini didapatkan rerata ekspresi Ki-67 pada GCTB ganas lebih tinggi dibandingkan dengan ekspresi Ki-67 pada GCTB jinak. Ditunjang dengan hasil uji analisis yang menunjukkan bermakna untuk ekspresi protein Ki-67 pada lesi jinak dan neoplasma ganas ($p<0,05$). Pada penelitian ini didapatkan nilai *cut off* indeks proliferasi Ki-67 untuk menjadi GCTB ganas adalah 34,86%, yang berarti bila indeks proliferasi Ki-67 dibawah atau sama dengan nilai tersebut termasuk dalam kategori GCTB jinak dan apabila didapatkan indeks proliferasi Ki-67 di atas nilai tersebut termasuk dalam GCTB ganas. Tetapi dari penelitian-penelitian terdahulu belum pernah ada yang menjelaskan nilai *cut off* tersebut.

Analisis dari penelitian ini terdapat korelasi korelasi antara indeks proliferasi Ki-67 dan tingkat keganasan tumor di tulang sesuai dengan data yang dilaporkan sebelumnya untuk neoplasma.¹¹

Penelitian ini menunjukkan aktivitas proliferasi dalam GCTB yang sesuai dengan penelitian lain. Setidaknya lima laporan telah didokumentasikan adanya aktivitas proliferasi sel tumor di GCTB.¹² Laporan sebelumnya jika kenaikan indeks proliferasi Ki-67 di *recurrent* GCT mungkin menunjukkan bahwa *recurrent* GCT lebih agresif daripada tumor primer.^{9,12,13}

Pada penelitian ini, untuk beberapa tumor GCTB ganas didapatkan ekspresi Ki-67 yang bervariasi antara 40-80%. Seperti yang telah dijelaskan penelitian sebelumnya bahwa tingginya proses pembelahan sel tidak hanya dipengaruhi oleh satu jalur pertumbuhan sel, namun ada beberapa jalur yang terlibat.¹³

KESIMPULAN

Ekspresi siklin D1 dan Ki-67 dapat digunakan untuk membedakan GTCB jinak dari ganas.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pestell RG. New Roles of Siklin D1. *Am J Pathol.* 2013; 183: 1-9.
2. Diehl JA, Cheng M, Roussel MF, Sherr CJ. Glycogen synthase kinase-3 beta regulates siklin D1 proteolysis and subcellular localization. *Genes Dev.* 2008; 12: 3499-511.
3. Rosai J, Ackerman : Giant Cell Tumor: Bone and Joints. *Surg Pathol.* 2004; 2169-72.

4. Antal I, Sapi Z, Szendroi M. The prognostic significance of DNA cytophotometry and proliferation index (Ki-67) in giant cell tumors of bone. *Int Orthop*. 2009; 23: 315-9.
5. Kauzman A, Li SQ, Bradley G, Bell RS, Wunder JS, Kandel R. Cyclin alteration in giant cell tumors of bone. *Mod Pathol*. 2003; 16: 210-8.
6. Folpe AL, Inward CY. *Bone and Soft Tissue Pathology*. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010.
7. Athanasou N, Bansal M, Forsyth R, Reid R, Sapi Z. *WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone*. 4th ed. Lyon: IARC Press; 2013.
8. Reid R, Banerjee SS, Sciort R. *Giant cell tumour: Pathology and genetics of tumour of soft tissue and bone*. WHO Classification of Tumours. Lyon: IARC Press; 2002.
9. Rousseau A, Lim MS, Lim MS, Lin ZL, Jordan RC. Frequent cyclin D1 gene amplification and protein overexpression in oral epithelial dysplasias. *Oral Oncol*. 2001; 37: 268-75.
10. Cho NH, Kim YT, Kim JW. Alteration of cell cycle in cervical tumor associated with human papilloma virus: Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors. *Yonsei Med J*. 2002; 43: 722-8.
11. De Riese WT, Crabtree WN, Allhoff EP, Werner M, Liedke S, Lenis G, *et al*. Prognostic significance of Ki-67 immunostaining in nonmetastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*. 2003; 11: 1804-8.
12. Carreras R, Alameda F, Mancebo G, Moreno PG, Marinoso MLM, Costa C, *et al*. A study of Ki-67, c-erbB2 and cyclin D1 expression in CIN I, CIN III, and SCC of the cervix. *Histol Histopathol*. 2007; 22: 587-92.
13. Gamberi G, Benassi MS, Bohling T, Ragazzini P, Molendini L, Sollazzo MR, *et al*. Prognostic relevance of c-myc gene expression in giant cell tumor of bone. *J Clin Orthop Res*. 1998; 16: 1-7.