

Analisis Ekspresi p53 Mutan dan Ki-67 pada Meningioma

Diana Mayasari, Dyah Fauziah

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga
Surabaya

ABSTRAK

Latar belakang

Meningioma merupakan salah satu tumor pada sistem saraf pusat yang paling sering terjadi. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengetahui keterkaitan gen yang terkait dengan pertumbuhan neoplasma serta penanda proliferasi dalam patogenesis meningioma. P53 mutan dan Ki-67 terlibat dalam jalur proliferasi sel. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis hubungan antara ekspresi p53 mutan dan derajat meningioma, hubungan antara ekspresi Ki-67 dan derajat meningioma, serta hubungan antara ekspresi Ki-67 dan ekspresi p53 mutan.

Metode

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *cross sectional*. Sampel berjumlah 30 kasus, dibagi dalam dua kelompok yaitu meningioma derajat rendah sebanyak 15 kasus dan derajat tinggi sebanyak 15 kasus yang telah didiagnosis di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya periode Januari 2010-Juli 2014. Sampel dilakukan pulasan dengan menggunakan antibodi monoklonal terhadap Ki-67 dan p53. Hubungan antara ekspresi p53 dengan derajat meningioma dianalisa dengan menggunakan uji *Pearson chi-square*. Hubungan antara ekspresi Ki-67 dengan derajat meningioma dianalisa dengan uji *Spearman*. Sedangkan, hubungan antara ekspresi Ki-67 dengan ekspresi p53 pada meningioma dengan uji regresi linear.

Hasil

Analisis statistik antara ekspresi Ki-67 dan derajat meningioma menunjukkan korelasi bermakna ($p=0,000$, $p<0,01$, $r=0,695$). Sedangkan analisis statistik antara ekspresi p53 mutan dan derajat meningioma menunjukkan hubungan tidak bermakna ($p=0,058$, $p<0,05$), serta analisis antara ekspresi Ki-67 dan ekspresi p53 mutan menunjukkan hubungan tidak bermakna ($p=0,815$, $p<0,05$).

Kesimpulan

Semakin tinggi ekspresi Ki-67, semakin tinggi derajat meningioma. Ekspresi Ki-67 dapat digunakan sebagai penanda tambahan untuk menentukan derajat meningioma.

Kata kunci: derajat histopatologi, Ki-67, meningioma, p53 mutan.

ABSTRACT

Background

Meningioma is one of the most common central nervous system tumours. Many studies have been investigating gene and proliferative marker which playrole in the pathogenesis of meningioma. Mutant p53 and Ki-67 is involved in proliferative pathways. This study was aimed to analyzed correlation between Ki-67 expression and meningioma grading, correlation between mutant p53 expression and meningioma grading, and correlation between Ki-67 and mutant p53 expression.

Methods

Study design is cross sectional. 30 samples were divided into 15 high gradeand 15 low grade meningioma samples that had been diagnosed in Dr. Soetomo Hospital Surabaya during January 2010-July 2014. Sample has been stained immunohistochemically with Ki-67 and p53 monoclonal antibody. The correlation between mutant p53 expression and meningioma grading was analyzed with Pearson chi-square test. The correlation between Ki-67 expression and meningioma grading was analyzed with Spearman test. The correlation between Ki-67 andmutant p53 expression in meningioma was analyzed with Linear Regression test.

Results

Between Ki-67 expression and meningioma grading showed significant differences ($p=0.000$, $p<0.01$, $r=0.695$). While statistic test between mutant p53 expression and meningioma grading showed no significant differences ($p=0.058$, $p<0.05$), and between Ki-67 and mutant p53 expression showed no significant differences ($p=0.815$, $p<0.05$).

Conclusion

The higher Ki-67 expression the higher grade of meningioma. Ki-67 expression was higher in high grade meningioma. Ki-67 expression would be used as an additional marker to determine meningioma grading, with a cut-off level of 2.25%.

Key words: grading, Ki-67, meningioma, p53 mutant.

PENDAHULUAN

Meningioma adalah tumor sistem saraf pusat pada selaput meningen, meliputi otak dan sumsum tulang belakang, yang sering ditemukan.^{1,2}

Meningioma diklasifikasikan dalam tiga tipe histologi. Yang pertama WHO derajat I, dengan risiko rendah terhadap kemungkinan terjadinya kekambuhan dan pertumbuhan agresif, antara lain meningioma meningotelial, meningioma fibroblastik, meningioma transisional, meningioma psammomatosa, meningioma angiomatosa, meningioma sekretori, meningioma mikrokistik, meningioma kaya limfoplasmasit, meningioma metaplastik. Sedangkan meningioma dengan risiko yang lebih tinggi terhadap kemungkinan terjadinya kekambuhan dan pertumbuhan yang agresif, serta subtipe meningioma apapun dengan indeks proliferasi yang tinggi dan atau invasi pada otak dikategorikan sebagai WHO derajat II dan III. WHO derajat II antara lain meningioma kordoid, meningioma sel jernih, dan meningioma atipikal. WHO derajat III antara lain meningioma papiler, meningioma rabdoid, meningioma anaplastik.^{3,4}

Penentuan derajat histologi penting untuk memprediksi resiko kekambuhan dan pertumbuhan tumor yang agresif, namun sering terjadi kesulitan menegakkan diagnosis derajat histologi pada meningioma. Hal ini disebabkan kriteria untuk membedakan derajat histologi masih belum jelas, dan adanya perbedaan interpretasi antar pemeriksa. Oleh karena itu diperlukan analisis imunohistokimia Ki-67 untuk mengetahui proliferasi sel sebagai penanda adanya potensi keganasan.⁵ Namun, teknik penghitungan yang spesifik serta *cut off level* belum dapat ditentukan secara pasti dan bergantung pada masing-masing laboratorium.³

P53 sebagai gen yang mempunyai multifungsi, telah dibuktikan mempunyai peranan penting dalam mengatur siklus sel, mempertahankan stabilitas genomik, diferensiasi sel, proses penuaan sel, serta apoptosis.⁶ Peran p53 pada meningioma telah banyak dipelajari. Beberapa penelitian menunjukkan hasil negatif, namun ada penelitian yang menunjukkan korelasi antara status p53 dengan derajat kekambuhan tumor. Oleh karena itu, keterkaitan gen p53 pada meningioma masih menjadi kontroversi.^{7,8}

Berdasarkan uraian di atas, dilakukan penelitian untuk menganalisis hubungan

ekspresi p53 dan Ki-67 pada setiap derajat histopatologi meningioma, sehingga dapat digunakan sebagai dasar dignostik meningioma menurut derajat histopatologi.

METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian yang digunakan merupakan observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Sampel penelitian ini adalah 30 kasus meningioma yang telah dioperasi dan dilakukan pemeriksaan histopatologi di Instalasi Patologi Anatomi Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Soetomo Surabaya periode 1 Januari 2010 sampai 31 Juli 2014.

Metode yang digunakan untuk mengevaluasi derajat anaplasia meningioma berdasarkan klasifikasi WHO 2007, meliputi selularitas, pola pertumbuhan, area atipik, jumlah mitosis, yang diperiksa dari sediaan pulasan hematoxilin-eosin dan dilihat dengan pembesaran 40x, 100x dan 400x menggunakan mikroskop cahaya yang memiliki diameter lapang pandang kuat 0,44 mm atau 0,152 mm². Didapatkan 2 kelompok yaitu meningioma derajat rendah yang terdiri dari meningioma WHO derajat I, dan meningioma derajat tinggi yang terdiri dari meningioma WHO derajat II dan III.^{3,4} Ekspresi protein p53 mutan yang diperiksa secara imunohistokimia dengan menggunakan antibodi monoklonal *rabbit* terhadap *anti-human p53 clone Y5* dari Biocare, dihitung secara visual dengan mikroskop cahaya binokuler pembesaran 400x dan dibuat skor secara semikuantitatif sebagai berikut: skor 0, bila inti sel yang terpulas negatif; skor 1, bila inti sel yang terpulas <10%; skor 2, bila inti sel yang terpulas 10%-50%; skor 3, bila inti sel yang terpulas >50%.⁷

Ekspresi protein Ki-67 adalah ekspresi protein Ki-67 yang diperiksa secara imunohistokimia dengan antibodi monoklonal *rabbit* terhadap protein Ki-67 *clone SP6* Biocare, dihitung secara visual dengan mikroskop cahaya binokuler pembesaran 400x. Dipilih area dengan intensitas tertinggi untuk perhitungan, paling sedikit 1000 inti sel tumor dengan menggunakan *ocular graticule*. Indeks proliferasi Ki-67 dihitung dalam presentase inti yang terpulas positif terhadap total inti sel tumor.⁵

Data yang dikumpulkan dianalisis dengan SPSS. Untuk menganalisis hubungan antara ekspresi Ki-67 dan derajat meningioma digunakan uji Spearman ($p < 0,005$). *Cut off level* dianalisis dengan sistem ROC. Untuk meng-

analisis hubungan antara ekspresi p53 mutan dan derajat meningioma digunakan uji statistik *Pearson chi-square* ($p < 0,001$). Sedangkan analisis hubungan antara ekspresi Ki-67 dan ekspresi p53 mutan pada meningioma digunakan uji *Regresi Linear* ($p < 0,005$).

HASIL

Kasus terdiri atas 15 kasus meningioma derajat (risiko) tinggi, dan 15 kasus meningioma derajat (risiko) rendah.

Tabel 1. Karakteristik penderita meningioma.

Karakteristik	Kategori	Frekuensi (%)
Jenis kelamin	Laki-laki	9 (30%)
	Perempuan	21 (70%)
Usia (tahun)	<10	3 (10%)
	31-40	5 (16,7%)
	41-50	15 (50%)
	51-60	6 (20%)
	>60	1 (3,3%)

Pada Tabel 1 tampak data usia antara 6 tahun sampai 81 tahun, dengan rerata usia penderita pada kasus meningioma $43 \pm 15,09$ tahun. Usia penderita meningioma paling banyak berada pada rentang 41-50 tahun (50%) dengan penderita perempuan sebanyak 21 orang, sedangkan penderita laki-laki sebanyak 9 orang.

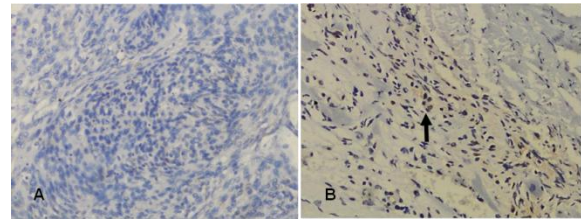
Meningioma derajat rendah yang sering terjadi adalah tipe transisional sebesar 20%. Sedangkan pada derajat yang tinggi, tipe atipikal lebih sering terjadi dibandingkan tipe kordoid maupun anaplastik. Lokasi meningioma yang sering terjadi pada penelitian ini adalah parasagital sebanyak 30% dan konveksitas 23,3%.

Tabel 2. Frekuensi skor ekspresi p53 mutan pada meningioma.

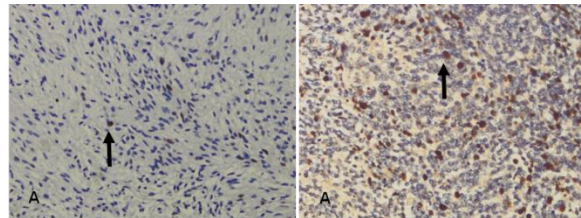
Derajat	Ekspresi p53 mutan (dalam skor)			
	0 (-)	1 (<10%)	2 (10-50%)	3 (>50%)
Tinggi	7 (46,6%)	8 (53,3%)	0 (0%)	0 (0%)
Rendah	12 (80%)	3 (20%)	0 (0%)	0 (0%)

Meningioma derajat tinggi menunjukkan skor 1 (26,7%) sedikit lebih banyak daripada skor 0 (23,3%). Sedangkan pada meningioma derajat rendah, skor 0 (40%) lebih banyak daripada skor 1 (10%). Namun, tidak ada satupun tumor yang terpulas dengan skor 2 maupun 3. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 2. Setelah dilakukan analisis statistik menggunakan uji *Pearson chi-square* antara ekspresi p53

mutan dan derajat meningioma, didapatkan hasil $p = 0,058$ ($p < 0,05$) yang berarti tidak terdapat hubungan yang bermakna.



Gambar 1. Ekspresi p53 mutan pada meningioma. A. Terpulas dengan skor 0; B. Terpulas dengan skor 1 (200x).



Gambar 2. Ekspresi Ki-67 pada meningioma; A. Terpulas dengan persentase rendah; B. Terpulas dengan persentase tinggi (200x).

Tabel 3. Sensitivitas dan spesifisitas nilai *cut off*.

Nilai <i>cut off</i>	Sensitivitas	Spesifisitas
1,75	80,0%	66,7%
2,00	80,0%	80,0%
2,25	80,0%	86,7%
2,50	73,3%	93,3%

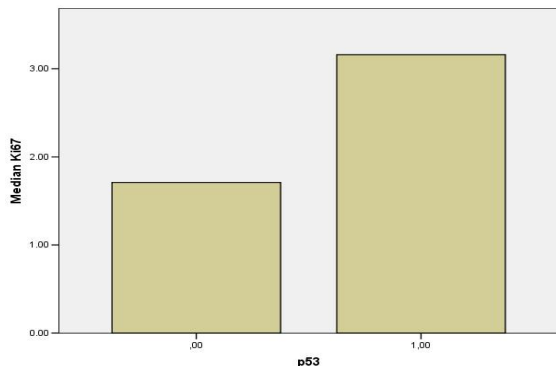
Tabel 4. Frekuensi ekspresi Ki-67 pada derajat meningioma berdasarkan *cut off level*.

Derajat	Ekspresi Ki-67 (%)	
	<2,25	≥2,25
Tinggi	3 (20%)	12 (80%)
Rendah	13 (86,7%)	2 (13,3%)

Pada penelitian ini, diperoleh persentase ekspresi Ki-67 antara 0,16% sampai 72,31%. Analisis korelasi antara ekspresi Ki-67 dan derajat meningioma dilakukan menggunakan uji Spearman, dengan hasil $p = 0,000$ $r = 0,695$ ($p < 0,01$), yang menunjukkan perbedaan bermakna; artinya semakin tinggi ekspresi Ki-67 semakin tinggi derajat meningioma. Melalui analisis ROC, diperoleh nilai *cut off* sebesar 2,25%, dengan sensitivitas 80,0% dan spesifisitas 86,7%.

Sedangkan analisis antara ekspresi p53 mutan dan Ki-67 menggunakan uji regresi linear menunjukkan korelasi tidak bermakna pada $p = 0,815$ ($p < 0,05$). Namun demikian, nilai

median Ki-67 lebih tinggi didapatkan pada meningioma dengan p53 skor 1 daripada p53 skor 0 (Gambar 3).



Gambar 3. Nilai median Ki-67 terhadap skor p53 mutan.

DISKUSI

Varian histologik yang sering didiagnosis secara patologik adalah meningioma fibroblastik, meningotelial, serta transisional.^{4,9} Insiden meningioma meningkat seiring dengan meningkatnya usia, dan sebagian besar terjadi pada dekade keenam^{2,10,11} serta angka kejadian pada perempuan dua kali lebih tinggi dibandingkan pada laki-laki.^{3,10}

Pada penelitian sebelumnya tidak didapatkan hubungan yang signifikan antara nilai p53 dan derajat meningioma, namun terdapat peningkatan nilai median p53 dengan derajat tumor.¹² Pada Tabel 1, p53 skor 1 lebih banyak didapatkan pada meningioma derajat tinggi daripada derajat rendah, walaupun analisis statistik didapatkan hubungan yang tidak bermakna antara skor p53 dan derajat meningioma ($p=0,058$, $p<0,05$).

Pada penelitian terdahulu dilaporkan hubungan antara ekspresi protein p53 dan derajat meningioma, di mana semakin tinggi derajat meningioma maka ekspresi p53 semakin tinggi pula.⁷

Peningkatan p53 juga ditemukan pada meningioma yang mengalami kekambuhan dibandingkan yang tidak kambuh, sehingga ekspresi p53 yang tinggi dapat memprediksi terjadinya kekambuhan pada meningioma.¹³

Penentuan derajat penting untuk memprediksi risiko kekambuhan dan pertumbuhan tumor yang agresif. Namun kesulitan dalam mendiagnosa derajat histologi pada meningioma sering terjadi. Hal ini disebabkan

kriteria untuk membedakan derajat histologi masih belum jelas, dan sering terjadi perbedaan interpretasi antar pemeriksa. Diperlukan analisis imunohistokimia Ki-67 untuk mengetahui proliferasi sel sebagai penanda adanya potensi keganasan.⁵

Pada penelitian sebelumnya didapatkan korelasi antara Ki-67 dan derajat meningioma. Nilai Ki-67 meningkat seiring dengan peningkatan derajat histologi. Berbeda dengan beberapa penelitian di mana hasil Ki-67 *labelling index* tidak menunjukkan korelasi dengan perilaku tumor.¹⁴

Menurut penelitian terdahulu, ekspresi Ki-67 lebih tinggi pada meningioma derajat I yang mengalami kekambuhan, daripada meningioma derajat I yang tidak mengalami kekambuhan. Namun, ekspresi Ki-67 pada derajat I yang mengalami kekambuhan dan derajat II yang juga mengalami kekambuhan tidak berbeda secara statistik. Pada penelitian ini, didapatkan hubungan yang bermakna antara ekspresi Ki-67 dengan derajat meningioma, di mana semakin tinggi ekspresi Ki-67 derajat meningioma juga tinggi.¹⁵

Penggunaan Ki-67 secara klinis masih sulit dilakukan dan tidak dapat mengacu pada satu nilai *cut off*, karena perbedaan metode yang digunakan oleh masing-masing laboratorium dalam teknik pulasan maupun perhitungan, hasil setiap laboratorium bervariasi.¹⁵⁻¹⁷

Sedangkan pada penelitian ini, didapatkan *cut off level* yang lebih rendah yaitu 2,25% dengan sensitivitas 80,0% dan spesifisitas 86,7%, di mana tumor dengan Ki-67 lebih tinggi dari angka tersebut besar kemungkinannya memiliki risiko kekambuhan yang lebih tinggi, sesuai dengan derajat tinggi meningioma. Oleh karena itu Ki-67 dapat digunakan sebagai penanda tambahan risiko kekambuhan pada meningioma.

Hasil penelitian ini, tidak didapatkan hubungan yang secara statistik signifikan antara ekspresi Ki-67 dan p53 pada meningioma. Namun, nilai median dari Ki-67 lebih tinggi didapatkan pada meningioma dengan pulasan p53 skor 1 (inti sel tumor terpulas <10%) daripada pada pulasan p53 negatif.

Hal ini serupa dengan penelitian sebelumnya di mana didapatkan rerata Ki-67 yang lebih tinggi pada tumor yang mengekspresikan p53 dibandingkan yang tidak mengekspresikan p53. Namun, tidak didapatkan

hubungan secara statistik antara ekspresi p53 dan Ki-67. Hal ini terjadi diduga karena inaktivasi *p53 wild type* oleh protein MDM2 yang mungkin berperan dalam aktivitas proliferasi meningioma. Penjelasan yang mungkin adalah hilangnya fungsi p53 sebagai penekan pertumbuhan tumor disebabkan adanya ekspresi protein MDM2 yang meningkat pada aktivitas proliferasi sel tumor meningioma.¹³

KESIMPULAN

Semakin tinggi ekspresi Ki-67, semakin tinggi derajat meningioma. Ekspresi Ki-67 dapat digunakan sebagai penanda tambahan untuk menentukan derajat meningioma.

SARAN

Perlu penelitian lebih lanjut untuk meneliti faktor lain yang mempengaruhi ekspresi p53 dan proliferasi sel pada meningioma.

DAFTAR PUSTAKA

1. Joseph W, Margaret W, Elizabeth BC. Epidemiology and etiology of meningioma. *J Neurol Oncol*. 2010; 99: 307-14.
2. Choy WW, Kim W, Wa DG, Stramotas S, Yew A, Gopen Q, *et al*. The molecular genetics and tumor pathogenesis of meningiomas and the future directions of meningioma treatments. *Neurosurg Focus*. 2011; 30: E6.
3. Reimenschneider MJ, Perry A, Reifenberg G. Histological classification and molecular genetics of meningiomas. *Lancet Neurol*. 2006; 5: 1045-54.
4. Perry A *et al*. Meningioma. In: David N L *et al* (eds). *WHO Classification of Tumour of the Central Nervous System*. 4th ed. Lyon: IARC; 2007.
5. Uzum N, Ataoglu GAO. Histopathological parameters with Ki-67 and Bcl-2 in the prognosis of meningiomas according to WHO 2000 classification. *Tumori*. 2008; 94: 389-97.
6. Rivlin N, Brosh R, Oren M, Rotte V. Mutations in the p53 tumor suppressor gene: Important milestones at the various steps of tumorigenesis. *Genes Cancer*. 2011; 2: 466-74.
7. Kantha R, Saffari HM, Suryati MY. The relationship of p53 protein in meningioma grading and their various influencing factors amongst neurosurgical patients in Hospital Kuala Lumpur. *Med J Malaysia*. 2007; 60: 194-6.
8. Csonka T, Murnyák B, Szepesi R, Kurucz A, Klekner A, Hortobágy T. Poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP1) and p53 labelling index correlates with tumour grade in meningiomas. *Folia Neuropathol*. 2014; 52: 111-20.
9. Christian M, Perry A. Pathological classification and molecular genetics of meningiomas. *J Neurooncol*. 2010; 99: 379-91.
10. Wiemels J, Wrensch M, Claus EB. Epidemiology and etiology of meningioma. *J Neurol Oncol*. 2010; 99: 307-14.
11. Alexiou GA, Markoula S, Gogou P, Kyritsis AP. Genetic and molecular alterations in meningiomas. *Clin Neurol Neurosurg*. 2011; 113: 261-7.
12. Pavelin S, Becic K, Forempoher G, Mrklic I, Pogorelic Z, Titlic M, Andelinovic S. Expression of Ki-67 and p53 in meningiomas. *Neoplasma*. 2013; 60: 480-5.
13. Yang SY, Park CK, Park SH, Kim DG, Chung YS, Jung HW. Atypical and anaplastic meningiomas: prognostic implications of clinicopathological features. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008; 79: 574-80.
14. Kayaselcuk F, Zorludemir S, Bal N, Erdogan B, Erdogan S, and Erman T. The expression of survivin and Ki-67 in meningiomas: correlation with grade and clinical outcome. *J Neurol Oncol*. 2004; 67: 209-14.
15. Pfisterer WK, Coons SW, Enein FA, Hendricks WP, Scheck AC, Preul MC. Implicating chromosomal aberrations with meningioma growth and recurrence: Results from FISH and MIB-I analysis of grades I and II meningioma tissue. *J Neurol Oncol*. 2008; 87: 43-50.
16. Roser F, Samii M, Ostertag H, Bellinzona M. The Ki-67 proliferation antigen in meningiomas. experience in 600 cases. *Acta Neurochir (Wien)*. 2004; 146: 37-44.
17. Nakasu F, Nakasu S, Fukami T, Jito J, Nozak K. Recurrence and regrowth of benign meningiomas. *Brain Tumor Pathol*. 2009; 26: 69-72.