

Ekspresi Sitokeratin 19 Dari Bilasan Bronkus Penderita Kanker Paru Jenis Karsinoma Bukan Sel Kecil dan Penderita Resiko Tinggi Kanker Paru Dengan Metode Immunohistokimia

N. Putu P. Putra*, N. Sri Muktiati**, K Mulyartha***, Siswanto****

* Peserta PPDS I IP Paru FK Unibraw Malang

** Staf Pengajar Bagian Paru FK Unibraw

*** Staf Pengajar Lab Biomedik FK Unibraw

**** Staf Pengajar Ilmu Kesehatan Masyarakat FK Unibraw

ABSTRACT

Nowadays, in industrialized countries, lung cancers the most frequent cancer in men. Lung cancers also one of several malignancy in women. Lung cancer is one of several lung disease that need to be handled and managed fast and appropriately. Complicated skill and facility is needed in order to establish the diagnose of lung cancer.

Advance improvement of technology allows us to use tumor marker to support the diagnose of lung cancer earlier to determine the prognosis as well as to detect the risk factor of malignancy.

Cytokeratin 19 belongs to intermediate filament as a all supporting structure so that the shape of the cell becomes stable and the nucleus is still located in the proper position. This cytokeratin 19 is expressed in the respiratory tract epithel.

The aim of this study was determine expression of cytokeratin 19 in normal person, high risk person and non small cell lung cancer patients.

The means expression of cytokeratin 19 in normal person, high risk person, adeno ca patient and epidermoid ca patient is 16,6, 20,1, 35, 52,6 consicutively.

Coclusion: The expression of cytokeratin 19 in normal person was different significantly from adeno ca and epidermpid ca patients.

Significant difference was also found between high risk patient and adeno ca, epidermoid patient as well as between epidermoid ca patients and adeno ca patients. There was no significant difference between normal group and high risk patients.

Keywords : Cytokeratin 19, adeno ca patient and epidermoid ca

PENDAHULUAN

Kanker paru adalah salah satu jenis penyakit paru yang memerlukan penanganan dan tindakan yang cepat dan terarah. Penegakkan diagnosa memerlukan ketrampilan dan sarana yang tidak sederhana dan memerlukan pendekatan multidisiplin.¹⁻²

Petanda ganas atau tumor marker merupakan substansi yang dapat digunakan untuk mendeteksi perubahan-perubahan yang terjadi akibat kanker. Dewasa ini banyak diteliti dan dikembangkan pemeriksaan petanda ganas ideal yang dapat memberikan petunjuk tentang perkembangan kanker, baik ditingkat ekstraseluler, seluler maupun molekuler.³⁻⁵

Manfaat yang paling penting petanda ganas ini adalah untuk mengkonfirmasi kecurigaan terdapatnya kanker yang telah diduga sebelumnya bilamana pemeriksaan sitologi atau histopatologi tidak ditemukan, memantau perjalanan penyakit dan respon pengobatan atau pasca bedah.

Istilah petanda ganas yang dahulu dikenal dengan petanda tumor (tumor marker) didefinisikan sebagai berbagai substansi yang disekresikan oleh sel kanker atau sel jinak sebagai respon terhadap keganasan dan dapat dideteksi kadarnya dalam cairan tubuh. Perubahan-perubahan yang terjadi akibat kanker dapat dideteksi di tingkat ekstraseluler atau serologik, seluler dan molekuler. Petanda ganas ini dapat dideteksi dan diukur kadarnya dengan metoda kimia, imunologi maupun metode biologi molekuler. Dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi laboratorium, memungkinkan deteksi perubahan-perubahan yang terjadi pada kanker dapat dideteksi sampai tingkat molekuler, maka pengertian petanda ganas saat ini lebih luas selain substansi-substansi ekstraseluler yang mencakup molekul yang terdapat pada permukaan sel maupun intra sel yang dikenal dengan istilah petanda molekuler atau biomarker keganasan.⁴⁻⁶

Bila diperkirakan suatu tumor, metode yang sederhana dan efektif untuk diagnosa kanker paru adalah sitologi sputum. Hasil sitologi sputum tergantung banyak faktor meliputi kemampuan pasien untuk mengeluarkan sputum, ukuran tumor, dekat atau tidaknya lokasi tumor kejalan napas utama, jenis histologi tumor, perluasan tumor. Hasil yang kurang memuaskan dari sitologi sputum bila tumor letaknya perifer, bertambah jelek bila ukuran tumor kurang dari 3 cm.²⁷

Oleh karena hasil dari sitologi sputum dipengaruhi oleh banyak faktor maka dengan menggunakan antibodi yang tertuju pada satu antigen tertentu atau antigen monoklonal yaitu pemeriksaan sitokeratin 19 dengan metode imunohistokimia dapat digunakan untuk mendeteksi kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil.⁶

Sitokeratin dan intermediat filamen terdapat dalam berbagai sel normal dan jaringan patologis. Ekspresi dari sitokeratin adalah spesifik untuk jaringan yang berbeda. Sitokeratin 19 dapat diekspresikan oleh epitel sel seperti percabangan bronkus dan ekspresinya berlebihan dalam kanker paru. Sitokeratin merupakan bagian dari sitoskeleton, sehingga beberapa fragmen dapat dilepaskan oleh sel yang hancur atau tumor yang nekrosis.

Imunohistokimia adalah gabungan antara diagnosis histopatologi dengan diagnosis imunokimia yaitu diagnosis yang melibatkan reaksi antigen antibodi membentuk antigen antibodi kompleks.^{7,8,23,24}

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini merupakan suatu studi observasional analitik dengan pendekatan cross sectional. Bahan pemeriksaan adalah sampel bilasan bronkus penderita tumor paru yang dirawat di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang.

Prosedur Pemeriksaan Imunohistokimia

- Spesimen di sentrifuse dengan kecepatan 5000 rpm
- Ambil sampel $\pm 20 \mu\text{l}$, teteskan pada gelas obyek, buat bentuk bulatan kecil
- Hapusan ditetesi methanol lalu didiamkan 1 hari dengan tujuan fixasi sampai preparat benar-benar kering.
- Cuci preparat dengan PBS 3 kali masing-masing 5 menit.
- Blocking preparat dengan BSA 0,1% dan triton 0,25% selama 20 menit, kemudian cuci dengan PBS 3 kali masing-masing 5 menit.
- Inkubasi dengan AB primer semalam (anti sitokeratin 19) 1:500 semalam (24jam), suhu 4 derajat celcius.
- Inkubasi suhu ruang 2 jam, kemudian cuci dengan PBS
- Inkubasi dengan AB sekunder berlabel enzim selama 20 menit
- Rendam preparat dengan Substrat buffer selama 20 menit.
- Staining preparat dengan DAB selama 20 menit, akan memberikan warna coklat bila berikatan.
- Rendam preparat dalam aquadest selama 3-5 menit, keringkan
- Amati dengan mikroskop binokuler menggunakan pembesaran 40 dan 100 kali

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Karakteristik Pasien Menurut Umur

Umur	Jumlah	%
Kurang dari 30	2	5
30-39	7	17,5
40-49	8	20
50-59	12	30
60-69	7	17,5
Lebih dari 69	4	10

Tabel 2. Karakteristik Pasien Menurut Jenis Kelamin

Jenis kelamin	Jumlah	%
Laki-laki	28	70
Perempuan	12	30

Tabel 3. Karakteristik Pasien Menurut Hasil Sitologi

Klas	Jumlah	%
II	17	42
III	4	10
(V) Epidermoid Ca	12	25
(V) Adeno Ca	7	17,5

Descriptives

EKSPRESI

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
NORMAL	3	16,6667	7,0946	4,0961	-,9573	34,2906	9,00	23,00
FAKTOR RESIKO	18	20,1111	3,8940	,9178	18,1747	22,0476	14,00	27,00
ADENO CA	7	35,0000	3,2660	1,2344	31,9795	38,0205	30,00	39,00
EPIDERMOID CA	12	52,6667	5,5487	1,6018	49,1412	56,1921	43,00	59,00
Total	40	32,2250	15,3564	2,4281	27,3138	37,1362	9,00	59,00

Multiple Comparisons

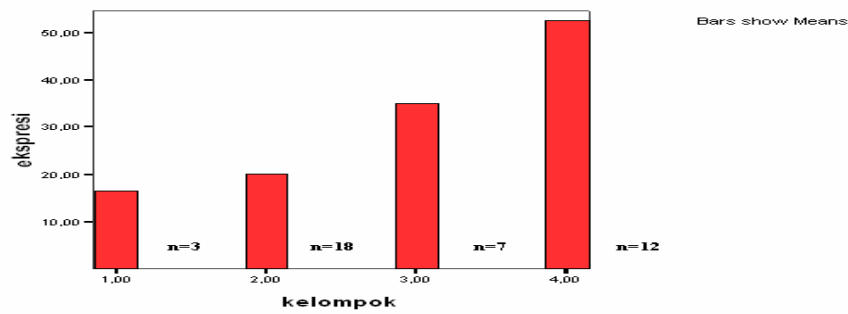
Dependent Variable: EKSPRESI

Tukey HSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
NORMAL	FAKTOR RESIKO	-3,4444	2,8674	,630	-11,1670	4,2781
	ADENO CA	-18,3333*	3,1729	,000	-26,8789	-9,7878
	EPIDERMOID CA	-36,0000*	2,9680	,000	-43,9936	-28,0064
FAKTOR RESIKO	NORMAL	3,4444	2,8674	,630	-4,2781	11,1670
	ADENO CA	-14,8889*	2,0481	,000	-20,4050	-9,3728
	EPIDERMOID CA	-32,5556*	1,7136	,000	-37,1707	-27,9404
ADENO CA	NORMAL	18,3333*	3,1729	,000	9,7878	26,8789
	FAKTOR RESIKO	14,8889*	2,0481	,000	9,3728	20,4050
	EPIDERMOID CA	-17,6667*	2,1868	,000	-23,5563	-11,7771
EPIDERMOID CA	NORMAL	36,0000*	2,9680	,000	28,0064	43,9936
	FAKTOR RESIKO	32,5556*	1,7136	,000	27,9404	37,1707
	ADENO CA	17,6667*	2,1868	,000	11,7771	23,5563

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Grafik 1: Ekspresi sitokeratin 19 pada pasien normal, resiko tinggi, Adeno ca dan Epidermoid ca



1=pasien normal, 2=pasien resiko tinggi 3=pasien Adeno Ca 4= pasien Epidermoid Ca

Descriptives

ekspresi

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Normal	3	13,3333	4,50925	2,60342	2,1317	24,5349	9,00	18,00
Resiko Tinggi	18	20,1111	3,89402	,91783	18,1747	22,0476	14,00	27,00
Kanker Paru	19	46,1579	9,95134	2,28299	41,3615	50,9543	30,00	59,00
Total	40	31,9750	15,59008	2,46501	26,9891	36,9609	9,00	59,00

tives

Descriptives

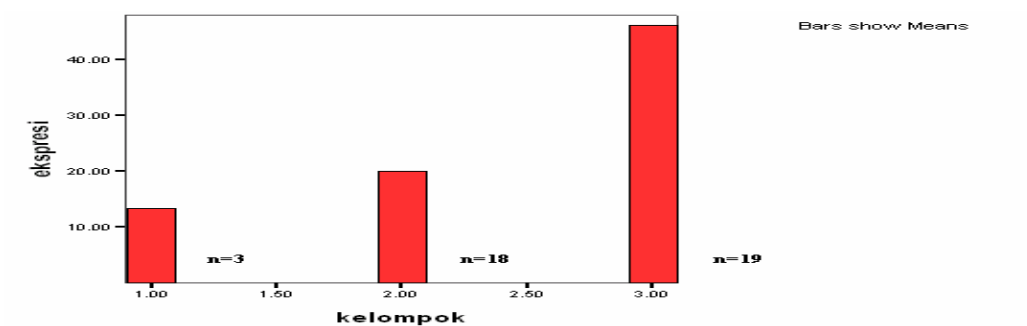
Descript

ekspresi

ekspres

kelompok	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Std. Deviation	Std. Error
	Lower Bound	Upper Bound					Lower Bound	Upper Bound				
1	2,1317	24,5349	9,00	18,00	4,50925	2,60342	2,1317	24,5349	9,00	18,00	4,50925	2,60342
2	18,1747	22,0476	14,00	27,00	3,89402	,91783	18,1747	22,0476	14,00	27,00	3,89402	,91783
3	41,3615	50,9543	30,00	59,00	9,95134	2,28299	41,3615	50,9543	30,00	59,00	9,95134	2,28299
Total	26,9891	36,9609	9,00	59,00	15,59008	2,46501	26,9891	36,9609	9,00	59,00	15,59008	2,46501

Grafik (2): Ekspresi sitokeratin 9 pada pasien normal, resiko tinggi, kanker paru bukan karsinoma sel kecil



1=pasien normal, 2=pasien resiko tinggi, 3=pasien kanker paru

Descriptives

EKSPRESI

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
II B	6	44,0000	11,6619	4,7610	31,7616	56,2384	30,00	59,00
III A	5	44,2000	7,7910	3,4843	34,5262	53,8738	34,00	53,00
III B + IV	8	49,0000	10,3372	3,6547	40,3579	57,6421	33,00	59,00
Total	19	46,1579	9,9513	2,2830	41,3615	50,9543	30,00	59,00

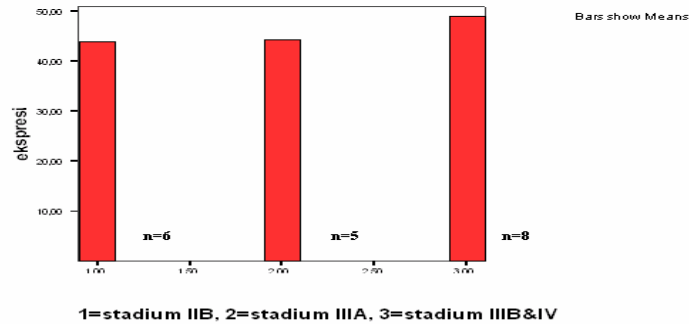
Multiple Comparisons

Dependent Variable: EKSPRESI

Tukey HSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
II B	III A	-,2000	6,1878	,999	-16,1667	15,7667
	III B + IV	-5,0000	5,5188	,644	-19,2404	9,2404
III A	II B	,2000	6,1878	,999	-15,7667	16,1667
	III B + IV	-4,8000	5,8256	,694	-19,8322	10,2322
III B + IV	II B	5,0000	5,5188	,644	-9,2404	19,2404
	III A	4,8000	5,8256	,694	-10,2322	19,8322

Grafik (3): Ekspresi sitokeratin 9 antar stadium kanker



Gambaran sel dengan metode imunohistokimia

Berdasarkan pembacaan dengan melihat warna yang timbul, maka secara subyektif terdapat 3 kualitas warna yaitu coklat muda (+1), coklat (+2), coklat gelap (+3). Warna coklat (+2) dan coklat gelap (+3) didapatkan pada sel Adeno Carcinoma dan Epidermoid Carcinoma. Sedangkan coklat muda (+1) terdapat pada penderita normal dan resiko tinggi. Hal ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan ekspresi sitokeratin 19 pada pasien normal dengan resiko tinggi. Penilaian warna ini berdasarkan pada subyektifitas peneliti dalam mengamati warna sel yang timbul. Warna coklat muda menunjukkan ekspresi sitokeratin yang sedikit, warna coklat dan coklat gelap menunjukkan ekspresi sitokeratin 19 yang sangat meningkat.



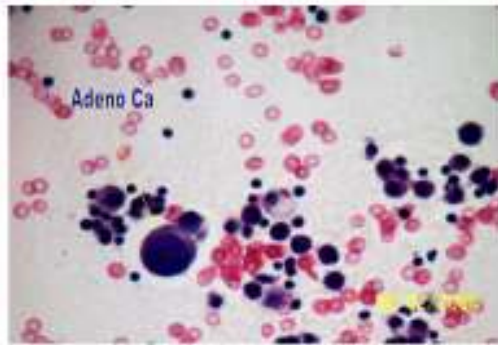
Imunohistokimia Cairan Bal, sel normal



Histologi Cairan Bal, sel normal



Imunohistokimia, cairan pleura, Adeno Ca



Histologi bilasan bronkus, Adeno Ca

PEMBAHASAN

Setelah dilakukan preparasi kemudian dilakukan pewarnaan dengan metode imunohistokimia sehingga didapatkan sel-sel yang berwarna. Sel-sel yang terwarnai tersebut mengekspresikan sitokeratin yang terdapat dalam membran sel yang kemudian dilakukan penghitungan dalam 10 lapangan pandang. Sampel yang dapat dikumpulkan selama 6 bulan sebanyak 40 spesimen bilasan bronkus. Dari 40 spesimen terdiri dari 28 pasien laki-laki dan 22 pasien wanita hal ini disebabkan karena laki-laki lebih banyak merokok dibandingkan dengan perempuan dimana usia rata-rata yang paling banyak antara 50-59 tahun sebanyak 30 % hal ini berhubungan dengan lama merokok dan banyaknya rokok yang dihisap perharinya.

Penderita yang datang untuk berobat terbanyak dengan keluhan batuk disertai penurunan berat badan serta satu penderita dengan keluhan benjolan di supraclavicula dan satu penderita dengan keluhan sulit menelan. Sampel yang didiagnosa normal sebanyak 3 orang, resiko tinggi sebanyak 21 orang dengan riwayat perokok paling banyak hal ini disebabkan karena rokok mengandung bahan karsinogen yang menyebabkan timbulnya kanker paru disusul dengan pneumonia lebih dari 1 bulan serta post TB paru lebih dari 10 tahun yang lalu. Untuk penderita kanker paru sebanyak 19 sampel yang terdiri dari 12 penderita dengan *Epidermoid Carcinoma* serta 7 penderita dengan *Adeno Carcinoma*.

Hal ini sesuai dengan laporan dari beberapa rumah sakit dimana insiden kanker paru jenis *Epidermoid Carcinoma* lebih banyak dibandingkan dengan *Adeno Carcinoma*.

Diagnosa dari kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil ditegakkan dari histologi PA: sputum, cairan pleura, FNAB, washing, brushing dari bagian Patologi

Anatomi sebagai *Gold Standar* (baku emas). Penderita kanker paru terbanyak pada stadium IIB sebanyak 6 orang diikuti stadium IIIA, IIIB, IV.

Semua data tersebut ditampilkan dalam tabel deskripsi rerata masing-masing kelompok subyek penelitian, sehingga dapat diketahui karakteristik masing-masing kelompok subyek penelitian.

Dari tabel ekspresi sitokeratin 19 pada pasien normal dan pasien kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil kemudian dilakukan analisa metode Anova dengan multipel komparasi Tukey untuk menentukan apakah terdapat perbedaan rerata masing-masing variabel.

Dari tabel diskripsi sampel penelitian tampak bahwa rata-rata sel yang terwarnai untuk pasien normal 16,66, untuk pasien resiko tinggi adalah 20,11, untuk pasien kanker paru jenis Adeno Ca adalah 35,0, sedangkan untuk pasien kanker paru jenis Epidermoid Ca adalah 52,66 dengan tingkat kepercayaan 95% atau signifikansi 5% ($p < 0,05$).

Test Homogenitas of variances, tes ini bertujuan untuk menguji berlaku tidaknya asumsi untuk Anova yaitu apakah kelompok sampel mempunyai varians yang sama. Terlihat bahwa Levene test hitung adalah 1,927 dengan nilai probabilitas 0,331. Dasar pengambilan keputusan adalah : jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima, sedangkan jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak. Oleh karena probabilitas (p) $> 0,05$ maka H_0 diterima atau keempat kelompok sampel mempunyai varians yang sama.

Pada uji Anova terlihat F hitung 133,03 dengan probabilitas 0,000. Karena probabilitas (p) $< 0,05$ maka H_0 ditolak atau rata-rata jumlah sel terwarnai/ ekspresi sitokeratin 19 memang berbeda nyata. Pada tabel multipel komparasi dengan uji Tukey didapatkan antara pasien normal dengan pasien resiko tinggi nilai probabilitasnya adalah 0,630. Karena probabilitasnya $> 0,05$ maka H_0 diterima, yang berarti tidak ada perbedaan rata-rata ekspresi sitokeratin yang bermakna antara pasien normal dengan pasien resiko tinggi. Antara pasien normal dengan NSSLC/ Adeno Carcinoma nilai probabilitasnya adalah 0,000. Karena probabilitasnya $< 0,05$ maka H_0 ditolak, yang berarti terdapat perbedaan rata-rata ekspresi sitokeratin antara pasien normal dengan pasien kanker paru jenis Adeno Ca. Antara pasien resiko tinggi dengan Adeno Ca, probabilitasnya adalah 0,000 jadi terdapat perbedaan yang bermakna. Begitu pula antara pasien Adeno Ca dengan Epidermoid Ca probabilitasnya adalah 0,000 yang berarti $< 0,05$. Jadi terdapat perbedaan rata-rata ekspresi sitokeratin yang bermakna. Ekspresi sitokeratin 19 yang paling tinggi terdapat pada kelompok pasien dengan kanker paru jenis Epidermoid Ca.

Dalam tes Homogenous Subset dicari grup/subset atau kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan rata-rata yang tidak signifikan. Pada subset 1 tampak kelompok normal dan resiko tinggi yang berarti bahwa ekspresi sitokeratin 19 pada kelompok normal dengan kelompok resiko tinggi tidak ada perbedaan yang signifikan. Pada subset 2 hanya tampak kelompok pasien dengan Adeno Ca saja yang berarti ekspresi sitokeratin 19 pada kelompok pasien dengan Adeno Ca berbeda dengan kelompok pasien lain. Pada subset 3 hanya tampak kelompok pasien dengan Epidermoid Ca yang berarti kelompok pasien dengan Epidermoid Ca berbeda bermakna dengan dengan kelompok pasien normal, pasien resiko tinggi, pasien dengan Adeno Ca.

Antara pasien normal dengan pasien resiko tinggi tidak terdapat perbedaan ekspresi sitokeratin 19 yang bermakna, hal ini dapat disebabkan oleh karena jumlah sampel penderita normal yang sedikit dan dapat juga disebabkan oleh karena pada penderita resiko tinggi belum didapatkan adanya sel kanker. Akan tetapi rata-rata sel yang terwarnai lebih banyak pada penderita dengan resiko tinggi yang menunjukkan kecenderungan peningkatan dari ekspresi sitokeratin 19.

Pada Epidermoid Ca ekspresi sitokeratin 19 lebih tinggi dibandingkan dengan Adeno Ca hal ini disebabkan karena pada Epidermoid Ca terjadi peningkatan produksi keratin, sedangkan pada Adeno Ca strukturnya kelenjar dan memproduksi lebih banyak mukus. Tampak jelas seperti yang digambarkan dalam grafik 1.

Hasil penelitian yang hampir sama dilakukan oleh Ruay-sheng Lai, Hon Ki Su, Jan Yeong Lu dalam CYFRA 21-1 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. Evaluation as a Tumor Marker in Non-small Cell Lung Cancer pada penelitian dari 164 serum penderita kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil yang dilakukan dengan menggunakan metode Elisa menunjukkan kenaikan jumlah sitokeratin 19 yang meningkat sangat signifikan dan lebih meningkat lagi pada jenis epidermoid karsinoma dibandingkan dengan adeno karsinoma.²⁵

Pada tabel multipel komparasi dengan uji Tukey tampak bahwa antara pasien normal dengan pasien kanker paru karsinoma bukan sel berbeda secara signifikan, begitu juga pasien dengan resiko tinggi kanker paru berbeda signifikan dengan penderita kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil. Sedangkan pasien normal tidak berbeda dengan penderita resiko tinggi kanker paru.

Pada tes Homogenus Subset, pada subset 2 hanya tampak kelompok kanker paru yang berarti kelompok kanker paru berbeda secara signifikan dengan kelompok normal dan resiko tinggi.

Pada kanker paru (Epidermoid Ca dan Adeno Ca) terjadi proliferasi sel yang tidak terkendali sehingga produksi sitokeratin juga meningkat untuk pembentukan kerangka sel yang mengakibatkan ekspresinya meningkat.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Lusio Trevasani dan Stefano Putinati dalam Cytokeratin Tumor Marker Levels in Bronchial Washing in Diagnosis of Lung Cancer juga mendapatkan bahwa kadar sitokeratin 19 juga meningkat pada pasien dengan Epidermoid Carsinoma.²⁴

Pada tabel multipel komparasi dengan uji Tukey pada kelompok kanker dengan staging terlihat bahwa tidak ada perbedaan ekspresi sitokeratin 19 yang bermakna antara kelompok pasien stadium IIB, IIIA+IIIB, serta stadium IV.

Pada homogenus subset juga tampak tidak adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok stadium IIB, Juga IIIA+IIIB, dan stadium IV. Tampak jelas seperti yang digambarkan dalam grafik 2.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Bram Wieskops, Christien Demangeat dalam Cyfra 21-1 as a Biologic Marker of Non Small Cell Lung Cancer. Evaluation of sensitivity and specificity mendapatkan bahwa kadar sitokeratin yang semakin meningkat sesuai dengan stadium kanker dimana ekspresi yang paling tinggi didapatkan pada stadium IV.⁽³⁾

Pada penelitian ini tidak tampak perbedaan yang signifikan dari ekspresi sitokeratin 19 antara stadium IIB, IIIA+IIIB dan stadium IV mungkin disebabkan oleh jumlah sampel yang terlalu sedikit.

Penggunaan antibodi monoklonal dan poliklonal banyak diterapkan untuk mendiagnosis berbagai jenis tumor. Imunohistokimia adalah gabungan antara

diagnosis histopatologi dengan diagnosis imunokimia yang melibatkan reaksi antigen antibodi.

Gambaran hasil pewarnaan dengan metode imunohistokimia menunjukkan adanya ikatan sitokeratin 19 dengan antisitokeratin 19. Kualitas warna yang ditampilkan menunjukkan seberapa tinggi kadar sitokeratin 19 dalam sitoplasma sel.

Berdasarkan pembacaan dengan melihat warna yang timbul, maka secara subyektif terdapat 3 kualitas warna yaitu coklat muda (+1), coklat (+2), coklat gelap (+3). Warna coklat (+2) dan coklat gelap (+3) didapatkan pada sel Adeno Carcinoma dan Epidermoid Carcinoma. Sedangkan coklat muda (+1) terdapat pada penderita normal dan resiko tinggi. Hal ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan ekspresi sitokeratin 19 pada pasien normal dengan resiko tinggi. Penilaian warna ini berdasarkan pada subyektifitas peneliti dalam mengamati warna sel yang timbul. Warna coklat muda menunjukkan ekspresi sitokeratin yang sedikit, warna coklat dan coklat gelap menunjukkan ekspresi sitokeratin 19 yang sangat meningkat.

Pada sel yang normal tampak ukuran sel sama, sitoplasma coklat muda dengan inti berwarna biru. Pada sel dengan Adeno Ca tampak inti sel berbentuk bulat besar berwarna biru dengan sitoplasma berwarna kecoklatan. Pada Epidermoid Ca tampak sel-sel ganas berinti besar dengan warna biru dengan sitoplasma coklat gelap, inti sel pleiomorfik (bentuk inti tidak sama), tampak inti sel hiperkromatik.

Sebagai pembanding/ golden standar dipakai hasil pemeriksaan sitologi dengan pengecatan Hematoksilin Eosin dimana pada penderita normal didapatkan sel kelas II yaitu sel-sel normal sedangkan penderita dengan keganasan didapatkan sel-sel kelas IV dan kelas V. Pada Adeno Carcinoma didapatkan sel-sel epitel silindrik ganas, batas antar sel tidak tegas inti bulat besar, nucleoli nyata, dinding inti tebal, sitoplasma bervacuolisasi. Sedangkan pada Epidermoid Carcinoma sel-sel ganas berinti besar, pleiomorfik, hiperkromatik, rasio nukleus sitoplasma meningkat. Tampak jelas terlihat dari hasil pemeriksaan mikroskop dengan pembesaran 400 dan 1000.

Pembacaan dengan melihat warna yang timbul dengan metode imunohistokimia ini perlu dilakukan evaluasi kembali karena akan menentukan keakuratan data yang diperoleh.

KESIMPULAN

1. Terdapat perbedaan yang bermakna ekspresi sitokeratin 19 antara pasien resiko tinggi kanker paru dengan penderita kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil.
2. Terdapat perbedaan yang bermakna ekspresi sitokeratin 19 antara kelompok pasien Epidermoid Ca dengan pasien Adeno Ca
3. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna ekspresi sitokeratin 19 antara kelompok stadium kanker paru.
4. Ekspresi sitokeratin 19 paling tinggi didapatkan pada kelompok pasien dengan epidermoid Carcinoma diikuti dengan kelompok pasien Adeno Carcinoma, kelompok resiko tinggi dan kelompok normal.

SARAN

Teknik pemeriksaan dengan metode imunohistokimia ini dapat digunakan sebagai pemeriksaan penunjang untuk membantu menegakkan diagnosis adanya kanker paru .

Hasil metode imunohistokimia ini akan lebih akurat bila sampel yang digunakan dalam penelitian jumlahnya lebih banyak.

Karena merupakan penelitian awal diperlukan dukungan teman sejawat Laboratorium Biomedik dan teman sejawat di ruangan dalam kelanjutan dari penelitian ini untuk memperoleh hasil yang lebih baik dalam membantu perkembangan diagnostik dini kanker paru dan dalam menegakkan diagnosis kanker paru.

Pembacaan dengan melihat warna yang timbul dengan metode imunohistokimia ini perlu dilakukan evaluasi kembali karena akan menentukan keakuratan data yang diperoleh.

DAFTAR PUSTAKA

1. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. Kanker Paru. Pedoman Diagnosis Dan Penatalaksanaan Di Indonesia. 2001. Hal 1-50.
2. Alsagaff H. Mukty H.A. Dasar-Dasar ilmu Penyakit Paru. Airlangga University Pres 1995. Hal 181-208.
3. Bram Wieskopf, MD; Christin Demangeat, PhD; Ashok Purohit, MD; Rudolphe Stenger, MD; Pascal Gries, MD; Harvey Kresiman, MD; Elisabeth Quoix, MD. Cyfra 21-1 as a Biologic Marker of Non-small Cell Lung Cancer. Evaluation of Sensitivity, specificity and prognostic role. Chest 1995; 108: 163-69.
4. Andi Wijaya, Petanda Tumor Penggunaan dan Penafsiran. Forum Diagnosticum Prodia, No 6, 1994.
5. Boediwarsono, Prof, Dr, SpPD KHOM. Petunjuk Praktis Penggunaan Petanda Tumor Dalam Klinik. Forum Diagnosticum Prodia.
6. Kresno Siti Boedina. Imunologi, Diagnosis Dan Prosedur Laboratorium. Edisi ke Tiga. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta 2000; 35: 228-237.
7. Lodish Harvey, Baltimore D, et all. Molecular cell Biology, third edition. Scientific American Books. P1106-1109.
8. Tjitrosomo Siti Soetarmi, Sugiri Nawangsari. Biologi.edisi kelima. Tahun 1994, penerbit Airlangga. Hal 101-102.
9. Fishman AP. Epidemiology of cancer of the Lung. In : Fishman AP ed Pulmonary Disease and Disorder 2ND ed. McGraw-Hill, 1988:1905-11.
10. Dai M, Lin Ey, at all. The Etiology of Lung cancer In Non Smoking Female in Harbin, China. Lung Cncer 1996; 14:S85-S91.
11. Greenblatt MS; Reddel RR, Harris CC. Carcinogenesis and Cellular and Molecular Biology of Lung Cancer. In Royh JA, Rucdeschel JC, Weissenburg TH, eds Thoracic Oncology: 2nd ed Philadelphia. WB Saunders Company 1995:5-25.
12. Fraser and Pare. Neoplastic Disease of The lung. Fraser RG, Pare JP, Pare PD eds. Disease of the Chest; 3thed. Thoracic Oncology. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1989:1327-1343.
13. Tang LY, Zhen C. A Retrospective lung cancer mortality study of people exposed Lucio Trevisani, MD et all. Cytokeratin Tumor Marker Levels in Bronchial Washing inthe Diagnosis of Lung Cancer. Chest 1996 ; 109:104-108
14. Boyle P. Moissonneuve P. Lung cancer and tobacco smoking. Lung cancer 1995: 12 : 167-181.
15. Stefan ED, Fierro L, Correa P. et all. Type of tobacco and risk of lung cancer. Lung Cancer 1992:12:21-28.
16. Hudoyo A. Terapi Lini Kedua Kanker Paru. Pertemuan Ilmiah Paru Milenium 2002. Hal 1-3.
17. Ruddon RW. Incidence, Epidemiology and Etiology of Human Lung Cancer. Cancer Biology, New York: Oxford University 1981, 27-28.

18. Mangunegoro H. Menyongsong Era Kanker Paru di Indonesia. Dalam Yunus F, Yusuf A. ed Kanker Paru Diagnosis dan Terapi. Bagian Pulmonologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta 1990, 1-8.
19. Ernester VL, Mustachi P, Osann KE. Epidemiology of Lung Cancer. In Murray JF, Nadel JA. Eds Respiratory Medicine: 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994; 1505-19. Stefan ED, Fierro L, Correa P. et al. Type of tobacco and risk of lung cancer. Lung Cancer 1992;12:21-28.
20. Rugo HS. Cancer. In Tierney LM, Mephee SJ, Papadakis MA eds. Medical Diagnosis and Treatment: 34th ed. San Fransisco: Prentice-Hall International, 1995;6-14.
21. Michel D. Brundage, MD, MSc. Prognostic Factors in Non-Small Cell Lung Cancer, A Decade of Progress. Chest 2002; 122:1037-1057.
22. Concepcion Prados, Rodolfo Alvarez Sala, Javier Gomez de Terreros, Luis Callol, Francisco Garcia Rio, Luis Gomez Carrera, Javier Gomez de Terreros Caro. An Evaluation of Tissue Polypeptide Antigen (TPA) in the Two Bronchoalveolar Lavage Fraction of Lung Cancer Patiens. JPN J. Clin Oncol 2000; 30(5) 215-220.
23. Niklinski J, Burzykowski T, Niklinska W, Laudanski J, Chyzewski L, Rapellino M, Furman M. Preoperative CYFRA 21-1 level as a prognostic indicator in resected non small cell lung cancer. Eur Respir J, 1998;12:1424-1428.
24. Lucio Trevisani; MD; Stefano Putinati, MD; Sergio Sartori, MD;Vinsenzo Abbasciano, MD, Bruno Bagni, MD. Cytokeratin Tumor Marker Levels in Bronchial Washing in The Diagnosis of Lung Cancer. Chest 1996;109;104-108.
25. Ruay-Sheng Lai, MD; Hon-Ki Hsu, MD; Jau-Yeong Lu, MD FCCP; Luo-Ping Ger, MPH; Ning-Sheng Lai, MD. Cyfra 21-1 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. Evaluation as a Tumor Marker in Non-small Cell Lung Cancer. Chest 1996; 109: 995-1000. Rantan F.A. Pewarnaan Imunositokomia Dari Limfosit. Airlangga Univerity Press.Hal 129-144.
26. Rantan F.A. Pewarnaan Imunositokimia Dari Limfosit. Airlangga Univerity Press. Hal 129-144.
27. Sekido Y, Fong K M, Minna J D. Cancer of the Lung. Principles & Practice of oncology. 6 TH edition, vol1. Lipincot Williams & Wilkins. P 917-934.