

EKSPRESI PROTEIN Bcl-2 PADA SEDIAAN BLOK PARAFIN JARINGAN KANKER PARU

Fitriah Sherly Marleen*, Elisna Syahrudin*, Ahmad Hudoyo*, Sutjahyo Endarjo** Heriawaty Hidayat** Evelyn Suzanna***

*Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, RS Persahabatan, Jakarta, **Instalasi Patologi Anatomi RS Persahabatan, Jakarta. *** Instalasi Patologi Anatomi Rumah Sakit Kanker Dharmais, Jakarta

ABSTRACT

Background: Apoptosis plays a key role in the development of malignant tumors. The Bcl-2 oncoprotein is known to promote cell survival that inhibits programmed cell death (apoptosis). The Bcl-2 family of proteins either pro-apoptotic or anti-apoptotic functions might play different roles in carcinogenesis. The fact that Bcl-2 protein was expressed in about 20-60% in non small cell lung cancer (NSCLC) but no data are available on the frequency or clinical importance of its expression in Indonesian lung cancer. We studied Bcl-2 protein expression in post surgery tissues of NSCLC patients and looked for correlation the expression of Bcl-2 protein level with prognosis.

Methods: We have performed a retrospective study in Department of Respiratory Medicine, Persahabatan Hospital, Jakarta Indonesia. Samples were collected from NSCLC patients who have operated during 1997 to 2008. The Bcl-2 protein expression was detected by Immunohistochemistry analysis methods. We used a monoclonal antibody specific for Bcl-2 and have used paraffin block samples from 43 patients undergoing surgery who matched inclusion criteria's. The possibility that Bcl-2 expression correlated with survival was investigated with the log-rank test and Kaplan Meier.

Results: Patients characteristics were male 69.8%, female 30.2% with mean age 56.19±8.3 years old. The Bcl-2 protein expression were not detected in 39/43 (90.6%) of samples and it's were detected in only 4/43 (9.3%) of samples. The expression were found 2/25 (8%) in adenocarcinoma group and 2/18 (11.1%) in squamous-cell carcinomas group. The data have shown that significant difference between Bcl-2 protein expression with pathological stage in T1-T2 (p= 0.024). One-year survival rate was no correlation between patients with Bcl2 positive and negative group and the log-rank test Kaplan Meier Bcl-2 was no significant difference (p= 0.476).

Conclusion: The expression of Bcl-2 protein was detected in 9.3%(4/43) patients with resectable NSCLC using immunohistochemical staining, significant difference with early pT status (T1-2) and it did not predict prognosis.

Keyword : Bcl-2, non small cell lung cancers, pathological stage, 1 year survival

LATAR BELAKANG

Kanker paru merupakan penyebab kematian utama dalam kelompok kanker, setiap tahun terdapat lebih dari 1.3 juta kasus kanker paru baru di dunia yang menyebabkan sekitar 1.1 juta kematian tiap tahunnya dan prognosis kanker paru dengan masa tahan hidup 5 tahun kurang dari 10%.¹ Data Rumah Sakit Persahabatan tahun 2004 melaporkan bahwa total kasus keganasan rongga toraks tercatat 448 kasus dengan 262 kasus didiagnosis kanker paru, 76%



laki-laki, 24% perempuan dan didapatkan 93.4% kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil (KPKBSK) yang terdiri dari 80% adenokarsinoma, 14.7% karsinoma sel skuamosa, 3.3% karsinoma sel besar dan 2% jenis lainnya dan kanker paru jenis karsinoma sel kecil (KPKSK) sangat jarang ditemukan di Indonesia.²

Penatalaksanaan kanker paru stage awal adalah pembedahan namun angka rekurensi tetap tinggi. Angka tahan hidup 5 tahun KPKBSK stage I sekitar 75% dan stage II B sekitar 40%, hal ini menunjukkan beberapa kanker yang terdiagnosis pada stage awal sudah terjadi penyebaran mikrostatik. Patogenesis kanker saat ini menunjukkan keterlibatan aktiviti onkogen dan inaktiviti gen supresor tumor dalam karsinogenesis.³ B-cell lymphoma-2 merupakan protein onkogenik yang berperan dalam apoptosis, pentingnya deregulasi apoptosis dalam karsinogenesis dapat diteliti dengan melihat ekspresi protein Bcl-2. Hubungan ekspresi protein Bcl-2 dengan prognosis pasien KPKBSK masih kontroversi.⁴ Berbagai teknik pemeriksaan biologi molekular saat ini dapat dihubungkan dengan faktor prognosis perjalanan penyakit kanker paru antara lain dengan menganalisis protein atau gen yang terlibat dalam perkembangan kanker dan pemeriksaan imunohistokimia telah digunakan untuk menilai ekspresi Bcl-2 pada jaringan kanker dan menunjukkan keterlibatan protein ini dalam perkembangan dan progresiviti kanker.⁵

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk melihat apakah ekspresi protein Bcl-2 dapat dideteksi pada jaringan kanker paru dan tujuan khusus penelitian ini untuk meningkatkan pemahaman peran apoptosis pada karsinogenesis kanker paru, mendapatkan data ekspresi protein Bcl-2 sebagai faktor antiapoptotik pada kanker paru, mengetahui hubungan ekspresi protein Bcl-2 dengan jenis histologis kanker paru, mengetahui hubungan ekspresi protein Bcl-2 dengan stage kanker paru, mengetahui hubungan ekspresi protein Bcl-2 dengan prognosis pasien kanker paru.

METODOLOGI DAN SAMPEL PENELITIAN

Penelitian ini merupakan suatu penelitian dasar dengan desain *cross sectional descriptif* untuk memeriksa tingkat ekspresi protein Bcl-2 pada blok parafin jaringan kanker paru, dilaksanakan di Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi - RS Persahabatan, Instalasi Patologi Anatomi RS Persahabatan dan Patologi Anatomi RS Kanker Dharmais Jakarta. Penelitian ini dikerjakan mulai 1 Oktober 2007 sampai 31 Juli 2008. Sampel penelitian adalah pasien kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil yang menjalani pembedahan, dari setiap pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi diambil spesimen blok parafinnya sebagai sampel. Berdasarkan perhitungan statistik didapatkan sampel 38 pasien dengan kriteria inklusi yaitu menjalani pembedahan di RS Persahabatan dari tahun 1997-2008, Jaringan operasi dalam bentuk blok parafin yang diperiksa secara histopatologis menunjukkan gambaran sesuai KPKBSK dan telah didiagnosis pasti jenis, stage dan mempunyai rekam medis yang lengkap. Data saat pasien meninggal dunia didapat dari rekam medis atau kontak langsung, telepon kepada yang bersangkutan atau keluarganya. Kriteria eksklusi pasien pernah menjalani kemoterapi atau radiasi sebelum operasi (neoadjuvan), rekam medis pasien tidak lengkap, blok parafin tidak dapat digunakan.

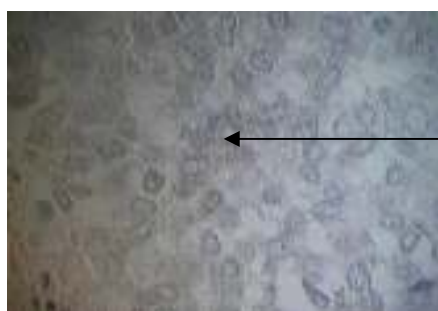
CARA KERJA



Penelitian ini menggunakan teknik imunohistokimia untuk menilai ekspresi protein Bcl-2 pada sediaan blok parafin menggunakan *antimouse monoclonal antibody* Bcl-2 (Novocastra). Pulasan imunohistokimia dibaca dengan mikroskop cahaya oleh 2 orang ahli patologi anatomi. Penelitian ini menilai ada (positif) atau tidak ada (negatif) ekspresi protein Bcl-2 pada sediaan blok parafin. Hasil positif adalah ditemukan sel-sel berwarna coklat pada sitoplasma sediaan kanker paru atau hasil negatif adalah tidak terdapat sel berwarna coklat pada sitoplasma sediaan kanker paru, dapat dilihat pada gambar 1 dan 2. Analisis data menggunakan program SPSS 16 dan uji statistik ini diputuskan bahwa perbedaan bermakna secara statistik bila nilai $p < 0,05$.



Gambar 1a. Hasil Imunohistokimia sediaan parafin blok jaringan kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil dengan ekspresi protein Bcl-2 (-).



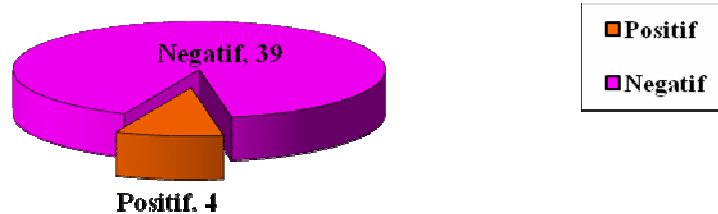
Pewarnaan coklat
pada sitoplasma

Gambar 1b. Hasil Imunohistokimia sediaan parafin blok jaringan kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil dengan ekspresi protein Bcl-2 (+).

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini mendapatkan 43 pasien kanker paru karsinoma bukan sel kecil (KPKBSK) pascabedah yang masuk kriteria inklusi di RS Persahabatan dari tahun 1997 sampai bulan Juli 2008. Berdasarkan jenis kelamin didapatkan hasil pasien laki-laki berjumlah 30 (69.8%) dan perempuan 13 (30.2%). Rerata umur 56.19 ± 8.33 tahun dengan median 56 tahun, pasien termuda berumur 39 tahun dan tertua berumur 72 tahun. Tiga puluh satu (72,1%) penderita adalah perokok dan 12 (27,9)lainnya bukan perokok. Jenis histologis sesuai dengan hasil patologi anatomi prabedah dan pascabedah didapatkan adenokarsinoma 25 (58.1%) pasien dan karsinoma sel skuamosa 18 (41.9%) pasien. Staging penyakit pascabedah 7 (...) stage I, ...(...) stage II,(...) stage III dan 4 (...) stage IV. Perubahan peningkatan staging menjadi stage III dan IV yang inoprabel terjadi. Pada clinical satge IIIa hanya 9 penderita tetapi satging pasca bedah ada 22 penderita dengan stage III-IV. Peningkatan staging terjadi karena perubahan status KGB dan ditemukannya nodul metastasis.

Ekspresi protein bcl-2 dengan pemeriksaan imunohistokimia. Tiga puluh sembilan (90.7%) pasien KPKBSK tidak menunjukkan ekspresi protein Bcl-2 atau negatif pada blok parafin kanker paru dan hanya 4 pasien yang memberikan hasil positif (9.3%) yaitu terdapat pewarnaan coklat pada sitoplasma (gambar 2).



Gambar 2. Ekspresi protein Bcl-2 pada 43 pasien kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil

Sebaran ekspresi Bcl-2 berdasarkan jenis kelamin, kelompok umur dan riwayat merokok

Ekspresi protein Bcl-2 berdasarkan jenis kelamin, dari 30 pasien laki-laki ekspresi protein Bcl-2 negatif sebanyak 28 (93.3%) dan hanya 2 (6.7%) yang memberikan hasil positif sedangkan pada 13 pasien perempuan ekspresi protein Bcl-2 negatif sebanyak 11 (84.6%) dan 2 (15.4%) pasien memberikan hasil positif. Hubungan jenis kelamin dengan ekspresi protein Bcl-2 secara uji statistik menunjukkan tidak berbeda bermakna ($p = 0.366$). Berdasarkan kelompok umur penelitian ini terbagi atas 3 kelompok umur. Kelompok umur < 40 tahun sebanyak 3(7%) pasien, 40-65 tahun sebanyak 33(76.7%) pasien dan > 65 tahun sebanyak 7(16.3%) pasien. Berdasarkan uji statistik didapatkan hasil tidak berbeda bermakna ($p = 0.773$). Berdasarkan riwayat merokok penelitian ini terbagi menjadi 4 kelompok berdasarkan jumlah rokok yang dihisap perhari dalam jangka waktu tertentu yang disebut dengan Indeks Brinkman (IB) bila jumlah rokok yang dihisap < 200 batang disebut IB ringan, 200-600 batang disebut IB sedang dan > 600 batang disebut IB berat. Kelompok riwayat tidak merokok sebanyak 12 pasien, ringan sebanyak 4 pasien, sedang sebanyak 16 pasien dan berat sebanyak 11 pasien. Ekspresi protein Bcl-2 positif ditemukan pada kelompok dengan riwayat tidak merokok sebanyak 2 pasien dan pada kelompok riwayat merokok 2 pasien masing masing dengan 1 pasien dengan IB sedang dan 1 pasien IB berat. Berdasarkan uji statistik didapatkan hasil tidak berbeda bermakna ($p = 0.715$).

Sebaran Ekspresi protein Bcl-2 berdasarkan jenis histologis dan stage KPKBSK

Pada penelitian ini didapatkan jenis sel KPKBSK yaitu Adenokarsinoma sebanyak 25 pasien dan sel skuamosa sebanyak 18 pasien. Ekspresi protein Bcl-2 ditemukan pada jenis histologis adenokarsinoma sebanyak 2 pasien dan karsinoma sel skuamosa sebanyak 2 pasien, data dapat dilihat pada tabel 3. Berdasarkan uji statistik didapatkan hasil tidak berbeda bermakna antara jenis histologis dan ekspresi protein Bcl-2 pasien KPKBSK.

Tabel 1. Sebaran ekspresi protein Bcl-2 pada pada sediaan blok parafin 43 pasien kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil berdasarkan jenis histologis (histologis)

Jenis sel kanker	Ekspresi protein Bcl-2				Total	P
	Negatif		Positif			
	N	%	N	%		
Adenokarsinoma	23	92	2	8	25	0.562
Karsinoma sel skuamosa	16	88.9	2	11.1	18	

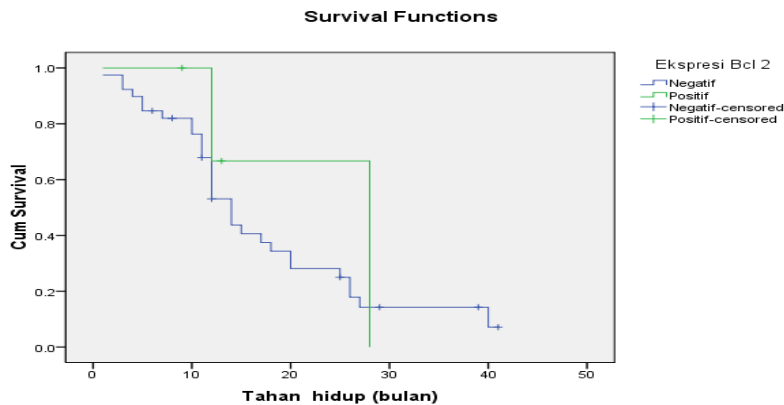
Status T pada penelitian ini didapatkan T1 sebanyak 5 pasien, T2 sebanyak 11 pasien, T3 sebanyak 21 pasien, T4 sebanyak 6 pasien. Ekspresi protein Bcl-2 ditemukan pada T1 sebanyak 2 pasien, T2 sebanyak 2 pasien dan tidak ditemukan pada T3 dan T4. Berdasarkan uji statistik didapatkan hasil berbeda bermakna ($p < 0.025$). Status N didapatkan data 17 status N0 dengan ekspresi protein Bcl-2 positif 1 (5.9%) pasien dan negatif 16 (94.1%) pasien, 7 status N1 dengan ekspresi protein Bcl-2 positif 2 (28.6%) pasien, negatif 5 (71.4%) pasien dan 19 status N2 dengan ekspresi protein Bcl-2 positif 1 (5.3%) pasien dan negatif 18 (94.7%) pasien. Berdasarkan uji statistik didapatkan hasil tidak berbeda bermakna ($p > 0.159$). Status M didapatkan data 40 status M0 dengan ekspresi protein Bcl-2 positif 4 (10%) pasien, 3 status M1 dengan ekspresi protein Bcl-2 negatif (100%) dan berdasarkan uji statistik didapatkan hasil tidak berbeda bermakna ($p > 0.741$). Berdasarkan stage KPKBSK didapatkan data 4 pasien stage IA dengan ekspresi protein Bcl-2 positif 1 (25%) dan negatif 3 (75%), 3 pasien stage IB dengan ekspresi protein Bcl-2 negatif (100%), 1 pasien stage IIA dengan ekspresi protein Bcl-2 positif (100%), 13 pasien stage IIB dengan ekspresi protein Bcl-2 positif 1 (7.7%) dan negatif 12 (92.3%), 14 pasien stage IIIA dengan ekspresi protein Bcl-2 positif 1 (7.1%) dan negatif 13 (92.9%), 4 pasien stage IIIB dengan ekspresi protein Bcl-2 negatif (100%) dan 4 pasien stage IV dengan ekspresi protein Bcl-2 negatif (100%). Berdasarkan uji statistik didapatkan hasil tidak berbeda bermakna ($p > 0.058$).

Analisis kesintan Kaplan Meier terhadap ekspresi protein Bcl-2

Prognosis pasien KPKBSK yang layak bedah dinilai dari parameter angka tahan hidupnya. Pada penelitian ini dari 43 pasien 11 diantaranya masih hidup hingga penelitian ini selesai. Hubungan ekspresi protein Bcl-2 terhadap masa tahan hidup didapatkan secara uji statistik menunjukkan tidak bermakna ($p > 0.476$), data pada tabel 2 dan gambar 3.

Tabel 2. Analisis kesintan Kaplan Meier terhadap ekspresi protein Bcl-2 pada sediaan blok parafin 43 pasien kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil

Ekspresi protein Bcl-2	Negatif	Positif	<i>P</i>
Masa tengah tahan hidup	14 bulan	28 bulan	0.476
1-year survival rate	43.00%	50%	



Gambar 3. Kurva Kaplan Meier yang menggambarkan hubungan ekspresi protein Bcl-2 pasien KPKBSK yang layak dibedah dengan masa tahan hidup

PEMBAHASAN

Karsinogenesis merupakan proses perubahan sel yang disebabkan kerusakan DNA. Kanker merupakan penyakit yang melibatkan faktor genetik dalam proses patogenesisnya, proses pembelahan sel menjadi tidak terkontrol karena gen yang mengatur pertumbuhan sel telah dirusak. Proto-onkogen adalah gen promosi pertumbuhan sel mitosis yaitu suatu proses pembelahan sel.¹ Onkogen adalah bentuk abnormal dari proto-onkogen yang memiliki kemampuan untuk transformasi sel menjadi ganas. Aktivasi beberapa onkogen mengakibatkan deregulasi proliferasi sel yang seringkali dihubungkan dengan apoptosis, hasil peningkatan apoptosis menyebabkan tumor tidak bertambah besar. Peningkatan ketahanan hidup sel sebagai akibat perubahan genetik yang mencegah terjadinya apoptosis misalnya aktivasi Bcl-2 atau inaktivasi p53 menyebabkan tumor bertambah besar.⁶ Apoptosis merupakan program kematian sel yang memegang peranan penting dalam homeostasis.¹ Dua jalur pada apoptosis yaitu jalur intrinsik dan jalur ekstrinsik. Pada jalur intrinsik, keluarga protein Bcl-2 merupakan kelompok protein yang memegang peran penting dan jalur ekstrinsik diaktivasi oleh *TNF family ligands* yang berikatan dengan *TNF family death receptors*, menghasilkan aktivasi *caspases* dan apoptosis.⁷ B-cell lymphoma-2 merupakan regulator negatif kematian sel, memperpanjang usia sel dan menghambat apoptosis siklus sel. Keluarga Bcl-2 dan produknya diidentifikasi sebagai regulator kunci dalam proses apoptosis pada banyak jenis sel. Keluarga protein ini dikelompokkan dalam 2 kelompok yaitu kelompok proapoptotik dan kelompok antiapoptotik yang berbeda pada fungsi tetapi mempunyai struktur yang homolog. Kelompok proapoptotik adalah Bax, Bak, Bcl-Xs, Bad, Bik dan Bid sedangkan kelompok antiapoptotik adalah Bcl-2, Bcl-Xl, Mcl-1. Ekspresi protein Bcl-2 yang berlebihan meningkatkan ketahanan

hidup sel sedangkan ekspresi Bax yang berlebihan menginduksi apoptosis dan dalam keadaan normal ekspresi Bax dan Bcl-2 seimbang.⁸⁻¹⁰ Protein Bcl-2 merupakan antiapoptotik yang kuat meskipun demikian Bcl-2 tidak dapat menghambat semua bentuk apoptosis yaitu apoptosis yang diinduksi oleh TNF.¹¹

Penelitian ini merupakan suatu penelitian dasar dengan desain *cross sectional descriptif* untuk memeriksa tingkat ekspresi protein Bcl-2 pada blok parafin jaringan kanker paru yang mengambil sampel pasien kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil (KPKBSK) yang layak bedah. Pasien yang terkumpul sebanyak 43 pasien merupakan pasien yang memenuhi syarat inklusi. Penelitian ini melihat ekspresi protein Bcl-2 pada jaringan blok parafin KPKBSK dengan menggunakan pemeriksaan imunohistokimia. Ekspresi protein Bcl-2 dikatakan positif bila terdapat pewarnaan coklat pada sitoplasma, negatif bila tidak terdapat pewarnaan coklat pada sitoplasma, kontrol positif berasal dari limfoma dan kontrol negatif berasal dari jaringan kanker paru yang tidak diberikan antibodi primer dan tidak dibuat kontrol yang berasal dari jaringan paru normal dikarenakan sulit untuk mendapatkan jaringan tersebut. Ohmura dkk.¹² meneliti ekspresi protein Bcl-2 KPKBSK menggunakan sampel jaringan kanker paru dari blok parafin dan dikatakan ekspresi protein Bcl-2 positif bila ditemukan > 20% sel kanker yang menunjukkan pewarnaan pada sitoplasma dan kontrol negatif berasal dari sampel jaringan yang tidak diberikan antibodi primer. Penelitian Cox dkk.¹³ menyatakan tidak terdapatnya ekspresi Bcl-2 merupakan proses perkembangan tumorigenesis yang lambat sehingga hilangnya ekspresi Bcl-2 menunjukkan dediferensiasi molekular yang berat dengan fenotif yang lebih agresif. Ekspresi protein Bcl-2 positif pada penelitian ini didapatkan hanya pada 4/43 (9.3%) pasien dan ekspresi protein Bcl-2 negatif didapatkan pada 39/43 (90.7%). Pada penelitian Han dkk.¹⁴ menyatakan prevalens ekspresi protein Bcl-2 pada KPKBSK sekitar 46%. Zhu dkk.¹⁵ ekspresi protein Bcl-2 pada KPKBSK ditemukan sekitar 35% dan lebih tereksprese pada adenokarsinoma (61%) dibandingkan karsinoma sel skuamosa (32%) sedangkan Kim dkk.¹⁶ meneliti 238 kasus KPKBSK pada populasi Korea didapatkan ekspresi Bcl-2 sekitar 71.8%.

Ekspresi protein Bcl-2 berdasarkan jenis kelamin dari 30 pasien laki-laki ekspresi protein Bcl-2 negatif sebanyak 28 (93.3%) dan 2 (6.7%) yang memberikan hasil positif sedangkan pada 13 pasien perempuan ekspresi protein Bcl-2 negatif sebanyak 11 (84.6%) dan 2 (15.4%) pasien memberikan hasil positif dan berdasarkan uji statistik tidak didapatkan kemaknaan hubungan antara jenis kelamin dengan ekspresi protein Bcl-2. Ohmura dkk.¹² meneliti 64 blok parafin pasien KPKBSK yang dibedah terdiri dari 44 laki-laki dan 20 perempuan menyatakan bahwa jenis kelamin tidak mempunyai korelasi dengan ekspresi protein Bcl-2. Penelitian Pezzella dkk.¹⁷ juga menyatakan bahwa jenis kelamin tidak mempengaruhi ekspresi protein Bcl-2. Hasil penelitian berdasarkan kelompok umur tidak mendapatkan kemaknaan secara statistik terhadap ekspresi protein Bcl-2. Ohmura dkk.¹² menyatakan bahwa rentang umur pasien KPKBSK tidak terdapat perbedaan bermakna terhadap ekspresi protein Bcl-2. Hubungan antara riwayat merokok dengan ekspresi protein Bcl-2 pasien KPKBSK berdasarkan uji statistik didapatkan hasil tidak berbeda bermakna. May dkk.¹⁸ menyatakan nikotin dapat meregulasi protein Bcl-2 dengan menstimulasi masa tahan hidup sel tetapi mekanismenya belum jelas sedangkan Dasgupta dkk.¹⁹ menyatakan nikotin dapat menginduksi proliferasi sel, angiogenesis dan supresi apoptosis dan rokok merupakan faktor risiko utama pada perkembangan KPKBSK, sekitar 80% dari seluruh kanker paru. Berdasarkan jenis histologis KPKBSK, ekspresi protein Bcl-2 ditemukan 2 pasien dengan jenis histologis adenokarsinoma dan 2 pasien dengan karsinoma sel skuamosa. Berdasarkan uji statistik didapatkan hasil tidak berbeda bermakna. Penelitian Lai dkk.²⁰ menyatakan frekuensi ekspresi



Bcl-2 lebih tinggi pada karsinoma sel skuamosa daripada adenokarsinoma. Moldvay dkk.²¹ meneliti 227 pasien KPKBSK yang sudah dilakukan pembedahan mendapatkan ekspresi protein Bcl-2 positif pada karsinoma sel skuamosa (30%) dibandingkan dengan adenokarsinoma (13%). Ohsaki dkk.²² meneliti 99 blok parafin kanker paru yang terdiri dari 38 kasus adenokarsinoma, 56 karsinoma sel skuamosa dan 5 karsinoma sel besar, didapatkan hasil ekspresi protein Bcl-2 36.8% pada karsinoma sel skuamosa dan 8.9% pada adenokarsinoma. Berdasarkan ekspresi protein Bcl-2 terhadap tumor primer (T), didapatkan ekspresi protein Bcl-2 positif pada T1 sebanyak 2 pasien, T2 sebanyak 2 pasien. Berdasarkan uji statistik didapatkan hubungan bermakna ($p < 0.025$). Berdasarkan status N, M dan stage dari 43 pasien KPKBSK penelitian ini tidak mendapatkan kemaknaan secara statistik terhadap ekspresi protein Bcl-2. Penelitian Lai RS dkk.²⁰ menyatakan tidak ditemukan perbedaan bermakna antara ekspresi protein Bcl-2 dengan stage termasuk status T dan N. Penelitian Pezzella dkk.¹⁷ menyatakan bahwa stage pasien KPKBSK tidak berbeda bermakna terhadap ekspresi protein Bcl-2 sedangkan menurut Ohmura dkk.¹² menyatakan ekspresi protein Bcl-2 tergantung dari stage dan berpotensi baik untuk prognosis terutama pada stage awal. Higashiyama dkk.²³ menyatakan ekspresi protein Bcl-2 berhubungan bermakna dengan status pN, stage dan prognosis yang lebih baik. Han dkk.¹⁴ menyatakan prevalens ekspresi protein Bcl-2 positif ditemukan pada KPKBSK stage I dan Dosaka-Akita dkk.²⁴ menyatakan bahwa ekspresi protein Bcl-2 lebih sering terdeteksi pada karsinoma sel skuamosa dengan status pT awal.

Hubungan ekspresi protein Bcl-2 dengan prognosis pada KPKBSK masih kontroversi. Beberapa penelitian mengatakan masa tahan hidup yang lebih lama pada pasien KPKBSK dengan ekspresi protein Bcl-2 positif dibandingkan dengan negatif sedangkan penelitian lain tidak menunjukkan kemaknaan antara ekspresi Bcl-2 dengan masa tahan hidup.¹⁵ Hubungan ekspresi protein Bcl-2 terhadap masa tahan hidup secara statistik menunjukkan tidak bermakna ($p < 0.476$). Lai RS dkk.²⁰ menyatakan ekspresi protein Bcl-2 pada KPKBSK sekitar 20-60% dan tidak menegaskan bahwa terdapatnya imunoreaktif protein Bcl-2 merupakan faktor prognostik independen dan menyatakan bahwa ekspresi protein Bcl-2 bukan petanda tumor yang sensitif untuk penggunaan sehari-hari dan stage merupakan ukuran yang paling akurat dalam memperkirakan prognosis penyakit. Pezzella dkk.⁶ menyatakan pasien karsinoma sel skuamosa dengan ekspresi protein Bcl-2 positif tidak mempunyai prognosis yang lebih baik dibandingkan ekspresi protein Bcl-2 negatif juga menyatakan bahwa tidak terdapatnya korelasi antara ekspresi protein Bcl-2 yang berlebihan dengan penurunan apoptosis, hal ini disebabkan apoptosis diregulasi oleh banyak gen termasuk onkogen lain dan gen supresor tumor. Yoo J dkk.²⁵ meneliti 61 pasien KPKBSK dan didapatkan hanya 1 pasien dengan ekspresi protein Bcl-2 positif pada adenokarsinoma, rendahnya ekspresi Bcl-2 menunjukkan protein Bcl-2 tidak berperan pada proses tumorigenesis tumor ini dan tidak menunjukkan kemaknaan terhadap prognosis. O'Neill dkk.²⁶ berpendapat bahwa apoptosis pada KPKBSK terjadi secara independen dan tidak dimodulasi secara primer oleh Bcl-2. Ritter dkk.²⁷ menunjukkan bahwa tidak didapat hubungan bermakna masa tahan hidup 5 tahun pada semua kasus baik ekspresi protein Bcl-2 positif atau negatif. Anton dkk.²⁸ meneliti 427 pasien KPKBSK yang dibedah dan menyatakan bahwa imunoreaktivitas protein Bcl-2 tidak mempunyai nilai indikator prognostik independen. Kim dkk.¹⁶ meneliti 238 pasien KPKBSK dan melaporkan ekspresi protein Bcl-2 berhubungan dengan prognosis yang buruk. Berdasarkan penelitian meta-analisis yang dilakukan oleh Martin dkk tentang hubungan peran protein Bcl-2 sebagai faktor prognostik masa tahan hidup pasien kanker paru, didapatkan 11 penelitian dengan prognosis

yang lebih baik, 3 penelitian dengan prognosis yang buruk dan 14 penelitian tidak ada hubungan bermakna.²⁹

KESIMPULAN

1. Penelitian ini menunjukkan ekspresi protein Bcl-2 positif pada 4/43 (9.3%) pasien dan ekspresi protein Bcl-2 negatif pada 39/43 (90.7%) pasien.
2. Hubungan ekspresi protein Bcl-2 dengan faktor umur, jenis kelamin, riwayat merokok dan jenis histologis KPKBSK secara statistik tidak bermakna.
3. Pada status TNM, didapatkan bahwa ekspresi protein Bcl-2 secara statistik bermakna pada status T1-2 dan tidak bermakna pada status N dan M.
4. Tidak terdapat hubungan antara ekspresi protein Bcl-2 dengan prognosis penyakit.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chan DC, Soriano A, Kane MA, Helfrich B, Bunn PA. Biology of lung cancer. In: Hansen H, editors. Textbook of lung cancer. United Kingdom: Martin Dunitz Ltd; 2000.p.27-62.
2. Syahrudin E. Characteristic patients in Indonesian association for the study of lung cancer data. The 4th scientific respiratory medicine meeting. PIPKRA 2006 Departemen Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi FKUI.Jakarta 2006.p.81-5.
3. Singhal S, Vachani A, Ozerkis DA, Kaise LR, Albelda SM. Prognostic implications of cell cycle, apoptosis and angiogenesis biomarker in non small cell lung cancer: a review. Clin cancer Res 2005;11: 3974
4. Stancu M, King T, Maizel A. Molecular biology of lung cancer. In: Weitberg AB, Klastersky J editors. Cancer of the lung. New Jersey: Humana Press; 2002. p. 81-101.
5. Veripath oncodiagnostics. BCL 2. [cited on February 4th 2006]. Available from: <http://www.BCL2.htm>
6. Dang CV, Semenza GL. Oncogenesis alterations of metabolism. TIBS 1999; 24: 68-72.
7. Apoptosis. [cited on February 4th, 2006]. Available from:<http://www.apoptosis>. Green DR. Apoptotic pathways: Road to ruin. Cell. 1998; 94: 695-8
8. Huang DC, Adams JM, Corry S. The conserved N-terminal BH4 domain of Bcl-2 homologous is essential for inhibition of apoptosis and interaction with CED-4. Embo J 1998;17: 1029-39.
9. Yang E and Korsmeyer SJ. Molecular thanatopsis: A discourse on the Bcl-2 family and cell death. Blood 1996;88: 386-401.
10. Brambilla C, Fievet F, Jeanmart M, de Fraipont F, Lantuejoul S, Frappat V, et al. Early detection of lung cancer: role of biomarkers. Eur Respir J 2003; 21:S36-44.



11. Szabo E, Shaw GL. Intermediate markers and molecular genetics of lung carcinogenesis . [cited on February 4th 2006]. Available from: <http://www.karsinogenesis>.
12. Ohmura Y, Aoe M, Andou A, Shimizu N. Telomerase activity and Bcl-2 expression in non-small cell lung cancer. *Clin Can Res* 2000;6: 2980-7.
13. Han H, Landreneau RJ, Santucci TS, Tung MY, Macherey RS, Shackney SE, et al. Prognostic value of immunohistochemical expressions of p53, HER-2/neu and Bcl-2 in stage I non-small cell lung cancer. *Hum Pathol* 2002;33: 105-10
14. Singhal S, Vachani A, Ozerkis DA, Kaise LR, Albelda SM. Prognostic implications of cell cycle, apoptosis and angiogenesis biomarker in non small cell lung cancer: a review. *Clin cancer Res* 2005;11: 3974
15. Cox G, Walker RA, Muller S, Abrams KR, Steward WP, O'Byrne KJ. Does immunointensity account for the differences in prognostic significance of Bcl-2 expression in non-small cell lung cancer. *Pathol Oncol Res* 2000;6: 87-92.
16. Zhu CQ, Shih W, Ling CH, Tsao MS. Immunohistochemical markers of prognosis in non- small cell lung cancer: a review and proposal for a multiphase approach to marker evaluation. *J Clin Pathol* 2006;59: 790-800.
17. Pezzella F, Turley H, Kuzu I, Tungekar MF, Dunhhil MS, Pierce CB, et al. Bcl-2 protein in non small cell lung karsinoma. *N Engl J Med* 1993; 329: 690-4.
18. Mai H, May S, Gao F, Jin Z, Deng X. A functional role for nicotine in Bcl-2 phosphorylation and suppression of apoptosis. *J of Bio Chemistry* 2003;278: 1886-91.
19. Dasgupta P, Kinkade R, Joshi B, Decook C, Haura E, Chellappan S. Nicotine inhibits apoptosis induced by chemotherapeutic drugs by up regulating XIAP ang surviving. [cited on September 2008]. Available from: <http://www.pnas.org/content/103/16/6332>.
20. Lai RS, Wang JS, Hsu HK, Chang HC, Lin CH, Lin MH. Prognostic evaluation of the expression of p53 and Bcl-2 oncoprotein in patients with surgically resected non small cell lung cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2002;32:393-7.
21. Moldvay J, Scheid P, Wild P, Nabil K, Siat J, Borrelly J et all. Predictive survival markers in patients with surgically resected non-small cell lung carcinoma. *Clin Can Res* 2000;6: 1125-34.
22. Ohsaki Y, Eri T, Fujiuchi S, Matsui H, Hirata S, Miyokawa N, et al. Bcl-2 and p53 protein expression in non small cell lung cancers: correlation with survival time. *Clin Cancer Res* 1996;2: 915-20.
23. Higashiyama M, Doi O, Kodama K, Yokouchi H, Nakamori S, Tateishi R. Bcl-2 oncoprotein in surgically resected non-small cell lung cancer: possibly favorable prognostic factor in association with low incidence of distant metastasis. *J Surg Oncol* 1997;64: 48-54.
24. Dosaka-Akita H, Katabani M, Hommura H. Fujioka Y, Katoh H, Kawakami Y. Bcl-2 expression in non-small cell lung cancers: higher frequency of expression in squamous cell carcinomas with earlier pT status. *Oncology* 1999;56: 259-64.
25. Yoo J, Jung JH, Choi HJ, Kang SJ, Kang CS. The expression of c-myc, Bcl-2 and p53 proteins in adenocarcinomas of lung. *Can Research and treat* 2004;36: 146-50.



26. O neill AJ, Staunton MJ, Gaffney EF. Apoptosis occurs independently of Bcl-2 and p53 overexpression in non-small cell lung cancer. *Histopathology* 1996;29: 45-50.
27. Ritter JH, Dresler CM, Wick MR. Expression of Bcl-2 protein in stage T1N0M0 non-small cell lung carcinoma. *Hum Pathol* 1995;26: 1227-32.
28. Anton RC, Brown RW, Younes M, Gondo MM, Stephenon MA, Cagle PT. Absence of prognostic significance of Bcl-2 immunopositivity in non-small cell lung cancer: analysis of 427 cases. *Hum Pathol* 1997;28: 1079-82.
29. Martin B, Paesmans M, Berghmans T, Branie F, Ghisdal L, Meert AP, et al. Role of Bcl-2 as a prognostic factor for survival in lung cancer, a systematic review of the literature with meta-analysis. *Brithish J of Can* 2003;89: 55-64





Tabel Induk

NO	NAMA	MedRec	Blok Parafin	UMUR (TAHUN)	SEX	ROKOK (IB)	JENIS SEL KANKER	STAGING c/p				OPERASI (TANGGAL)	NEOADJUVANT		ADJUVANT		SURVIVAL (BULAN)	BCL-2
								T	N	M	STAGE		KEMO	RADIASI	KEMO	RADIASI		
1	Tn Praktiko Sujono	16	970388*	62	L	IB berat	KSS	T3/T3	N0/N2	M0/M0	IIB / IIIA	19/02/1997	(-)	(-)	(-)	(-)	12	(-)
2	Tn Farid Sonda	17	970288*	56	L	IB sedang	AdenoCa	T2/T3	N1/N2	M0/M0	IIB / IIIA	20/02/1997	(-)	(-)	(-)	(-)	7	(-)
3	Tn Idrus Muslim	20	970608*	44	L	IB sedang	KSS	T2/T2	N1/N2	M0/M0	IIB / IIIA	05/05/1997	(-)	(-)	(-)	Radiasi	14	(-)
4	Tn Nangat Tarigan	23	971075*	67	L	(-)	KSS	T3/T3	N0/N2	M0/M0	IIB / IIB	07/08/1997	(-)	(-)	(-)	(-)	18	(-)
5	Tn H Madi	26	980050	62	L	IB berat	KSS	T2-3/T3	N1/N2	M0/M0	IIIA / IIIA	21/12/1997	(-)	(-)	(-)	Radiasi	4	(-)
6	Tn Toman Hutasoid	29	980538*	61	L	IB sedang	KSS	T2/T2	N2/N2	M0/M0	IIIA / IIIA	03/10/1998	(-)	(-)	Kemoterapi	Radiasi	12	(-)
7	Tn R Muryanto	30	980502	40	L	IB sedang	KSS	T3/T3	N2/N2	M0/M0	IIIA / IIIA	16/03/1998	(-)	(-)	Kemoterapi	Radiasi	14	(-)
8	Tn Sismadi	32	980965*	57	L	IB sedang	AdenoCa	T3/T3	N0/N0	M0/M0	IIB / IIB	06/08/1998	(-)	(-)	Kemoterapi	(-)	11	(-)
9	Tn Tito Simbolon	35	980997*	39	L	IB sedang	KSS	T2/T1	N0/N0	M0/M0	IB / IA	13/07/1998	(-)	(-)	Kemoterapi	Radiasi	40	(-)
10	Ny Siti Wahyuni	36	981010	50	P	(-)	AdenoCa	T2/T2	N0/N0	M0/M0	IB / IB	13/07/1998	(-)	(-)	Kemoterapi	(-)	26	(-)
11	Tn Yohanes Apping	37	981861*	61	L	IB sedang	KSS	T2/T3	N0/N0	M0/M0	IIB / IIB	16/08/1998	(-)	(-)	(-)	(-)	27	(-)
12	Ny Sumarni	43	990206	40	P	(-)	KSS	T3/T3	N1/N2	M0/M0	IIIA / IIIA	02/01/1999	(-)	(-)	Kemoterapi	Radiasi	20	(-)
13	Ny Wowingling	44	990580	61	P	IB berat	AdenoCa	T3/T3	N2/N2	M0/M1	IIIA / IV	13/07/1999	(-)	(-)	Kemoterapi	Radiasi	10	(-)
14	Tn Yusuf Ramli	46	990912*	56	L	IB berat	AdenoCa	T3/T4	N2/N2	M0/M0	IIIA / IIB	21/05/1999	(-)	(-)	(-)	Radiasi	11	(-)
15	Tn Ms Sidabutar	47	991033*	52	L	IB sedang	KSS	T2/T3	N0/N2	M0/M0	IB / IIIA	21/06/1999	(-)	(-)	(-)	(-)	12	(-)
16	Tn Nasri	52	200140*	59	L	IB berat	KSS	T3/T3	N1/N1	M0/M0	IIIA / IIIA	01/10/2000	(-)	(-)	(-)	Radiasi	14	(-)
17	Tn Barita	53	200456*	51	L	IB sedang	KSS	T3/T3	N0/N0	M0/M0	IIB / IIB	03/08/2000	(-)	(-)	Kemoterapi	Radiasi	25	(-)
18	Tn Edwin	54	200522*	55	L	IB sedang	KSS	T3/T3	N0/N1	M0/M0	IIB / IIIA	04/07/2000	(-)	(-)	Kemoterapi	Radiasi	15	(-)
19	Tn Arief Ayahbudi	55	201023*	56	L	IB sedang	AdenoCa	T2/T3	N1/N2	M0/M0	IIB / IIIA	07/06/2000	(-)	(-)	(-)	Radiasi	12	(-)
20	Tn Jauhari	56	201141*	46	L	IB berat	AdenoCa	T3/T3	N2/N2	M0/M0	IIIA / IIIA	08/02/2000	(-)	(-)	(-)	(-)	5	(-)
21	Ny Euis Suhaemi	57	10126*	61	P	(-)	KSS	T1/T1	N1/N1	M0/M0	IIA / IA	01/02/2001	(-)	(-)	Kemoterapi	(-)	28	(+)
22	Tn JB Suhari	61	11643*	70	L	IB sedang	KSS	T2/T2	N2/N2	M0/M0	IIIA / IIIA	01/06/2001	(-)	(-)	Kemoterapi	(-)	12	(+)
23	Ny Tihayah	5482	30531*	54	P	(-)	KSS	T3/T3	N0/N0	M0/M0	IIB/IIB	01/06/2003	(-)	(-)	kemoterapi	Radiasi	12	(-)
24	Ny Sofiah	832834	41199*	45	P	(-)	AdenoCa	T3/T3	N0/N2	M0/M0	IIB / IIIA	30/9/2004	(-)	(-)	Kemoterapi	Radiasi	20	(-)
25	Tn Mas Agus	139320	40068*	56	L	IB sedang	AdenoCa	T3/T3	N0/N0	M0/M0	IIB/IIB	20/1/2004	(-)	(-)	Kemoterapi	Radiasi	10	(-)
26	Ny Mariana	859620	50290*	61	P	(-)	AdenoCa	T1/T1	N0/N0	M0/M0	IA / IA	03/03/2005	(-)	(-)	(-)	(-)	41	(-)
27	Ny Samino	887661	51165*	47	P	IB ringan	AdenoCa	T1/T1	N0/N0	M0/M0	IA / IA	08/03/2005	(-)	(-)	(-)	(-)	26	(-)
28	Ny Dasrah	885672	51119*	52	P	IB ringan	AdenoCa	T2/T4	N0/N2	M0/M0	IB / IIB	26/07/2005	(-)	(-)	Kemoterapi	(-)	1	(-)
29	Tn H Hudjaeni	879325	50770*	66	L	IB ringan	AdenoCa	T2/T2	N0/N2	M0/M1	IB / IV	31/5/2005	(-)	(-)	Kemoterapi	Radiasi	39	(-)
30	Ny Tina Venny	955351	61629**	57	P	(-)	AdenoCa	T2/T2	N0/N0	M0/M0	IB / IB	25/07/2006	(-)	(-)	Kemoterapi	Radiasi	25	(-)
31	Tn Ahmadi	969121	61697*/061714*	66	L	IB berat	AdenoCa	T3/T3	N0/N0	M0/M0	IIB / IIB	09/02/2006	(-)	(-)	Kemoterapi	Radiasi	17	(-)
32	Ny Salamah	975852	61734*	52	P	(-)	KSS	T3/T3	N0/N0	M0/M0	IIB / IIB	10/03/2006	(-)	(-)	Kemoterapi	(-)	29	(-)
33	Tn Zulkarim	971380	61620*	66	L	IB ringan	KSS	T2/T2	N0/N0	M0/M0	IB / IB	19/09/2006	(-)	(-)	(-)	Radiasi	3	(-)
34	Tn Tertius	1027010	70684*	72	L	IB sedang	AdenoCa	T3/T3	N0/N0	M0/M0	IIB / IIB	04/12/2007	(-)	(-)	(-)	(-)	8	(-)
35	Tn Sutarto	1068861	71787**	56	L	IB berat	AdenoCa	T2/T2	N0/N1	M0/M0	IB / IIB	25/09/2007	(-)	(-)	Kemoterapi	(-)	11	(-)
36	Ny dr. Elise Ka Sakean	1069314	72013*	63	P	(-)	AdenoCa	T1/T1	N0/N0	M0/M0	IA / IA	13/11/2007	(-)	(-)	(-)	(-)	9	(+)
37	TN R Sulisty	1047570	71522*	51	L	(-)	AdenoCa	T2/T2	N0/N0	M0/M0	IIB / IIB	14/8/2007	(-)	(-)	(-)	(-)	12	(-)
38	Ny Vera Herawati	1054095	71771*	54	P	(-)	AdenoCa	T2/T4	N0/N1	M0/M0	IIB / IV	20/09/2007	(-)	(-)	Kemoterapi	(-)	3	(-)
39	Tn Gunawan	1040731	71355*	53	L	IB berat	AdenoCa	T2/T2	N0/N1	M0/M0	IB / IIB	19/07/2007	(-)	(-)	Kemoterapi	(-)	13	(+)
40	Tn Simatupang	810319	40568*	64	L	IB sedang	AdenoCa	T2/T2	N0/N1	M0/M0	IB / IIB	19/07/2007	(-)	(-)	(-)	(-)	11	(-)
41	Tn HC Simanjuntak	106196	601254	71	L	IB sedang	AdenoCa	T3/T4	N0/N0	M0/M1	IIB / IV	10/04/2007	(-)	(-)	(-)	Radiasi	5	(-)
42	Tn Sariyoto	1064219	71841*	46	L	IB sedang	AdenoCa	T3/T4	N0/N2	M0/M0	IIB / IIB	02/12/2007	(-)	(-)	Kemoterapi	(-)	8	(-)
43	Tn Abd Gawi	1076165	080270/274*	58	L	IB berat	AdenoCa	T3/T4	N0/N2	M0/M0	IIB / IIB	12/02/2008	(-)	(-)	Kemoterapi	(-)	6	(-)



