

Klasifikasi Citra Imunohistokimia Sel Kanker Payudara HER2 Skore 1+ dan 3+

Ause labellapansa¹, Izzati Muhimmah², Indrayanti³

^{1,2}Jurusan Teknik Informatika Universitas Islam Indonesia
Jl. Kaliurang km 14 Yogyakarta

³Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

ause_labella@yahoo.com¹, izzati@uii.ac.id², indrayantissn@yahoo.co.id³

Abstract. Penyakit kanker payudara merupakan penyakit berbahaya yang terjadi akibat pertumbuhan sel-sel yang tidak terkontrol yang dapat menyebar ke bagian lain di tubuh⁶. Salah satu metode pemeriksaan terhadap sel kanker payudara adalah menggunakan Immunohistochemistry atau IHC. Pemeriksaan IHC pada sel kanker payudara yang terdiri dari skore 0, 1+, 2+ dan 3+ digunakan untuk mengetahui keberadaan dan status protein HER2 yang bertanggung jawab untuk mengatur proses pertumbuhan dan pembelahan sel. Berdasarkan hasil skore pemeriksaan IHC HER2 dapat diketahui prognosis kanker serta terapi yang tepat seperti pemberian *targeted therapy* dengan menggunakan Herceptin (trastuzumab) maupun terapi kombinasi lainnya. Pengolahan citra digital yang dilakukan merupakan studi awal yang digunakan untuk mengenal karakteristik citra IHC HER2 1+ dan 3+. Hal ini dilakukan mengingat skore 0 merupakan sel negatif HER2 yang tidak memberikan perbedaan intensitas pewarnaan terhadap sel dan skore 2+ yang memiliki hasil *equivocal* yang berarti belum bisa ditentukan apakah perlu diberi *targeted therapy* atau tidak sehingga diperlukan pemeriksaan lain menggunakan CISH (Chromogenic In Situ Hybridization) atau FISH (Flourescence In Situ Hybridization). Pengolahan citra dilakukan dengan menggunakan median filtering, mengenakan operasi Brown⁷ dan melakukan segmentasi *thresholding* untuk memperoleh karakteristik citra sehingga dapat dilakukan klasifikasi skore IHC HER2 1+ dan 3+.

Keywords:Imunohistokmia (IHC), skore IHC, median filter, operasi Brown, segmentasi *thresholding*

1 Pendahuluan

Penyakit kanker payudara merupakan penyakit berbahaya yang terjadi akibat pertumbuhan sel-sel yang tidak terkontrol yang dapat menyebar ke bagian lain di tubuh³. Prevelensi penyakit kanker payudara ini telah menduduki peringkat tertinggi di dunia yang terjadi pada wanita diikuti oleh kanker serviks dan kanker usus³. Di Indonesia sendiri, kanker payudara ini menempati peringkat teratas yang terjadi pada wanita⁴.

Prognosis terhadap kanker dan terapi yang akan digunakan dalam mengatasi kanker payudara sangat penting untuk diketahui oleh penderita kanker dan dokter. Salah satu metode yang dapat memberikan prognosis dan jenis terapi terhadap kanker payudara adalah dengan menggunakan *Immunohistochemistry* yang biasa disingkat dengan IHC. IHC merupakan suatu teknik yang digunakan untuk mengidentifikasi molekul tertentu seperti protein dalam suatu jaringan dengan memanfaatkan prinsip pengikatan antibodi⁵. IHC pada kanker payudara digunakan untuk mengetahui keberadaan dan status protein HER2/neu pada payudara. Protein HER2/neu atau disebut juga reseptor HER2 akan dijumpai pada setiap payudara dan bertanggung jawab untuk mengatur proses pertumbuhan dan pembelahan sel. Namun pertumbuhan sel HER2/neu yang tidak normal dan berlebihan (*overekspresi*) akan mengakibatkan sel tumbuh dan membelah menjadi jauh lebih cepat. Keadaan inilah yang disebut dengan kanker payudara positif HER2 yang merupakan kanker payudara agresif.

Berdasarkan hasil skore pemeriksaan IHC HER2 dapat diketahui prognosis kanker serta terapi yang tepat yang diberikan seperti pemberian *targeted therapy* dengan menggunakan Herceptin

(trastuzumab) maupun terapi kombinasi lainnya. Skore HER2 dengan IHC terdiri dari 0/1+ yang menandakan bahwa jaringan tersebut negatif tidak memiliki protein HER2 yang overekspresi, skore 2+ menandakan adanya *equivocal* dimana hasil skore tersebut belum bisa menentukan apakah perlu diberi *targeted therapy* atau tidak sehingga diperlukan pemeriksaan lain dengan menggunakan CISH (*Chromogenic In Situ Hybridization*) atau FISH (*Flourescence In Situ Hybridization*) dan skore 3+ yang menandakan bahwa jaringan tersebut positif memiliki HER2 yang overekspresi². Adapun skore dan klasifikasi IHC HER2 dijelaskan pada Tabel 1.

Table 1. Skore dan Klasifikasi HER2²

<i>Skore IHC</i>	<i>Pola Pengecatan IHC</i>	<i>Klasifikasi</i>
0	Tidak ada pewarnaan membran	Negatif
1+	pewarnaan membran tidak lengkap (<10%) dan lemah	Negatif
2+	Pewarnaan membran lengkap tapi tidak seragam atau lemah setidaknya sebesar 10% tapi kecil atau sama dengan 30%	Equivocal
3+	Pewarnaan intensitas membran seragam dengan nilai > 30% sel kanker	Positif HER2

Teknik IHC untuk mengetahui status protein HER2/neu ini dilakukan dengan menggunakan mikroskop oleh dokter spesialis patologi anatomi. Menurut Ketua Umum Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia periode 2003-2006, Prof. dr. H. Achmad Tjarta SpPA(K) melalui Suara Merdeka Online Semarang tahun 2006 menyatakan bahwa jumlah patologi anatomi saat ini hanya sekitar 287 orang dan itu pun tersebar di seluruh Indonesia. Hal ini menjadi kendala tersendiri mengingat untuk membaca hasil HER2 IHC ini, terkadang seorang patologi anatomi kesulitan dalam menentukan skore HER2² dan mengandung subjektifitas yang tinggi¹.

Berdasarkan permasalahan di atas, maka dilakukan penelitian dengan memanfaatkan bantuan komputer menggunakan pengolahan citra digital hasil foto mikroskopis sel kanker payudara yang diambil oleh dokter spesialis patologi anatomi untuk mendapatkan skore IHC HER2 secara otomatis. Penelitian ini menganalisis citra dengan skore IHC 1+ dan 3+. Hal ini dilakukan mengingat skore 0 tidak memberikan perbedaan intensitas pewarnaan terhadap sel karena merupakan sel yang negatif HER2 dan skore 2+ yang perlu dilakukan pemeriksaan dengan teknik CISH atau FISH. Pada citra dengan skore IHC 1+ akan diketahui karakteristik pewarnaan membran yang lemah dan tidak lengkap (<10%) sementara skore 3+ menandakan karakteristik pewarnaan membran yang kuat $\geq 30\%$.

2 Tujuan penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan sebuah aplikasi guna mengetahui karakteristik citra sel kanker dan persentase area sel kanker citra payudara IHC HER2 skore 1+ dan 3+ sehingga dapat dilakukan klasifikasi citra IHC skore 1+ dan 3+ secara otomatis.

3 Dasar teori

3.1 Median Filtering

Filtering pada citra digunakan untuk mengurangi adanya noise pada citra yang bisa saja disebabkan oleh adanya debu pada citra, kamera yang tidak fokus ataupun pencahayaan yang tidak merata. Median filter sendiri merupakan filter spasial yang hasilnya berdasarkan pada pengurutan nilai piksel yang dilingkupi oleh filter yang ditentukan oleh nilai median dari setiap piksel. Sebagai contoh jika diberikan citra dengan ukuran 3x3 dengan nilai intensitas (5 3 4; 6 7 3; 3 5 1) maka langkah yang dilakukan di mulai dari mengurutkan nilai piksel dalam tetangga menjadi (1 3 3 3 4 5 5 6 7) kemudian menentukan nilai mediannya yaitu 4 sehingga citra menjadi (5 3 4; 6 4 3; 3 5 1).

3.2 Operasi Brown

Citra yang digunakan saat pemeriksaan IHC HER2 menggunakan dua macam pewarna yaitu pewarna Hematoxylin (H) dan pembangkit substrat Diaminobenzidine (DAB). Hasil pewarnaan IHC pada sel HER2 akan memberikan warna yang berbeda sesuai dengan pewarna yang digunakan. Pada pewarna H akan terlihat warna biru dan pada pewarna DAB akan memberikan warna coklat gelap pada sel yang terikat. Ruifrok tahun 1997 membuat formula Brown dimana semua piksel pada citra dikenakan operasi Brown sehingga piksel yang berwarna coklat akan lebih kelihatan. Formula tersebut merupakan penggunaan translasi dari nilai RGB citra. Adapun formula yang digunakan oleh Ruifrok tertuang dalam persamaan (1) yaitu:

$$\text{Brown} = \text{Blue} - 0.3 * (\text{Red} + \text{Green}) \quad (1)$$

Contoh gambar citra untuk skore IHC HER2 1+ dan 3+ dapat di lihat pada Fig.1. Skore 1+ memberikan pewarnaan membran berwarna coklat tidak lengkap dan lemah dan skore 3+ memberikan intensitas pewarnaan membran coklat yang seragam.

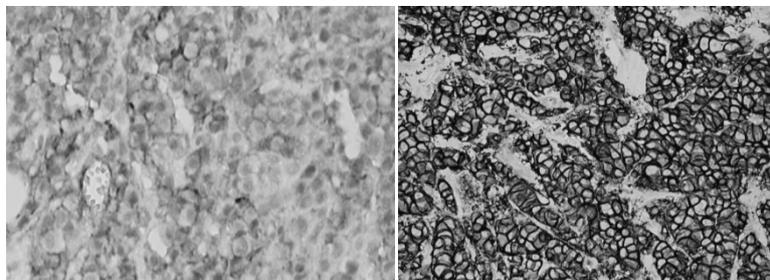


Fig. 1. Contoh Citra Mikroskopik IHC HER2 Skore 1+ (kiri) dan 3+ (kanan)

3.3 Segmentasi Ambang Batas

Segmentasi citra merupakan proses mendapatkan objek yang terkandung di dalam citra menjadi beberapa daerah yang homogen⁸. Segmentasi dalam penelitian ini menggunakan nilai threshold manual sehingga dapat dipisahkan antara objek dan latar belakangnya. Piksel diberi nilai 1 merupakan objek dan piksel diberi nilai 0 untuk latar belakang.

3.4 Perhitungan Persentase Area Positif HER2

Untuk menghitung persentase area coklat digunakan persamaan (2) yaitu membagi jumlah total piksel yang berwarna coklat dengan total luas area citra :

$$\text{Persentase area} = \text{jumlah piksel coklat} / \text{total area citra} \tag{2}$$

4 Metodologi Penelitian

Data citra pemeriksaan sel kanker payudara HER2 dengan menggunakan teknik IHC diperoleh dari laboratorium patologi anatomi. Proses mendapatkan citra dimulai dari pengambilan contoh jaringan kanker payudara pasien yang di lihat di bawah lensa mikroskop Nikon model Eclipse E600W dengan perbesaran 400x yang dilakukan oleh dokter spesialis patologi anatomi. Sel yang telah di ambil di cat dengan menggunakan Hematoxylin (H) dan pembangkit substrat Diaminobenzidine (DAB). Reaksi ikatan yang terjadi antara sel dan pewarna mengakibatkan sel menjadi berwarna biru dan sel positif kanker menjadi berwarna coklat. Dari sinilah kemudian dilakukan pengambilan foto citra. Citra yang diperoleh merupakan citra warna dengan kedalaman warna 24 bit per piksel dan ukuran luas citra adalah 1280x960.

Data citra IHC skore 1+ maupun 3+ yang digunakan sebanyak masing-masing 15 citra dan sebagian digunakan untuk data palatihan dan sebagian lagi untuk data uji. Adapun langkah-langkah yang dilakukan dalam penelitian ini di gambarkan pada Fig 2 dengan penjelasan sebagai berikut:

1. Proses input citra RGB
2. Melakukan filtering terhadap citra untuk mengurangi noise dengan menggunakan median filtering
3. Citra yang telah di filter dikenakan operasi Brown dengan menggunakan persamaan (1) sehingga diperoleh area citra dengan pemisahan H dan DAB secara lebih baik. Hasil operasi Brown ini akan memberikan citra 1 channel bukan lagi citra RGB
4. Melakukan segmentasi citra hasil operasi Brown sehingga area coklat memiliki nilai 1
5. Berdasarkan hasil segmentasi dilakukan perhitungan jumlah area coklat untuk memperoleh persentase area warna coklat dengan menggunakan persamaan (2). Jika warna coklat memenuhi kualifikasi skore HER2 3+ pada Tabel 1, berarti sel kanker tersebut merupakan sel yang positif memiliki overekspresi protein HER2 yang menandakan bahwa prognosis pasien tidak baik dan pengobatan *targeted therapy* dengan menggunakan Herceptin (trastuzumab) maupun terapi kombinasi lainnya bisa diberikan dan sebaliknya jika warna coklat yang ditimbulkan akibat reaksi ikatan yang terjadi sangat sedikit menandakan bahwa sel kanker payudara tersebut negatif overekspresi protein HER2 sehingga pengobatan *targeted therapy* tidak bisa diberikan.

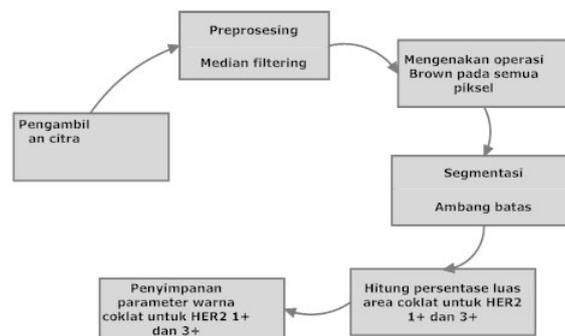


Fig. 2. Bagan Proses Penelitian

5 Hasil dan Pembahasan

5.1 Data Latih Citra

Dari 15 data citra untuk IHC HER2 1+ dan 15 data IHC HER2 3+, maka digunakan 12 data sebagai data latih dan 3 data untuk data uji. Contoh tahapan preprosesing dengan median filter dilanjutkan dengan operasi Brown dan segmentasi dengan threshold 40 sehingga hasil segmentasi hanya memiliki nilai 0 dan 1 kemudian dihitung persentase jumlah area coklat terhadap ukuran citra diperlihatkan pada Fig. 3 untuk IHC HER2 1+ dan Fig.4 untuk IHC HER2 3+.

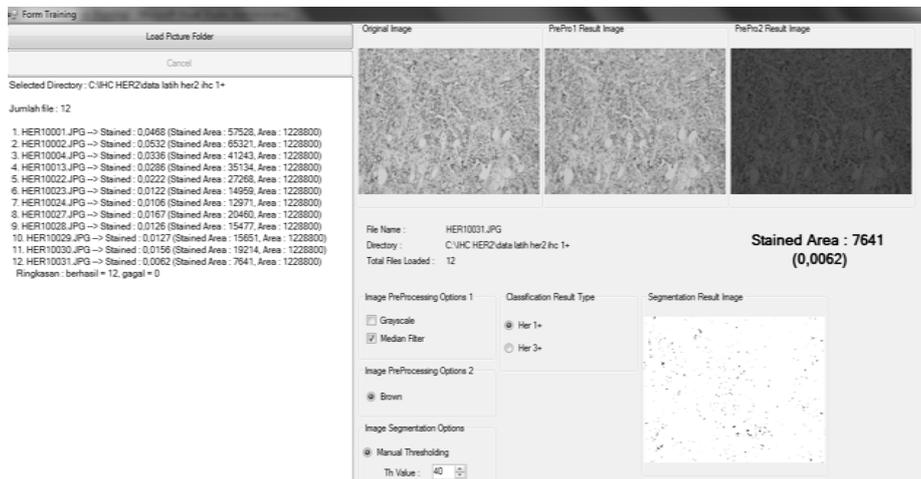


Fig. 3. Citra Hasil Preprosesing dengan Median Filter dan Segmentasi IHC HER2 1+

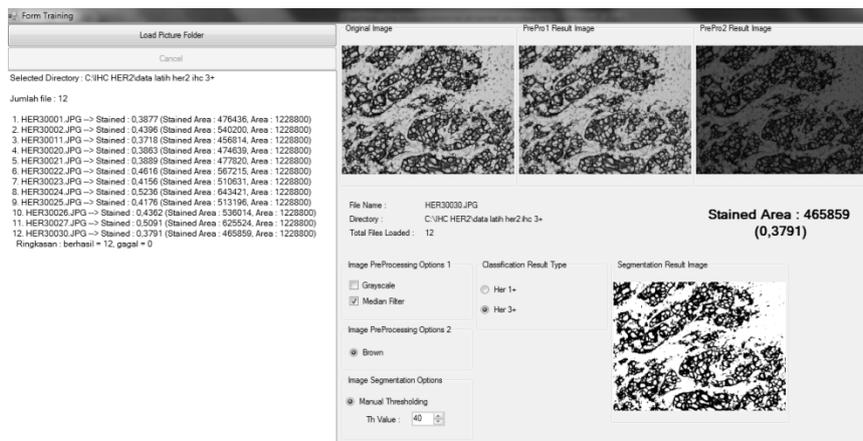


Fig. 4. Citra Hasil Preprosesing dengan Median Filter dan Segmentasi IHC HER2 3+

Dari data latih dengan menggunakan 12 citra IHC HER2 1+ memiliki hasil jumlah piksel area coklat berada pada nilai 7641-65321 ditunjukkan pada Tabel 2. Data latih untuk 12 citra IHC HER2 3+ dengan hasil jumlah piksel area coklat berada pada nilai 252382-554669 ditunjukkan pada Tabel 3.

Dari keseluruhan citra IHC HER2 1+ yang ditunjukkan pada Tabel 2 diperoleh persentase area coklat memiliki persentase area coklat < 10 % sesuai dengan persyaratan yang diberikan pada Tabel 1. Pada citra yang ke-12 di peroleh hasil persentase yaitu 0,62%, hal ini menandakan bahwa membran sel yang

berwarna coklat sangat sedikit yang berarti bahwa sel tersebut negatif memiliki overekspresi protein HER2

Table 2. Hasil Pelatihan Citra IHC HER2 1+

<i>Citra ke :</i>	<i>Jumlah luas area citra</i>	<i>Jumlah piksel area coklat objek 1+</i>	<i>Persentase area coklat terhadap total area citra</i>
1	1228800	57528	4,68 %
2	1228800	65321	5,32 %
3	1228800	41243	3,36 %
4	1228800	35134	2,86 %
5	1228800	27268	2,22 %
6	1228800	14959	1,22 %
7	1228800	12971	1,06 %
8	1228800	20460	1,67 %
9	1228800	15477	1,26 %
10	1228800	15651	1,27 %
11	1228800	19214	1,56 %
12	1228800	7641	0,62 %

Dari keseluruhan citra IHC HER2 3+ yang ditunjukkan pada Tabel 3 diperoleh persentase area coklat memiliki persentase area coklat $\geq 30\%$ sesuai dengan persyaratan yang diberikan pada Tabel 1. Hal ini menandakan bahwa sel kanker payudara pasien positif memiliki overekspresi protein HER2.

Table 3. Hasil Pelatihan Citra IHC HER2 3+

<i>Citra ke :</i>	<i>Jumlah luas area citra</i>	<i>Jumlah piksel area coklat objek 3+</i>	<i>Persentase area coklat terhadap total area citra</i>
1	1228800	476436	38,77 %
2	1228800	540200	43,96 %
3	1228800	456814	37,18 %
4	1228800	474639	38,63 %
5	1228800	477820	38,89 %
6	1228800	567215	46,16 %
7	1228800	510631	41,56 %
8	1228800	643421	52,36 %
9	1228800	513196	41,76 %
10	1228800	536014	43,62 %
11	1228800	652254	53,08 %
12	1228800	465859	37,91 %

5.2 Uji Citra

Pengujian dilakukan terhadap masing-masing 3 buah citra IHC HER2 1+ dan IHC HER2 3+. Pada Fig.5 diberikan contoh pengujian dengan melakukan input citra IHC HER2 3+ dan aplikasi mampu memberikan hasil klasifikasi skor secara benar. Secara keseluruhan hasil pengujian kepada 6 citra memberikan hasil bahwa untuk masing-masing citra uji dapat terklasifikasi memiliki skor IHC HER2 1+ dan 3+ secara benar.

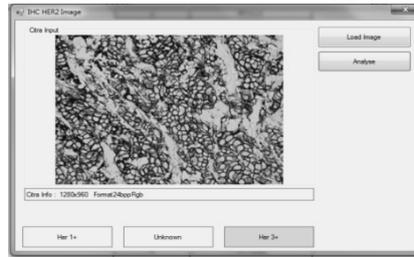


Fig. 5. Contoh Pengujian Citra IHC HER2

6 Kesimpulan

Penelitian ini merupakan studi awal untuk mengenali karakteristik citra IHC HER2 score 1+ dan 3+. Dari pengamatan dengan menggunakan 30 citra RGB berukuran 1280x960 diperoleh hasil bahwa citra IHC HER2 1+ memiliki nilai jumlah piksel coklat 7641-65321 dan citra IHC HER2 3+ memiliki nilai jumlah piksel coklat 252382-554669. Persentase jumlah area diperoleh melalui pembagian jumlah area coklat dengan ukuran citra sehingga diperoleh hasil persentasi $<10\%$ untuk citra IHC HER2 1+ dan $\geq 30\%$ untuk IHC HER2 3+. Berdasarkan rentang jumlah piksel coklat yang diperoleh, maka hasil pengujian terhadap 6 buah citra uji dapat terklasifikasi memiliki score IHC HER2 1+ dan 3+ secara benar.

Penelitian ini akan dilanjutkan dengan menggunakan metode *color deconvolution* dimana citra akan di pisah-pisahkan ke dalam 3 channel RGB yang menampilkan pemisahan citra yang di cat dengan H dan DAB sehingga dapat diketahui persentase area sel yang positif kanker terhadap area sel yang negatif secara lebih akurat.

7 Referensi

1. Briigmann, A. d., Eld, M., Lelkaitis, G., Nielsen, S., Grunkin, M., Hansel, D. J., Foged, T. N., Vyberg, M. (2012). Digital Image Analysis of Membrane Connectivity is a Robust Measure of HER2 Immunostains. *Breast Cancer Res Treat, Springer*, 41-49.
2. Dobson, L. d., Conway, C., Hanley, A., Johnson, A., Costello, S., O'Grady, A., Connolly, Y., Magee, H., O'Shea, D., Jeffers, M., Kay, E. (2010). Image Analysis as an Adjust to Manual HER2 Immunohistochemical Review: a Diagnostic Tool to Standardize Interpretation. *Histopathology*, 27-38.
3. GLOBOCAN. (2010). Globocan 2008. Retrieved April 26, 2013, from <http://globocan.iarc.fr/factsheets/populations/factsheet.asp?uno=900#WOMEN>
4. Kimman, M. d. (2012). The Burden of Cancer in Member Countries of the Association of Southeast Asian Nations (ASEAN). *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention vol. 13*, 411-420.
5. NCI. (2013). *National Cancer Institute Dictionary of Cancer Terms*. Retrieved April 26, 2013, from <http://www.cancer.gov/dictionary?cdrid=653117>
6. Pamungkas, Z. (2011). *Deteksi Dini Kanker Payudara*. Jogjakarta: Bukubiru.
7. Ruifrok, AC (1997). Quantification of Immunohistochemical Staining by Color Translation and Automated Thresholding. *Anal Quant Cytol Histol* 19:107-113
8. Sutoyo, T. d., dkk. (2009). *Teori Pengolahan Citra Digital*. Yogyakarta: Andi Yogyakarta dan UDINUS Semarang.