

Penggunaan Pulasan Immunohistokimia p53, Ki67 dan *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) dalam Membedakan Adenokarsinoma Serosum Ovarium Tipe I (*Low grade*) dan Tipe II (*High grade*)

Hartono Tjahjadi, Tantri Hellyanti

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia
 Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Dr. Cipto Mangunkusumo
 Jakarta

ABSTRAK

Latar belakang

Adenokarsinoma serosum ovarium tipe II (*high grade*) lebih sering ditemukan dibandingkan tipe I (*low grade*). Tumor tipe II bersifat agresif, namun lebih sensitif kemoterapi. Hal sebaliknya terjadi pada tumor tipe I. Mutasi p53 berperan dalam patogenesis berbagai jenis keganasan, termasuk organ genitalia wanita. Ki67 terlibat dalam semua fase aktif pada siklus sel (G1, S, G2 dan mitosis). EGFR mengaktifkan jalur sinyal yang menginduksi onkogenesis dan proliferasi sel. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui peran p53, Ki67 dan EGFR dalam patogenesis adenokarsinoma serosum ovarium dan peluang penggunaannya sebagai alat bantu diagnostik untuk membedakan tumor tipe I dan tipe II.

Metode

Penelitian observasional analitik potong lintang, pada 25 kasus adenokarsinoma serosum ovarium dari arsip Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM 2011-2013, dengan bahan blok parafin. Dilakukan pulasan immunohistokimia p53, Ki67 dan EGFR dengan metode *indirect*. Pada kedua kelompok dihitung dan dibandingkan persentase positività pulasan inti p53 dan Ki-67, serta *H score* ekspresi EGFR.

Hasil

Median ekspresi p53, Ki67 dan *H score* EGFR pada kelompok tipe I adalah 15 (4-50), 15 (5-30), dan 46,5 (30-180); sedangkan pada tipe II adalah 80 (0-90), 20 (10-60), dan 40 (0-160). Perbandingan ekspresi p53, Ki67 dan *H score* EGFR pada kedua kelompok tumor: $p=0,03, 0,37$ dan $0,05$.

Kesimpulan

Protein p53 berperan penting dalam patogenesis adenokarsinoma serosum ovarium tipe II (*high grade*). Ekspresi p53 dapat digunakan untuk membedakan adenokarsinoma serosum tipe II dari tipe I, sedangkan ekspresi Ki67 maupun EGFR tidak.

Kata kunci: adenokarsinoma serosum, EGFR, Ki-67, ovarium, p53.

ABSTRACT

Background

Serosum ovarian adenocarcinoma type II (*high grade*) is more common than type I (*low grade*). Type II tumors are aggressive, but more sensitive to chemotherapy. The opposite occurs in tumor type I. p53 mutation plays a role in the pathogenesis of a variety of malignancies, including female genital organs. Ki67 actively involved in all phases of the cell cycle (G1, S, G2 and mitosis). EGFR activate signaling pathways that induce oncogenesis and cells proliferation. The aim of this study are to determine the role of p53, Ki67 and EGFR in the pathogenesis of serosum ovarian adenocarcinoma and to determine the possibilities to use them as diagnostic tool to differentiate tumor type I and type II.

Methods

A consecutive cross-sectional observational study, in 25 cases of serosum ovarian adenocarcinoma from archives in Department of Anatomical Pathology Faculty of Medicine University of Indonesia/RSCM 2011-2013, with material paraffin blocks. Indirect immunohistochemical staining of p53, Ki67 and EGFR were performed. Results in both groups were calculated and compared the percentage of core outward positivity p53 and Ki-67, and H scores EGFR expression.

Results

Median expression of p53, Ki67 and EGFR score in group H type I was 15 (4-50), 15 (5-30), and 46.5 (30-180); where as in type II was 80 (0-90), 20 (10-60), and 40 (0-160). Comparison of expression of p53, Ki67 and H score of EGFR in both tumor groups: $p=0.03, 0.37$ and 0.05 .

Conclusions

P53 protein plays an important role in the pathogenesis of type II serosum ovarian adenocarcinoma (*high grade*). P53 expression can be used to distinguish the type II adenocarcinoma serosum of type I, neither the EGFR nor Ki-67 expressions can be used.

Key words : EGFR, Ki67, ovarian, p53, serosum adenocarcinoma.

PENDAHULUAN

Kanker ovarium merupakan salah satu penyebab utama kematian wanita di dunia akibat kanker ginekologik, terutama di dunia barat.¹⁻³ Data histopatologik Badan Registrasi Kanker Indonesia tahun 2009 menyatakan kanker ini menempati urutan kelima dari seluruh keganasan atau urutan ketiga dari keganasan pada wanita setelah organ payudara dan leher rahim.⁴ Fase reproduktif panjang tanpa diselingi kehamilan, penggunaan esterogen sebagai terapi sulih hormon pada wanita pasca menopause, dan adanya mutasi *BRCA* meningkatkan risiko kejadian kanker ini.^{1,5} *Grade* histologik merupakan faktor prognosis penting pada adenokarsinoma serosum ovarium.³

Dualistik model karsinogenesis adenokarsinoma serosum ovarium membagi jalur patogenesis neoplasma ini ke dalam tipe I dan tipe II. Adenokarsinoma serosum yang terjadi melalui jalur tipe I umumnya merupakan tumor yang bersifat indolen, terdiagnosis pada stadium awal saat tumor masih terbatas di ovarium, dengan gambaran histologik *low grade* dan *survival rate* yang lebih baik dibandingkan adenokarsinoma serosum pada jalur tipe II. Tumor ini sering ditandai dengan mutasi *KRAS* dan *BRAF*. Adenokarsinoma serosum *low grade* berkembang dari tumor serosum jinak dan tumor serosum *borderline*, sesuai teori karsinogenesis multistep. Dibandingkan tumor tipe II, kelompok ini sering menunjukkan resistensi terhadap berbagai regimen kemoterapi.^{3,5-7}

Adenokarsinoma serosum yang terjadi melalui jalur tipe II bersifat lebih agresif, umumnya baru terdeteksi saat tumor telah mencapai stadium lanjut, dengan gambaran histologik *high grade*. Pasien umumnya berusia lebih tua daripada pasien tipe I. Kelainan genetik yang sering ditemukan adalah mutasi gen *p53*. Keganasan ovarium yang melalui jalur ini diduga terjadi secara *de novo*. Sebagian kasus adenokarsinoma serosum *high grade* diperkirakan memiliki lesi prekursor di tuba fallopii.^{5,7,8} Kelompok ini umumnya lebih berespon terhadap regimen kemoterapi standar.^{3,5,6}

Protein *p53* berperan sebagai gen suppressor tumor dan faktor transkripsi. Aktivasi *p53* pada saat ada kerusakan DNA atau sinyal stress lain akan memicu terhentinya siklus sel serta terjadinya apoptosis dan *repair* DNA. Mutasi gen *p53* merupakan perubahan molekular tersering keganasan pada manusia dan

sejauh ini paling banyak diteliti. Mutasi ini dapat ditemukan misalnya pada karsinoma paru dan kolorektal. Pulasan imunohistokimia (IHK) *p53* dapat digunakan sebagai *surrogate marker* mutasi gen *p53*.⁹

Ki67 merupakan antigen nuklear yang berhubungan dengan proliferasi sel. Ki67 terlibat dalam semua fase aktif pada siklus sel (G1, S, G2 dan mitosis), namun tidak pada fase G0. Pulasan IHK Ki67 digunakan untuk menentukan tingkat kecepatan proliferasi sel tumor.^{7,10}

EGFR merupakan bagian dari keluarga HER atau ErbB, suatu reseptor tirosin kinase yang berperan dalam berbagai sinyal intraselular, yaitu jalur Ras/Raf/MAPK, STAT, PI3K/Akt dan Src kinase. EGFR berperan dalam meningkatkan proliferasi sel, angiogenesis, serta menghambat apoptosis. EGFR tereksresi pada banyak jenis tumor solid dan overekspressinya berkaitan dengan prognosis yang buruk. Para peneliti menduga EGFR juga terlibat dalam patogenesis kanker ovarium. Disregulasi EGFR dapat terjadi karena overeksresi EGFR, overeksresi ligan, heterodimerisasi, penurunan fosfatase, serta adanya EGFR mutan.^{6,11}

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui peran *p53*, Ki67 dan EGFR dalam patogenesis adenokarsinoma serosum ovarium dan peluang penggunaannya sebagai alat bantu diagnostik untuk membedakan tumor tipe I dan tipe II.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Imunopatologi Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM pada bulan Oktober hingga November 2014. Desain penelitian adalah observasional analitik potong lintang. Populasi target penelitian adalah kasus adenokarsinoma serosum ovarium. Populasi terjangkau adalah sediaan dengan diagnosis adenokarsinoma serosum ovarium di Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM tahun 2011-2013. Dilakukan *total sampling* pada kasus-kasus yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Bahan yang digunakan berupa blok parafin.

Kriteria inklusi yang digunakan adalah sediaan yang berasal dari operasi tumor ovarium dengan gambaran histopatologik yang khas, sesuai adenokarsinoma serosum. Kriteria eksklusi mencakup sediaan dengan kualitas blok yang tidak memadai untuk pemulasan imunohistokimia (baik sediaan internal RSCM

atau sediaan review dari RS luar), sediaan yang tidak didapatkan bloknnya, serta sediaan yang berasal dari massa tumor rekuren.

Dilakukan pembuatan ulang *slide* dengan pulasan rutin hematoksilin-eosin. Penilaian *grade* tumor ke dalam kelompok tipe I (adenokarsinoma serosum *low grade*) dan tipe II (adenokarsinoma serosum *high grade*) dilakukan sesuai kriteria Malpica *et al.*¹² dari M. D. Anderson Cancer Center (MDACC) melalui pemeriksaan *slide* dengan pulasan hematoksilin-eosin. Gambaran inti dinilai pada area epitelial dengan gambaran inti yang paling atipik, sedangkan perhitungan mitosis per 10 lapang pandang besar (LPB) dinilai pada area mitosis paling aktif. Adenokarsinoma serosum *low grade* menunjukkan jaringan tumor dengan atipia inti ringan hingga sedang, bentuk inti bulat hingga oval, variasi bentuk dan ukuran <3x lipat, distribusi kromatin relatif merata, mitosis umumnya $\leq 12/10$ LPB. Sebaliknya, adenokarsinoma serosum *high grade* memiliki variasi bentuk dan ukuran $\geq 3x$ lipat, kromatin iregular, dan mitosis umumnya $> 12/10$ LPB.

Dilakukan pulasan imunohistokimia p53, Ki67 dan EGFR pada masing-masing slaid dengan metode tidak langsung (*indirect*) sesuai tahapan pemulasan imunohistokimia rutin di Laboratorium Imunopatologi Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM. *Antigen retrieval* untuk pulasan imunohistokimia p53 dan Ki67 adalah *heat retrieval* dengan *decloacking chamber* dalam media Tris EDTA pH 9, sedangkan untuk pulasan EGFR melalui inkubasi dengan enzim proteolitik Carenzyme III (Pronase kit) selama 10 menit dalam *humidity chamber*. *Blocking* protein nonspesifik dilakukan dengan *background sniper (trekkie universal link, starr trek universal HRP detection system, Biocare Medical, nomer katalog STUHRP700 H, L10)* selama 30 menit.

Masing-masing *slide* diinkubasi dengan antibodi primer p53 (*rabbit monoclonal antibody, Biocare, nomer katalog CME 298 AK, BK*) konsentrasi 1:800 selama 1 jam, Ki67 (*rabbit monoclonal antibody, Biocare, nomer katalog CRM 325 A, B, C*) konsentrasi 1:100 selama 1 jam, dan EGFR (*monoclonal mouse monoclonal antibody, nomer katalog ACI 063 AK, CK*) konsentrasi 1:30 selama 18 jam pada suhu 4°C. Antibodi sekunder yang digunakan adalah *biotinylated (trekkie universal link, starr trek universal HRP detection system, Biocare*

Medical, nomer katalog STUHRP700 H, L10). Pada setiap *batch* pulasan selalu disertakan kontrol negatif untuk masing-masing sampel. Kontrol positif untuk pulasan p53, Ki67 dan EGFR masing-masing adalah adenokarsinoma kolon, tonsil dan karsinoma sel skuamosa.

Data ekspresi pulasan p53, Ki67 dan EGFR disajikan dalam bentuk numerik rasio. Dihitung persentase inti sel yang terpulaskoklat untuk p53 dan Ki67.^{9,10} Ekspresi protein p53 pada pulasan imunohistokimia yang menggambarkan adanya mutasi gen *p53* ditandai dengan pewarnaan inti kuat pada $\geq 60\%$ sel tumor, atau pulasan yang tidak menunjukkan positivitas sama sekali.^{5,9} Ekspresi EGFR dinilai melalui persentase membran sel dan sitoplasma yang terpulaskoklat. Intensitas ekspresi pulasan EGFR dapat bersifat homogen atau heterogen, sehingga selain dihitung persentase sel yang terwarnai coklat, dinilai pula intensitas pulasan. *H score* ekspresi EGFR dihitung sesuai Mazieres *et al.*¹³ menggunakan rumus berikut:
 $H \text{ score EGFR} = [(1 \times (\% \text{ sel } 1+)) + (2 \times (\% \text{ sel } 2+)) + (3 \times (\% \text{ sel } 3+))]$

Intensitas ekspresi EGFR dinyatakan 1+ jika tampak pulasan membran parsial lemah dan/atau pulasan sitoplasmik lemah, 2+ jika tampak pulasan membran sirkumferensial lemah dan/atau pulasan sitoplasmik sedang, dan 3+ jika tampak pulasan membran sirkumferensial kuat dan/atau pulasan sitoplasmik kuat. Rentang nilai *H score* EGFR adalah 0-300.

Uji statistik menggunakan *software* SPSS versi 22.0. Dilakukan penghitungan uji statistik deskriptif, uji normalitas, serta perbandingan dua rerata.¹⁴ Dilakukan uji diagnostik pada jenis pulasan imunohistokimia yang diduga dapat digunakan sebagai alat bantu diagnostik dalam membedakan adenokarsinoma serosum tipe I dan tipe II.

HASIL

Data Arsip Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM memperlihatkan pada tahun 2011 hingga 2013 terdapat 71 kasus dengan diagnosis adenokarsinoma serosum ovarium. Setelah dilakukan penilaian ulang, 2 kasus direklasifikasi menjadi adenokarsinoma endometrioid, 5 kasus menjadi *clear cell adenocarcinoma* dan 1 kasus menjadi adenokarsinoma seromusinosum.

Terdapat 7 kasus *review* slaid dan/atau *review* blok dari rumah sakit luar. Sebanyak 4

kasus dieksklusi karena tidak dapat diperoleh blok parafinnya dan 3 kasus karena kualitas blok suboptimal sehingga tidak memungkinkan pemrosesan selanjutnya. Dua kasus lainnya dieksklusi karena merupakan operasi pengangkatan massa tumor rekuren di dinding abdomen.

Sejumlah 25 kasus adenokarsinoma serosum ovarium dapat ditemukan dengan lengkap slaid operasi dan blok parafinnya, sehingga diikutsertakan pada penelitian ini. Tabel 1 memperlihatkan cara penggolongan kasus adenokarsinoma serosum ovarium ke dalam kelompok *low grade* dan *high grade* berdasarkan kriteria MDACC.

Tabel 1. *Grading* adenokasinoma serosum ovarium berdasarkan kriteria MDACC.

No. kasus	Variasi bentuk dan ukuran inti*		Distribusi kromatin inti		Jumlah mitosis per 10 LPB**		Grade tumor
	<3x lipat	≥3x lipat	regu- lar	irre- gular	≤ 12	> 12	
1.		√	√		√		Low
2.		√		√		√	High
3.		√		√	√		High
4.		√		√	√		High
5.	√		√		√		Low
6.		√		√		√	High
7.		√		√		√	High
8.	√			√	√		Low
9.		√		√		√	High
10.		√		√	√		High
11.	√		√		√		Low
12.		√		√		√	High
13.		√		√	√		High
14.		√		√		√	High
15.		√	√		√		High
16.		√		√		√	High
17.		√		√		√	High
18.		√		√		√	High
19.		√		√		√	High
20.		√		√		√	High
21.		√		√		√	High
22.		√		√		√	High
23.		√		√		√	High
24.	√		√		√		Low
25.		√	√		√		Low

Keterangan: Grade tumor digolongkan ke dalam kelompok *low* dan *high* bila minimal 2 dari 3 kriteria morfologik terpenuhi. *Dinilai pada area dengan gambaran inti paling atipik. **Dihitung pada area-area mitosis teraktif.

Data demografik, klinikopatologik, ekspresi pulasan p53, Ki67 dan EGFR sampel penelitian ditampilkan pada Tabel 2. Data tersebut mencakup distribusi umur, ukuran

tumor, lokasi, *grade* MDACC, ekspresi p53, Ki67 dan EGFR.

Tabel 2. Distribusi frekuensi dan uji kemaknaan umur, ukuran tumor, bilateralitas serta ekspresi pulasan IHK p53, Ki67 dan EGFR pada sampel penelitian.

Variabel	Adenokarsinoma serosum ovarium		P
	Low grade (tipe I) N=6	High grade (tipe II) N=18	
Umur pasien (tahun)	45 ± 4,9	52 ± 2,1	0,19 (<i>Independent T test</i>)
Ukuran tumor (cm)	11 ± 2,3	10 ± 0,9	0,56 (<i>Independent T test</i>)
Sisi ovarium			
Unilateral	1/5	5/17	1,00 (<i>Fisher exact test</i>)
Bilateral	4/5	12/17	
Persentase ekspresi p53 (nuklear)	15 (4-50)	80 (0-90)	0,03* (<i>Mann Whitney U test</i>)
Persentase ekspresi Ki67 (nuklear)	15 (5-30)	20 (10-60)	0,05 (<i>Mann Whitney U test</i>)
H score EGFR (membran sel dan/atau sitoplasma)	46,5 (30-180)	40 (0-160)	0,37 (<i>Mann Whitney U test</i>)

Keterangan: *=tes dengan nilai p signifikan. Terdapat 5 kasus review dari RS luar tidak dilengkapi keterangan ukuran tumor dan 3 kasus tanpa keterangan sisi ovarium yang terlibat.

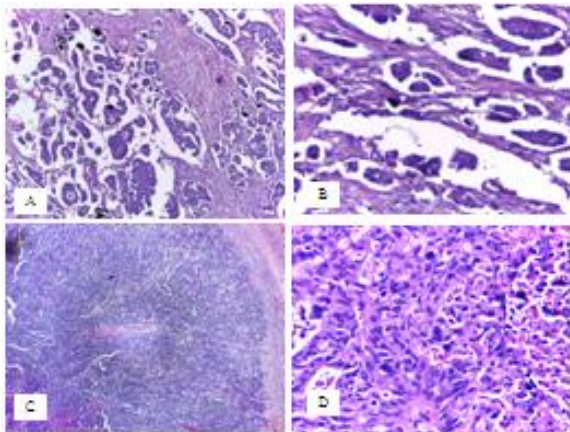
Positivitas pulasan p53 ditandai dengan pewarnaan kuat (coklat tua) pada inti sel tumor. Ditemukan 2 kasus adenokarsinoma serosum *high grade* dengan positivitas p53 sangat rendah (≤5%) dan 1 kasus non-ekspresi. Terdapat 1 kasus adenokarsinoma serosum *low grade* dengan positivitas pulasan inti 40% dengan intensitas sedang dan 1 kasus dengan positivitas 50% dengan intensitas lemah.

Positivitas pulasan Ki67 ditandai dengan pewarnaan kuat (coklat tua) pada inti sel tumor. Persentase sel tumor terwarnai positif dengan Ki67 pada kelompok adenokarsinoma serosum *low grade* berkisar antara 5% hingga 30%, sedangkan pada kelompok *high grade* adalah 10% hingga 60%.

Pada kelompok adenokarsinoma serosum *low grade*, intensitas pulasan EGFR bersifat heterogen pada 1 dari 6 (16,7%) kasus. Heterogenitas intensitas pulasan EGFR pada kelompok adenokarsinoma serosum *high grade* tampak pada 1 dari 18 (5,26%) kasus. Kasus lainnya menunjukkan hasil pulasan EGFR dengan intensitas homogen.

Distribusi umur, ukuran tumor, serta bilateralitas sisi ovarium yang terlibat tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Setelah dilakukan upaya transformasi, sebaran data ekspresi p53, Ki67 dan *H score* EGFR sampel penelitian tetap tidak terdistribusi normal. Oleh karena itu, pengujian kemaknaan statistik perbedaan ekspresi p53, Ki67 dan *H score* EGFR dilakukan dengan uji Mann-Whitney. Ekspresi nuklear p53 lebih tinggi pada kelompok adenokarsinoma serosum *high grade* dibandingkan *low grade*, sedangkan ekspresi nuklear Ki67 dan *H score* EGFR tidak menunjukkan perbedaan bermakna (lihat Tabel 2).

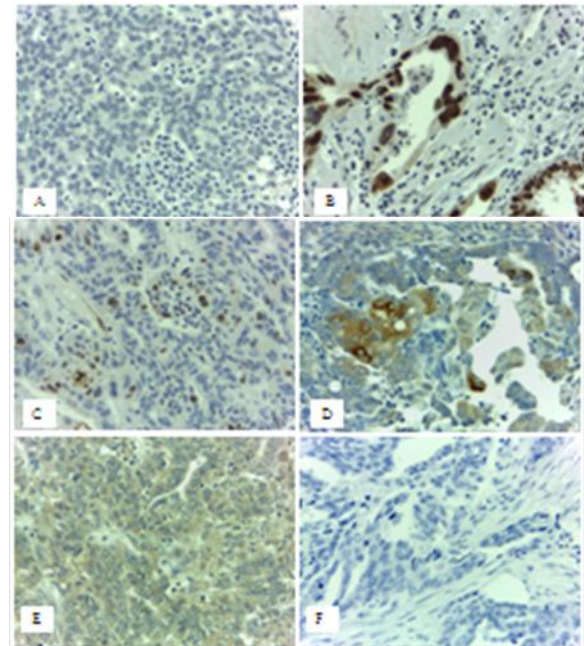
Adenokarsinoma serosum *low grade* (Gambar 1A-1B) menunjukkan jaringan tumor dengan variasi bentuk dan ukuran inti <3x lipat. Mitosis jarang. Adenokarsinoma serosum *high grade* (Gambar 1C-1D) tersusun oleh sel tumor dengan variasi bentuk dan ukuran inti ≥3x lipat, disertai sel datia. Mitosis mudah ditemukan.



Gambar 1. Adenokarsinoma serosum *low grade* {(pembesaran 100x (A) dan 400x (B))}. Adenokarsinoma serosum *high grade* { (pembesaran 100x (C) dan 400x (D))}.

Gambar 2A-2F memperlihatkan contoh hasil pulasan p53, Ki67 dan EGFR pada adenokarsinoma serosum *high grade*.

Dilakukan uji diagnostik penggunaan pulasan IHK p53 dalam membedakan adenokarsinoma serosum tipe II dari tipe I (Tabel 3). Untuk masing-masing kasus, terlebih dahulu dilakukan penggolongan ekspresi p53, apakah sesuai dengan kriteria mutasi *gen p53* atau tidak, sesuai kepastakaan.



Gambar 2. Hasil pulasan IHK p53, Ki67 dan EGFR pada kasus-kasus adenokarsinoma serosum *high grade*. A. Pulasan IHK p53 non-ekspresi. B. Pulasan p53 positif kuat pada sebagian besar sel tumor. C. Pulasan Ki67. D. Pulasan EGFR dengan intensitas heterogen. E. Pulasan EGFR dengan intensitas lemah homogen. F. Kontrol negatif.

Tabel 3. Uji diagnostik penggunaan pulasan IHK p53 untuk membedakan adenokarsinoma serosum tipe II dari tipe I.

Interpretasi pulasan IHK p53	Adenokarsinoma serosum			
	<i>High grade</i> (tipe II)		<i>Low grade</i> (tipe I)	
Sesuai <i>p53</i> mutan	13	(a)	0	(b)
Sesuai <i>p53</i> non-mutan	6	(c)	6	(d)

Berdasarkan Tabel 3 dapat dihitung nilai uji diagnostik yang mencakup sensitivitas, spesifisitas, *positive predictive value* dan *negative predictive value* sebagai berikut:

Sensitivitas = $a/(a+c) = 13/19 = 68,4\%$

Spesifisitas = $d/(b+d) = 6/6 = 100\%$

Positive predictive value = $a/(a+b) = 13/13 = 100\%$

Negative predictive value = $d/(c+d) = 6/12 = 50\%$

DISKUSI

Berdasarkan data demografik pasien RSCM selama 10 tahun (2004-2013), adenokarsinoma serosum merupakan keganasan ovarium epitelial tersering.¹⁵ Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Jha & Karki serta Mondal *et al.*^{8,16} Klasifikasi WHO organ reproduksi wanita

membagi adenokarsinoma serosum ke dalam kelompok *low grade* dan *high grade* berdasarkan perbedaan jalur patogenesisnya. Tidak seperti adenokarsinoma serosum *high grade*, adenokarsinoma serosum *low grade* kurang berespon terhadap regimen kemoterapi berbasis platinum baik ketika digunakan sebagai terapi neoadjuvan, adjuvant, maupun terapi pada tumor rekuren.⁵

Pada penelitian ini dilakukan reklasifikasi beberapa kasus adenokarsinoma serosum menjadi adenokarsinoma endometrioid, *clear cell* dan seromusiosum. *Sharing* morfologi pada beberapa subtipe tumor tersebut, salah satunya adalah adanya pola pertumbuhan papiler. Papil pada adenokarsinoma endometrioid biasanya besar dan villous menyerupai adenokarsinoma villoglandular endometrium. Diferensiasi skuamosa lebih sering ditemukan pada subtipe ini dibandingkan subtipe serosum.^{1,5,17}

Papil pada *clear cell adenocarcinoma* dilapisi sel "hobnail" dan sel bersitoplasma jernih, disertai *hyalinized core*. Gambaran lain yang khas untuk *clear cell adenocarcinoma* sel-sel tumor yang tumbuh dalam struktur tubulokistik. Sedangkan papil pada adenokarsinoma seromusinosum dilapisi epitel serosum dan epitel musinosum tipe endoservikal.^{1,5,17}

Untuk mempermudah penentuan *grade* adenokarsinoma serosum, digunakan klasifikasi Malpica *et al.*¹² dari MD Anderson yang lebih sederhana dan memiliki nilai reproduibilitas tinggi. Klasifikasi tersebut dapat pula digunakan untuk memprediksi luaran klinik. Peningkatan usia, penurunan status performa, dan adanya tumor residual pada pasien adenokarsinoma serosum *high grade* meningkatkan risiko progresi penyakit (*hazard ratio* [HR] 1,71; 95% CI 0,98-2,99; $p=0,06$) dan juga risiko kematian (HR 2,43; 95% CI 1,17-5,04; $p=0,02$).¹⁸

Pasien adenokarsinoma serosum *high grade* memiliki rerata umur 63 tahun, sedangkan adenokarsinoma serosum *low grade* umumnya berada di dekade ke-5.^{1,5,7} Hal yang berbeda ditemukan pada penelitian ini. Rerata umur pasien adenokarsinoma serosum *high grade* dan *low grade* relatif satu dekade lebih muda dibandingkan populasi pasien dengan tipe keganasan serupa. Hal tersebut memunculkan dugaan lebih besarnya peran faktor genetik pada kejadian adenokarsinoma serosum pada populasi ini. Di sisi lain, ukuran dan bilateralitas

tumor tampaknya tidak menunjukkan perbedaan kekerapan pada kedua kelompok tumor.

Penelitian Micci *et al.*¹⁹ pada 32 kasus kanker ovarium epitelial bilateral dilakukan untuk mengetahui apakah bilateralitas terjadi karena proses metastasis dari salah satu ovarium atau merupakan dua tumor primer yang berbeda. Pengambilan sampel tumor dari beberapa tempat yang berbeda pada pasien yang sama menunjukkan profil kariotipik, *copy number*, dan status *microsatellite instability* yang serupa. Profil kariotipik tersebut berbeda untuk masing-masing pasien. Oleh karena itu, disimpulkan bahwa bilateralitas kanker ovarium merupakan proses metastasis dari satu ovarium ke ovarium kontralateral. Proses penyebaran ini merupakan tahap lanjut evolusi klonal, karena pada kasus-kasus kanker ovarium bilateral ini umumnya ditemukan lebih dari empat macam abnormalitas.

Hasil pulasan IHK p53 menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok adenokarsinoma *low grade* dan *high grade*, dengan nilai $p=0,03$. Positivitas pulasan p53 jauh lebih tinggi pada kelompok tumor *high grade*. Hal ini menunjang pendapat para ahli bahwa adenokarsinoma serosum *high grade* berkembang dari jalur patogenesis tipe II yang ditandai oleh terjadinya mutasi gen *p53* pada sebagian besar kasus.^{5,6}

Para ahli mengemukakan dua pola pulasan IHK p53 yang dapat menggambarkan adanya mutasi p53 di tingkat gen. Pola yang paling sering ditemukan adalah overekspresi p53 yang ditunjukkan dengan pewarnaan positif kuat di inti $>60\%$ sel tumor. Pola ini berkaitan dengan adanya *mutasi missense*. Pola lain yang lebih jarang ditemukan adalah pulasan yang tidak menunjukkan positivitas inti sama sekali. Hal ini berkaitan dengan *mutasi nonsense* yang menghasilkan *truncated protein* yang tidak dapat dideteksi oleh antibodi p53.⁵ Yemelyanova *et al.*⁹ mengungkapkan kombinasi pola pulasan IHK p53 (0% dan 60%-100%) dapat mendiagnosis adanya mutasi gen *p53* pada 94% kasus.

Hasil pulasan Ki67 penelitian ini menunjukkan positivitas pulasan inti serupa pada kedua kelompok, dengan rentang persentase positivitas 5-30 untuk kelompok *low grade* dan 10-60 untuk kelompok *high grade*. Studi yang dilakukan Marinas *et al.*¹⁰ menunjukkan fakta yang berbeda. Indeks proliferasi Ki67 pada kelompok adenokarsinoma serosum berdiferen-

siasi baik adalah <50%, sedangkan kelompok diferensiasi buruk >50%. Perbedaan hasil penelitian ini dapat dipahami karena derajat diferensiasi suatu tumor, yang terutama ditentukan oleh pola pertumbuhan tumor, mungkin tidak selalu sejalan dengan *grade* yang dinilai berdasarkan karakteristik inti sel dan jumlah mitosis. Vang *et al.*⁷ menambahkan, untuk kasus adenokarsinoma serosum yang problematik, indeks proliferasi Ki67 yang tinggi lebih jarang ditemukan pada tumor *low grade*.

Pada penelitian ini, imunoekspresi EGFR ditemukan pada kedua kelompok tumor serosum ovarium. Nilai *H score* ekspresi EGFR relatif serupa pada kedua kelompok tumor, sesuai data yang dikemukakan peneliti lainnya.²⁰ Data yang berbeda ditemukan pada penelitian Brustmann²¹ dan Marinas *et al.*¹⁰ yang memperlihatkan bahwa ekspresi EGFR meningkat seiring peningkatan *grade* tumor.

WHO merekomendasikan penggunaan pulasan imunohistokimia p53 pada kasus-kasus adenokarsinoma serosum dengan *grade* yang meragukan, sehubungan dengan adanya perbedaan respon terapi dan prognosis pasien pada kedua kelompok.^{3,5} Pada penelitian ini tampak bahwa spesifisitas penggunaan pulasan IHK p53 pada adenokarsinoma serosum adalah 100%. Makna dari nilai spesifisitas ini adalah "jika hasil pemeriksaan IHK p53 positif, maka dipastikan jenis adenokarsinoma serosum adalah *high grade*". Nilai duga positif (*positive predictive value*) sebesar 100% bermakna "pada pasien dengan hasil pemeriksaan IHK p53 positif, maka 100% kemungkinan pasien ini menderita adenokarsinoma serosum *high grade*". Dengan demikian, kiranya pulasan IHK p53 dapat digunakan dalam pelayanan rutin pada kasus-kasus yang sesuai.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan ekspresi p53 yang bermakna antara adenokarsinoma serosum *low grade* dan *high grade*. Pulasan IHK p53 dapat digunakan sebagai alat bantu diagnostik dalam membedakan adenokarsinoma serosum *high grade* yang berkembang pada jalur patogenesis tipe II, dari adenokarsinoma serosum *low grade*. Pulasan IHK Ki67 dan EGFR tidak dapat digunakan sebagai alat bantu diagnostik pada kasus serupa.

DAFTAR PUSTAKA

1. Seidman JD, Cho KR, Ronner BM, Kurman RJ. Surface epithelial tumors of the ovary. In: Kurman RJ, Ellenson LH, Ronner BM, eds. Blaustein's pathology of the female genital tract. 6th ed. New York: Springer; 2011.
2. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. CA Cancer J Clin. 2013; 63: 11-30.
3. Diaz-Padilla I, Malpica AL, Minig L, Chiva LM, Gershenson DM, Gonzalez-Martin A. Ovarian low grade serous carcinoma: a comprehensive update. Gynecol Oncol. 2012; 126: 279-85.
4. Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia. Kanker di Indonesia tahun 2009: data histopatologik. Jakarta; 2013.
5. Longacre TA, Wells M. Serous tumours. In: Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH, eds. World Health Organization classification of tumours of female reproductive organs. 4th ed. Lyon: IARC Press; 2014.
6. Levanon K, Crum C, Drapkin R. New insight into the pathogenesis of serous ovarian cancer and its clinical impact. J Clin Oncol. 2008; 26: 5284-93.
7. Vang R, Shih I, Kurman RJ. Ovarian low grade and high grade serous carcinoma: pathogenesis, clinicopathologic and molecular biologic features, and diagnostic problems. Adv Anat Pathol. 2009;16:267-82.
8. Jha R, Karki S. Histological pattern of ovarian tumors and their age distribution. Nepal Med Coll J. 2008; 10: 81-5.
9. Yemelyanova A, Vang R, Kshirsagar M, Lu D, Marks MA, Shih IE, *et al.* Immunohistochemical staining patterns of p53 can serve as surrogate marker for TP53 mutations in ovarian carcinoma: an immunohistochemical and nucleotide sequencing analysis. Mod Pathol. 2011; 24: 1248-53.
10. Marinas MC, Mogos G, Ciurea R, Mogos DG. EGFR, HER2/neu and Ki67 immun-expression in serous ovarian tumours. Rom J Morphol Embryol. 2012; 53: 563-7.
11. Smolle E, Taucher V, Pichler M, Petru E, Lax S, Haybaeck J. Targeting signaling pathways in epithelial ovarian cancer. Int J Mol Sci. 2013; 14: 9536-55.

12. Malpica A, Deavers MT, Lu K, Bodurka DC, Atkinson EN, Gershenson DM, *et al.* Grading ovarian serous carcinoma using a two-tier system. *Am J Surg Pathol.* 2004; 28: 496-504.
13. Mazieres J, Brugger W, Capuzzo F, Middel P, Frosch A, Bara I, *et al.* Evaluation of EGFR protein expression by immunohistochemistry using H score and the magnification rule: reanalysis of the SATURN study. *Lung Cancer.* 2012; 82:231-7.
14. Dahlan MS. Uji hipotesis komparatif variabel numerik dua kelompok. Dalam: Dahlan MS. *Statistik untuk kedokteran dan kesehatan.* Edisi ke 4. Jakarta: Salemba Medika; 2009.
15. Arsip Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/ Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo, Divisi III. Jakarta, 2014. (Tidak dipublikasi)
16. Mondal SK, Banyopadhyay R, Nag DR, Roychowdhury S, Mondal PK, Sinha SK. Histologic pattern, bilaterality and clinical evaluation of 957 ovarian neoplasms: a 10-year study in a tertiary hospital of eastern India. *J Can Res Ther.* 2011; 7: 433-7.
17. Prat J. Ovarian serous and mucinous epithelial-stromal tumors. In: Robboy SJ, Mutter GL, Prat J, Bentley RC, Russel P, Anderson MC, eds. *Robboy's pathology of the female reproductive tract.* 2nd ed. China: Elsevier; 2009.
18. Bodurka DC, Deavers MT, Tian C, Sun CC, Malpica AL, Coleman RL, *et al.* Reclassification of serous ovarian carcinoma by a 2-tier system. *A Gynecologic Oncology Group Study. Cancer.* 2012: 3087-94.
19. Micci F, Haugom L, Ahlquist T, Abeler YM, Trope CG, Lothe RA, *et al.* Tumor spreading to the contralateral ovary in bilateral ovarian carcinoma is a late event in clonal evolution. *J Oncol.* 2010: 1-8.
20. Lin C, Chao T, Yu C, Yu M, Jin J. The expression of six biomarkers in the four most common ovarian cancers: correlation with clinicopathological parameters. *APMIS.* 2009; 117: 162-75.
21. Brustmann H. Epidermal growth factor receptor expression in serous ovarian carcinoma: An immunohistochemical study with galectin-3 and cyclin D1 and outcome. *Int J Gynecol Pathol.* 2008; 27: 380-9.