

Ekspresi P53 Mutan dengan Jenis Histopatologi dan Derajat Diferensiasi Karsinoma Ovarium

Dahlia Waruwu, Joko S. Lukito, Soekimin

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara
Medan

ABSTRAK

Latar belakang

Kanker ovarium memiliki insidensi paling rendah di antara tumor ganas ginekologik, hanya 30%, namun memiliki angka mortalitas tertinggi dibandingkan seluruh keganasan pada sistem genitalia wanita. Jenis histopatologi yang terbanyak dari seluruh kanker ovarium adalah kanker yang berasal dari epitel permukaan ovarium (karsinoma ovarium). Etiologi pasti kanker ovarium belum jelas, namun banyak faktor yang mempengaruhi, salah satunya mutasi gen. Gen p53 merupakan tumor suppressor gen yang berperan penting pada siklus sel dan apoptosis. Diperkirakan hampir 50% keganasan pada manusia akibat mutasi gen p53. Prognosis penderita karsinoma ovarium dipengaruhi berbagai faktor antara lain jenis histopatologi, grading dan overeksresi p53. Tujuan penelitian ini untuk melihat tampilan p53 mutan, tipe histopatologi dan derajat diferensiasi karsinoma ovarium.

Metode

Penelitian deskriptif analitik dengan metoda cross sectional terhadap 49 sediaan histopatologi yang sudah didiagnosis sebagai karsinoma ovarium (epitel permukaan ovarium), kemudian dilakukan pewarnaan imunohistokimia antibodi primer anti p53 mutan. Penelitian dilakukan di Instalasi Patologi Anatomi Rumah Sakit Umum Pusat Haji Adam Malik dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.

Hasil

Penelitian terhadap 49 sampel diperoleh hasil tampilan p53 mutan lemah sebanyak 16 kasus: 12 kasus (75%) *malignant serous tumor* dan 4 kasus (25,00%) *malignant mucinous tumor*. Tampilan p53 mutan sedang sebanyak 26 kasus: 18 kasus (69,23%) *malignant serous tumor*, 8 kasus (30,77%) *malignant mucinous tumor*, tampilan p53 mutan kuat sebanyak 7 kasus: 6 kasus (85,71%) *malignant serous tumor*, dan 1 kasus (14,29%) *malignant mucinous tumor*. Uji statistik Kruskal-Wallis tidak ada perbedaan tampilan p53 mutan dengan jenis histopatologi, di mana nilai p value=0,67 (p>0,005). Tampilan p53 mutan lemah sebanyak 16 kasus (100%) *well differentiated*, tampilan p53 mutan sedang sebanyak 26 kasus: 3 kasus (11,54%) *well differentiated*, 17 kasus (65,38%) *moderately differentiated*, 6 kasus (23,08%) *poorly differentiated*. Tampilan p53 mutan kuat sebanyak 7 kasus (100%) *poorly differentiated*.

Kesimpulan

Uji statistik dengan Kruskal-Wallis ada perbedaan tampilan p53 mutan dengan derajat diferensiasi tumor di mana nilai p value = 0.0001 (p<0,05)

Kata kunci: derajat diferensiasi, imunohistokimia, karsinoma ovarium, p53, tipe histopatologi.

ABSTRACT

Background

Ovarian cancers has the lowest incidence among gynecologic malignant tumors only 30%, but have the highest mortality rate of all malignancies compared to the female genital system. Histopathological types most of all ovarian cancers are cancers that originate from the ovarian surface epithelium (ovarian carcinoma). Definite etiology of ovarian cancer is not yet clear, but a lot of factors, one of which gene mutations. P53 gene is a tumor suppressor gene that plays an important role in cell cycle and apoptosis. It is estimated that nearly 50% of malignancies in humans as a result of mutations in the p53 gene. The prognosis of patients with ovarian carcinoma is influenced by many factors including the type of histopathology, grading and p53 overexpression. Determine expression of mutant p53 with histopathological types, and grade of ovarian carcinoma.

Methods

Analytic descriptive study with cross-sectional method on 49 slides that have been histopathologically diagnosed as carcinoma of the ovary (ovarian surface epithelium) and then performed immunohistochemistry of mutant p53. This research was performed at the Department of Anatomical Pathology Haji Adam Malik Hospital and Anatomical Pathology of Laboratory Faculty of Medicine University of North Sumatra.

Results

A study of 49 samples obtained results low expression of mutant p53 were 16 sample: 12 cases (75%) type of malignant serous tumors and 4 cases (25.00%) malignant mucinous tumor types, moderated expression of p53 mutant were 26: 18 cases (69.23%) serous tumors, 8 cases (30.77%) malignant mucinous tumors, high expression of p53 mutant 6 cases (85.71%) malignant tumors serous and 1 case (14.29%) malignant mucinous tumors. Test Kruskal-Wallis statistic with no association between p53 mutant expression with histopathological type, where the p value=0.67 (p>0.005). Low expression of p53 at 16 cases (100%) well differentiated, moderate expression of mutant p53 were 26 case: 3 cases (11.54%) well differentiated, 17 cases (65.38%) moderately differentiated, 6 cases (23.08%) poorly differentiated. High expression of p53 mutant in 7 samples (100%) poorly differentiated.

Conclusion

Statistical test by Kruskal-wallis appearance of mutant p53 with tumor differentiation degree there is a relationship in which the p value=0.0001 (p<0.05).

Key words : grading, histopathologic type, immunohistochemistry, ovarian carcinoma, p53.

PENDAHULUAN

Kanker ovarium memiliki insidensi paling rendah diantara tumor ganas ginekologik hanya 30%, namun memiliki angka mortalitas tertinggi dibandingkan seluruh keganasan pada sistem genitalia wanita. Jenis histopatologi terbanyak dari seluruh kanker ovarium adalah kanker yang berasal dari epitel permukaan ovarium (karsinoma ovarium).^{1,2} Tumor ini cukup berbahaya karena awal pertumbuhannya tidak menimbulkan gejala, itulah sebabnya tumor ini dikenal sebagai penyakit yang tumbuh diam-diam tapi mematikan (*silent killer*).¹⁻³

Kanker ovarium memiliki entitas patologik yang sangat beragam, hal ini disebabkan ovarium memiliki tiga jenis sel yaitu: epitel penutup permukaan (*Coelomic*) multipoten, sel germinativum totipoten dan sel stroma multipoten. Jenis kanker ovarium terbanyak berasal dari epitel permukaan ovarium (karsinoma ovarium).¹⁻⁴ Tumor epitel permukaan ovarium memiliki beberapa jenis diferensiasi dan metaplastik seperti jenis *serous* (mirip epitel tuba fallopi), *mucinous* (mirip epitel endoservikal), *endometrioid* (mirip epitel endometrium) dan yang lainnya.² Masing-masing jenis histopatologi memiliki morfologi dan perubahan genetik yang berbeda, seperti *high grade serous* dan *endometrioid* karsinoma berhubungan dengan mutasi TP53 dan disfungsi *BRCA1* dan *BRCA2*.^{3,4}

Etiologi pasti belum diketahui, namun banyak faktor yang mempengaruhi terjadinya kanker ovarium salah satunya adalah mutasi gen. Ada beberapa gen yang mengalami mutasi yaitu gen *BRCA 1* dan *2*, *RB1*, *NF1*, *p53*, *CDK 12*. Diperkirakan hampir 50% keganasan pada manusia akibat mutasi gen *p53*.^{1-4,6}

Beberapa penelitian *p53* pada kanker ovarium masih kontradiktif, sebagian penelitian menunjukkan mutasi *p53* dijumpai pada 30-80% karsinoma ovarium. Sejumlah penelitian telah mengidentifikasi ekspresi *p53* sebagai faktor prognostik, dan penelitian lain menduga bahwa perubahan ekspresi *p53* pada karsinoma ovarium sensitif terhadap kemoterapi. Sebaliknya ada penelitian yang menduga bahwa ekspresi *p53* bukan faktor prognostik pada karsinoma ovarium.⁴⁻⁸ Penelitian di Amerika Serikat sub-tipe yang tersering adalah *high grade serous* (HGS) cancer (70%), *clear cell carcinoma* (12%), *endometrioid* (11%), *low grade serous* (LGS) dan *mucinous* (<5%). Mutasi gen *p53* sering dijumpai pada tumor *high grade* dan ada

hubungan tampilan *p53* dengan resistensi terhadap kemoterapi.⁶ Hasil penelitian Rauf S ditemukan overekspresi protein *p53* pada karsinoma ovarium diferensiasi buruk.⁹ Penelitian yang dilakukan Angela et al menemukan adanya korelasi signifikan antara overekspresi *p53* dengan resistensi kemoterapi, namun penelitian lain mengemukakan bahwa *p53* bukan merupakan faktor prognostik.⁵

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan di atas, di mana *p53* mutan masih kontradiksi, maka peneliti ingin melihat bagaimana tampilan *p53* mutan pada tipe histopatologi dan derajat diferensiasi karsinoma ovarium, diharapkan *p53* mutan bisa memprediksi prognosa penderita karsinoma ovarium.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode potong lintang, dilakukan mulai bulan April 2013 sampai Desember 2013 di Instalasi Patologi Anatomi Rumah Sakit Umum Pusat Haji Adam Malik dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Sampel penelitian diambil dari arsip blok parafin dan preparat histopatologi karsinoma ovarium (epitel permukaan ovarium) sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi dengan menggunakan total sampling, didapatkan sampel penelitian sebanyak 49 sampel. Pada penelitian ini sampel yang diambil mulai dari 1 Januari 2011 sampai 31 Desember 2014 diperoleh dari arsip Instalasi Patologi Anatomi Rumah Sakit Haji Adam Malik Medan.

Dilakukan pembacaan preparat histopatologi yang telah diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin eosin oleh dua orang ahli patologi anatomi dan peneliti untuk menentukan jenis histopatologi dan derajat differensiasi berdasarkan klasifikasi WHO 2003, didapatkan jenis *serous*, *mucinous*, *endometrioid* dan *clear cell carcinoma*, sedangkan jenis *transitional*, *squamous* tidak dijumpai dan jenis *endometrioid* dan *clear cell carcinoma* tidak dapat diproses dengan pewarnaan imunohistokimia *p53* mutan pada penelitian ini. Selanjutnya dilakukan prosedur pewarnaan imunohistokimia *p53* mutan dengan menggunakan *p53* mutan antibody, ab240, rabbit monoclonal, abcam.

Hasil pulasan *p53* mutan adalah tampilan pulasan warna coklat pada sitoplasma dan inti sel tumor, dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400x pada 5

lokasi lapangan pandang dengan menilai luas sel yang terwarnai warna coklat. Skor 1: <25% jumlah sel tumor terwarnai, skor 2: 26%-50% jumlah sel terwarnai, skor 3: 51%-75% jumlah sel terwarnai, skor 4: 76%-100% jumlah sel terwarnai. Untuk menilai skor tampilan warna coklat, skor 1: lemah, skor 2: sedang, skor 3: kuat. Skor imunoreaktif diperoleh dengan mengalikan skor intensitas warna dengan skor distribusi, lemah: 1-4, sedang: 6-8, kuat: 9-12.¹² Kontrol positif pada penelitian ini *adenocarcinoma colon*.

Tampilan p53 mutan dievaluasi, ditabulasi dan dibandingkan distribusi dan intensitasnya pada masing-masing jenis histopatologi dan derajat diferensiasi dan dibuat dalam bentuk tabel. Data tersebut kemudian diolah dan dianalisis secara statistik uji Kuskal-Wallis.

HASIL

Penelitian ini telah dilakukan terhadap 49 sampel dan mendapatkan karakteristik sampel seperti pada Tabel di bawah ini.

Tabel 1. Karakteristik penderita berdasarkan usia.

Kelompok usia	Frekuensi	Frekuensi relatif (%)
<45 tahun	17	34,69%
>45 tahun	32	65,31%
Jumlah	49	100%

Pada Tabel 1 menunjukkan usia penderita termuda 22 tahun dan tertua 71 tahun, kelompok usia dibawah 45 tahun sebanyak 17 sampel (34,69%) dan kelompok usia diatas 45 tahun sebanyak 32 sampel (65,31%). Rata-rata usia penderita adalah 49 tahun.

Tabel 2. Distibusi penderita berdasarkan gambaran histopatologi.

Jenis histopatologi	Frekuensi	Frekuensi relatif
<i>Malignant serous tumor</i>	36	73,47%
<i>Malignant mucinous tumor</i>	13	26,53%
Jumlah	49	100%

Pada Tabel 2 sampel penelitian ini yang memenuhi kriteria inklusi sebanyak 49 yaitu *malignant serous tumor* sebanyak 36 kasus (73,47%) dan *malignant mucinous tumor* sebanyak 13 kasus (26,53%).

Tabel 3. Distribusi penderita berdasarkan derajat diferensiasi.

Jenis histopatologi	Derajat diferensiasi		
	<i>Well diff</i> n (%)	<i>Mod diff</i> n (%)	<i>Poorly diff</i> n (%)
<i>Malignant serous tumor</i>	15 (30,61%)	10 (20,41%)	11 (22,40%)
<i>Malignant mucinous tumor</i>	4 (38,78%)	7 (14,28%)	2 (4,08%)
Jumlah	19 (38,78%)	17 (34,69%)	13 (26,53%)

Pada Tabel 3 *malignant serous tumor well differentiated* sebanyak 15 kasus (30,61%), *moderately differentiated* sebanyak 10 kasus (20,41%), *poorly differentiated* sebanyak 11 kasus (22,40%). *Malignant mucinous tumor well differentiated* sebanyak 4 kasus (38,78%), *moderately differentiated* sebanyak 7 kasus (14,28%), *poorly differentiated* sebanyak 2 kasus (4,08%).

Tabel 4. Tampilan p53 mutan dengan jenis histopatologi.

Tampilan p53 mutan	Jenis histopatologi		Jumlah total
	<i>Malignant serous tumor</i>	<i>Malignant mucinous tumor</i>	
Lemah	12 (75,00%)	4 (25,00%)	16 (100%)
Sedang	18 (69,23%)	8 (30,77%)	26 (100%)
Kuat	6 (85,71%)	1 (14,29%)	7 (100%)
Jumlah	36 (73,47%)	13 (26,53%)	49 (100%)

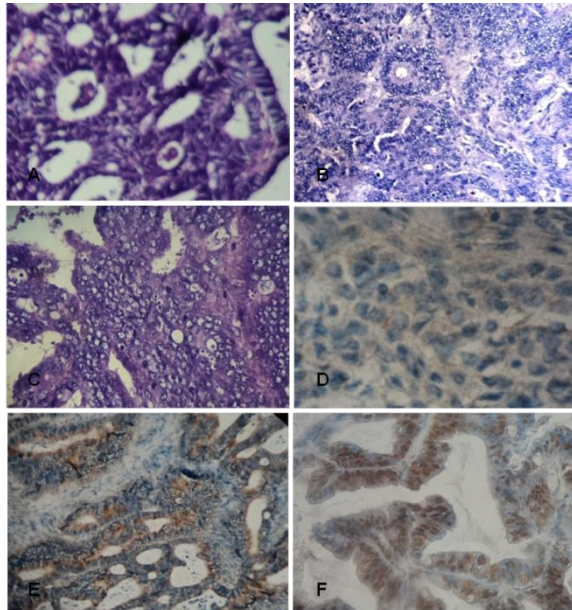
Pada Tabel 4 tampilan p53 mutan lemah sebanyak 16 kasus (100%): *malignant serous tumor* sebanyak 12 kasus (75%) dan *malignant mucinous tumor* sebanyak 4 kasus (26,00%). Tampilan p53 sedang sebanyak 26 kasus (100%): *malignant serous tumor* sebanyak 18 kasus (69,23%) dan *malignant mucinous tumor* sebanyak 8 kasus (30,77%). Tampilan p53 mutan kuat sebanyak 7 kasus: *malignant serous tumor* sebanyak 6 kasus (85,71%) dan *malignant mucinous tumor* sebanyak 1 kasus (14,29%).

Tabel 5. Tampilan p53 mutan dengan derajat diferensiasi.

Tampilan p53 mutan	Derajat diferensiasi			Jumlah
	<i>Well diff</i>	<i>Mod diff</i>	<i>Poorly diff</i>	
Lemah	16 (100%)	-	-	16 (100%)
Sedang	3 (11,54%)	17 (65,38%)	6 (23,08%)	26 (100%)
Kuat	-	-	7 (100%)	7 (100%)

Pada Tabel 5 tampilan p53 lemah sebanyak 16 kasus (100%) *well differentiated*. Tampilan p53 mutan sedang sebanyak 26 kasus (100%): *well differentiated* sebanyak 3 kasus (11,54%), *moderately differentiated* sebanyak 6 kasus (65,38%) dan *poorly differentiated* sebanyak 6

kasus (23,08%). Tampilan p53 mutan kuat sebanyak 7 kasus (100%) *poorly differentiated*.



Gambar 1. A. Well differentiated, (HE, 100x); B. Moderately differentiated (HE, 100x); C. Poorly differentiated (HE, 100x); D. Tampilan p53 mutan lemah (200x); E. Tampilan p53 mutan sedang (100x); F. Tampilan p53 mutan kuat (200x).

DISKUSI

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa p53 mutan tertampil pada sitoplasma dan inti sel tumor. Tampak distribusi dan intensitas tampilan p53 mutan berbeda pada jenis histopatologi dan derajat diferensiasi tumor.

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa p53 mutan lebih banyak tertampil pada *malignant serous tumor* sebanyak 36 kasus (73,47%) dari 49 kasus, sementara *malignant mucinous tumor* sebanyak 13 kasus (26,53%). Namun uji statistik Kruskal-Wallis dijumpai p value=0,67 (p>0,05), tidak ada perbedaan tampilan p53 mutan dengan jenis histopatologi.

Penelitian di Amerika Serikat tipe histopatologi paling sering adalah *high grade serous* hampir 70%, *endometrioid* 11%, *clear cell* 12%, *low grade serous* dan *mucinous* hanya <5%.⁶ Penelitian Abdul dkk menemukan p53 mutan tertampil pada 48,1% kanker ovarium di mana 80,8% pada tumor epitel permukaan ovarium, 15,4% pada sex cord, 3,8% pada germ cell, dan tidak tertampil pada lesi jinak dan borderline.¹⁰

Peneliti ingin melihat bagaimana tampilan p53 mutan dengan derajat diferensiasi tumor. Derajat diferensiasi merupakan salah satu faktor prognosa penderita kanker ovarium. Derajat diferensiasi tumor dievaluasi berdasarkan struktur kelenjar, gambaran inti dan mitotik abnormal dibagi tiga yaitu *well differentiated*, *moderately differentiated* dan *poorly differentiated*. Hasil penelitian ini dijumpai tampilan p53 mutan lemah sebanyak 16 kasus *well differentiated*. Tampilan p53 mutan sedang sebanyak 26 kasus terdiri dari 3 kasus (11,54%) *well differentiated*, 17 kasus (65,38%) *moderately differentiated*, 6 kasus (23,08%) *poorly differentiated*. Tampilan p53 mutan kuat sebanyak 7 kasus *poorly differentiated*. Hasil uji statistik Kruskal-Wallis pvalue=0.0001 (p<0.05), ada hubungan tampilan p53 dengan derajat diferensiasi tumor.

Mutasi gen p53 paling sering dijumpai pada keganasan manusia dibandingkan mutasi gen lain. Mutasi gen p53 lebih sering dijumpai pada tumor *high grade* dan berhubungan dengan resistensi terhadap kemoterapi.⁶ Hasil penelitian yang dilakukan oleh Rauf menemukan overekspresi p53 sebanyak 92,3% pada karsinoma ovarium diferensiasi buruk (*poorly differentiated*).⁸ Menurut penelitian yang dilakukan oleh Yemlyanova A dkk dijumpai p53 mutan tertampil kuat pada tumor *high grade* terutama *malignant serous tumor* sebanyak 54 kasus (50%) dari 107 kasus.^{11,12} Penelitian yang dilakukan oleh Reles A *et al.* mengenai hubungan mutasi gen p53 dengan resistensi terhadap kemoterapi berbasis platinum dan angka harapan hidup penderita kanker ovarium, overekspresi p53 mutan memiliki hubungan dengan resistensi terhadap kemoterapi, kemungkinan lebih dini, dan angka harapan hidup yang lebih pendek. Ditemukan overekspresi p53 mutan sebanyak 72 kasus dari 105 kasus (69%) dari 105 kasus.^{14,15}

KESIMPULAN

Hasil penelitian yang diperoleh bahwa tampilan p53 mutan lebih cenderung dijumpai pada *malignant serous tumor* dibandingkan dengan *malignant mucinous tumor*, namun hasil uji statistik Kruskal-Wallis menunjukkan tidak ada perbedaan tampilan p53 mutan dengan jenis histopatologi di mana p value=0,67 (p>0,05). Tampilan p53 mutan sedang dan kuat cenderung pada tumor dengan derajat diferensiasi

sedang dan buruk dengan uji statistik Kruskal-Wallis $p=0,0001$ ($p<0,05$) menunjukkan ada perbedaan tampilan p53 dengan derajat diferensiasi. Tampilan p53 mutan dapat digunakan untuk memprediksi prognosis penderita karsinoma ovarium. Diharapkan penelitian lebih lanjut untuk terus menelaah peran p53 mutan dalam prognosis penderita kanker ovarium.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tavasolli FA. Tumours of the Ovary and peritoneum. in: Devilee P. WHO Classification of Tumours Pathology & Genetics Tumours of the breast and Female Genital Organs. Lyon: IARC Press; 2003.
2. Weidner N, Dabbs JD, Peterson M. Ovaries. in: Female reproductive system. Weiss, Weidne, Cole, Suster. Modern Surgical Pathology, 2th edition, volume 1, Philadelphia ; 2009.p. 1356-1391. Lester, Susan C. The Breast. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, editors. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th edition. Elsevier ; 2005. p.1119-51.
3. Bell DA. Origins and molekular pathology of ovarian cancer. Mod Pathol. 2005; 18: S19-32
4. Rosai J, Rosai and Ackerman's. Surgical Pathology Breast. 9th edition. Mosby; 2004.1764-1835.
5. Kaku T, Ogawa S, Kawano Y, Ohishi Y, Kobayashi H, Hirakawa T, *et al.* Histological classification of ovarian cancer. Med Electron Microsc. 2003; 36: 9-17.
6. Gursan N, Sipal S, Calik M, Gundogdu C. P53, Bcl-2, Ki-67 Li (labeling index) status in benign, proliferative and malignant ovarian surface epthelial neoplasma. Eurasian J Med. 2009; 41: 10-4.
7. Petitjean A, Achatz MI, Borresen-Dale AL, Hainaut P, Olivier M. TP53 mutations in human cancers: Functional selection and impact on cancer prognosis andoutcomes. Oncogene. 2007; 26: 2157-65.
8. Le Page C, Huntsman DG, Provencher DM, Mes-Masson AM. Predictive and prognostic protein biomarkers in epithelial ovarian cancer: Recommendation for future studies. Cancers 2010; 2: 913-54.
9. Köbel M, Kalloger SE, Boyd N, McKinney S, Mehl E, Palmer C, *et al.* Ovarian carcinoma subtype are different disease: Implication for biomarker studies. PLoS Med. 2008; 5: 1749-60.
10. Marks JR, Davidoff AM, Kerns BJ, Humphrey PA, Pence JC, Dodge RK, *et al.* Overexpressi and mutation of p53 in epithelial ovarian cancer. Cancer Res. 1991; 51: 2979-84.
11. Yemelyanova A, Vang R, Kshirsagar M, Lu D, Marks MA, Shih IM, *et al.* Immuno-histochemical staining patterns of p53 can serve as a surrogate marker for TP53 mutations in ovarian carcinoma: An immuno-histochemical and nucleotide sequencing analysis. Mod Pathol. 2011; 24: 1248-53.
12. Hamdi EAW, Saleem SH. p53 expression in ovarian tumor. Ann Coll Med. 2012; 38: 73-9.
13. Havrilesky L, Darcy KM, Hamdan H, Priore RL, Leon J, Bell J, *et al.* Prognostic significance of p53 mutation and p53 over-expressi in advanced epthelial ovarian cancer. J Clin Oncol. 2003; 21: 3814-25.
14. Prognostic value of p53 gene in ovarian cancer. (cited on 2013 Juni 7). Aavailable from: <http://Indonesia.digitaljournals.org/index.php/ij06/article>.
15. Reles A, Wen WH, Schmider A, Gee C, Runnebaum IB, Kilian U, *et al.* Correlation of p53 mutations with resistance to platinum based chemotherapy and shortened survival in ovarian cancer. Clin Cancer Res. 2001; 7: 2884-97.