

Hubungan Antara Derajat Histopatologi Karsinoma Penis dengan Tampilan Imunohistokimia *HER-2*

Reza Aditya Digambiro¹, Ibnu Alferally², Delyuzar²

¹Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Trisakti
 Jakarta

²Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara
 Medan

ABSTRAK

Latar belakang

Insidensi karsinoma penis di seluruh dunia sekitar 1/100.000 populasi. Sebanyak 95% dari kanker penis adalah karsinoma sel skuamosa, sisanya adalah melanoma, leiomyosarkoma atau tipe lainnya. Pada umumnya penyakit ini lebih banyak dijumpai pada usia tua, insidensi semakin meningkat pada usia 80 tahun keatas. Phimosis, peradangan menahun, radiasi ultraviolet, adanya riwayat menderita *papiloma warts* (infeksi Human Papilloma Virus/HPV), atau kondiloma serta tidak disirkumsisi merupakan beberapa faktor risiko terjadinya karsinoma penis. Pada riset yang dilakukan oleh Silva dan rekan-rekan (2012), dijumpai pewarnaan *HER-2* yang positif kuat pada 28 kasus karsinoma penis (14,9%). Fakta ini bertentangan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Stankiewicz dan kawan-kawan (2011), yang menyatakan bahwa *HER-2* tidak memiliki hubungan dengan karsinogenesis pada penis. Pada penelitian ini kami menganalisis adakah hubungan antara derajat histopatologi karsinoma penis dengan tampilan imunohistokimia *HER-2* pada karsinoma penis dengan melakukan pemeriksaan imunohistokimia *HER-2* pada sampel sediaan blok parafin dari jaringan penis. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui adanya hubungan antara derajat histopatologi karsinoma penis dengan tampilan imunohistokimia *HER-2* pada kasus karsinoma penis di Instalasi Patologi Anatomi Rumah Sakit Haji Adam Malik Medan 2008-2012.

Metode

Rancangan penelitian ini menggunakan rancangan deskriptif analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Pada penelitian ini tidak memberikan perlakuan terhadap variabel tetapi hanya melihat ekspresi imunohistokimia *HER-2*. Pengukuran pada variabel hanya dilakukan satu kali dan pada satu saat.

Hasil

Pada uji korelasi Spearman ternyata secara statistik tidak terdapat hubungan yang signifikan antara derajat histopatologi karsinoma penis dengan tampilan imunohistokimia *HER-2* pada karsinoma penis ($p > 0,05$).

Kesimpulan

Setelah dilakukan uji korelasi Spearman tidak didapati hubungan yang bermakna antara grading histopatologi karsinoma penis terhadap tampilan hasil pulasan imunohistokimia *HER-2* pada karsinoma penis. Hubungan Antara *HER-2* dengan pewarnaan sitoplasma yang berkaitan dengan keratin mungkin diakibatkan oleh reaksi silang antibodi dengan keratin atau antigen *retrieval*.

Kata kunci : derajat histopatologi, *HER-2*, karsinoma, penis.

ABSTRACT

Background

The incidence of penile carcinoma all over the world is 1/100.000 per population. Most penile cancer, about 95%, is squamous cell carcinoma, and the rest are melanoma, leiomyosarcoma or other types. This disease most commonly found in elderly, and the number increases after 80 years old. Phimosis, chronic inflammation, ultraviolet radiation, history of papiloma warts (Human Papilloma Virus infection/HPV), or condyloma and uncircumcised penis are some risk factors of penile carcinoma. On the research performed by Silva et al (2012), found strong *HER-2* staining of 28 cases penile carcinomas (14.9%). This fact is contradicted with previous research performed by Stankiewicz et al (2011), that stated *HER-2* does not related to penile carcinogenesis. In this research we try to find if there are correlations between histopathological grading of penile carcinoma with the expression of *HER-2* of penile carcinoma by performing *HER-2* immunohistochemistry staining examination of paraffin block samples of penile tissues. To find the correlations between histopathological grading of penile cancer with the expression of *HER-2* immunohistochemically on penile cancer in the Department of Pathology, Haji Adam Malik Hospital, Medan during 2008-2012.

Methods

The research design used is analytic descriptive with cross sectional approach. In this study we do not give any treatment on the variables, only to observe the immunohistochemistry expression of *HER-2*. The assessment of the variables is only once at a time.

Results

The Spearman's correlation test result no significant relation between histopathological grading of penile cancer and *HER-2* expression ($p > 0.05$).

Conclusion

The results suggest that after Spearman correlation test performed, we did not found any significance correlation between histopathological grading of penile carcinoma with the expression of *HER-2* of penile carcinoma. The correlation between *HER-2* cytoplasm staining associated with keratin might be caused by antibody cross reaction with keratin or antigen retrieval.

Key words : cancer, *HER-2*, histopathological grading, penis.

PENDAHULUAN

Karsinoma penis merupakan jenis keganasan yang jarang dijumpai, insidensinya hanya sekitar 1% dari seluruh jenis keganasan yang dijumpai pada laki-laki. Insidensi di Amerika Serikat rendah, namun pada beberapa negara di benua Asia (India), Afrika (Uganda dan Jamaika), serta Amerika Latin (Brazil), insidensi kanker penis cukup tinggi. Insidensi karsinoma penis lebih banyak dijumpai pada umur yang lebih tua, dan semakin meningkat pada umur di atas 80 tahun.¹⁻⁶

Faktor risiko yang banyak dikaitkan dengan karsinoma penis diantaranya sirkumsisi yang tertunda pada masa anak-anak, *phymosis*, merokok, serta infeksi *human papilloma virus* (HPV). Dalam proses karsinogenesis karsinoma penis, HPV berperan pada *RB/p16* dan *p21/p53 pathway*, meskipun demikian peran HPV yang terlibat secara langsung dalam proses karsinogenesis masih belum diketahui secara pasti.

Pada riset yang dilakukan oleh Silva dkk (2012), dijumpai pewarnaan HER-2 yang positif kuat pada 28 kasus karsinoma penis (14,9%). Meskipun hanya 14,9% dijumpai pewarnaan sitoplasma yang positif terhadap HER-2, namun menurut analisa statistik pada penelitian tersebut, terdapat korelasi kuat antara peningkatan grading dengan overekspresi HER-2 pada sampel karsinoma penis ($p < 0,001$). Pewarnaan ini terbatas pada sel-sel tumor dan tidak merepresentasikan latar belakang ataupun artefak. Analisis univariat menunjukkan bahwa overekspresi berkaitan dengan derajat histopatologi yang tinggi dan prognosis yang lebih buruk. Analisis multivariat pada penelitian ini memperlihatkan bahwa HER2 dalam sitoplasma merupakan faktor risiko independen bagi mortalitas penderita. Berdasarkan hal ini dapat ditarik kesimpulan, HER2 di dalam sitoplasma sel-sel tumor merupakan penanda prognostik dalam karsinoma penis. Fakta ini bertentangan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Stankiewicz dkk (2011), yang menyatakan bahwa HER-2 tidak memiliki hubungan dengan karsinogenesis pada penis.^{6,7,8}

HER-2 merupakan salah satu dari *anggota family* reseptor faktor pertumbuhan epidermal manusia (*human epidermal growth factor receptor*) yang banyak diteliti. Ikatan *ligand* ekstraselular pada reseptor HER-2 memicu homodimerisasi atau heterodimerisasi, fosforilasi tirosin dan aktivasinya. Reseptor aktif

dapat menstimulasi jaras persinyalan intraselular, termasuk jaras *PI3K/Akt*, yang bertugas mengatur diferensiasi sel, migrasi, proliferasi dan kemampuan sel untuk bertahan hidup. HER-2 kekurangan *ligand-binding domain* sementara fungsi kinase pada HER-3 terganggu namun defisiensi keduanya dapat dikompensasi dan masih dapat memberikan sinyal yang kuat melalui heterodimerisasi. Overekspresi dari protein *family HER-2* telah dihubungkan dengan prognosis yang buruk dari beberapa jenis kanker.⁶⁻⁸

Standar pengobatan kanker penis pada pasien saat ini adalah untuk memperbaiki gangguan fungsi ataupun kosmetik. Penatalaksanaan kanker penis di Inggris meliputi pemeriksaan fisik standar, konseling dan penelitian. Untuk mendapatkan penanganan yang adekuat, *National Institute for Clinical Excellence (NICE)* yang menangani lebih dari 4 juta orang kasus kanker penis dengan kasus baru minimal sebanyak 25 orang pertahunnya menganjurkan penanganan kanker penis dilakukan pada sentra yang lengkap seperti di *NICE* untuk mendapatkan hasil yang optimal.^{2,9}

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Instalasi Patologi Anatomi RSUP Haji Adam Malik/Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara Medan selama bulan Januari 2013-April 2014 dengan menggunakan rancangan penelitian deskriptif analitik dan pendekatan *cross sectional* untuk melihat hubungan derajat histopatologi dengan tampilan imunohistokimia HER-2 pada karsinoma penis. Tidak ada pemberian perlakuan terhadap sampel. Penilaian derajat histopatologi maupun tampilan hasil pewarnaan imunohistokimia HER-2 hanya dilakukan satu kali dan pada satu saat. Penelitian ini dilakukan terhadap 30 sampel yang diambil secara *total sampling* sejak tahun 2008-2012.

Kriteria inklusi adalah preparat histopatologi yang telah didagnosa sebagai karsinoma penis dan blok sediaan histopatologi yang adekuat dan dapat diproses dengan pulasan imunohistokimia HER-2. Sedangkan kriteria eksklusi adalah sediaan blok histopatologi dari penis dengan pewarnaan Hematoxyllin-Eosin dan didiagnosa bukan sebagai karsinoma penis dan sediaan blok histopatologi dari penis yang rusak, tidak dapat diperbaiki dan tidak dapat

diproses dengan pulasan imunohistokimia *HER-2*.

Prosedur Pulasan Imunohistokimia *HER-2* diawali dengan menyiapkan preparat berupa potongan tipis jaringan 4µm yang sudah ditempelkan pada objek gelas yang telah di *coating*. Selanjutnya dimasukkan dalam inkubator dilakukan deparafinisasi dengan mencelupkan preparat kedalam cairan *xylol* dilanjutkan dengan rehidrasi dan reaksi blocking dengan 0.5% H₂O₂. *Antigen retrieval* digunakan *microwave* pada *power level* tinggi lalu didinginkan dan dicuci dengan PBS, dilakukan *blocking* terhadap aktifitas non spesifik *binding site* dengan *Normal Horse Serum* selama 20 menit. Dilakukan inkubasi kembali selama satu malam dengan antibodi primer *polyclonal rabbit anti human c-erbB-2 oncoprotein* DAKO konsentrasi 1/500 untuk *HER-2/neu*; antibodi primer *monoclonal mouse anti human estrogen receptor clone 1DS* DAKO untuk reseptor estrogen dan *monoclonal mouse anti human progesteron receptor clone PgR 636* DAKO. Setelah dicuci dengan PBS sediaan diinkubasi dengan antibodi sekunder *polyclonal goat anti rabbit immunoglobuline/Biotynylated* DAKO untuk *HER-2/neu*. Dicuci kembali dengan PBS, dan diinkubasi dengan *Streptavidin* DAKO selama 60 menit, selanjutnya sediaan diinkubasi dengan *chromogen Diaminobenzidine (DAB)* dalam Tris HCl pH 7,6 selama 10 menit. Lalu dilakukan *counterstain* dengan hematoksilin Lillie-Mayer lemah, dehidrasi dalam alkohol bertingkat, *clearing* dalam *xylol* dan ditutup dengan entelan.

HASIL

Pada studi ini dilakukan pulasan imunohistokimia dengan antibody primer anti *HER-2* terhadap 30 sediaan blok parafin jaringan penis yang didiagnosis histopatologik dengan pulasan haematoksilin eosin sebagai karsinoma penis. Adapun perincian distribusi kasus menurut umur dan derajat histopatologi dari 30 sampel sediaan blok parafin jaringan karsinoma sel skuamosa penis sebagai berikut:

Tabel 1. Distribusi karsinoma sel skuamosa penis berdasarkan umur.

Umur (Tahun)	Frekuensi	Persentase (%)
20-29	3	10
30-39	3	10
40-49	8	26,67
50-59	12	40

60-69	3	10
70-79	1	3,33
Jumlah	30	100

Jumlah kasus yang terbanyak adalah pada kelompok umur 50-59 tahun dengan jumlah 12 kasus (40%), sedangkan jumlah kasus yang paling sedikit adalah pada kelompok umur 70-79 tahun hanya dijumpai 1 kasus (3,33%).

Tabel 2. Distribusi berdasarkan massa keratin karsinoma sel skuamosa penis.

Keratinisasi	Jumlah	Persentase (%)
Tanpa keratinisasi	4	13,33
Dengan keratinisasi	26	86,67
Jumlah	30	100

Pada keseluruhan kasus dijumpai karsinoma dengan keratinisasi sebanyak 26 kasus (86,67%), sedangkan tanpa keratinisasi hanya 4 kasus (13,33%).

Tabel 3. Distribusi berdasarkan derajat histopatologi karsinoma sel skuamosa penis.

Grading	Jumlah	Persentase (%)
1	7	23,33
2	10	33,33
3	10	33,33
4	3	10
Jumlah	30	100

Gambaran histopatologi karsinoma sel skuamosa penis berdasarkan derajat terbanyak adalah derajat 2 dan derajat 3 masing-masing berjumlah 10 kasus (33,33%). Pada derajat 1 hanya didapati 7 kasus (23,33%) sedangkan pada derajat 4 hanya didapati 3 kasus (10%).

Tabel 4. Distribusi tampilan imunohistokimia *HER-2* (Hasil perkalian intensitas dan luas tampilan) pada karsinoma penis.

Skor tampilan imunohistokimia <i>HER-2</i>	Frekuensi	Persentase (%)
Negatif	5	16,70
Lemah	19	63,30
Sedang	6	20
Kuat	0	0
Jumlah	30	100

Tampilan imunohistokimia *HER-2* lemah adalah 19 dari 30 kasus (63,30%). Tampilan *HER-2* sedang sebanyak 6 dari 30 kasus (20%). Tampilan *HER-2* yang negatif adalah sebanyak 5 dari 30 kasus (16,70%). Tidak dijumpai tampilan *HER-2* yang kuat; (0,00%).

Tampilan *HER-2* dengan skor 0 terbanyak adalah pada derajat 2 dan derajat 3 karsinoma penis. Skor 1+ *HER-2* terbanyak pada derajat 2. Skor 2+ terbanyak dijumpai pada derajat 4.

Tabel 5. Distribusi derajat histopatologi dan tampilan imunohistokimia *HER-2* (Hasil perkalian intensitas dan luas tampilan) pada karsinoma penis.

		<i>HER-2</i>				Jumlah
		0	1+	2+	3+	
<i>Grading</i> histopatologi karsinoma penis	Skor 1	1	6	1	0	8
	Skor 2	2	7	1	0	10
	Skor 3	2	6	1	0	9
	Skor 4	0	0	3	0	3
Jumlah		5	19	6	0	30

Setelah dilakukan uji statistik korelasi Spearman dalam mencari hubungan antara derajat histopatologi karsinoma penis dengan tampilan imunohistokimia *HER-2*, maka didapatkan nilai $p=0,506$ atau $p>0,05$, oleh karena nilai signifikansi $0,506>0,05$ berarti tidak terdapat hubungan yang bermakna antara derajat histopatologi karsinoma penis dengan tampilan *HER-2*.

Jumlah kasus yang terbanyak adalah pada kelompok umur 50-59 tahun. derajat terbanyak adalah derajat 2 dan derajat 3 masing-masing berjumlah 10 kasus. Kasus dengan keratinisasi adalah sebanyak 26, sedangkan yang tanpa keratinisasi hanya 4 kasus.

Tampilan imunohistokimia *HER-2* dengan nilai 1+ adalah sebanyak 19 dari 30 kasus, pada nilai 2+ sebanyak 6 dari 30 kasus, nilai 0 sebanyak 4 dari 30 kasus. Tidak dijumpai tampilan *HER-2* dengan nilai 3+.

Pada uji korelasi Spearman terhadap variabel derajat histopatologi karsinoma penis dengan tampilan *HER-2* didapati angka koefisien korelasi antara grading histopatologi karsinoma penis dengan *HER-2* adalah sebesar 0.126 dengan $p=0,506$. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara derajat histopatologi karsinoma penis dengan tampilan imunohistokimia *HER-2* pada karsinoma penis.

Berdasarkan hasil pembahasan di atas didapatkan bahwa derajat histopatologi karsinoma penis ternyata tidak memiliki hubungan terhadap tampilan imunohistokimia *HER-2* pada karsinoma penis. Hal ini bertentangan dengan hasil penelitian Silva *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa setelah dilakukan analisis

univariat, ekspresi *HER-2* yang berlebihan memiliki hubungan yang bermakna dengan derajat histopatologi pada karsinoma penis.⁷ Sementara penelitian yang dilakukan oleh Stankiewicz *et al.* (2012). serta Protzel dan Spiess (2013) menyatakan bahwa *HER-2* tidak terdeteksi pada karsinoma penis.^{8,10}

Beberapa penelitian sebelumnya mengenai massa keratin disebutkan pada riset yang dilakukan oleh Rakha dan Reiss (2009). Dalam penelitiannya, mereka menemukan adanya hubungan antara keratin basal pada *Basal-like breastcarcinoma* dengan *HER-2*. Tetapi mereka menyatakan bahwa signifikansinya tidak begitu jelas.¹¹ Sementara Sardari dan rekan-rekan (2012) juga menemukan hubungan antara mutiara keratin (*keratin pearls*) pada sampel-sampel karsinoma sel skuamosa pada leher dan kepala dengan *HER-2/neu*, namun mereka juga menyatakan bahwa signifikansinya belum jelas.¹² Mengenai hal ini, Cavalot *et al.* (2007) pernah memberikan argumentasi bahwa pewarnaan sitoplasma dengan *HER-2* dan hubungannya dengan keratin mungkin diakibatkan oleh reaksi silang antibodi dengan keratin atau antigen *retrieval*.¹³

DISKUSI

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan insidensi karsinoma penis terbanyak dijumpai adalah pada kelompok umur 50-59 tahun. Sedangkan derajat histopatologi karsinoma penis yang terbanyak dijumpai adalah derajat 2 dan derajat 3. Yang terbanyak dijumpai adalah tampilan *HER-2* dengan nilai tampilan yang lemah.

Setelah dilakukan uji korelasi Spearman dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat hubungan yang bermakna antara derajat histopatologi karsinoma penis terhadap tampilan hasil pulasan imunohistokimia *HER-2* pada karsinoma penis.

Melihat tampilan *HER-2* pada penelitian ini terkesan bahwa pemeriksaan pulasan imunohistokimia *HER-2* tidak terlalu kuat berperan dalam penegakan diagnosa derajat progresif lesi kanker penis.

KESIMPULAN

Berdasarkan distribusi didapati karsinoma penis terbanyak adalah pada kelompok usia 50-59 tahun. Berdasarkan grading histopatologi, terbanyak dijumpai adalah grade 2 dan grade 3.

Terbanyak dijumpai pada karsinoma penis adalah tampilan *HER-2* yang lemah. Setelah dilakukan uji korelasi Spearman tidak didapatkan hubungan yang bermakna antara derajat histopatologi karsinoma penis terhadap tampilan hasil pulasan imunohistokimia *HER-2* pada karsinoma penis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pow-Sang MR, Benavente V, Pow-Sang JE, *et al.* Cancer of the penis. *Cancer Control* 2002; 9: 305-15.
2. Sonpavde G, Pagliaro LC, Buonerba C, Dorff TB, Lee RJ, Di Lorenzo G. Penile cancer: current therapy and future. *Ann Oncol.* 2013; 00: 1-11.
3. Dillner J, von Krogh G, Horenblas S, Meijer CJ. Etiology of squamous cell carcinoma of the penis. *Scand J Urol Nephrol Suppl.* 2000; 205: 189-93.
4. Pow-Sang M, Nardi AC, Pow-Sang JM, Ferreira U, Destefano V. Epidemiology and natural history of penile cancer. In: Pompeo ACL, Heyns CF, Abrams P. *Penile cancer. International Consultation on Penile Cancer.* Santiago. 2008;pp:3-4.
5. Cubilla AL, Chaux A, Velazquez EF, Algaba F, Ayala G. Developments in the pathology of penile cancer. In : Pompeo ACL, Heyns CF, Abrams P. *Penile cancer. International Consultation on Penile Cancer.* Santiago. 2008; pp:17-8.
6. Cubilla AL, Dillner J, Schelhammer PF, Horenblas S, Ayala AG, Reuter VE, *et al* Malignant epithelial tumous. In : Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA. *Pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital organs.* Lyon: IARC Press; 2004. pp: 281-90.
7. Silva AM, Cunha IW, Guimaraes GC, Cubilla A, Lopes A, Soares FA. *HER2*cytoplasmic staining and penile cancer. *Cancer Res.* 2012; 72 (8 Supplement): 5577.
8. Stankiewicz E, Prowse DM, Ng M, Cuzik J, Mesher D, Hiscock F, *et al.* Alternative *HER/PTEN/Akt* pathway activation in HPV positive and negative penile carcinomas. *Plos One.* 2012; 6: e17517.
9. Hegarty PK, Kayes O, Freeman A, Christopher N, Ralph DJ, Minhas S. A prospective study of 100 cases of penile cancer managed according to European Association of Urology guidelines. *BJU Int.* 2006; 98: 526-31.
10. Protzel C, Spiess PE. Molecular research ini penile cancer-lessons learned from the past and bright horizons of the future? *Int J Mol Sci.* 2013; 14: 19494-502.
11. Rakha E, Reis-Filho JS. Basal-like Breast Carcinoma: from expression profiling to routine practice. *Arch Pathol Lab Med.* 2009; 133: 860-9.
12. Sardari Y, Pardis S, Tadbir AA, Ashraf MJ, Fattahi MJ, Ebrahimi H, *et al.* *HER2/neu* expression in head and neck squamous cell carcinoma patients is not significantly elevated. *As Pac J Cancer Prev.* 2012; 13: 2891-6.
13. Cavalot A, Martone T, Roggero N, *et al.* Prognostic impact of *HER-2/neu* expression of squamous cell head and neck carcinomas. *Head Neck.* 2007; 29: 655-64.