

# Korelasi Ekspresi p16 dengan Lesi Prakanker dan Karsinoma Sel Skuamosa Serviks Uteri

Dina Ekawati, Wresnindyatsih, Nursanti Apriyani

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya  
Palembang

## ABSTRAK

### Latar belakang

Kanker serviks merupakan keganasan keempat terbanyak pada wanita di seluruh dunia, sedangkan di Indonesia merupakan kanker terbanyak kedua setelah kanker payudara. Patogenesis kanker serviks dikaitkan dengan infeksi *human papillomavirus* (HPV). Kanker serviks berkembang secara bertahap, diawali lesi prakanker yang memerlukan waktu 10-15 tahun sampai menjadi karsinoma invasif. Untuk membantu menegakkan diagnosis suatu lesi prakanker (LSIL dan HSIL) serta KSS pada hasil biopsi yang meragukan dapat digunakan penanda p16. Pemeriksaan imunohistokimia p16 memiliki sensitifitas dan spesifisitas yang tinggi terhadap diagnosis lesi HPV resiko tinggi dan akan menunjukkan ekspresi berlebihan p16. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis korelasi ekspresi p16 pada lesi prakanker dan KSS.

### Metode.

Penelitian ini bersifat *observational analitik* dengan pendekatan *cross-sectional*. Populasi penelitian adalah blok parafin sediaan LSIL, HSIL dan KSS yang tersimpan di Departemen Patologi Anatomi RSUP Dr. Moh. Hoesin Palembang periode 1 Mei 2014 sampai dengan 31 April 2017. Dari masing-masing kasus diambil 12 sampel. Slaid dari blok parafin yang memenuhi kriteria dilakukan pulasan imunohistokimia menggunakan antibodi p16. Perbedaan ekspresi p16 pada LSIL, HSIL dan KSS dianalisis menggunakan uji *chi-square*.

### Hasil.

Usia terbanyak pasien LSIL adalah 30-40 tahun dan KSS adalah 51-60 tahun. Analisis statistik ekspresi p16 antara LSIL, HSIL dan KSS menunjukkan perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ). Seluruh kasus KSS dan HSIL menunjukkan ekspresi p16 sedang sampai kuat, sedangkan kasus LSIL menunjukkan ekspresi p16 yang lemah.

### Kesimpulan.

Ekspresi p16 meningkat pada lesi HSIL dan KSS. Ekspresi p16 antara lesi prakanker (LSIL dan HSIL) dan KSS menunjukkan korelasi bermakna.

**Kata kunci:** LSIL, HSIL, KSS, p16.

## ABSTRACT

### Background.

Cervical cancer is the fourth most common malignancy in women worldwide and is the second most common cancer after breast cancer in Indonesia. The vast majority of cervical cancers are associated with human papillomavirus infection. It takes about 10-15 years from precancer lesion to develop to invasive carcinoma. p16 immunohistochemically demonstrates high sensitivity and specificity for highrisk HPV lesions and is useful in confirming precancerous lesion and SCC, especially when the specimen obtained from biopsies which show variable interpretation. Precancerous lesions caused by high risk HPV demonstrate an excessive expression of p16. The aims of this study was to analyzed correlation of p16 expression in precancerous lesions and SCC.

### Methods.

An observational study with cross-sectional design is performed in Departement of Anatomic Pathology, Dr. Moh. Hoesin general hospital Palembang, from 1st May 2014 to 31st April 2017. Paraffin blocks of 12 samples from each case were selected. The slides were immunohistochemically stained using p16 antibody. The differences in expression of p16 between LSIL, HSIL and SCC were analyzed using chi-square.

### Results

The most common patient ages of LSIL are 30-40 years and KSS are 51-60 years. There is a significant statistical correlation between p16 expression in LSIL, HSIL and SCC ( $p < 0.05$ ). All cases of SCC and HSIL show moderate to strong p16 expression, whereas the cases of LSIL show weak p16 expression.

### Conclusion.

Expression of p16 increased in HSIL and KSS lesions. There is a significant correlation between expression of p16 with histopathological diagnosis of LSIL, HSIL and SCC.

**Key words:** LSIL, HSIL, SCC, p16.

**PENDAHULUAN**

Kanker serviks adalah keganasan keempat terbanyak dan penyebab kematian kelima pada wanita di seluruh dunia. Berdasarkan data dari GLOBOCAN, *International Agency for research on Cancer* (IARC) pada tahun 2012 terdapat 527.624 kasus baru kanker serviks (7,9% dari seluruh kasus kanker baru) dan 265.672 kasus kematian akibat kanker serviks.<sup>1</sup> Data rekam medis di Sentra Diagnostik Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Moh. Hoesin Palembang dari tahun 2011 sampai dengan 2016 dijumpai 319 kasus KSS, 134 kasus LSIL dan 44 kasus HSIL.<sup>2</sup>

Sebagian besar kanker serviks dikaitkan dengan infeksi *human papilloma virus* (HPV), dengan diidentifikasinya DNA HPV. Infeksi HPV terjadi melalui mikro trauma berulang pada epitel serviks sehingga virus dapat mencapai lapisan sel basal.<sup>3</sup> Infeksi HPV dideteksi pada seluruh lesi preneoplastik maupun neoplastik pada serviks uteri. Umumnya kanker serviks berkembang secara bertahap diawali lesi prakanker berupa *Cervical Intraepithelial Neoplasia* (CIN) sampai menjadi karsinoma invasif yang memerlukan waktu sekitar 10-15 tahun.<sup>4</sup>

Lesi displastik, sebagian akan mengalami regresi dan sebagian akan progresif dan berkembang menjadi kanker tergantung dari derajat displasia, respon imun masing-masing individu dan tipe HPV yang menginfeksi.<sup>5</sup> Nilai estimasi pada CIN 1 adalah 1% yang akan berlanjut menjadi kanker serviks yang invasif, sedangkan CIN 2 5% dan CIN 3 lebih dari 12%. Jadi ketepatan diagnosis dalam menentukan derajat CIN/derajat displasia akan mempengaruhi penanganan dan prognosis pasien.<sup>4,5</sup>

Penelitian mengenai pengaruh HPV terhadap ekspresi p16 telah banyak dilakukan.<sup>6,7</sup> Onkoprotein HPV terutama E6 dan E7 menyebabkan inaktivasi fungsi protein p16 dan regulasi sel.<sup>8</sup> Deteksi protein p16 pada lesi prakanker diharapkan dapat digunakan sebagai biomarker guna membantu deteksi dini dari kanker.<sup>9-11</sup> Onkoprotein E7 menyebabkan terganggunya peranan pRb.<sup>12,13</sup> E7 akan mengubah ikatan antara pRb dan E2F (*elongation 2 factor*), sehingga protein p16 yang berfungsi mengatur E2F akan terakumulasi dalam sel dan mengalami overekspresi.<sup>14</sup> Protein p16 merupakan protein supresor tumor yang mencegah pelepasan E2F dari pRb dengan menghambat kerja kompleks siklin D1-cdk4 dan cdk6 dalam

memfosforilasi pRb. Akumulasi E2F yang terlepas dari pRb akan menginduksi aktifitas p16 dan menyebabkan overekspresi p16.<sup>15,16</sup>

Lesnikova dkk, Zouheir dkk dan Queiroz dkk melaporkan bahwa ekspresi p16 berhubungan langsung dengan peningkatan derajat displasia dan terdapat korelasi yang bermakna antara peningkatan ekspresi p16 dengan LSIL, HSIL dan KSS.<sup>6,7,17</sup> Di Indonesia penelitian tentang ekspresi p16 oleh Laksmini dkk dan Rahmawati dkk menunjukkan adanya korelasi tidak bermakna mengenai ekspresi p16 pada lesi prakanker dan karsinoma sel skuamosa.<sup>18,19</sup>

Studi yang dilakukan oleh Sano dkk menunjukkan ekspresi yang kuat p16 pada HSIL dan KSS dimana p16 memiliki sensitifitas dan spesifisitas yang tinggi terhadap HPV resiko tinggi dan menengah (HPV tipe 16,18, 31,33, 52,58). Sedangkan HPV resiko rendah (tipe 6 dan 11) terkait dengan LSIL tidak menunjukkan ekspresi berlebih p16. Lesi LSIL yang disebabkan HPV risiko tinggi akan menunjukkan ekspresi berlebihan p16, hal ini sangat berguna untuk mengetahui progresifitas lesi tersebut yang akan menjadi HSIL atau KSS.<sup>13</sup> Penelitian lain yang juga sejalan dengan penelitian di atas antara lain pada penelitian oleh Queiroz dkk, Wentzsen dkk, Razmpoosh dkk dan Volgareva dkk.<sup>17,20-22</sup>

Hasil studi oleh Volgareva dkk menunjukkan adanya ekspresi negatif protein p16 pada karsinoma sel skuamosa invasif dan HSIL yang terkait dengan infeksi HPV resiko tinggi.<sup>22</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis korelasi ekspresi p16 pada LSIL, HSIL dan KSS serviks uteri.

**METODE PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan pendekatan potong lintang. Sampel penelitian adalah arsip preparat HE dan blok parafin dari hasil biopsi dan histerektomi penderita dengan diagnosis LSIL, HSIL dan KSS serviks uteri periode 1 Mei 2014 sampai 31 April 2017 yang diperiksa di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP dr. Mohammad Hoesin Palembang yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara *stratified random sampling*, dipilih masing-masing 12 sampel tiap diagnosis. Dilakukan interpretasi ulang pada sediaan histologik dan hasilnya dikelompokkan menjadi LSIL, HSIL dan

KSS. Karsinoma Sel Skuamosa dikelompokkan menjadi derajat diferensiasi baik, sedang dan buruk. Pulasan imunohistokimia p16 menggunakan antibodi primer monoklonal p16 *ready to use* (Kosice, Slovak Republic) untuk *human* dan tercatat positif pada inti dan/ sitoplasma sel tumor. Imunoreaktif p16 dilihat diarea yang terpulas menggunakan pembesaran lemah (40x) terlebih dahulu untuk memilih daerah lesi. Selanjutnya dinilai jumlah sel yang terpulas pada 1 lapangan pandang besar (untuk biopsi kecil) atau rerata proporsi jumlah sel yang terpulas dari beberapa lapangan pandang besar (maksimal 10 lapangan pandang besar). Ekspresi p16 terlihat pada inti dan/atau sitoplasma sel yang ditandai dengan warna coklat. Ekspresi p16 dihitung secara semikuantitatif yaitu menilai intensitas (I) dan luas area yang terpulas (P).<sup>23</sup> Intensitas pulasan dibagi menjadi 4 kelompok, 0: sel tumor tidak terwarnai (negatif), 1: sel tumor terwarnai lemah, 2: sel tumor terwarnai sedang, 3: sel tumor terwarnai kuat. Luas area yang terpulas (P) dibagi menjadi 4 kelompok: 0: negatif, 1: sel tumor terpulas positif ≤10%, 2: sel tumor terpulas positif 11-50%, 3: sel tumor terpulas positif >50%. Hasil perkalian luas area dan intensitas dikelompokkan dan dilakukan *scoring* menjadi 3 kategori yaitu: skor 0 ekspresi negatif, skor 1-3 ekspresi positif lemah-sedang, skor 4-9, ekspresi positif kuat. Analisis data menggunakan SPSS versi 22.0. Uji *chi-square* digunakan untuk menilai korelasi ekspresi p16 dengan lesi LSIL, HSIL dan KSS dengan nilai p dianggap bermakna bila <0,05. Selain itu data yang diperoleh diolah secara deskriptif untuk mengetahui karakteristik sampel (frekuensi umur, gejala klinis, subtipe histopatologi dan derajat diferensiasi) dan hasilnya disajikan dalam bentuk tabulasi.

**HASIL**

Kasus KSS terbanyak ditemukan pada usia 51-60 tahun (58,4%) namun tidak dijumpai kasus KSS pada usia <30 tahun. Gejala klinis yang tersering yaitu keputihan, *post coital bleeding* dan perdarahan uterus abnormal 75% (Tabel 1).

Subtipe histopatologi KSS *keratinizing* 50%, *non keratinizing* 41,7% dan *papillary* 8,3%. KSS dengan derajat diferensiasi baik dijumpai 50%, sedang 25% dan diferensiasi buruk 25%. Sebagian besar KSS didapatkan dari biopsi yaitu 75% dan 25% didapat dari histerektomi (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik umur,gejala klinis, subtipe dan derajat histopatologi KSS (n=12).

| Klinikopatologik                            | n  | %    |
|---|----|------|
| Umur  |    |      |
| < 30 tahun                                  | 0  | 0    |
| 30-40 tahun                                 | 1  | 8,3  |
| 41-50 tahun                                 | 3  | 25   |
| 51-60 tahun                                 | 7  | 58,4 |
| >60 tahun                                   | 1  | 8,3  |
| Gejala klinis                               |    |      |
| Keputihan                                   | 0  | 0    |
| <i>Post coital bleeding</i>                 | 0  | 0    |
| PUA   | 0  | 0    |
| Keputihan, <i>post coital bleeding</i>      | 1  | 8,3  |
| Keputihan, PUA                              | 2  | 16,7 |
| Keputihan, <i>postcoital bleeding</i> , PUA | 9  | 75   |
| <i>Post coital bleeding</i> , PUA           | 0  | 0    |
| Subtipe histopatologi                       |    |      |
| <i>Keratinizing</i>                         | 6  | 50   |
| <i>Non Keratinizing</i>                     | 5  | 41,7 |
| <i>Papillary</i>                            | 1  | 8,3  |
| Derajat diferensiasi                        |    |      |
| Baik  | 6  | 50   |
| Sedang                                      | 3  | 25   |
| Buruk                                       | 3  | 25   |
| Tindakan                                    |    |      |
| Biopsi                                      | 9  | 75   |
| Histerektomi                                | 3  | 25   |
| Total                                       | 12 | 100  |

Kelompok usia LSIL terbanyak yaitu 30-40 (83,3%), keputihan sebagai gejala klinis terbanyak (41,7%). Sebagian besar lesi LSIL didapatkan dari tindakan biopsi sebanyak 66,7% (Tabel 2).

Tabel 2. Karakteristik aspek klinis pada LSIL (n=12).

| Klinikopatologik                            | n  | %    |
|---|----|------|
| Umur  |    |      |
| < 30 tahun                                  | 1  | 8,3  |
| 30-40 tahun                                 | 10 | 83,3 |
| 41-50 tahun                                 | 1  | 8,3  |
| 51-60 tahun                                 | 0  | 0    |
| >60 tahun                                   | 0  | 0    |
| Gejala klinis                               |    |      |
| Keputihan                                   | 5  | 41,7 |
| <i>Post coital bleeding</i>                 | 0  | 0    |
| PUA   | 0  | 0    |
| Keputihan, <i>post coital bleeding</i>      | 3  | 25   |
| Keputihan, PUA                              | 3  | 25   |
| Keputihan, <i>postcoital bleeding</i> , PUA | 1  | 8    |
| <i>Post coital bleeding</i> , PUA           | 0  | 0    |
| Tindakan                                    |    |      |
| Biopsi                                      | 8  | 66,7 |
| Histerektomi                                | 4  | 33,3 |
| Total                                       | 12 | 100  |

Kasus HSIL terbanyak pada kelompok usia 30-40 (33,3%), namun tidak ditemukan kasus HSIL pada usia kurang dari 30 tahun. Gejala klinis lesi HSIL tersering adalah keputihan disertai perdarahan uterus abnormal

dan *post coital bleeding* (41,7%). Sepuluh kasus HSIL (83,3%) didapat dari tindakan biopsi dan 2 kasus (16,7%) didapatkan dari histerektomi (Tabel 3).

Tabel 3. Karakteristik aspek klinis pada HSIL.

| Klinikopatologik                            | n  | %    |
|---|----|------|
| Umur  |    |      |
| < 30 tahun                                  | 0  | 0    |
| 30-40 tahun                                 | 4  | 33,3 |
| 41-50 tahun                                 | 2  | 16,7 |
| 51-60 tahun                                 | 4  | 33,3 |
| >60 tahun                                   | 2  | 16,7 |
| Gejala klinis                               |    |      |
| Keputihan                                   | 0  | 0    |
| <i>Post coital bleeding</i>                 | 0  | 0    |
| PUA   | 3  | 25   |
| Keputihan, <i>post coital bleeding</i>      | 1  | 8,3  |
| Keputihan, PUA                              | 0  | 0    |
| Keputihan, <i>postcoital bleeding</i> , PUA | 5  | 41,7 |
| <i>Post coital bleeding</i> , PUA           | 3  | 25   |
| Tindakan                                    |    |      |
| Biopsi                                      | 10 | 83,3 |
| Histerektomi                                | 2  | 16,7 |
| Total                                       | 12 | 100  |

Tabel 4 menunjukkan ekspresi p16 positif lemah sampai sedang terbanyak ditemukan pada kelompok umur 30-40 tahun (23,2%). Ekspresi p16 positif kuat terbanyak ditemukan pada kelompok umur 51-60 tahun (30,5%).

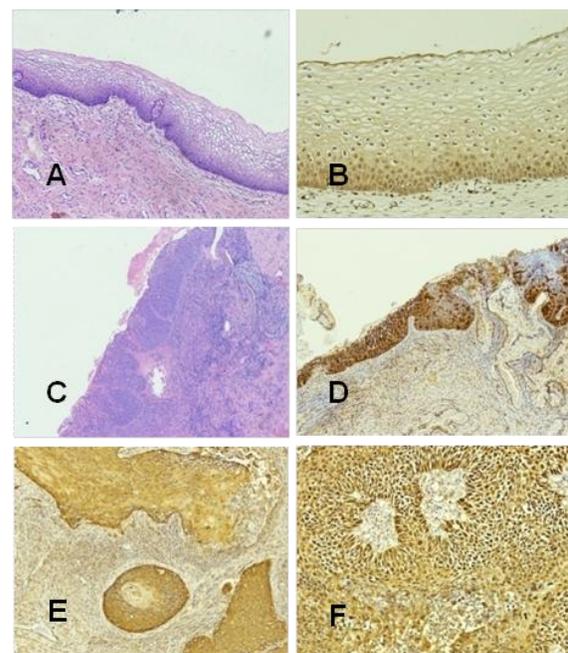
Tabel 4. Ekspresi p16 berdasarkan umur (n=36).

| Klinis (umur) | Ekspresi p16  |                            |                    |
|---------------|---------------|----------------------------|--------------------|
|               | Negatif n (%) | Positif lemah-sedang n (%) | Positif kuat n (%) |
| Umur          |               |                            |                    |
| < 30 tahun    | 0 (0)         | 0 (0)                      | 1 (2,8)            |
| 30-40 tahun   | 0 (0)         | 8 (23,2)                   | 6 (16,7)           |
| 41-50 tahun   | 0 (0)         | 2 (5,6)                    | 5 (13,9)           |
| 51-60 tahun   | 0 (0)         | 0 (0)                      | 11 (30,5)          |
| >60 tahun     | 0 (0)         | 0 (0)                      | 3 (8,3)            |
| Jumlah        | 0 (0)         | 10 (27,8)                  | 26 (72,2)          |

Seluruh sampel pada penelitian ini menunjukkan ekspresi p16 positif. LSIL terbanyak menunjukkan ekspresi positif lemah sampai sedang (22,2%) dan 11,1% kasus lainnya menunjukkan ekspresi p16 positif kuat. HSIL menunjukkan ekspresi p16 positif kuat terbanyak 28,1%, hanya 5,6% HSIL menunjukkan ekspresi p16 positif lemah sampai sedang. Semua sampel KSS menunjukkan ekspresi p16 positif kuat (Tabel 5).

Tabel 5. Ekspresi p16 berdasarkan diagnosis histopatologi (n=36).

| Subyek penelitian       | Ekspresi p16 |                        |                |
|-------------------------|--------------|------------------------|----------------|
|                         | (-) n (%)    | (+) lemah-sedang n (%) | (+) kuat n (%) |
| Lesi prakanker          |              |                        |                |
| LSIL (n=12)             | 0 (0)        | 8 (22,2)               | 4 (11,1)       |
| HSIL (n=12)             | 0 (0)        | 2 (5,6)                | 10 (28,1)      |
| KSS (n=12)              |              |                        |                |
| <i>Keratinizing</i>     | 0 (0)        | 0 (0)                  | 6 (16,7)       |
| <i>Non keratinizing</i> | 0 (0)        | 0 (0)                  | 5 (3,9)        |
| <i>Papillary</i>        | 0 (0)        | 0 (0)                  | 1 (2,8)        |
| Jumlah                  | 0 (0)        | 10 (27,8)              | 26 (72,2)      |



Gambar 1. A. Gambaran histopatologi LSIL (HE, 100X); B. Ekspresi p16 positif lemah 30% pada LSIL (p16,200X); C. Gambaran histopatologi HSIL (HE, 100X); D. Ekspresi p16 positif kuat 80% pada HSIL (p16,100X); E. Ekspresi p16 positif kuat 100% pada KSS sub tipe *keratinizing*, diferensiasi baik (p16,100X) F. Ekspresi p16 positif kuat 100% pada KSS sub tipe *non keratinizing*, diferensiasi sedang (p16,100X).

**Korelasi ekspresi p16 pada lesi LSIL, HSIL dan KSS serviks uteri.**

Hasil uji analisis statistik dengan menggunakan uji *chi-square* menunjukkan bahwa ada korelasi bermakna antara ekspresi p16 dengan diagnosa histopatologi yaitu LSIL, HSIL dan KSS (p-value=0,001) dengan arah korelasi positif dan kekuatan korelasi kuat  $r=0,632$  (Tabel 6).

Tabel 6. Korelasi ekspresi p16 pada LSIL, HSIL dan KSS.

| Ekspresi p16         | LSIL (n) | HSIL (n) | KSS (n) | Total (n) | p-value | R     |
|----------------------|----------|----------|---------|-----------|---------|-------|
| positif lemah-sedang | 8        | 2        | 0       | 10        | 0,001   | 0,632 |
| positif kuat         | 4        | 10       | 12      | 26        |         |       |
| Total                | 12       | 12       | 12      | 36        |         |       |

p<0,05

**DISKUSI**

Tabel 1 menunjukkan bahwa sebaran usia untuk KSS serviks uteri di dapatkan hampir pada semua kelompok umur. KSS terbanyak ditemukan pada kelompok umur 51-60 tahun (58,4%); namun tidak menemukan kasus KSS pada umur kurang dari 30 tahun. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa karsinoma serviks umumnya muncul pada wanita yang berusia 50-60 tahun dan jarang dijumpai pada usia kurang dari 30 tahun.<sup>1-4,24-27</sup> Penelitian lain oleh Parazzini dkk, Sinuhaji dkk dan Ikechebelu dkk didapatkan KSS pada umur kurang dari 30 tahun.<sup>23,28</sup>

Perjalanan penyakit KSS merupakan satu model karsinogenesis yang melalui tahapan multistep, mulai dari proses karsinogenesis awal sampai terjadi perubahan morfologi hingga menjadi karsinoma invasif.<sup>3,4,23</sup> Infeksi HPV merupakan awal proses karsinogenesis KSS namun ada faktor lain seperti kofaktor infeksi HPV, yang menyebabkan perubahan menjadi lesi prakanker, bahkan menjadi kanker invasif. Proses ini membutuhkan waktu lama hingga mencapai puluhan tahun, karena itu insiden KSS terbanyak didapatkan pada usia >50 tahun. Namun, KSS juga dapat terjadi pada usia muda.<sup>23</sup> Beberapa faktor resiko proses karsinogenesis lainnya adalah imunitas tubuh rendah, gizi rendah, aktivitas seksual pada usia kurang dari 16 tahun, melahirkan pada usia muda, merokok, penggunaan alat kontrasepsi hormonal.<sup>3,4,29,30</sup>

Tabel 1 menunjukkan gejala klinis, yaitu (1) keputihan, perdarahan paska senggama dan perdarahan uterus abnormal sebanyak 9 kasus dari 12 kasus, (2) keputihan dengan perdarahan uterus abnormal sebanyak 2 kasus (16,7%); dan (3) keputihan dengan perdarahan paska senggama sebanyak 1 kasus (8,3%). Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa gejala klinis terbanyak yang dijumpai pada pasien KSS adalah perdarahan uterus abnormal diikuti dengan perdarahan paska senggama dan

penurunan berat badan yang signifikan.<sup>31</sup> Sedangkan peneliti lainnya melaporkan gejala klinis terbanyak pada KSS adalah perdarahan setelah menopause, yang diikuti *vaginal discharge* dan perdarahan paska senggama.<sup>28</sup> Kanker serviks dalam hal ini karsinoma sel skuamosa serviks menunjukkan ketiga gejala klinis yang diamati, dikarenakan gejala tersebut muncul pada stadium lanjut, lesi semakin luas sehingga keluhan dan gejala klinis yang timbul juga semakin kompleks.<sup>29</sup> Pada tumor yang ukurannya bertambah dan diikuti nekrosis serta hemoragik akan memudahkan terjadinya gejala perdarahan paska senggama dan keputihan yang berbau, sedangkan tumor yang meluas ke rongga uterus dapat menimbulkan gejala perdarahan uterus abnormal.<sup>29</sup>

Pada penelitian ini dilaporkan kasus *keratinizing* dan *non keratinizing* sebagai kasus KSS tersering, dengan distribusi masing-masing 6 kasus (50%) dan 5 kasus (41,7%). Subtipe lain yaitu *papillary* karsinoma sebanyak 1 dari 12 kasus KSS yang diteliti (8,3%). WHO (2014) melaporkan bahwa subtipe histopatologi *non keratinizing* terjadi pada sebagian besar kasus KSS.<sup>3,4,21,30</sup>

Tabel 2 menunjukkan usia penderita LSIL terbanyak adalah 30-40 tahun, sedangkan Tabel 3 menunjukkan usia penderita HSIL mempunyai gambaran sebaran usia yang hampir merata pada semua usia, namun pada usia kurang dari 30 tahun tidak ditemukan kasus HSIL. Data WHO tahun 2014 menunjukkan bahwa mayoritas wanita terinfeksi HPV pada usia 20 tahun.<sup>25</sup> Faktor risiko kanker serviks tertinggi berdasarkan studi epidemiologi oleh peneliti terdahulu karena infeksi HPV tipe risiko tinggi, yang diikuti oleh faktor risiko lainnya antara lain infeksi HIV, infeksi Klamidia, faktor gizi, multiparitas, dan genetik.<sup>27</sup> Hal lain yang menyokong fakta bahwa LSIL dapat terjadi pada usia yang lebih muda adalah karena multifaktor diatas. Sedangkan di negara Arab risiko infeksi HPV lebih rendah karena kultur budaya dan agama. Di Indonesia faktor risiko penyakit menular seksual lebih tinggi sehingga kemungkinan terpapar oleh infeksi virus HPV lebih banyak.<sup>27</sup>

Namun peneliti lain melaporkan tipe HPV risiko tinggi tersering adalah HPV tipe 16 dan 18 pada lesi HSIL.<sup>17,27,32</sup> Pada penelitian lain melaporkan pemeriksaan HPV 16 dan 18,

serta ekspresi p16 pada lesi prakanker dan invasif karsinoma.<sup>7</sup>

Tabel 2 menunjukkan gejala (1) keputihan yang dominan yaitu 41,7% tanpa disertai gejala klinis lainnya, (2) keputihan disertai perdarahan paska senggama 25%, (3) keputihan disertai perdarahan uterus abnormal 25%; dan (4) keputihan disertai ketiga gejala klinis 8,3%. Ini berkaitan dengan perjalanan penyakit di mana lesi awal terjadinya infeksi virus HPV akan menyebabkan LSIL, dan LSIL yang merupakan awal timbulnya lesi lebih berat.<sup>26</sup> Tabel 2 menunjukkan kasus LSIL terbanyak sebagai hasil tindakan biopsi (66,7%) sisanya didapat dari tindakan histerektomi (33,3%).

Tabel 3 menunjukkan gejala klinis HSIL yang mirip KSS yaitu didominasi oleh gabungan ketiga gejala klinis 41,7%. Wanita dengan lesi prakanker ataupun karsinoma serviks stadium awal biasanya tidak memiliki gejala.<sup>3,4,26</sup> Gejala sering tidak muncul sampai kanker menjadi invasif dan tumbuh meluas ke jaringan di sekitarnya. Bila ini terjadi, gejala yang paling umum adalah perdarahan pervaginam yang tidak normal, seperti perdarahan paska senggama, pendarahan setelah menopause, pendarahan dan bercak di antara periode menstruasi, dan menstruasi yang lebih panjang atau lebih berat dari biasanya. Pendarahan setelah pemeriksaan pelvis juga bisa terjadi. Gejala lain yang mungkin juga timbul adalah rasa nyeri saat senggama.<sup>4,26</sup>

Penelitian terdahulu menyatakan gejala klinis terbanyak lesi HSIL adalah perdarahan pervaginam pada wanita perokok dan pengguna kontrasepsi oral.<sup>27</sup> Komponen rokok adalah karsinogen kimia yang menyebabkan penurunan imunitas seluler sehingga proporsi terjadinya lesi prakanker makin meningkat.<sup>5</sup> Sedangkan kontrasepsi oral dapat menurunkan kadar asam folat darah sehingga terjadi perubahan seluler epitel serviks dan hormon pada kontrasepsi dapat meningkatkan efek ekspresi onkoprotein virus yaitu meningkatnya transkripsi onkoprotein E6 dan E7.<sup>5</sup>

Tabel 3 menunjukkan HSIL sebagai hasil tindakan biopsi (83,3%) dan tindakan histerektomi (16,7%).

Tabel 4 menunjukkan ekspresi p16 positif kuat pada kelompok usia kurang dari 30 tahun sebanyak 1 kasus (2,8%), pada kelompok usia 31-40 tahun sebanyak 8 kasus (23,2%), pada kelompok usia 41-50 tahun sebanyak 5

kasus (13,9%), kelompok usia 51-60 tahun sebanyak 11 kasus (30,5%), dan kelompok umur lebih dari 60 tahun sebanyak 1 kasus (8,3%). Hasil ini sejalan dengan penelitian terdahulu, yang menunjukkan ekspresi p16 pada pasien usia >45 tahun adalah sedang sampai kuat dan difus berbeda dengan ekspresinya pada pasien usia <45 tahun yang cenderung lebih lemah dan fokal.<sup>27</sup> Pada penelitian lainnya menyatakan adanya kelompok usia yang tidak menunjukkan perbedaan antara usia muda dan tua, yang menunjukkan ekspresi sedang dan kuat.<sup>23</sup>

Tabel 5 menunjukkan menemukan ekspresi p16 negatif pada semua subyek penelitian. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian sebelumnya.<sup>17,18,21,22</sup> Namun beberapa penelitian lainnya menunjukkan ekspresi negatif p16 pada lesi prakanker dan KSS. Hal ini diduga tidak berkaitan atau tidak disebabkan oleh infeksi HPV, namun melalui jalur karsinogenesis yang berbeda (*de novo*),<sup>23</sup> karena ekspresi p16 adalah penanda adanya infeksi HPV, baik tipe risiko rendah ataupun risiko tinggi. Hasil positif semu dapat terjadi karena faktor teknis pulasan dan *background staining* pada pulasan imunohistokimia disalah interpretasikan sebagai ekspresi p16.

Sedangkan ekspresi p16 positif lemah sampai sedang dijumpai pada 8 kasus LSIL (22,2%), sedangkan ekspresi p16 positif kuat 4 kasus (11,1%), yang berasal dari tindakan histerektomi dan biopsi porsio, yang diduga adanya lesi lain pada serviks. Ekspresi p16 positif kuat pada kasus LSIL, diduga terkait dengan infeksi HPV tipe risiko tinggi yang dapat dibuktikan dengan pemeriksaan genotif HPV. Hal ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang melaporkan kasus LSIL dengan ekspresi p16 positif kuat disebabkan oleh tipe 58 dan HPV tipe 82, yang berlanjut menjadi lesi *high grade* displasia.<sup>21</sup>

Tabel 5 menunjukkan ekspresi p16 positif kuat, pada 2 kasus HSIL (5,6%). Kasus nomor 9 didapatkan dari tindakan biopsi, setelah itu dilanjutkan dengan tindakan histerektomi. Diagnosis *post* histerektomi kasus ini adalah LSIL. Ekspresi positif lemah pada kasus ini kemungkinan karena lesi ini terkait dengan HPV tipe risiko rendah. Hal ini harus dibuktikan dengan pemeriksaan genotif tipe HPV. Sedangkan kasus nomor 8 sebelum tindakan biopsi telah dilakukan *pap smear* dengan diagnosis

KSS. Hasil biopsi dengan diagnosis HSIL menunjukkan ekspresi positif lemah. Hal ini kemungkinan karena progresifitas penyakit yang berlanjut dari infeksi HPV tipe risiko rendah.<sup>22</sup> Kemungkinan lain karena prosedur fiksasi atau pengelolaan jaringan yang tidak adekuat ataupun karena sampel yang sudah lama sehingga ekspresi p16 tidak maksimal atau negatif semu.

Pada Tabel 5 tampak 12 kasus KSS menunjukkan ekspresi p16 positif kuat dan dengan intensitas yang lebih tinggi dibandingkan lesi prakanker terutama LSIL. Hal ini diduga karena KSS mengalami ketidakstabilan genetik akibat onkoprotein E6 dan E7 HPV risiko tinggi. Mutasi lebih lanjut juga dapat terjadi pada gen *host*, antara lain gen *Rb*, *Cyclin D1* dan p16, sehingga lesi yang secara genetik tidak stabil mampu berkembang progresif.<sup>33,34</sup>

Hal ini juga sejalan penelitian terdahulu yang menunjukkan ekspresi p16 meningkat pada CIN 3 (HSIL) dan karsinoma sel skuamosa serviks sedangkan pada jaringan serviks normal dan lesi CIN 1 (LSIL) ekspresi p16 negatif.<sup>17,35</sup> Walaupun, tidak menutup kemungkinan LSIL menunjukkan ekspresi p16 positif kuat, sesuai penelitian sebelumnya.<sup>21</sup>

Tabel 6 menunjukkan ekspresi lemah-sedang sebagian besar dijumpai pada diagnosis histopatologi LSIL yaitu sebanyak 8 kasus (22,2%) sedangkan pada ekspresi p16 positif kuat sebagian besar dijumpai pada diagnosis KSS sebanyak 12 kasus (23,4%) dan HSIL sebanyak 10 kasus (28,1%). Analisis statistik dengan *chi-square test p-value=0,001* ( $p < 0,05$ ) menunjukkan adanya korelasi bermakna antara ekspresi p16 dan diagnosis histopatologi. Nilai  $r=0,632$  menunjukkan adanya korelasi positif ekspresi p16 pada lesi LSIL, HSIL dan KSS. Artinya makin tinggi skor ekspresi p16, maka semakin berat derajat displasia serviks dan makin besar kemungkinan terdeteksi adanya infeksi HPV tipe risiko tinggi. Hasil ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menunjukkan adanya korelasi bermakna antara ekspresi p16 dengan lesi prakanker (LSIL, HSIL) dan KSS.<sup>11,18,35</sup> Di samping itu, peningkatan ekspresi p16 pada derajat displasia yang berat maupun karsinoma sel skuamosa berkorelasi positif dengan infeksi HPV risiko tinggi, yang sesuai dengan penelitian terdahulu.<sup>7,8,10,11,13,17,21</sup> Hal ini berhubungan dengan peranan onkogen virus E6 dan E7 pada HPV risiko tinggi pada sel sehingga kontrol pada siklus sel terganggu.<sup>21</sup>

**KESIMPULAN**

Ekspresi p16 meningkat pada lesi HSIL dan KSS. Ekspresi p16 antara lesi prakanker (LSIL dan HSIL) dan KSS menunjukkan korelasi bermakna.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Estimated cancer incidence, mortality, and prevalence worldwide in 2012. International Agency for Research on Cancer (IARC)/WHO. GLOBOCAN 2012.
2. Laporan Kunjungan dan Diagnosa per Bulan Instalasi Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Mohammad Hoesin Palembang.
3. Stoler M, Bergeron C, Colgan TJ, Ferenczy AS, Herrington CS, Kim KR et al. Tumours of The Uterine Cervix. In: Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. 4<sup>th</sup> Edition. Lyon: IARC; 2014.
4. Witkiewicz AK, Wright TC, Ferenczy A, Kurman RJ, Ronnett BM. Carcinoma and Other Tumors of The Cervix. In: Kurman RJ, Ellenson LH, Ronnett BM. Blaustein's pathology of the female genital tract. 6<sup>th</sup> Edition. New York: Springer; 2011.
5. Wright TC. Pathology of HPV infection at cytology and histologic level: basis for a 2-tiered morphologic classification system. Int J Gynecol Oncol Obst. 2006; 94: 22-31.
6. Lesnikova I, Lidang M, Dutoit SH, Koch J. P16 as a diagnostic marker of cervical neoplasia: a tissue microarray study of 796 archival specimens. Diagn Pathol. 2009; 4: 1-7.
7. Zouheir Y, Fechtali T, Elgnaoui N. Human papillomavirus genotyping and p16INK4a expression in cervical lesions: a combined test to avoid cervical cancer progression. J Cancer Prev. 2016; 21: 121-5.
8. Godoy A, Mandelli J, Oliveira F, Calegari S, Moura L and Serafini E. p16INK4 expression in precursor lesions of squamous cell cervical cancer related to the presence of HPV-DNA. Brazilian J Med Biol Res. 2008; 41: 583-8.
9. Resende JCP, Fregnani J, Kerr L, Mauad EC, Filho AL, Neto CS. The Accuracy of p16/Ki-67 and HPV Test in the Detection of CIN2/3 in Women Diagnosed with ASC-US or LSIL. PLOS ONE |

- DOI:10.1371/journal.pone.0134445 2015:1-10
10. Iaconis L, Hyjek E, Ellenson LH, Pirog EC. P16 and Ki-67 immunostaining in atypical immature squamous metaplasia of the uterine cervix correlation with human papillomavirus detection. *Arch Pathol Lab Med.* 2007; 131: 1343-9.
  11. Lim S, Lee MJ, Cho I, Hong R, Lim SC. Efficacy of p16 and Ki-67 immunostaining in the detection of squamous intraepithelial lesions in a high-risk HPV group. *Oncol Lett.* 2016; 11: 1447-52.
  12. Cuschieri K, Wentzensen N. HPV mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008; 17: 2536-45.
  13. Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, Fukuda T, Nakajima T. Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. *Am J Pathol.* 1998; 153: 1741-8.
  14. Bahnassy AA, Zekri AR, Saleh M, Lotayef M, Moneir M, Shawki O. The possible role of cell cycle regulators in multistep process of HPV-associated cervical carcinoma. *BMC Clin Pathol.* 2007; 7: 1-11.
  15. Zhong P, Li J, Gu Y, Liu Y, Wang A, Sun Y, *et al.* P16 and Ki-67 expression improves the diagnostic accuracy of cervical lesions but not predict persistent high risk human papillomavirus infection with CIN1. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015; 8: 2979-86.
  16. Ellenson LH, Pirog EC. The Female Genital Tract. In: Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbins and Cotran Pathology Basis of Disease.* 9<sup>th</sup> Edition. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015.
  17. Queiroz C, Silva T, Alves V, Villa L, Costa M, Travassos A, *et al.* P16INK4a expression as a potential prognostic marker in cervical pre-neoplastic and neoplastic lesions. *Pathol Res Pract.* 2006; 202: 77-83.
  18. Laksmi L, Moestikaningsih, Widiana G, Sriwidyani N, Mulyadi K. Ekspresi P16INK4a pada squamous cell carcinoma serviks uteri dan cervical intraepithelial neoplasia 1, 2, 3. *Majalah Patologi Indonesia.* 2014; 23: 24-31.
  19. Rahmawati A, Damayanti, Rosita C, Lumintang H. Korelasi ekspresi p16 pada lesi kondilomata akuminata dengan berbagai derajat displasia serviks. *BIKKK.* 2014;26: 183-9.
  20. Wentzensen N, Schwartz L, Zuna RE, Smith K, Mathews C, Gold MA, *et al.* Performance of p16/Ki-67 immunostaining to detect cervical cancer precursors in a colposcopy referral population. *Clin Cancer Res.* 2012; 18: 4154-62.
  21. Razmpoosh M, Sansregret A, Oligny L, Patey N, Dormoy-Raclet V, Ducruet T, Soglio D. MD1 Assessment of Correlation Between p16INK4a Staining, Specific Subtype of Human Papillomavirus, and Progression of LSIL/CIN1 Lesions First Comparative Study. *Am J Clin Pathol.* 2014; 142: 104-10.
  22. Volgareva G, Zavalishina L, Andreeva Y, Frank G, Ella Krutikova E, Golovina D, *et al.* P16 as a marker of dysplastic and neoplastic alterations in cervical epithelial cells. *BMC Cancer.* 2004; 4: 1-10.
  23. Sinuhaji I, Siregar B, Lisnawati. Ekspresi p16INK4A pada karsinoma serviks usia muda. *J Indon Med Assoc.* 2013; 63: 4-8.
  24. Surveillance research. *Cancer Facts & Figures 2016.* Atlanta: American Cancer Society 2016:1-25.
  25. Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia Yayasan Kanker Indonesia. *Kanker di Indonesia Tahun 2007 Data Histopatologik.* 2007. Jakarta: Direktorat Jenderal Pelayanan Medik Departemen Kesehatan RI.
  26. Appleby P, Beral V, Berrington de Gonzalez A, Colin D, Franceschi S, Goodill A, *et al.* Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: Collaborative reanalysis of individual data on 13,541 women with carcinoma of the cervix and 23,017 women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies. *Int. J. Cancer.* 2006; 118: 1481-95.
  27. Omran O, Alsheeha M. Human papilloma virus early protein E6 (HPV 16/18-E6) and the cell cycle marker p16 (INK4a) are useful prognostic markers in uterine cervical carcinoma in Qassim Region-Saudi Arabia. *Pathol Oncol Res.* 2015; 21: 157-66.
  28. Ikecehebelu J, Onyiaorah I, Ugboaja J, Anyiam D, Eleje G. Clinicopathological

- analysis of cervical cancer seen in a tertiary health facility in Nnewi, south-east Nigeria. *J Obstet Gynaecol.* 2010; 30: 299-301.
29. Robboy SJ, Mutter GL, Prat J, Bentley RC, Russell P, Anderson MC. Robboy's pathology of the female reproductive tract. ChurchillLivingstone: Elsevier; 2009.
  30. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Female Genital System and Breast. In: Robbins Basic Pathology. 9th Edition. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2013.
  31. Justus N, Esther N, Felix O. A six-year study of the clinical presentation of cervical cancer and the management challenges encountered at a state teaching hospital in Southeast Nigeria. *CMI: Oncol.* 2013; 7: 151-8.
  32. Walboomers JM, Jacobs MV. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 12-9.
  33. Stanley M. Pathology and epidemiology of HPV infection in females. *Gynecol Oncol.* 2010; 117: 5-10.
  34. Naggar AK, Lai S, Clayman GL, Zhou JH, Tucker SA, Myers J, *et al.* 1999. Expression p16, Rb, and cyclin D1 gene products in oral and laryngeal squamous carcinoma : Biological and clinical implications. *Hum Pathol.* 1999; 30: 1013-8.
  35. Zhang Q, Kuhn L, Denny L, De Souza M, Taylor S, Wright T. Impact of utilizing p16 immunohistochemistry on estimated performance of three cervical cancer screening test. *Int J Cancer.* 2006; 120: 351-6.