

Perbedaan Tampilan Imunohistokimia p63 antara Neoplasia Intraepitel Prostat dengan Adenokarsinoma Prostat

Hendrianto, H.M. Nadjib Dahlan Lubis, Joko S. Lukito

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara
Medan

ABSTRAK

Latar belakang

Kadangkala pada pemeriksaan histopatologi rutin sulit dibedakan antara adenokarsinoma prostat berdiferensiasi baik dan neoplasia intraepitel prostat (PIN). Untuk itu diperlukan pewarnaan lain yang lebih akurat dengan menggunakan petanda sel basal, seperti p63. Tujuan penelitian ini adalah membuktikan adanya perbedaan tampilan imunohistokimia p63 antara PIN dengan adenokarsinoma prostat.

Bahan dan cara

Penelitian ini merupakan penelitian deskripsi analitik dengan rancangan *cross sectional*. Sampel penelitian jaringan prostat sebanyak 49 blok paraffin berasal dari *transurethral resection of prostate* (TURP) atau *surgical prostatectomy* yang telah didiagnosa dengan pewarnaan HE.

Hasil

Pemeriksaan imunohistokimia (IHK) menggunakan p63 ini memiliki sensitivitas sebesar 68%, spesifitas sebesar 75%, nilai prediktif positif sebesar 74%, nilai prediktif negatif sebesar 69% dan *likelihood ratio* + sebesar 2,72. Uji statistik chi-square antara PIN dan adenokarsinoma prostat menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0.05$). Uji korelasi antara ekspresi *aberrant p63* dan *Gleason score* pada adenokarsinoma prostat menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0.001$).

Kesimpulan

Tampilan p63 dapat digunakan untuk membedakan antara PIN dan adenokarsinoma prostat. Semakin kuat tampilan *aberrant p63*, semakin tinggi Gleason score artinya semakin buruk prognosis adenokarsinoma prostat.

Kata kunci: imunohistokimia p63, *aberrant p63*, neoplasia intraepitel prostat, adenokarsinoma prostat, *Gleason score*.

ABSTRACT

Background

Sometimes, on routine histologic examination it was very difficult to differentiate between prostate adenocarcinoma *well differentiated* and prostate intraepithelial neoplasia (PIN). To accurate stain basal cell markers, such as p63. The purpose of this research is to improve distinctive of expression p63 between PIN and prostate adenocarcinoma.

Methods

This research is an analytic descriptive research with *cross sectional approach*. Observational sample of prostate tissue contains of 49 paraffin blocks from *transurethral resection of prostate* (TURP) or *surgical prostatectomy* have been diagnosed by HE staining.

Results

Immunohistochemistry assay of p63 has sensitivity 68%, specificity 75%, positive predictive value 74%, negative predictive value 69% and likelihood ratio + 2,72. Statistic analysis of chi-square between PIN and adeno-carcinoma prostate showed significant differences ($p < 0.05$). Correlation test between aberrant p63 expression and Gleason score on adenocarcinoma prostate showed significant differences ($p < 0.001$).

Conclusion

Expression p63 be could used to differentiated between PIN and adenocarcinoma prostate. The higher expression of aberrant p63, the higher Gleason score means poorly differentiate adenocarcinoma prostat.

Key words: p63 immunohistochemistry, aberrant p63, prostate intraepithelial neoplasia, prostate adenocarcinoma, Gleason score.

PENDAHULUAN

Adenokarsinoma prostat masih menjadi masalah kesehatan di seluruh dunia, baik dari segi insiden maupun mortalitas. Sembilan puluh lima persen dari keganasan pada kelenjar prostat adalah adenokarsinoma prostat.¹ Di Subbagian Urologi, Bagian Bedah FKUI/RSCM, selama periode 1995-1998 ditemukan rata-rata 17 kasus pertahun dan menduduki peringkat kedua setelah kanker buli-buli (kandung kemih).²

Perubahan keganasan pada prostat tidak terjadi secara menyeluruh dan serentak, akan tetapi secara bertahap sehingga kadangkala tidak terdiagnosa apabila perubahan keganasannya masih awal seperti neoplasia intraepitel prostat (PIN). Berdasarkan derajat atipia sel, PIN dibagi atas *low grade* (LGPIN) dan *high grade* (HGPN). Namun, tidak terbukti adanya hubungan antara LGPIN dengan adenokarsinoma prostat, tetapi HGPN memiliki hubungan erat dengan adenokarsinoma prostat dan merupakan lesi prekursorinya.³

Pada 80% kasus jaringan prostat yang diteliti menunjukkan lesi prekursor yang disebut *high grade* PIN. Lesi ini terdiri dari kelenjar-kelenjar dengan proliferasi sel-sel yang menunjukkan anaplasia inti. *High grade* PIN terdiri dari kelenjar-kelenjar yang terpisah lebih jauh, kelenjar bercabang dengan struktur *papillary*. Pada kanker invasif tampak kelenjar-kelenjar kecil, tersusun rapat, tepi lumen datar (tidak bercabang). Pada PIN tampak kelenjar-kelenjar dikelilingi lapisan sel-sel basal dan membran basal yang utuh.^{4,5} Sedangkan pada adenokarsinoma prostat tampak kelenjar dengan satu tipe sel tanpa lapisan sel basal. Pengenalan sel-sel basal dengan pewarnaan HE tidak mudah dilakukan. Pada beberapa kasus karsinoma, mungkin terlihat sel-sel menyerupai sel-sel basal. Akan tetapi apabila sel-sel tersebut diwarnai dengan anti-bodi yang spesifik untuk sel basal maka hasilnya negatif. Sel tersebut adalah fibroblast yang mengelilingi kelenjar yang mengalami perubahan ganas, sehingga sel-sel basal kelenjar-kelenjar membutuhkan pewarnaan khusus.^{6,7}

P63 merupakan suatu protein inti yang dikode oleh gen pada kromosom 3q27-29 yang homolog dengan p53 (suatu *tumor suppressor gene*), yang meregulasi pertumbuhan dan perkembangan epitel kulit, servik, payudara, prostat, stem sel prostat dan traktus urogenital.^{8,9} Berbeda dengan p53, p63 mengkode

minimal 6 isotype utama. Tiga isotype (TAp63 α , TAp63 β , TAp63 γ) terdiri dari *transactivating domain* (TA) dan mampu mengaktifkan p53 dan menginduksi *apoptosis*. Berbeda dengan tiga isotype lainnya (Δ Np63 α , Δ Np63 β , Δ Np63 γ) tidak mengandung TA *domain* dan mensupresi p53 dan isotype TAp63. Isotype yang paling banyak tertampil pada sel-sel basal prostat normal adalah Δ Np63 α .^{9,10,11} Tampilan Δ Np63 α menurun pada sel-sel yang telah berdiferensiasi secara invitro dan invivo serta diduga Δ Np63 α tertampil secara spesifik pada sel stem yang menunjukkan kemampuan proliferasi yang tinggi. Tampilan Δ Np63 α diatur melalui jalur *phosphoinositide 3-kinase*.¹² Perbedaan tampilan p63 berhubungan dengan progresi kanker atau suatu kanker dengan prognosis buruk. Tampilan p63 tampak berlebihan pada kanker ovarium dan karsinoma sel skuamous oral. Sedangkan tampilan p63 menurun pada kanker saluran kemih atas dan prostat; tampilan *aberrant cytoplasmic* tampak pada adenokarsinoma paru-paru. Pada adenokarsinoma prostat dapat juga terlihat peningkatan tampilan *aberrant* p63 di sitoplasma yang berhubungan dengan mortalitas, proliferasi yang meningkat dan apoptosis yang menurun.¹³ Sehingga pada penelitian ini, peneliti juga melakukan uji korelasi tampilan *aberrant* p63 pada adenokarsinoma prostat dengan *Gleason score*. Dengan pewarnaan HE, kadangkala adenokarsinoma prostat tidak terdeteksi, terutama pada *Gleason grade* 1 atau 2 sehingga sulit dibedakan dari PIN. Tujuan penelitian ini adalah untuk menegakkan diagnosa keganasan pada jaringan prostat dengan menggunakan petanda sel basal p63, kadangkala pada beberapa sediaan jaringan prostat ditemukan keraguan dalam menegakkan diagnosa. Untuk itu diperlukan adanya pemeriksaan histopatologi yang tepat, menggunakan petanda sel basal yaitu p63 untuk membedakan PIN dengan adenokarsinoma prostat.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif analitik dengan rancangan *cross sectional*, yang dilakukan bulan Juni 2010 sampai April 2011 dengan sampel jaringan prostat yang berasal dari *transurethral resection of prostate* (TURP) atau *surgical prostatectomy*. Pemeriksaan histopatologi dilakukan di Sentra Diagnostik Patologi Anatomik Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, serta beberapa

laboratorium Patologi di rumah sakit pemerintah dan swasta kota Medan dan Jambi sejak Januari 2006 hingga Maret 2011. Kriteria inklusi sampel adalah sediaan jaringan prostat dari TURP atau *surgical prostatectomy*, yang fiksasi dalam formalin 10%. Sedangkan kriteria eksklusi sampel adalah kelainan prostat yang bukan PIN dan adenokarsinoma prostat, serta hasil pewarnaan yang meragukan atau sulit diinterpretasi. Pada penelitian ini, dikumpulkan blok parafin jaringan prostat sebanyak 105 buah. Sampel yang memenuhi kriteria inklusi terdiri dari 25 kasus PIN dan 25 kasus adenokarsinoma prostat dengan berbagai *Gleason score*, yang dipilih secara *purpose sampling*.

Setiap blok parafin sampel jaringan prostat dipotong dan terlebih dahulu diwarnai dengan HE, yang diamati oleh dua orang ahli patologi bersama dengan peneliti dan membagi sampel menjadi kelompok PIN dan adenokarsinoma prostat. Setelah itu baru dilakukan pemotongan ulang blok parafin, untuk diwarnai dengan pewarnaan imunohistokimia p63 menggunakan metode *REAL En Vision*. Antibodi primer yang digunakan adalah *mouse monoclonal* antibodi p63 dengan pengenceran 1:50-1:100. Imunogennya adalah $\Delta Np63\alpha$.¹⁴

Instrumen penelitian yang digunakan adalah ekspresi p63 pada sampel sediaan mikroskopik prostat. Kontrol positif berasal dari jaringan prostat yang telah diketahui positif terhadap p63, kontrol negatifnya adalah *omit primary antibody*. Tampilan p63 positif apabila pada inti sel basal tertampil warna coklat,

sedang *aberrant p63* tertampil pada sitoplasma sel luminal kelenjar prostat. Skor tampilan p63 yang diinterpretasi merupakan hasil perkalian antara skor jumlah sel yang terwarnai dengan skor intensitas warna. Skor jumlah sel yang terwarnai dibagi atas 4 yaitu skor 0 apabila tidak ada sel yang terwarnai, skor 1 apabila di bawah 25% jumlah sel yang terwarnai, skor 2 apabila 25%-75% jumlah sel yang terwarnai dan skor 3 apabila di atas 75% jumlah sel yang terwarnai. Skor intensitas warna dibagi atas 3 yaitu skor 1 apabila intensitas warna lemah, skor 2 apabila intensitas warna sedang dan skor 3 apabila intensitas warna kuat. Dikatakan tampilan p63 negatif apabila hasil perkaliannya nol, positif lemah apabila hasil perkaliannya 1 sampai 3, positif sedang apabila hasil perkaliannya 4 sampai 6 dan positif kuat apabila hasil perkaliannya 7 sampai 9. Adapun cara menginterpretasi tampilan imunohistokimia tersebut di atas adalah modifikasi dari *Q score*.¹⁵

Data-data pengamatan mikroskopis disajikan dalam bentuk tabel dan dideskripsikan. Analisa Chi-square digunakan untuk membedakan ekspresi p63 dan pemeriksaan *gold standard* pewarnaan HE antara PIN dan adenokarsinoma prostat. Uji Spearman digunakan untuk membedakan antara tampilan *aberrant p63* dan *Gleason score* pada adenokarsinoma prostat.¹⁶

Pada penelitian ini, analisa statistik terhadap data penelitian dengan menggunakan program komputer SPSS versi 17.

HASIL

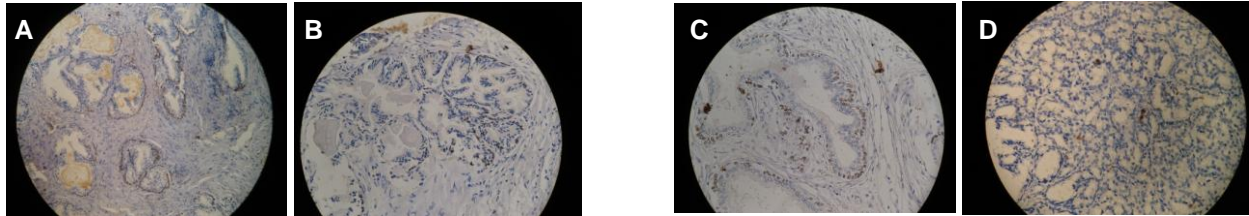
Tabel 1. Tampilan p63 pada kelompok neoplasia intraepitel prostat dan adenokarsinoma prostat.

No	Jenis kelainan prostat	P63 (+)			p63 (-)	Jumlah
		Le mah	Se dang	Kuat		
1	Neoplasia intraepitel prostat	8 (32%)	7 (28%)	2 (8%)	8 (32%)	25 (100%)
2	Adeno karsinoma prostat	0 (0%)	3 (12.5%)	3 (12.5%)	18 (75%)	24 (100%)
	Jumlah	8	10	5	26	49

Tabel 2. Uji Chi-square pada kedua kelompok penelitian.

p63 \ HE	Neoplasia intraepitel prostat	Adeno karsinoma prostat	Jumlah	X ²	P value
	Positif	17	6		
Negatif	8	18	26	9.090	.003
Jumlah	25	24	49		

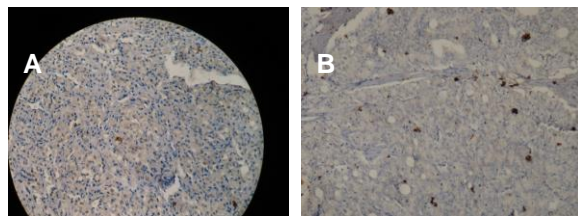
Ket : HE= pewarnaan henatoksilin eosin, X²= chi-square



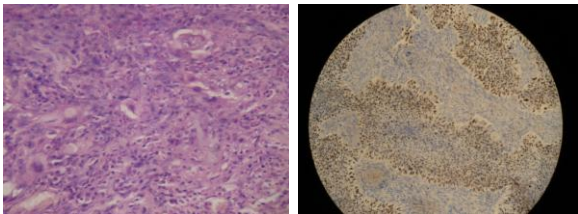
Gambar 1. A.Tampilan p63 positif kuat di inti sel basal pada preparat neoplasia intraepitel prostat, B.Tampilan p63 positif sedang di inti sel basal pada preparat neoplasia intraepitel prostat, C.Tampilan p63 positif lemah di inti sel basal pada preparat neoplasia intraepitel prostat, D.Tampilan p63 negatif pada preparat adenokarsinoma prostat.

Tabel 3. Tampilan aberrant p63 pada kelompok adenokarsinoma prostat yang dihubungkan dengan *Gleason score*.

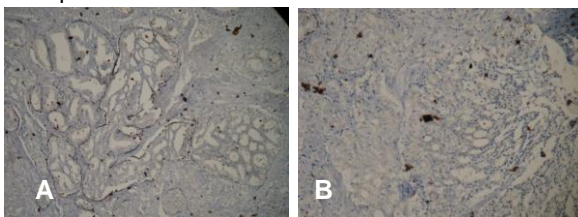
No	<i>Gleason score</i>	Aberrant p63 (+)			Aberrant p63 (-)	Jumlah
		Lemah	Sedang	Kuat		
1	4	0	0	0	1	1
2	5	0	0	0	3	3
3	6	0	0	0	5	5
4	7	2	0	0	2	4
5	8	1	1	0	0	2
6	9	3	1	0	0	4
7	10	4	0	0	1	5
Jumlah		10(41.67%)	2(8.33%)	0(0%)	12(50%)	24(100%)



Gambar 2. A. Tampilan *aberrant p63* positif sedang pada preparat adenokarsinoma, B. Tampilan *aberrant p63* positif lemah pada preparat adenokarsinoma.



Gambar 3. Tampilan p63 positif pada preparat yang diduga suatu adenokarsinoma prostat dengan metaplasia sel transitional atau *urothelial carcinoma*.



Gambar 4. A. p63 tertampil di inti sel basal pada setempat yang menunjukkan neoplasia intraepitel prostat, B. p63 tidak tertampil pada adenokarsinoma prostat.

DISKUSI

Tabel 1 menunjukkan bahwa tampilan p63 di inti sel basal pada kelompok PIN terbagi atas tampilan positif kuat sebesar 8% (gambar 1A); positif sedang sebesar 28% (gambar 1B); positif lemah sebesar 32% (gambar 1C) dan tampilan negatif sebesar 32% (gambar 1D). Sedangkan tampilan p63 di inti sel basal pada kelompok adenokarsinoma prostat terbagi atas tampilan negatif sebesar 75%; positif sedang sebesar 12,5% dan positif kuat sebesar 12,5%. Hasil tersebut di atas diduga karena kasus PIN adalah *high grade* dan adenokarsinoma prostat berdiferensiasi baik sehingga dengan pewarnaan HE keduanya sulit dibedakan. Penelitian ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa dengan pewarnaan HE, adenokarsinoma prostat berdiferensiasi baik sulit dibedakan dari PIN.³ Peneliti lain menyatakan bahwa *high grade* PIN dan adenokarsinoma menunjukkan gambaran sel-sel basal yang mirip.^{4,5}

Tabel 2 menunjukkan hasil pemeriksaan imunohistokimia p63 ini memiliki sensitifitas sebesar 68%; spesifitas sebesar 75%; nilai prediktif positif sebesar 74%; nilai prediktif negatif sebesar 69%; likelihood ratio + sebesar 2,72. Analisa statistik *Chi-square* antara PIN dan adenokarsinoma prostat menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0.05$). Hal ini diduga karena ekspresi p63 dapat terlihat jelas pada

PIN, sedang sel-sel basal pada adenokarsinoma tidak dapat dikenali. Hasil penelitian ini sesuai dengan peneneliti terdahulu yang menyatakan bahwa sel-sel basal pada kelenjar jinak tidak mudah dikenali.^{6,7}

Tabel 3 menunjukkan tampilan *aberrant* p63 di inti sel basal pada kelompok adenokarsinoma prostat sbb: positif sedang sebesar 8,33% (gambar 2A); tampilan positif lemah 41,67% (gambar 2B) dan tampilan negatif 50%. Tampilan positif sedang menunjukkan *Gleason score* 8 dan 9 masing-masing sebanyak 1 preparat. Tampilan positif lemah menunjukkan *Gleason score* 7 sebanyak 2 preparat, *Gleason score* 8 sebanyak 1 preparat, *Gleason score* 9 sebanyak 3 preparat dan *Gleason score* 10 sebanyak 4 preparat. Namun tampilan *aberrant* p63 tidak dijumpai pada kelompok PIN.

Uji korelasi Spearman antara tampilan *aberrant p63* dengan *Gleason score* menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0.001$). Hal ini berarti terdapat korelasi yang sangat bermakna, di mana tampilan *aberrant p63* semakin kuat sebanding dengan semakin besarnya *Gleason score*. Hal ini diduga karena tampilan *aberrant p63* berhubungan dengan mortalitas, proliferasi meningkat dan apoptosis yang menurun. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa ekspresi p63 dapat terlihat pada sel-sel basal^{8,9} dan menunjukkan adanya peningkatan proliferasi dan penurunan apoptosis.^{9,10,11}

Sedangkan satu preparat lagi merupakan adenokarsinoma prostat dengan metaplasia sel transitional atau *urothelial carcinoma* pada prostat (gambar 3). Metaplasia sel transitional dan *urothelial carcinoma* dibedakan dengan melihat karakteristik sel, di mana *urothelial carcinoma* menunjukkan pleomorfisme sel dan aktifitas mitosis inti yang tinggi. Menurut referensi WHO (2004), *urothelial carcinoma* dapat primer atau sekunder pada prostat. *Urothelial carcinoma* yang berdiferensi buruk masih sulit dibedakan dengan adenokarsinoma prostat berdiferensiasi buruk. Sel-sel pada *urothelial carcinoma* yang berdiferensiasi buruk lebih pleomorfik dan aktivitas mitosis lebih tinggi dibandingkan dengan adenokarsinoma prostat berdiferensiasi buruk. *Urothelial carcinoma* cenderung memiliki sitoplasma lebih eosinofilik dan diferensiasi skuamous menonjol, sedangkan sitoplasma pada adenokarsinoma prostat lebih pucat dan *foamy*.^{7,13} Secara immuno-

histokimia, *urothelial carcinoma* akan memberikan tampilan p63 positif tetapi negatif terhadap PSA dan PAP.⁷

Pada penelitian ini, berdasarkan pewarnaan HE dijumpai satu preparat yang didiagnosa adenokarsinoma prostat. Pada pewarnaan IHK p63 setempat tampak kelenjar *cribriformis* yang menunjukkan tampilan p63 pada inti sel basal (gambar 4A). Ini menunjukkan PIN *high grade* tipe *cribriformis* yang dijumpai bersamaan dengan adenokarsinoma prostat. Namun pada penelitian ini, preparat tersebut dikelompokkan pada kelompok adenokarsinoma karena berdasarkan pewarnaan HE sel-sel kelenjar menunjukkan gambaran adenokarsinoma.

KESIMPULAN

Tampilan p63 dapat digunakan untuk membedakan antara PIN dan adenokarsinoma prostat. Semakin kuat tampilan *aberrant p63*, semakin tinggi *Gleason score* artinya semakin buruk prognosis adenokarsinoma prostat.

DATAR PUSTAKA

1. Mills SE. *Sternberg's diagnostic surgical pathology: The prostate and seminal vesicles*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. P. 2089-115.
2. Pusat data dan informasi PERSI. Kanker prostate [internet]. 2004 [cited 2010 Jan 19]. Available from: <http://www.pdpersi.co.id/?show=detailnews&kode=927&tbl=artikel>.
3. Zhou M, Galluzi CM. *Genitourinary pathology: Neoplasms of the prostate and seminal vesicles*. Philadelphia: Elsevier; 2007. P. 56-84.
4. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. *Pathologic basis of disease: Prostate*. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. P. 1050-6.
5. Weinberg R, Shay J, Liotta L. *The cancer handbook: Male genital tract*. USA: Huangziman; 2003. P. 655-74.
6. Chandrasoma P, Taylor CR. *Concise pathology: Testicular neoplasm*. United State: Mc.Graw-Hill; 2001. P. 756-60.
7. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA. *Pathology and genetics tumours of the urinary system and male genital organs: Acinar adenocarcinoma*. Lyon: IARC Press; 2004. P. 162-92, 202-4.
8. Stevens A, Lowe J. *Pathology: Prostate gland*. 2nd ed. London: Mosby; 2000. P.390-2.

9. Signoretti S, Waltregny D, Dilks J, Isaac B, Lin D, Garraway L et.al. P63 is a prostate basal cell marker and is required for prostate development. *Am. J Pathol.* 2000 Des; 157(6):1769-75.
10. Ghioni P, Bolognese F, Duijf PHG, Bokhoven H, Mantovani R, Guerrini L. Complex transcriptional effects of p63 isoforms: Identification of novel activation and repression domains. *Mol and cell biol.* 2002 Des; 22(24): 8659-68.
11. Di Como CJ, Urist MJ, Babayan I. P63 expression profiles in human normal and tumor tissues. *Clin Cancer Res.* 2002; 8: 494-501.
12. Barbieri CE, Barton CE, Pietenpol JA. $\Delta Np63\alpha$ expression is regulated by the phosphoinositide 3-kinase pathway. *The J biol chem.* 2003; 278(51): 51408-14.
13. Dhillon PK, [Barry M](#), [Stampfer MJ](#), [Perner S](#), [Fiorentino M](#), [Fornari A](#) et.al. Aberrant cytoplasmic expression of p63 and prostate cancer mortality. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009; 18(2): 595-600.
14. Dako. Monoclonal mouse anti human p63 protein [internet]. 2008 [cited 2010 Oktober 7]. Available from: <http://www.dako.com>.
15. Shaw. Breast cancer hormone receptor scoring [internet]. 2010 [cited 2011 April 07]. Available from: <http://www.theeffectivetruth.info/hormonerecept.html>
16. Budiarto E. *Biostatistika untuk kedokteran dan kesehatan masyarakat*. Jakarta: EGC; 2002. P. 212-25, 259-60.