

## Analisis Ekspresi P53 pada Karsinoma Urotelial Kandung Kemih Derajat Rendah dan Derajat Tinggi serta Hubungannya dengan Stadium Tumor

**Imelda Setiana Silitonga, Budiana Tanurahardja, Kusmardi**  
Program Pendidikan Dokter Spesialis, Departemen Patologi Anatomi,  
Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia  
Jakarta.

Penulis korespondensi: dr. Budiana Tanurahardja, SpPA(K)  
Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia  
Jakarta  
E-mail: budiana.t@gmail.com; imelda.silitonga@gmail.com

### ABSTRAK

#### Latar belakang

Karsinoma urotelial merupakan keganasan kandung kemih tersering pada laki-laki. Faktor risikonya adalah merokok, pajanan bahan kimia, radiasi, infeksi *Schistosoma hematobium*. Mutasi p53 merupakan mutasi tersering pada karsinoma urotelial kandung kemih yang menyebabkan akumulasi protein p53 di inti dan terlihat dengan imunohistokimia. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis perbedaan ekspresi p53 pada karsinoma urotelial kandung kemih derajat rendah dan derajat tinggi serta hubungan ekspresi p53 dengan stadium tumor.

#### Metode

Penelitian menggunakan desain potong lintang. Sampel terdiri atas 47 kasus yang terbagi menjadi 22 kasus karsinoma urotelial derajat rendah dan 25 kasus karsinoma urotelial derajat tinggi di Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo (FKUI/RSCM) tahun 2009-2017 dan dilakukan pulasan imunohistokimia p53 dengan *cut off* positif  $\geq 20\%$ .

#### Hasil

Ekspresi p53 positif pada 33 sampel, 20 kasus karsinoma urotelial derajat tinggi, dan 13 kasus karsinoma urotelial derajat rendah; 22 kasus *Nonmuscle invasive bladder cancer* dan 11 kasus *Muscle invasive bladder cancer*.

#### Kesimpulan

Ekspresi p53 pada karsinoma urotelial kandung kemih derajat rendah dan derajat tinggi serta hubungannya dengan stadium tumor menunjukkan perbedaan tidak bermakna.

**Kata kunci:** karsinoma urotelial, kandung kemih, p53, imunohistokimia.

## P53 Expression analysis in Low Grade and High Grade Urothelial Bladder Carcinoma and the Association with Tumor Stages

### ABSTRACT

#### Background

Urothelial carcinoma is the most common bladder malignancy in men. Risk factors include smoking, chemicals exposure, radiation, schistosoma hematobium infection. P53 mutation is the most common mutation in urothelial bladder carcinoma that cause p53 protein accumulation which are detected through immunohistochemical examination. The aim of this study is to analyze the differences between p53 expression in low and high grade urothelial and the carcinomas association of p53 expression with tumor stage.

#### Methods

This was a cross sectional study with 47 cases (22 cases of low grade and 25 cases of high grade) urothelial carcinoma in Anatomical Pathology Department Faculty Medicine of Universitas Indonesia/Cipto Mangunkusumo Hospital (FKUI/RSCM) in 2009-2017. All cases stained with p53 antibody with immunohistochemical methods with positive *cut off*  $\geq 20\%$ .

#### Results

P53 positive expression are found in 33 samples, 20 cases of high grade and 13 cases in low grade; 22 cases of Nonmuscle invasive bladder cancer and 11 cases of Muscle invasive bladder cancer.

#### Conclusion

The expression of p53 in low grade and high grade urothelial carcinoma of the bladder and its association with tumor stage showed no significant difference.

**Key words:** urothelial carcinoma, bladder, p53, immunohistochemistry.

## PENDAHULUAN

Kanker kandung kemih merupakan kanker di sistem traktus urinarius yang paling sering ditemukan. Berdasarkan data *Global Burden Cancer* (GLOBOCAN) tahun 2018, kanker kandung kemih menempati urutan keempat belas kanker tersering di Indonesia dengan jumlah kasus baru sebanyak 6.716 dan angka kematian 3.375. Sedangkan di dunia merupakan keganas-an tersering keenam pada laki-laki dengan jumlah kasus baru sebanyak 424.082 dan angka kematian 148.270 kasus.<sup>1</sup> Berdasarkan data Badan Registrasi Kanker (BRK) Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia tahun 2013, kanker kandung kemih menempati urutan ketiga belas dari seluruh jenis kanker dan merupakan tumor primer tersering keenam pada laki-laki.<sup>2</sup>

Karsinoma urotelial merupakan tumor primer tersering di kandung kemih yaitu sekitar 90% dari seluruh jenis kanker di kandung kemih.<sup>3-5</sup> Berdasarkan *World Health Organization/International Society of Urologic Pathology* (WHO/ISUP) tahun 2004, karsinoma urotelial dibagi menjadi derajat rendah dan derajat tinggi. Stadium tumor ditentukan berdasarkan sistem Tumor, Nodul, Metastasis (TNM). Derajat histopatologik dan stadium tumor menjadi dasar dalam pemilihan terapi dan merupakan faktor prognosis yang penting bagi pasien karsinoma urotelial kandung kemih.<sup>6-8</sup> Karsinoma urotelial derajat rendah memiliki prognosis yang lebih baik jika dibandingkan dengan karsinoma urotelial derajat tinggi.<sup>3</sup> Karsinoma urotelial kandung kemih dibagi menjadi *Nonmuscle invasive bladder cancer* (NMIBC) dan *Muscle invasive bladder cancer* (MIBC) berdasarkan kedalaman invasinya. Sekitar 50-70% kasus kelompok tumor NMIBC akan mengalami kekambuhan dan 10-20% kasus akan berkembang menjadi MIBC.<sup>9-11</sup> Tingginya angka kekambuhan ini menjadi alasan pentingnya dilakukan pengawasan yang ketat pada pasien mulai saat awal diagnosis dan setelah mendapatkan terapi.<sup>4,11</sup>

Ada dua jalur yang diketahui berperan dalam proses karsinogenesis karsinoma urotelial kandung kemih dan digunakan untuk membedakan karsinoma urotelial derajat rendah dan derajat tinggi yaitu jalur *Fibroblast Growth Factor 3* (FGFR3) dan jalur p53.<sup>3,8,12-14</sup> Penelitian

Berggren *et al*<sup>15</sup> menyebutkan bahwa frekuensi mutasi p53 pada kanker kandung kemih berkisar antara 6-61% dan yang terbanyak pada tumor derajat tinggi dan stadium tinggi. P53 merupakan gen supresor tumor yang terlibat dalam siklus sel dan berperan dalam mengontrol proliferasi sel, apoptosis, senescence dan inhibisi angiogenesis sebagai respon terhadap berbagai sinyal stress.<sup>3,10,16</sup> Adanya hubungan antara p53 dengan karsinoma urotelial pertama kali dilaporkan oleh Esrig pada tahun 1994.<sup>17</sup> P53 berperan dalam perubahan dari displasia menjadi karsinoma *in situ* dan selanjutnya menjadi tumor invasif. Penelitian yang dilakukan Hemal *et al*<sup>18</sup> melaporkan adanya hubungan yang signifikan antara ekspresi p53 dengan stadium dan derajat tumor. Demikian pula dengan Bakkar *et al*<sup>19</sup> dalam penelitiannya menemukan bahwa mutasi p53 berhubungan dengan tumor stadium tinggi dan derajat tinggi.

Penelitian dan publikasi p53 pada karsinoma urotelial di Indonesia masih terbatas oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk menganalisis perbedaan ekspresi p53 pada karsinoma urotelial kandung kemih derajat rendah dan derajat tinggi serta hubungan ekspresi p53 dengan stadium tumor.

## METODE

Penelitian ini dilakukan di Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (FKUI)/RSCM pada bulan Oktober 2018-Maret 2019. Desain penelitian merupakan desain potong lintang. Jumlah sampel minimal masing-masing kelompok adalah 22 sampel sehingga total sampel minimal menjadi 44 sampel. Kriteria inklusi mencakup kasus karsinoma urotelial kandung kemih yang telah didiagnosis secara histopatologik di Departemen Patologi Anatomi FKUI-RSCM dari tahun 2009-2017. Kasus diambil dari jaringan operasi *transurethral resection* (TUR) dengan kualitas blok parafin yang adekuat untuk dilakukan pulasan imunohistokimia. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah kasus dengan blok parafin yang tidak ditemukan di arsip Departemen Patologi Anatomi FKUI-RSCM dan tidak adekuat untuk diproses lebih lanjut, kasus tumor *double primer*, dan kasus karsinoma urotelial yang disertai dengan diferensiasi atau varian tertentu.

Masing-masing kasus dibuat sediaan dari blok parafin yang dipotong dengan mikrotom setebal 3-4 $\mu$ m dan diletakkan pada kaca benda yang telah dilapisi *poly-L-lysine* dan dilakukan preparasi sediaan dengan dipanaskan di atas *slide warmer* pada suhu 60°C selama 60 menit. Sediaan dideparafinisasi 3 kali dengan xylol masing-masing selama 5 menit, dilanjutkan rehidrasi dengan alkohol absolut, 96% dan 70% masing-masing selama 4 menit. Selanjutnya dicuci dengan air mengalir selama 3 menit. Pretreatment dilakukan dengan *antigen retrieval procedure* dalam *decloaking chamber* menggunakan Tris EDTA (TE) pH 9 suhu 96° C selama 10 menit. Didinginkan selama kurang lebih 25 menit, cuci dengan PBS pH 7,4 selama 3 menit, selanjutnya jaringan ditandai dengan Pap-pen. Inkubasi dengan *peroxidase block* (*Novolink Polymer*<sup>®</sup>, Novocastra) selama 10 menit, selanjutnya cuci dengan PBS pH 7,4 selama 3 menit. Inkubasi dengan *Protein Block* (*Novolink Polymer*<sup>®</sup>, Novocastra) selama 10 menit. Selanjutnya dilakukan inkubasi dengan antibodi primer p53 (*Clone DO7*, Novo Castra) dengan dilusi 1:500 selama 60 menit. Dilakukan pencucian dengan PBS pH 7,4 selama 3 menit lalu diinkubasi *Post Primary* (*Novolink Polymer*<sup>®</sup>, Novocastra) selama 30 menit dan dicuci lagi dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit. Inkubasi dengan *Polymer* (*Novolink Polymer*<sup>®</sup>, Novocastra) selama 30 menit. Dilakukan pencucian dengan PBS pH 7,4 selama 3 menit. Inkubasi dengan *Diamino Benzidine Tetrahydrochloride* (DAB) (*Novolink Polymer*<sup>®</sup>, Novocastra) selama 2 menit kemudian dicuci dengan air mengalir. Langkah berikutnya pencelupan ke dalam *counterstain* Hematoxylin Mayer sekitar 1 menit dan dicuci dengan air mengalir 5 menit. Lakukan *bluing* dengan 5% Lithium Carbonat selama 5 detik lalu cuci dengan air mengalir selama 5 menit. Dehidrasi dengan alkohol bertingkat 70%, 96% dan absolut masing-masing 5 menit lalu *clearing* dengan xylol I, II dan III masing-masing 5 menit, mounting dengan entelan dan ditutup dengan *deck glass*. Kontrol positif dan kontrol negatif diikutsertakan setiap kali melakukan pulasan. Kontrol positif adalah jaringan adenokarsinoma kolon.

Penilaian hasil pulasan imunohistokimia p53 dilakukan oleh dua orang yaitu peneliti (MEL) dan pembimbing (BDN) untuk menilai seluruh

kasus. Penilaian dilakukan secara *blind* tanpa mengetahui derajat keganasan dan stadium tumor baik oleh peneliti maupun pembimbing. Penilaian ekspresi p53 berdasarkan perhitungan persentase sel tumor yang terpulas. Pulasan dinyatakan positif jika sel tumor terpulas coklat pada inti. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop Leica ICC 50HD yang dilengkapi kamera. Dilakukan pemotretan pada daerah tumor yang terpulas baik dengan pembesaran lensa obyektif 40x dan area yang difoto harus mewakili persentase positivitas p53 secara keseluruhan pada sampel tersebut. Selanjutnya dilakukan penghitungan dengan bantuan aplikasi Image J<sup>®</sup> sampai jumlah sel tumor mencapai 1000. Penilaian positivitas p53 pada sel tumor dilakukan dengan menandai sel tumor dengan warna tertentu, bila positif ditandai dengan warna biru dan negatif ditandai warna ungu. Intensitas pulasan lemah, sedang maupun kuat dihitung sebagai positif. Penghitungan persentase tumor menggunakan rumus jumlah sel yang positif p53/1000 x 100%. Penentuan *cut off* mengacu pada literatur Thakur *et al*<sup>4</sup>, Ong *et al*<sup>120</sup>, Saint *et al*<sup>921</sup>, yaitu pulasan dinyatakan positif jika sel tumor terpulas coklat pada inti dengan persentase lebih dari sama dengan 20% dan negatif jika sel tumor tidak terpulas atau terpulas kurang dari 20%. Selanjutnya dianalisis secara statistik untuk ditulis dalam bentuk laporan.

Analisis statistik dilakukan menggunakan program SPSS versi 23. Data ekspresi p53 disajikan dalam bentuk kategorik. Data yang bersifat deskriptif disajikan dalam bentuk tabel frekuensi. Pengolahan data dilakukan dengan uji statistik untuk mengetahui perbedaan ekspresi p53 pada karsinoma urotelial kandung kemih derajat rendah dan derajat tinggi serta hubungannya dengan stadium tumor. Dilakukan uji *chi-square* atau jika tidak memenuhi syarat dilakukan uji *Fisher's exact*. Nilai  $p < 0,05$  dinyatakan bermakna secara statistik.

## HASIL

Berdasarkan data arsip Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM, jumlah kasus karsinoma urotelial kandung kemih tahun 2009-2017 sebanyak 279 kasus, yang terdiri atas karsinoma urotelial derajat tinggi sebanyak 241 kasus (86,4%) dan karsinoma urotelial derajat rendah

sebanyak 38 kasus (13,6%). Jumlah kasus terbanyak pada tahun 2011 yaitu 42 kasus (Gambar 1).



Gambar 1. Jumlah kasus karsinoma urotelial derajat rendah dan derajat tinggi periode 2009-2017.

Tabel 1. Karakteristik sampel penelitian karsinoma urotelial kandung kemih.

Variabel	Derajat rendah (n=22)	Derajat tinggi (n=25)	Jumlah (n=47)	%
Usia				
< 60	12	11	23	48,9
≥ 60	10	14	24	51,1
Jenis kelamin				
Laki-laki	18	20	38	80,9
Perempuan	4	5	9	19,1
Stadium tumor NMIBC				
pTa	1	0	1	2,1
pT1	18	13	31	65,9
MIBC				
≥pT2	3	12	15	31,9

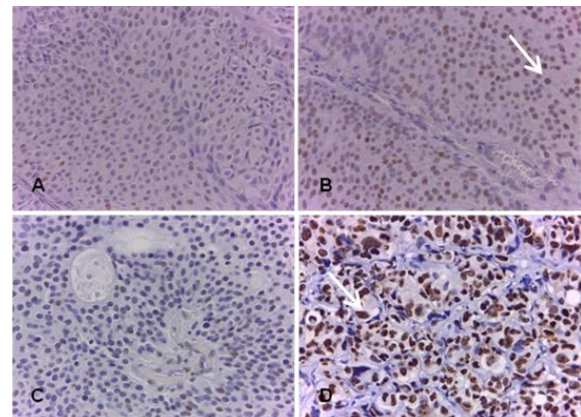
Pasien laki-laki lebih banyak dari perempuan dengan perbandingan 4,2:1. Sebanyak 38 kasus (80,9%) pada laki-laki dan 9 kasus (19,1%) pada perempuan. Rentang usia pasien karsinoma urotelial kandung kemih pada penelitian ini antara usia 36 sampai 80 tahun dengan rata-rata usia 60,44 tahun. Kelompok usia terbanyak, yaitu 24 kasus (51,1%) pada kelompok usia ≥60 tahun. Sedangkan berdasarkan stadium tumor ada sebanyak 32 kasus NMIBC dan 15 kasus MIBC (Tabel 1).

Tabel 2. Ekspresi p53 berdasarkan derajat keganasan dan stadium tumor.

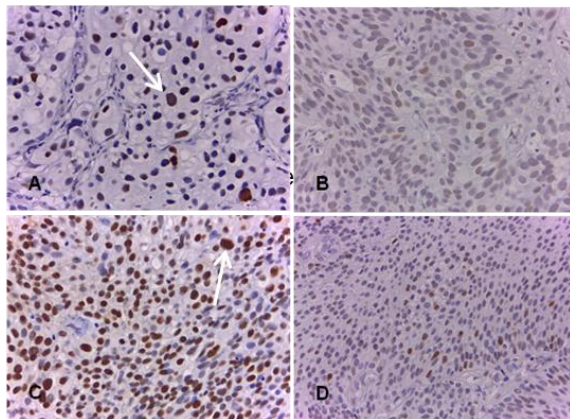
Karakteristik	Ekspresi P53		Nilai p
	Negatif < 20%	Positif ≥ 20%	
Derajat keganasan			0,118 <sup>a</sup>
Rendah	9 (40,9%)	13 (59,1%)	
Tinggi	5 (20,0%)	20 (80,0%)	
Stadium tumor			1,000 <sup>b</sup>
NMIBC	10 (31,3%)	22 (68,8%)	
MIBC	4 (26,7%)	11 (73,3%)	

Pada kasus karsinoma urotelial berdasarkan derajat keganasan rendah ditemukan ekspresi p53 positif (≥20%) pada 13 kasus (59,1%) dan ekspresi p53 negatif pada 9 kasus (40,9%); sedangkan pada derajat keganasan tinggi ditemukan ekspresi p53 positif pada 20 kasus (80%) dan p53 negatif pada 5 kasus (<20%). Berdasarkan stadium tumor NMIBC ditemukan ekspresi p53 positif (≥20%) pada 22 kasus (68,8%) dan ekspresi p53 negatif pada 10 kasus (31,3%); pada stadium tumor MIBC ditemukan ekspresi p53 positif (≥20%) pada 11 kasus (73,3%) dan ekspresi p53 negatif (<20%) pada 4 kasus (26,7%). (Tabel 2).

Analisis statistik ekspresi p53 pada karsinoma urotelial antara derajat keganasan rendah dan derajat keganasan tinggi menunjukkan perbedaan tidak bermakna (p>0,05). Analisis statistik ekspresi p53 pada karsinoma urotelial antara stadium tumor NMIBC dan MIBC menunjukkan perbedaan tidak bermakna (p>0,05) (Tabel 2).



Gambar 2. Positivitas ekspresi p53 A. Ekspresi p53 negatif pada karsinoma urotelial derajat rendah (Pembesaran 400x). B. Ekspresi p53 positif pada karsinoma urotelial derajat rendah (Pembesaran 400x). C. Ekspresi p53 negatif pada karsinoma urotelial derajat tinggi (Pembesaran 400x) D. Ekspresi p53 positif dengan nilai tertinggi pada karsinoma urotelial derajat tinggi (Pembesaran 400x).



Gambar 3. Positivitas ekspresi p53 A. Ekspresi p53 positif pada kasus NMIBC (Pembesaran 400x). B. Ekspresi p53 negatif pada kasus NMIBC (Pembesaran 400x). C. Ekspresi p53 positif pada kasus MIBC (Pembesaran 400x). D. Ekspresi p53 negatif pada kasus MIBC (Pembesaran 400x).

**DISKUSI**

Data arsip Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM sepanjang tahun 2009 sampai 2017 menunjukkan kasus karsinoma urotelial kandung kemih didominasi oleh karsinoma urotelial derajat tinggi sebanyak 241 kasus (86,4%); sedangkan karsinoma urotelial derajat rendah ditemukan sebanyak 38 kasus (13,6%). Data tersebut sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa kanker kandung kemih merupakan keganasan tersering kedua pada sistem genitourinarius dengan tipe histologi yang terbanyak ialah karsinoma urotelial mencapai 90% dari seluruh karsinoma primer kandung kemih.<sup>3,4</sup>

Berdasarkan perhitungan besar sampel serta kriteria inklusi dan eksklusi, penelitian ini menggunakan 47 sampel yang terdiri atas 22 sampel karsinoma urotelial derajat rendah dan 25 sampel karsinoma urotelial derajat tinggi, yang dipilih secara *consecutive sampling* serta mencakup kasus *Nonmuscle invasive bladder cancer* (NMIBC) dan *Muscle invasive bladder cancer* (MIBC), yaitu 32 kasus NMIBC (68,1%) dan 15 kasus MIBC (31,9%). Hasil penelitian tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan 30 kasus NMIBC dan 10 kasus MIBC dalam kurun waktu 1 tahun,<sup>22</sup> serta 75-85% kasus NMIBC stadium pTa dan pT1.<sup>5,9</sup> Penentuan derajat keganasan dan kedalaman invasi penting untuk dilakukan dan dituliskan

dengan lengkap pada diagnosis histopatologi karena memiliki peranan dalam penentuan tatalaksana pasien. Hal tersebut sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa kedalaman invasi dan derajat keganasan memiliki arti prognostik.<sup>3</sup>

Karsinoma urotelial umumnya terjadi pada usia lanjut. Hasil penelitian melaporkan jumlah karsinoma urotelial lebih tinggi pada kelompok usia ≥60 tahun sebanyak 51,1%; dan kelompok usia <60 tahun sebanyak 48,9%, pada rentang usia pasien antara 36-80 tahun dengan rata-rata 60,44 tahun. Hasil ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa rata-rata usia 57,8 tahun dan rentang usia antara 22-87 tahun;<sup>3</sup> dan usia 65-70 tahun.<sup>23</sup>

Hasil penelitian ini menunjukkan kasus pada laki-laki lebih banyak dari perempuan, yaitu 38 kasus (80,9%) laki-laki dan 9 kasus (19,1%) perempuan dengan rasio 4,2:1. Hasil ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa perbandingan kasus laki-laki dibandingkan perempuan adalah 4,2:1<sup>3</sup> dan 3,8:1.<sup>24</sup>

Penelitian ini menggunakan pulasan imunohistokimia p53 sebagai penanda terutama untuk tumor-tumor derajat tinggi dan invasif dan melihat perbedaan ekspresinya pada karsinoma urotelial kandung kemih derajat rendah dan derajat tinggi serta hubungannya dengan stadium tumor. P53 sebagai gen supresor tumor memiliki peranan dalam apoptosis dan proliferasi sel, jika terjadi mutasi menyebabkan terganggunya fungsi p53 dan meningkatkan ekspresi protein p53 mutan. Mutasi gen p53 merupakan mutasi yang umum ditemukan pada karsinoma urotelial kandung kemih.<sup>22</sup> Penelitian ini menggunakan pemeriksaan imunohistokimia untuk menilai ekspresi p53 pada 47 kasus karsinoma urotelial kandung kemih yang terdiri atas 22 kasus karsinoma urotelial derajat rendah dan 25 kasus karsinoma urotelial derajat tinggi. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa ekspresi p53 menunjukkan warna coklat pada inti sel tumor dengan intensitas pulasan bervariasi.<sup>3</sup>

Penilaian ekspresi pulasan imunohistokimia p53 ditentukan berdasarkan persentase sel yang terpulas positif pada inti sel tumor dengan nilai perhitungan persentase mulai dari 0 hingga 100%. Penelitian ini menggunakan *cut off* 20% untuk menilai ekspresi p53 di karsinoma urotelial

kandung kemih. *Cut off* yang digunakan dalam penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang terkait dengan p53. Berdasarkan *cut off* tersebut maka ekspresi p53 dikategorikan dalam 2 kategori, yaitu positif dan negatif. Kategori positif bila ekspresi p53 lebih dari atau sama dengan 20% ( $\geq 20\%$ ) di inti sel tumor, dan kategori negatif bila p53 tidak terekspresi atau ekspresi p53 kurang dari 20% ( $< 20\%$ ) pada inti sel tumor.<sup>4,20,21</sup>

Berdasarkan perhitungan persentase menggunakan *cut off* positif  $\geq 20\%$ , sebagian besar kasus karsinoma urotelial kandung kemih menunjukkan ekspresi p53  $\geq 20\%$ . Hasil penelitian sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan *cut off* 10% untuk menganalisis ekspresi p53 pada usia, jenis kelamin, dan derajat keganasan;<sup>18</sup> serta *cut off* 30% untuk menganalisis ekspresi p53 pada derajat keganasan dan stadium tumor.<sup>26</sup>

Penelitian ini melaporkan 33 sampel (70,2%) menunjukkan ekspresi p53 positif ( $\geq 20\%$ ), yaitu 13 kasus (59,1%) pada kelompok derajat rendah dengan persentase p53 antara 24%-48,3% dan 20 kasus (80%) pada kelompok derajat tinggi dengan persentase p53 antara 27,4%-84,2%. Juga p53 positif pada pasien karsinoma urotelial kandung kemih berkisar antara 7-78%. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa ekspresi p53 positif pada 10-75% pada tumor derajat rendah dan  $> 58\%$  pada tumor derajat tinggi;<sup>26</sup> ekspresi p53 positif pada 29,1% tumor derajat rendah dan 47,3% tumor derajat tinggi;<sup>4</sup> ekspresi p53 positif pada 36,2% tumor derajat rendah<sup>3</sup> dan ekspresi p53 positif pada 42 kasus (65,6%) kasus karsinoma urotelial.<sup>20</sup>

Hasil penelitian melaporkan 22 dari 32 kasus (68,8%) NMIBC dan 11 dari 15 kasus (73,3%) MIBC menunjukkan hasil ekspresi p53 positif ( $\geq 20\%$ ). Sedangkan untuk kategori ekspresi p53 negatif ( $< 20\%$ ) ditemukan pada 14 sampel penelitian, yaitu 10 sampel kelompok NMIBC dengan rentang nilai antara 10,2%-19,5% dan 4 sampel kelompok MIBC dengan rentang nilai antara 16,1%-18,2%; sedangkan kasus yang menunjukkan ekspresi p53 negatif dengan nilai 0% tidak ditemukan. Analisis statistik antara ekspresi p53 dengan stadium tumor menunjukkan perbedaan tidak bermakna ( $p=1,000$ ). Hasil penelitian ini sesuai dengan

penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa ekspresi p53 positif pada 57 sampel MIBC dengan *cut off* 30%;<sup>18</sup> serta ekspresi p53 positif pada 10 sampel MIBC dan 25 sampel NMIBC dengan *cut off* 10%.<sup>22</sup>

Hasil penelitian ini menunjukkan ekspresi p53 positif cenderung ditemukan lebih banyak pada keganasan derajat tinggi dan kelompok MIBC. Analisis statistik menunjukkan perbedaan tidak bermakna dengan ekspresi p53 positif ( $\geq 20\%$ ) cenderung lebih banyak ditemukan pada keganasan derajat tinggi dibandingkan kelompok derajat rendah. Demikian pula kelompok MIBC menunjukkan jumlah kasus lebih rendah dibandingkan kelompok NMIBC, namun proporsi tumor kelompok MIBC yang menunjukkan ekspresi p53 positif cenderung lebih besar dari proporsi tumor kelompok NMIBC. Penelitian ini menggunakan antibodi p53 clone DO7 Novocastra. Penelitian terdahulu menggunakan p53 clone DO7 Dako, yang dapat mendeteksi *wild type* dan mutan *type* sebab antibodi monoklonal tidak selalu dapat digunakan untuk membedakan p53 *wild type* dan mutan.<sup>28</sup>

Pada penelitian ini terdapat 10 sampel blok parafin dengan masa penyimpanan lebih dari 5 tahun, yaitu 2 sampel blok parafin tahun 2009; 2 sampel blok parafin tahun 2010; 4 sampel blok parafin tahun 2011; dan 2 sampel blok parafin tahun 2012. Semakin lama waktu penyimpanan blok parafin diduga antigenisitasnya akan berkurang dan dapat mempengaruhi hasil pulasan, seperti yang dinyatakan peneliti sebelumnya bahwa masa penyimpanan specimen dalam blok parafin akan mempengaruhi positività pada penelitian.<sup>26</sup> Penelitian terdahulu menyatakan ekspresi p53 ditemukan pada karsinoma urotelial derajat tinggi invasi pada 17 kasus (85%) dan derajat rendah noninvasif pada 15 kasus (75%) dengan analisis statistik menunjukkan perbedaan tidak bermakna ( $p=0,35$ ).<sup>27</sup>

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan *gold standard* untuk menganalisis mutasi p53. Imunoreaktivitas merupakan indikator yang baik untuk menunjukkan mutasi p53 yang dapat menghasilkan *false positive*. Sebaliknya, ada beberapa kasus yang menunjukkan mutase p53, namun tidak menghasilkan *false negative*. Faktanya bahwa mutasi p53 tidak selalu menyebabkan destabilisasi protein dan akumulasi protein p53 pada inti tidak selalu

disebabkan oleh mutasi. *False positive* lebih sering terjadi pada tumor superfisial, diduga akibat satu atau beberapa keadaan yang meningkatkan waktu paruh protein p53 *wild type*. Peneliti terdahulu menyatakan bahwa sensitivitas dan spesifisitas p53 ialah 62,9% dan 65,8%.<sup>29</sup>

**KESIMPULAN**

Ekspresi p53 pada karsinoma urotelial kandung kemih derajat rendah dan derajat tinggi serta hubungan dengan stadium tumor menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. International Agency for Research on Cancer. Globocan 2012: estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012 [Internet]. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2018 [cited 2018 Feb 01]. Available from: [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_population.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx).
2. Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia. Kanker di Indonesia tahun 2013: Data histopatologikk. Jakarta 2013.
3. Mumtaz S, Hashmi AA, Hasan SH, Edhi MM, Khan M. Diagnostic utility of p53 and CK20 immunohistochemical expression grading urothelial malignancies. *Int Arch Med*. 2014;7:36-43.
4. Thakur B, Kishore S, Dutta K, Kaushik S, Bhardwaj A. Role of p53 and Ki-67 immunomarkers in carcinoma of urinary bladder. *Indian J Pathol Microbiol*. 2017; 60:505-9.
5. Zheng L, Zhu Y, Lei L, Sun W, Cheng G, Yang S. Significant expression of CHK1 and p53 in bladder urothelial carcinoma as potential therapeutic targets and prognosis. *Oncol Lett*. 2018; 15:568-74.
6. Solomon JP, Hansel DE. The emerging molecular landscape of urothelial carcinoma. *Surg Pathol Clin*. 2016; 9:391-404.
7. Da Silva JNL, Ranzi AD, Carvalho CT, Scheide TV, Strey YTM, Graziottin TM, *et al*. Cell cycle markers in the evaluation of bladder cancer. *Pathol Oncol Res*. 2018:1-7.
8. Hodgson A, Xu B, Downes MR. P53 immunohistochemistry in high-grade urothelial carcinoma of the bladder is

prognostically significant. *Histopathology*. 2017; 71:296-304.

9. Babjuk M, Böhle A, Burger M, Capoun O, Cohen D, Compérat EM, *et al*. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: update 2016. *Eur Urol*. 2017;71: 447-61.
10. Malats N, Bustos A, Nascimento CM, Fernandez F, Rivas M, Puente D, *et al*. P53 as a prognostic marker for bladder cancer: a meta-analysis and review. *Lancet Oncol*. 2005; 6:678-86.
11. Mhaweche-Fauceglia P, Cheney RT, Fischer G, Beck A, Herrmann FR. FGFR3 and p53 protein expressions in patients with pTa and pT1 urothelial bladder cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2006; 32:231-7.
12. Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, Reuter VE. In: Grignon DJ, Al-Ahmadie H, Algaba F, Amin MB, editors. WHO classification of tumours of the urinary system and male genital organs. 4<sup>th</sup> ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2016. p.81-98.
13. Thomas CY, Theodorescu D. Molecular markers of prognosis and novel therapeutic strategies for urothelial cell carcinomas. *World J Urol*. 2006; 24:565-78.
14. Van Rhijn BW, van der Kwast TH, Vis AN, Kirkels WJ, Boevé ER, Jöbsis AC, *et al*. FGFR3 and p53 characterize alternative genetic pathways in the pathogenesis of urothelial cell carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2004; 64:1911-4.
15. Berggren P, Steineck G, Adolfsson J, Hansson J, Jansson O, Larsson P, *et al*. p53 mutations in urinary bladder cancer. *Br J Cancer*. 2001; 84:1505-11.
16. Vetterlein MW, Roschinski J, Gild P, Marks P, Soave A, Doh O, *et al*. Impact of the ki-67 labeling index and p53 expression status on disease-free survival in pT1 urothelial carcinoma of the bladder. *Transl Androl Urol*. 2017; 6:1018-26.
17. Esrig D, Elmajian D, Groshen S, Freeman JA, Stein JP, Chen SC, *et al*. Accumulation of nuclear p53 and tumor progression in bladder cancer. *N Engl J Med*. 1994; 331:1259-64.
18. Hemal AK, Khaitan A, Dinda AK, Gupta NP, Seth A, Dogra PN, *et al*. Prognostic significance of p53 nuclear overexpression in

- patients of muscle invasive urinary bladder carcinoma treated with cystectomy. *Urol Int.* 2003; 70:42-6.
19. Bakkar AA, Wallerand H, Radvanyi F, Lahaye JB, Pissard S, Lecerf L, *et al.* FGFR3 and TP53 gene mutations define two distinct pathways in urothelial cell carcinoma of the bladder. *Clin Cancer Res.* 2003; 63:8108-12.
  20. Ong TA, Khan AF, Chua BC, Razack A, Peh SC, Goh KS, *et al.* P53 protein expression in transitional cell carcinoma of the bladder-experience of the university of Malaya medical centre. *Asian J Surg.* 2003; 26:31-6.
  21. Saint F, Belda M, Quintela R, Hoznek A, Patard JJ, Bellot J, *et al.* Pretreatment p53 nuclear overexpression as a prognostic marker in superficial bladder cancer treated with Bacillus Calmette-Guerin (BCG). *Eur Urol.* 2004; 45:475-82.
  22. Anadi RC, Dey RK. Expression of p53 protein by immunohistochemistry in urothelial neoplasm: a hospital-based study from eastern India. *Int J Sci Res.* 2017; 5:142-5.
  23. Antoni S, Ferlay J, Soerjomataram I, Znaor A, Jemal A, Bray F. Bladder cancer incidence and mortality: a global overview and recent trends. *Eur Urol.* 2017; 71:96-108.
  24. Witjes JA, Compérat E, Cowan NC, De Santis M, Gakis G, Lebreton T, *et al.* EAU guidelines on muscle-invasive and metastatic bladder cancer: summary of the 2013 guidelines. *Eur Urol.* 2014; 65:778-92.
  25. Serth J, Kuczyk MA, Bokemeyer C, Hervatin C, Nafe R, Tan HK, *et al.* P53 immunohistochemistry as an independent prognostic factor for superficial transitional cell carcinoma of the bladder. *Br J Cancer.* 1995; 71:201-5.
  26. Halimi M, Salehi A, Baybordi H, Nezami N. Immunohistochemical positive stained p53 protein in bladder transitional cell carcinoma. *Indian J Pathol Microbiol.* 2009; 52:155-8.
  27. Kalantari M, Ahmadnia H. P53 overexpression in bladder urothelial neoplasms: new aspect of world health organization/international society of urological pathology classification. *J Urol.* 2007; 4:230-3.
  28. Calistri D, Barzanti F, Dal MS, Fedriga R, Saragoni L, Bernardi L, *et al.* Correlation between p53 gene mutations and p53 protein accumulation evaluated by different methodologies. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2000; 14:120-7.
  29. Salinas-Sánchez AS, Atienzar-Tobarra M, Lorenzo-Romero JG, Sanchez-Sanchez F, Gimenez-Bachs JM, Donate-Moreno MJ, *et al.* Sensitivity and specificity of p53 protein detection by immunohistochemistry in patients with urothelial bladder carcinoma. *Urol Int.* 2007; 79:321-7.