

## Hubungan ekspresi Her-2/neu dan p53 terhadap respons terapi dan kelangsungan hidup penderita kanker ovarium jenis epitel

Y.M. HIDAYAT  
ANDRIJONO\*  
S.G. MIHARDJA  
B. SIREGAR\*\*

Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran  
RS Dr. Hasan Sadikin, Bandung

\*Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

\*\*Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia  
Jakarta

**Tujuan:** Untuk mengetahui adanya *over* ekspresi Her-2/neu dan p53 pada penderita kanker ovarium jenis epitel yang telah dilakukan operasi dan kemoterapi di RSCM dan hubungannya dengan derajat keganasan histopatologi, respons kemoterapi dan *survival* 1 tahun, 3 tahun, dan 5 tahun.

**Bahan dan cara kerja:** Penelitian ini merupakan penelitian potong lintang dengan *historical cohort* untuk mendapatkan gambaran prevalensi *over* ekspresi Her-2/neu dan p53 pada penderita tumor ganas ovarium jenis epitel, faktor-faktor risiko klinis, derajat keganasan histopatologis dan bagaimana hubungan faktor-faktor risiko tersebut dengan keberhasilan terapi yang telah diberikan dan *survival* 1 tahun, 2 tahun, dan 5 tahun di RSCM dari Januari 1999 sampai Desember 2003.

**Hasil:** Sejak Januari 1998 sampai 31 Desember 2003, dapat dikumpulkan 178 kasus kanker ovarium jenis epitel sesuai pemeriksaan histopatologi di Bagian Patologi Anatomi FKUI. Dari 178 kasus tersebut yang dapat dimasukkan ke dalam penelitian ini sesuai dengan kriteria inklusi sebanyak 34 kasus (telah memenuhi minimal sampel 30 kasus). Pada analisa data demografi ternyata insidensi terbanyak pada usia rata-rata penderita 45,7 tahun dan sebagian besar kasus datang ke RSCM pada stadium lanjut 64,7% dengan jenis tipe sel yang mempunyai peringkat buruk 41,4% (*clear cell/small cell, adenocarcinoma, dan undifferentiated*). Pada penelitian ini didapatkan angka *survival* penderita karsinoma ovarium, *survival*  $\geq$  1 tahun (70,5%), *survival*  $\geq$  3 tahun (47,1%), dan *survival*  $\geq$  5 tahun (41,2%), sedangkan prevalensi *over* ekspresi pada subjek penelitian sebanyak 8,8%, lebih rendah dari yang didapatkan peneliti-peneliti lain. Ekspresi protein gen p53 positif (+1, +2, +3) didapatkan sebanyak 50% dan negatif ekspresi 50%. Pada analisa korelasi dengan berbagai variabel klinis, yakni tipe sel, diferensiasi sel, stadium, respons kemoterapi, lama bebas penyakit dan *survival* 1 tahun, 2 tahun, dan 5 tahun tidak tampak perbedaan yang berarti, distribusi pada ekspresi Her-2/neu dan p53 positif dan negatif hampir merata. Tidak terbukti adanya perbedaan yang bermakna dengan  $p > 0,05$ . Sedangkan hubungan variabel klinis dengan respons kemoterapi dan *survival* pada penelitian ini memperlihatkan perbedaan yang cukup bermakna misalnya pada pembedahan komplim memberikan angka *survival* 1 tahun, 3 tahun, dan 5 tahun yang lebih baik dibandingkan sitoreduksi sub-optimal terbukti dengan analisa statistik koefisien korelasi *rank spearman* didapatkan angka  $rs = 0,450$  dengan  $p = 0,011$  ( $p < 0,05$ ).

**Kesimpulan:** Ditemukan angka prevalensi *over* ekspresi protein gen Her-2/neu di RSCM (+2) 8,8% dan ekspresi protein gen p53 50%. Pada penelitian ini tidak ditemukan hubungan bermakna antara *over* ekspresi protein gen Her-2/neu dan p53 dengan gambaran diferensiasi sel, respons kemoterapi dan *survival*, akan tetapi didapatkan hubungan yang bermakna antara variabel klinis jenis tindakan operasi, stadium, dan diferensiasi sel dengan respons kemoterapi dan *survival*.

[Maj Obstet Ginekol Indones 2008; 32-4: 193-205]

**Kata kunci:** *over* ekspresi, Her-2/neu, p53, respons kemoterapi, *survival*.

**Objective:** The purpose of this trials is to know *over* expression of Her-2/neu and p53 on epithelial ovarian cancer pasien with surgical and chemotherapy procedure in RSCM and the relation between histopatology carcinomas grading, chemotherapy response and 1 year, 3 years, 5 years survival rate.

**Material and methods:** Cross sectional method with historical cohort to know about overexpression Her-2/neu and p53 prevalence on epithelial ovarian cancer pasien, clinical risk factor, histopatologic carcinomas grading and the relation between risk factors and therapeutic effect and 1 year, 2 years, and 5 years survival rate in RSCM from January 1999 to December 2003.

**Results:** Since January 1998 to 31 December 2003, had been collected 178 epithelial ovarian cancer case as a result from histopatologic examination in Patology Anatomy Department FKUI. From 178 cases we include 34 case that fullfil inclusion criteria (fullfil minimal sample: 30 case). From demographic data analysis the most incidence rate is from average age 45,7 years and the most case come to RSCM on the late stage 64,7% with bad habit type of cell 41,4% (*clear cell/small cell, undifferentiated, and adenocarcinoma*). From this investigation, survival rate of ovarian cancer pasien, *survival*  $>$  1 year (70,5%), *survival*  $>$  3 years (47,1%) and *survival*  $>$  5 years (41,2%), prevalence of overexpression on the subject of investigation is 8,8%, lower than others investigation. Protein gen p53 expression positive (+1,+2,+3) is 50% and negative expression is 50%. On correlation expression with various clinical variable, for example type of cell, cell differentiated, stage, chemotherapy respond, length of disease free and *survival* 1 year, 2 years, and 5 years didn't have any significance difference, distribution of positive and negative expression of Her-2/neu and p53 almost on average range. There is no significance differences ( $p > 0,05$ ). The relation between clinical variable and chemotherapy response and *survival* on this trial showed a quite significance differences for example on complete surgery give better survival rate 1 year, 3 years, and 5 years compared with suboptimal citoreduction, had been proved by statistically analysis with correlation coefficient rank spearman  $rs = 0,450$ ,  $p = 0,011$  ( $p < 0,005$ ).

**Conclusion:** Finds the prevalence of over expression of gen Her-2/neu in RSCM (+2) 8,8% and the expression of protein gen p53 is 50%. There is no relation between overexpression of protein gen Her-2/neu and p53 with cell differentiation, chemotherapy respond and *survival*, but there is significance correlation between clinical variable type of surgical procedure, stage, and cell differentiation with chemotherapy response and *survival*.

[Indones J Obstet Gynecol 2008; 32-4: 193-205]

**Keywords:** *over*expression, Her-2/neu, p53, chemotherapy response, *survival*.

## PENDAHULUAN

Insiden kanker ovarium berbeda-beda di setiap negara, ras, dan usia. Rata-rata kejadian kanker ovarium tinggi pada negara-negara industri kecuali Jepang. Kejadian yang rendah terjadi pada negara-negara non-industri.<sup>1,2</sup>

Insiden tertinggi menurut usia, terjadi pada usia 56-60 tahun, kurang lebih 30% neoplasma ovarium pada wanita pascamenopause ganas, sedangkan kira-kira 7% neoplasma ovarium pada wanita pramenopause.<sup>3</sup>

Sampai saat ini kebanyakan penderita kanker ovarium ditemukan pada stadium lanjut, sehingga prognosinya kurang baik terhadap modalitas pengobatan, baik dengan pembedahan dan atau kemoterapi, timbulnya kembali penyakit (rekurensi) atau berkembangnya resistensi sel tumor terhadap regimen kemoterapi yang diberikan.<sup>4-10</sup>

*Survival* kanker ovarium banyak dipengaruhi berbagai faktor, pada kanker stadium lanjut dikatakan akan mempengaruhi angka kelangsungan hidup 5 tahun (*5 years survival rate*). Di beberapa negara, *survival* kanker ovarium dilaporkan berbeda-beda berdasarkan stadium saat ditemukan. Stadium I dan II memiliki angka *survival* berkisar 50% hingga 90%, sedangkan stadium lanjut (III dan IV) berkisar 30% sampai dengan 55%.<sup>1,2,4-6</sup>

Keganasan pada ovarium sampai saat ini belum ditemukan cara deteksi dini yang tepat, sehingga penderita sering datang dalam stadium lanjut. Hal ini berarti modalitas pembedahan saja tidak cukup untuk mengupayakan kesembuhan penderita, perlu modalitas pengobatan lain misalnya kemoterapi. Dari hasil penelitian bahwa dalam pemberian kemoterapi tidak selalu memberikan respons yang sama, walaupun stadiumnya sama, jenis selnya sama, pembedahan yang dilakukan sama. Hal ini menarik perhatian untuk dilakukan penelitian, artinya ada faktor lain yang ikut mempengaruhi respons terhadap pengobatan penderita tersebut.

Faktor prognosis penderita kanker ovarium saat ini diketahui dengan melihat keadaan klinis penderita, karakteristik progresivitas penyakit, volume tumor, tumor residif, tipe sel histopatologik, *grading* sel dan ada/tidaknya asites seperti yang dikemukakan pada *staging* dari FIGO. Model faktor prognostik lain dalam literatur yang masih perlu dikembangkan yakni faktor prognostik biologik, antara lain: BCL-2, BAX, Her-2/neu, p53, dan Ki67 mempunyai potensi yang bermanfaat untuk mengetahui prognosis penderita kanker ovarium di masa mendatang.<sup>7</sup>

Her-2/neu adalah suatu proto-onkogen dengan berat molekul 185 kDalton yang merupakan protein reseptor transmembran tirosin kinase, dan termasuk famili dari *epidermal growth factor receptors*. Seluruh anggota famili *epidermal growth factor* memegang peranan yang penting pada pertumbuhan sel epitel dan diferensiasinya, walaupun belum jelas ligand spesifik yang bekerja, Her-2/neu mempunyai peranan yang besar dalam memacu anggota famili dari *epidermal growth factor* tersebut.<sup>3,7-9,11</sup>

Beberapa penelitian klinis mengatakan 25-30% kanker ovarium disertai amplifikasi dan *over* ekspresi dari Her-2/neu yang berpengaruh pada prognosis penderita dan tentunya berpengaruh juga terhadap terapi yang telah diberikan. Dikatakan *over* ekspresi Her-2/neu pada penderita kanker ovarium, sering menyebabkan kekambuhan kembali pasca pemberian kemoterapi.<sup>9-12</sup> Sedangkan pada tumor ganas payudara ditemukan sekitar 20-30% dan berhubungan dengan masa bebas penyakit yang buruk.<sup>13-5</sup> Pemberian antibodi yang dapat menghambat pertumbuhan sel yang menunjukkan *over* ekspresi gen Her-2/neu pada tumor ganas ovarium saat ini sedang dikembangkan. Sedangkan pada tumor ganas payudara antibodi terhadap Her-2/neu telah digunakan yang dikenal dengan *trastuzumab*<sup>13-4,16-7</sup>.

Gen supresor tumor p53 yang menghasilkan protein yang berikatan dengan DNA spesifik dan berfungsi sebagai faktor transkripsi yang menghambat siklus sel pada fase G1. Penulisan p53 digunakan untuk menunjukkan gen, sedangkan p53 untuk protein. Mutasi pada gen p53 mengakibatkan protein yang dihasilkan memiliki waktu paruh yang lebih panjang dibandingkan p53 normal (*wild-type*) dan konsentrasinya lebih tinggi pada sel tumor ganas, sehingga dapat dideteksi dengan teknik imunohistokimia. Dasar pemeriksaan imunohistokimia adalah reaksi antara antigen dan antibodi, dengan pulasan yang sesuai akan mewarnai reaksi tersebut.<sup>15-7</sup>

Berdasarkan kajian kepustakaan, penderita kanker ovarium yang telah diberikan terapi pembedahan dan kemoterapi dapat mengalami keadaan tanpa respons atau terjadi progresivitas penyakit, faktor yang diduga mempunyai pengaruh salah satunya adalah faktor biologi molekuler yakni *over* ekspresi Her-2/neu. Oleh karena itu, latar belakang penelitian ini adalah untuk mengetahui ekspresi Her-2/neu sebagai *epidermal growth factor* dan ekspresi gen p53 sebagai tumor supresor gen sebagai salah satu faktor prognosis biologi, dan apakah ada hubungannya dengan faktor derajat keganasan patologi (diferensiasi sel) dan keadaan klinis yang pada akhirnya akan mempengaruhi kelangsungan

hidup dan respons terhadap kemoterapi yang diberikan.

Faktor prognostik patologi dan klinik penderita kanker ovarium di dalam beberapa literatur telah banyak dibicarakan, tetapi beberapa faktor prognostik biologik yang mempunyai nilai prognostik terhadap keberhasilan terapi kanker ovarium belum banyak dipublikasikan.

Berdasarkan kajian pustaka dan penelitian, adanya faktor prognostik biologik yakni: ekspresi Her-2/neu sebagai gen merangsang proliferasi sel dan p53 (*wild type*) sebagai supresor gen pada penderita kanker ovarium akan mempengaruhi prognosis, baik prognosis terhadap keberhasilan terapi yang berdampak terhadap kelangsungan hidup penderita, maka dirasakan perlu untuk dilakukan penelitian di Indonesia khususnya di Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo (RSCM) tentang pengaruh ekspresi Her-2/neu dan p53 terhadap respons kemoterapi dan kelangsungan hidup penderita.

## BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini menggunakan alur rancangan penelitian potong lintang dengan historikal kohort untuk mendapatkan gambaran penderita tumor ganas ovarium jenis epitel dan prevalensi *over* ekspresi Her-2/neu dan p53, faktor-faktor risiko klinis, derajat keganasan patologis yang berhubungan keberhasilan terapi yang telah diberikan, kelangsungan hidup 1 tahun, 3 tahun, dan 5 tahun melalui data rekam medik dan *follow-up* penderita kanker ovarium jenis epitel di RSCM dari Januari 1999 sampai Desember 2003.

Penderita kanker ovarium yang memenuhi kriteria penelitian ini adalah tumor ganas ovarium jenis epitel, penderita yang telah dilakukan operasi (*staging* pembedahan/sitoreduksi) di RSCM, mendapat kemoterapi standar (CP/AP dll) minimal diberikan 3 seri kecuali stadium IA/IC pecah tidak diberikan, alamat jelas, mudah di *follow-up*, dan blok parafin masih tersedia.

Perhitungan perkiraan besar sampel menurut formulasi uji dua proporsi tidak berpasangan, didapatkan besarnya sampel 30 kasus.

### Bahan dan Cara Pemeriksaan Imunohistokimia

Sediaan parafin blok yang diambil dari masa tumor ganas ovarium yang masuk dalam kriteria inklusi, diperiksa dengan teknik imunohistokimia untuk melihat adanya *over* ekspresi Her-2 dan p53.

Penilaian ekspresi Her-2/neu, bila hasil positif

ditandai dengan adanya gambaran kecoklatan pada membran sel tumor, maka dihitung persentase yang positif dari seluruh sampel.

Skoring ekspresi merupakan skala semikuantitatif yang dinyatakan sebagai: 0 menunjukkan kurang dari 10% sel memperlihatkan pewarnaan, 1+ untuk lebih dari 10% sel memperlihatkan pewarnaan pada membran sel yang ringan, 2+ untuk lebih dari 10% sel dengan pewarnaan seluruh keliling membran sel yang ringan-sedang dan 3+ menunjukkan lebih dari 10% sel dengan pewarnaan sekeliling membran sel yang sedang kuat.<sup>18,19</sup>



Normal 0      Normal 1+      Normal 2+      Normal 3+

*IHC Images courtesy of MJ Kornstein, MD, Medical College of Virginia*

Salah satu contoh status Her-2/neu dengan menggunakan IHC dan Skor 0, 1+, 2+ dan 3+.

Pulasan imunohistokimia p53, menggunakan pulasan *Mouse anti human p53 MAB*, dengan antibodi primer anti-p53 *clone DO-7* (DAKO, Lab.) Kontrol positif digunakan sediaan adenokarsinoma kolon yang telah diketahui positif dengan pulasan *Mouse anti human p53 MAB*. Kontrol negatif digunakan sediaan karsinoma endometrium yang sama dengan mengganti antibodi primer dengan serum normal. Imunoekspresi p53 dinyatakan positif berdasarkan adanya warna coklat pada inti sel. Perhitungan sel yang imunoreaktif dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Sel yang positif dihitung per 100 sel pada minimal 5 lapang pandang dengan lokasi acak pada *slide*. Imunoekspresi dihitung secara semikuantitatif. Penilaian imunoekspresi p53 adalah sebagai berikut:<sup>18-21</sup>

- Imunoekspresi rendah: < 25% sel yang positif terpulasa
- Imunoekspresi sedang: 25-50% sel yang positif terpulasa
- Imunoekspresi tinggi: > 50% sel yang positif terpulasa

Data yang telah diperoleh ditabulasi, untuk kemudian dihitung distribusi frekuensi, mean, median, mode-nya. Setelah itu dihitung dengan analisis statistik chi-kuadrat untuk mengetahui nilai *relative-risk* (RR), dan untuk melihat hubungan *vari-*

able over ekspresi Her-2 dengan respons kemoterapi dan survival 1, 3, 5 tahun dengan menggunakan *log rank test* dan nilai  $p < 0,05$ .

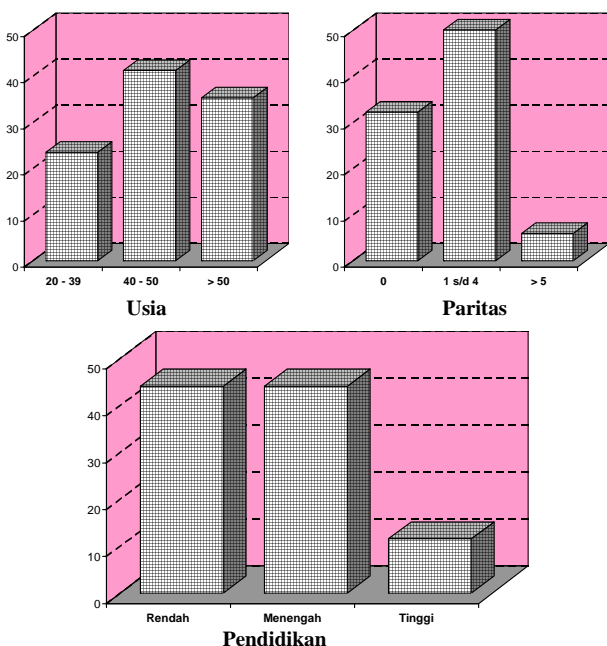
HASIL PENELITIAN

Penelitian ekspresi protein Her-2/neu dan p53 pada penderita tumor ganas ovarium jenis epitel telah dilakukan dengan cara studi potong silang (*cross sectional study*) dan *historical cohort* sejak bulan Januari 1998 sampai 31 Desember 2003, dapat dikumpulkan 178 kasus kanker ovarium jenis epitel sesuai dengan pemeriksaan histopatologi di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Dr. Cipto Mangunkusumo (RSCM).

Dari 178 kasus penderita karsinoma ovarium yang dapat dimasukkan dalam penelitian sesuai dengan kriteria inklusi sebanyak 34 kasus (telah memenuhi minimal sampel yang harus diambil sesuai perhitungan statistik 30 kasus), kemudian dari sampel tersebut data diambil dan dikumpulkan menurut beberapa variabel seperti umur, paritas, pendidikan, jenis operasi, jenis kemoterapi, stadium, diferensiasi sel, respons terhadap kemoterapi, survival, ekspresi Her-2/neu, dan p53 pada setiap kasus penderita karsinoma ovarium tersebut.

Karakteristik Kasus Penelitian

1. Data Demografi

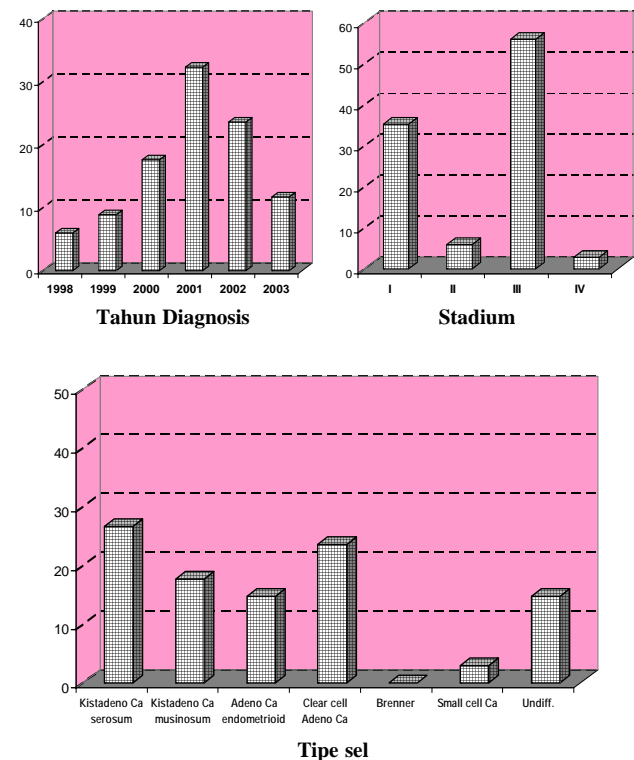


Grafik 1. Karakteristik penderitanya karsinoma ovarium yang menjadi subjek penelitian

Berdasarkan data di atas, dapat diketahui sebaran usia subjek penelitian antara usia 20 tahun sampai 60 tahun, dengan median usia 45,7 (46 tahun). Pada penelitian ini subjek penelitian dibagi dalam 3 kelompok umur, yaitu kelompok umur 20-39 tahun (8 kasus 23,5%), kelompok umur 40-50 tahun (14 kasus, 41,2%) dan kelompok umur > 60 tahun (12 kasus, 35,3%). Kelompok umur terbanyak pada kelompok 40-50 tahun (14 kasus, 41,2%).

Sebaran paritas bervariasi dari paritas 0 sampai dengan paritas 7, terbanyak pada kelompok paritas 1-4 (21 kasus, 61,9%) dan dari sebaran pendidikan subjek penelitian berada pada kelompok pendidikan rendah (15 kasus, 44,2%) dan menengah (15 kasus, 44,2%).

2. Data Klinis



Grafik 2. Distribusi penderitanya karsinoma ovarium berdasarkan keadaan klinis

Dari Grafik 2 di atas, stadium penyakit karsinoma ovarium yang datang ke rumah sakit lebih banyak pada stadium lanjut (II, III & IV, 22 kasus, 64,7%) dibandingkan stadium awal (I, 12 kasus, 35,3%). Sedangkan pada sebaran tipe sel dari seluruh subjek penelitian penderitanya kanker ovarium ini, tampak distribusi hampir merata, terbanyak adalah kistadenokarsinoma jenis serosa (9 kasus, 26,6%) dan jenis *clear cell adenocarcinoma* (9 kasus, 26,6%), kemudian kistadenokarsinoma jenis musin

(6 kasus, 17,6%) dan jenis endometrioid (5 kasus, 14,7%), dengan diferensiasi sel sedang sampai buruk (20 kasus, 58,8%).

**Tabel 1.** Distribusi penderita karsinoma ovarium berdasarkan jenis terapi yang diberikan

Jenis Terapi	Jumlah Kasus (n=34)	%
<b>1. Jenis Operasi</b>		
Staging pembedahan komplit	11	32,4
Staging pembedahan konservatif	3	8,8
Sitoreduksi optimal	1	2,9
Sitoreduksi suboptimal	19	55,9
<b>2. Jenis Kemoterapi</b>		
CP (Cyclophosphamid-cisPlatin)	25	73,6
AP (Adriamycin-cisPlatin)	3	8,8
AC (Adriamycin-Cyclophosphamid)	1	2,9
CAP (Cyclophosphamid-Adriamycin-cisPlatin)	2	5,9
Tidak diberikan kemoterapi	3	8,8
<b>3. Jumlah Kemoterapi</b>		
3 kali	11	32,2
6 kali	19	55,9
> 6 kali	1	2,9

Pada sebaran jenis terapi yang diberikan penelitian ini tampak tidak merata. Pada jenis operasi yang terbanyak dilakukan adalah tindakan sitoreduksi sub-optimal (*debulking sub-optimal*) 19 kasus (55,9%) artinya residu tumor masih ada dengan ukuran di bawah 2 cm, sedangkan yang dilakukan *staging* pembedahan komplit 11 kasus (32,4%).

Pada jenis kemoterapi yang diberikan yang terbanyak adalah dengan pemberian regimen kemoterapi standar CP (Cyclophosphamide - cisPlatin) 25 kasus (73,6%). Jumlah pemberian kemoterapi komplit 6 kali (19 kasus, 55,9%), lebih 3 kali tapi kurang 6 kali (11 kasus, 32,2%), dan 1 kasus (2,9%) membutuhkan kemoterapi lebih 6 kali pemberian.

Dari data Tabel 2 distribusi hasil terapi yang diberikan pada penderita karsinoma ovarium pada penelitian ini, 18 kasus (53,0%) memberikan respons komplit kemoterapi dan parsial respons kemoterapi 5 kasus (14,7%), sedangkan 14,7% tidak ada respons dengan pemberian kemoterapi, dan 3 kasus (8,8%) masih progresif selama pemberian kemoterapi.

Pada variabel lama bebas penyakit yang ditemui pada penelitian ini secara bertahap menurun sesuai dengan lamanya waktu, lama bebas penyakit dengan waktu < 6 bulan 61,9%, menurun perlahan 29,4% pada pengamatan lama bebas penyakit dengan waktu > 60 bulan 29,4%.

**Tabel 2.** Distribusi penderita karsinoma ovarium berdasarkan hasil terapi (pembedahan dan kemoterapi)

Hasil Terapi	Jumlah Kasus (n=34)	%
<b>1. Respons Kemoterapi</b>		
Respons komplit	18	53,0
Respons parsial	5	14,7
Penyakit menetap	5	14,7
Penyakit progresif	3	8,8
Tidak dapat nilai	3	8,8
<b>2. Lama Bebas Penyakit</b>		
0 - < 3 bulan	13	38,2
3 - < 6 bulan	0	0
6 - < 12 bulan	2	5,9
12 - < 36 bulan	4	11,8
36 - < 60 bulan	5	14,7
> 60 bulan	10	29,4
<b>3. Survival</b>		
< 12 bulan	10	82,2
12 - < 36 bulan	8 (24)	70,5
36 - < 60 bulan	4 (16)	47,1
> 60 bulan	12 (12)	35,3

Data *survival* penderita karsinoma ovarium pada penelitian ini didapatkan, *survival* < 1 tahun (82,2%), *survival* ≥ 1 tahun (70,5%), *survival* ≥ 3 tahun (47,1%), dan *survival* ≥ 5 tahun (35,3%).

### 3. Ekspresi Gen

**Tabel 3.** Distribusi penderita karsinoma ovarium berdasarkan ekspresi gen

Ekspresi Gen	Jumlah Kasus (n=34)	%
<b>1. Ekspresi Her-2/neu</b>		
(-)	30	88,3
(+)	1	2,9
(++)	3	8,8
(+++)	0	0
<b>2. Ekspresi p53</b>		
(-)	17	50,0
(+)	8	23,5
(++)	5	14,7
(+++)	4	11,7

Dari Tabel 3 didapatkan ekspresi gen Her-2/neu pada penderita kanker ovarium sebanyak 4 kasus (1 kasus ekspresi lemah dan 3 kasus ekspresi sedang) 11,7%, sebagian besar 30 kasus (88,3%) ekspresi Her-2/neu negatif.

Pada ekspresi gen p53 didapatkan ekspresi positif pada 17 kasus (50,0%) yang tersebar dari ekspresi lemah sampai kuat, sedangkan 17 kasus (50,0%) tidak didapatkan ekspresi (ekspresi negatif).

#### 4. Hubungan antara ekspresi Gen Her-2/neu dan p53 dengan keadaan klinis

**Tabel 4.** Hubungan antara ekspresi Her-2/neu dan p53 dengan keadaan klinis

Keadaan klinis	Her-2/neu			p53		
	+	-	Nilai p	+	-	Nilai p
<b>1. Tipe Sel</b>						
Kistadenokarsinoma serosum	2	7		5	4	
Kistadenokarsinoma musinosum	1	5		1	5	
Kistadenokarsinoma endometrioid	0	5		4	1	
Karsinoma sel transisional/Brenner	0	8		4	4	
Small cell carcinoma (mix)	0	1		0	1	
Undifferentiated	1	4		3	2	
<b>2. Diferensiasi Sel</b>			0,283			0,675
Baik	3	11		6	8	
Sedang	0	8		5	3	
Buruk	1	11		6	6	
<b>3. Stadium</b>			0,205			0,766
I	3	11		5	7	
II	0	8		1	1	
III	1	11		10	9	
IV	—	—		1	0	

**Keterangan:** Nilai p dihitung berdasarkan uji chi-kuadrat.

Pada Tabel 4 didapatkan ekspresi gen Her-2/neu yang positif (4 kasus) dihubungkan dengan variabel klinis tipe sel tidak tampak korelasi yang jelas. Pada variabel klinis diferensiasi sel, tampak 3 kasus dengan ekspresi gen Her-2/neu positif diferensiasi selnya baik, begitu juga pada variabel stadium 3 kasus ekspresi gen Her-2/neu positif ternyata pada stadium I (awal). Hubungan ekspresi gen Her-2/neu dengan ketiga variabel klinis dihitung berdasarkan uji Chi-kuadrat tidak didapatkan hubungan yang bermakna dengan nilai  $p > 0,05$ .

Pada ekspresi gen p53, tampak distribusi merata pada kasus dengan ekspresi gen p53 positif dan ekspresi gen p53 negatif. Hubungan ekspresi gen p53 positif dengan beberapa variabel klinis (tipe sel, diferensiasi sel, stadium) di atas tidak didapatkan hubungan yang bermakna dengan nilai  $p > 0,05$ .

#### 5. Hubungan antara ekspresi Gen Her-2/neu dan p53 dengan hasil terapi

Dari Tabel 5 tampak korelasi antara ekspresi gen Her-2/neu positif dan negatif tidak tampak perbedaan yang bermakna terhadap variabel hasil terapi yang telah dilakukan, terbukti dengan uji Kolmogorov-Smirnov dengan  $p > 0,05$ .

**Tabel 5.** Hubungan antara ekspresi Her-2/neu dan p53 dengan hasil terapi

Hasil Terapi	Her-2/neu			p53		
	+	-	Nilai p	+	-	Nilai p
<b>1. Jenis Operasi</b>			0,382			0,454
Staging bedah komplrit	3	8		4	7	
Staging bedah konservatif	0	3		1	2	
Sitoreduksi optimal	0	1		0	1	
Sitoreduksi suboptimal	1	18		12	7	
<b>2. Respons Kemoterapi</b>			0,467			0,954
Respons komplrit	0	18		8	10	
Respons parsial	1	4		2	3	
Penyakit menetap	0	0		4	1	
Penyakit progresif	1	2		1	2	
Tidak dapat nilai	2	1		2	1	
<b>3. Lama Bebas Penyakit</b>			0,828			0,734
0 - < 3 bulan	2	11		7	6	
3 - < 6 bulan	0	0		0	0	
6 - < 12 bulan	0	2		1	1	
12 - < 36 bulan	1	3		2	2	
36 - < 60 bulan	1	4		4	1	
> 60 bulan	0	10		3	7	
<b>4. Survival *)</b>						
< 12 bulan	1	9		5	5	
12 - < 36 bulan	2	6		4	4	
36 - < 60 bulan	1	3		3	1	
> 60 bulan	0	12		5	7	

**Keterangan:** Nilai p dihitung berdasarkan Uji Kolmogorov-Smirnov

\*) Untuk keperluan analisis ditunjukkan pada tabel 8

Ekspresi gen p53 pada kasus penelitian tampak distribusi hampir merata pada ekspresi gen p53 positif dan ekspresi gen p53 negatif dan pada analisis statistik dengan uji Kolmogorov-Smirnov terbukti tidak didapatkan hubungan yang bermakna dengan  $p > 0,05$ .

**Tabel 6.** Waktu kesintasan dari penderita tumor ganas ovarium jenis epitel berdasarkan ekspresi gen Her-2/neu dan p53

	Proporsi Kumulatif survival		p53	
	Her-2 (+) n (%)	Her-2 (-) n (%)	p53 (+) n (%)	p53 (-) n (%)
0	4 (100,0)	30 (100,0)	17 (100,0)	17 (100,0)
< 12	3 (75,0)	21 (70,0)	12 (70,6)	12 (70,6)
12 - < 36	1 (25,0)	15 (50,0)	8 (47,1)	8 (47,1)
36 - < 60	0	12 (40,0)	5 (29,4)	7 (41,2)
≥ 60	0	12 (40,0)	5 (29,4)	7 (41,2)
	p = 0,402		p = 0,774	

**Keterangan:** Nilai p (membandingkan survival time) berdasarkan uji Wilcoxon (Gehan)

Dari tabel di atas tampak ekspresi gen Her-2/neu dan ekspresi gen p53 yang positif dan negatif tidak didapatkan perbedaan *survival* yang bermakna, terbukti pada uji Wilcoxon (Gehan) dengan  $p > 0,05$ .

**Tabel 7.** Hubungan variabel klinis dengan respons kemoterapi

Variabel Klinis	Respons Kemoterapi				Korelasi
	Komplit	Parsial	Tdk respons	Peny. Progresif	
<b>1. Jenis Operasi</b>					rs= 0,450
Staging bedah komplit	8	0	0	1	p = 0,011
Staging bedah konservatif	2	0	0	0	
Sitoreduksi optimal	1	0	0	0	
Sitoreduksi suboptimal	7	5	5	2	
<b>2. Tipe Sel</b>					
Kistadenokarsinoma serosum	4	2	0	0	
Kistadenokarsinoma musinosum	4	0	1	1	
Kistadenokarsinoma endometrioid	4	0	1	0	
Adenokarsinoma Clear cell	5	2	1	0	
Karsinoma Small cell (mix)	1	0	0	0	
Undifferentiated	0	1	2	2	
<b>3. Diferensiasi Sel</b>					rs= 0,503
Baik	10	1	0	1	p = 0,004
Sedang	5	1	1	0	
Buruk	3	3	4	2	
<b>4. Stadium</b>					rs= 0,356
I	8	0	0	1	p = 0,050
II	2	0	0	0	
III	7	5	5	2	
IV	1	0	0	0	

Keterangan: rs = koefisien korelasi rank Spearman

Dari tabel di atas tampak hubungan antara variabel klinis (jenis operasi, tipe sel, diferensiasi, dan stadium) dengan respons kemoterapi terdapat korelasi dengan jelas adanya perbedaan yang diperlihatkan secara klinis. Misalnya, jenis operasi *staging* pembedahan komplit akan memberikan respons kemoterapi yang lebih baik dibandingkan dengan pembedahan sitoreduksi sub-optimal (residu tumor > 2 cm), dibuktikan dalam perhitungan statistik menggunakan korelasi *rank Spearman* didapatkan rs = 0,450; p = 0,011 ( $p < 0,05$ ). Kemudian pada variabel diferensiasi sel, diferensiasi sel yang baik akan memberikan respons kemoterapi yang lebih

baik dibandingkan diferensiasi sel yang buruk dengan rs = 0,503; p = 0,004 ( $p < 0,05$ ) dan stadium awal memberikan respons kemoterapi yang lebih baik dibandingkan dengan stadium lanjut dengan rs = 0,356 dan p = 0,050.

**Tabel 8.** Hubungan antara variabel klinis dengan *survival*

Variabel Klinis	Survival (bulan)				Korelasi
	< 12	12 - <36	36 - < 60	≥ 60	
<b>1. Jenis Operasi</b>					rs= -0,445
Staging bedah komplit	1	2	3	5	p = 0,008
Staging bedah konservatif	0	0	0	3	
Sitoreduksi optimal	0	1	0	0	
Sitoreduksi suboptimal	9	5	1	4	
<b>2. Tipe Sel</b>					
Kistadenokarsinoma serosum	1	3	2	3	
Kistadenokarsinoma musinosum	2	2	0	2	
Kistadenokarsinoma endometrioid	1	0	0	4	
Adenokarsinoma Clear cell	3	1	2	2	
Karsinoma Small cell (mix)	0	0	0	1	
Undifferentiated	3	2	0	0	
<b>3. Diferensiasi Sel</b>					rs= -0,464
Baik	1	4	2	7	p = 0,006
Sedang	2	1	2	3	
Buruk	7	3	0	2	
<b>4. Stadium</b>					rs= -0,543
I	1	1	2	8	p = 0,001
II	0	0	0	2	
III	9	7	2	1	
IV	0	0	0	1	

Keterangan: rs = koefisien korelasi rank Spearman

Dari tabel di atas memperlihatkan hubungan antara variabel-variabel klinis (jenis operasi, tipe sel, diferensiasi sel, dan stadium) dengan *survival*, tampak pada variabel jenis operasi *staging* pembedahan komplit memberikan *survival* yang lebih lama dibandingkan pada jenis operasi sitoreduksi sub-optimal, terbukti dengan perhitungan statistik koefisien korelasi *rank Spearman*, didapatkan rs = 0,445 dan p = 0,008 ( $p < 0,005$ ). Demikian juga pada variabel diferensiasi sel, diferensiasi sel yang baik memberikan angka *survival* yang lebih baik, terbukti secara statistik dengan nilai rs = 0,464 dan p

= 0,006 ( $p < 0,05$ ). Pada variabel stadium tampak makin awal stadium memberikan angka *survival* yang lebih baik dengan  $rs = 0,543$  dan  $p = 0,001$  ( $p < 0,05$ ).

## DISKUSI

Penelitian yang telah dilakukan merupakan penelitian potong lintang dengan historikal kohort pada 34 kasus penderita karsinoma ovarium jenis epitel di Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Dr. Cipto Mangunkusumo Jakarta pada selang waktu antara Januari 1998 sampai dengan Desember 2003. Pada penelitian ini didapatkan 178 kasus penderita karsinoma ovarium, dan hanya 34 kasus yang dapat dimasukkan dalam subjek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi (telah memenuhi kriteria jumlah sampel 30 kasus). Penelitian ini bermaksud untuk mengetahui hubungan ekspresi gen Her-2/neu dan p53 dengan berbagai variabel klinis misalnya diferensiasi sel, respons terhadap kemoterapi yang diberikan dan angka kelangsungan hidup (*survival*) penderita karsinoma ovarium. Kendala pada penelitian ini adalah beberapa kasus tidak dapat dimasukkan ke dalam subjek penelitian dikarenakan beberapa hal, antara lain; (1) Alamat tidak jelas, terutama penderita dari luar Jakarta yang sulit ditelusuri, (2) Masalah finansial penderita, sehingga kemoterapi yang diberikan tidak dilakukan sesuai jadwal, (3) Kasus rujukan, operasi dilakukan di luar RSCM, hanya membawa *slide* untuk *review*, (4) Parafin blok tidak ada.

### Data Demografi

Dari 34 kasus subjek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi, pada analisis data demografi ternyata insidensi terbanyak pada usia antara 40-50 tahun (41,2%) dan usia di atas 50 tahun (35,3%), sedangkan usia rata-rata penderita 45,7 tahun. Menurut usia pada tahun 1994 di Amerika Serikat insidensi kanker ovarium terbanyak pada usia di atas 50 tahun 41,4 per 100.000.<sup>1,2</sup> Beberapa kepustakaan mengemukakan kejadian tumor ganas meningkat dengan bertambahnya umur dan puncaknya adalah pada dekade kedelapan.<sup>2,3</sup> Terdapat perbedaan angka kejadian karsinoma ovarium pada subjek penelitian dan literatur walaupun tidak terlalu besar, hal ini karena beberapa faktor misalnya dengan angka harapan hidup di Amerika Serikat 79,53 tahun dan angka harapan hidup wanita Indonesia pada tahun 1980-1985 sebesar 55,3 tahun dan periode tahun 1996-2000 menjadi sebesar 65,43 tahun.

Sedangkan sebaran paritas pada penelitian ini terbanyak pada kelompok paritas rendah 1-4 (61,9%) dan nulipara (32,2%), hal ini sesuai dengan beberapa kepustakaan yang mengatakan kejadian tumor ganas ovarium banyak pada kelompok nulipara dan paritas rendah.<sup>19</sup> Pada suatu literatur menyebutkan bahwa wanita yang mempunyai 4 anak atau lebih akan mengurangi risiko sebesar 40% dibandingkan dengan nulipara, sesuai dengan teori "*incessant ovulation theory*" yang menyatakan bahwa dengan ovulasi yang terus menerus seperti pada nulipara, akan menyebabkan kerusakan epitel yang berulang dan mencetuskan terjadinya tumor ganas ovarium atau kejadian inisial pada tumor ganas ovarium diawali oleh proses reparasi abnormal pada permukaan epitel setelah ovulasi.<sup>1,2,22-8</sup>

Pada variabel pendidikan terbanyak pada kelompok pendidikan rendah dan menengah (88,4%), hal ini memberikan gambaran bahwa karakteristik demografi terutama pendidikan memberikan kontribusi yang cukup besar pada keterlambatan penderita untuk datang pada fasilitas kesehatan sehingga sebagian besar kasus datang dalam stadium yang sudah lanjut.

### Data Klinis

Faktor prognosis penderita karsinoma ovarium sampai saat ini masih melihat keadaan klinis penderita, status performa, karakteristik progresivitas penyakit, volume tumor, tumor residif, tipe sel histopatologik, diferensiasi sel dan ada/tidaknya asites seperti yang dikemukakan pada *staging* FIGO.<sup>27-9</sup>

Pada penelitian ini tampak sebagian besar subjek penelitian datang dengan stadium lanjut, 64,7% stadium II, III, IV (lihat Grafik 2). Tipe sel histologik, masih banyak muncul tipe sel yang mempunyai perangai yang buruk 41,1% (*clear cell* adenokarsinoma, *small cell*, *undifferentiated*), begitu pula pada diferensiasi sel yang didapat pada subjek penelitian ini tampak 55,8% diferensiasi sel sedang sampai buruk, artinya akan memberikan prognosis yang kurang baik terhadap modalitas pengobatan yang diberikan, baik pembedahan dan atau kemoterapi, timbulnya lagi penyakit (rekurensi) atau bahkan berkembangnya resistensi sel tumor terhadap regimen kemoterapi yang diberikan.<sup>6-10,30-4</sup>

Penderita karsinoma ovarium pada subjek penelitian ini lebih banyak datang pada stadium lanjut, tentunya akan mempengaruhi jenis terapi yang diberikan, seperti yang tergambar pada Grafik 2, tampak jenis operasi yang dilakukan (58,8%) tidak dapat melakukan operasi pembedahan yang optimal (*Complete Surgical Staging*), sehingga operasi pembedahan lebih banyak pada upaya untuk mengang-



kat massa tumor sebanyak-banyaknya, sehingga massa tumor yang tersisa sesedikit-dikitnya (sitoreduksi). Hal ini menimbulkan konsekuensi yang serius untuk memberikan kemoterapi dalam upaya kesembuhan penderita karsinoma ovarium, dari kajian kepustakaan didapatkan angka ketahanan hidup 5 tahun didapatkan sebanyak 30% bila diameter residu tumor terbesar kurang dari 1 sentimeter, dibandingkan 2% bila residu tumor lebih dari 1 sentimeter.<sup>34</sup>

### Hasil Terapi

Pada penelitian yang dilakukan terhadap 34 kasus subjek penelitian, setelah dilakukan *staging* pembedahan dilanjutkan pemberian kemoterapi dengan regimen sesuai protokol di Subbagian Onkologi-Ginekologi FKUI-RSCM yakni (CP = Cyclophosphamid-cisPlatin, AP = Adriamycin-cisPlatin, AC = Adriamycin-Cyclophosphamid, dan CAP = Cyclophosphamid-Adriamycin-cisPlatin), yang terbanyak kasus diberikan kemoterapi dengan regimen CP (Cyclophosphamid-cisPlatin) 73,6%, dan pemberian kemoterapi komplit 6 kali (55,9%), kurang dari 6 kali tapi lebih dari 3 kali (32,2%), terdapat 3 kasus tidak diberikan kemoterapi dengan stadium IA.

Tampak pada subjek penelitian ini (Tabel 2) yang memberikan respons komplit sebanyak 53,0%, sisanya 14,7% parsial respons, tidak respons 14,7%, dan 8,8% penyakit tetap progresif selama pemberian kemoterapi, artinya terdapat 23,5% penderita tidak berespons sama sekali dengan pemberian kemoterapi, hal ini memerlukan pemikiran lebih jauh apakah regimen yang diberikan sudah tidak tepat? Apakah perangai sel kanker yang berubah sehingga tidak berespons terhadap obat sitostatika yang diberikan?, atau perlu dicari strategi pengobatan lain (target molekuler sel, protein target) yang akan membuat respons terhadap kemoterapi yang diberikan lebih baik.

Seperti diketahui bahwa kemoterapi tidak mampu mengontrol seluruh mayoritas sel tumor, telah dilaporkan dari beberapa penelitian pada tahun 1978-1980 sampai 1987-1989 rata-rata angka ketahanan hidup 5 tahun setelah diberikan kemoterapi pada kanker kolon 8% (dari 40% ke 48%), pada kanker hati meningkat dari 3-6% dan kanker paru-paru meningkat kurang lebih 2% (dari 26% ke 28%).<sup>1,2,9,12,16,24,26,28-9,34-5</sup>

Khonsa dan Rarung melaporkan dalam penelitiannya di RSCM Jakarta, bahwa penderita karsinoma ovarium yang diberikan kemoterapi komplit 6 kali dan inkomplit kurang dari 6 kali terkesan tidak terdapat perbedaan, walaupun dalam analisa *log rank* keseluruhan menunjukkan kemaknaan de-

ngan  $p < 0,005$ , namun tidak dilaporkan berapa persen peningkatan *survival* setelah diberikan kemoterapi.<sup>4,5</sup>

Dari variabel lama bebas penyakit pada Tabel 2, tampak bahwa makin lama makin berkurang dari 61,8% ke 29,4%, artinya bahwa setelah penyakit mengalami remisi komplit (keadaan bebas tanpa penyakit) pascapembedahan dan kemoterapi, penderita mengalami kekambuhan kembali. Hal ini menjadi bahan pemikiran kita bahwa setelah pemberian kemoterapi komplit dan secara klinis, *imaging* dan laboratorium tidak ditemukan penyakit, apakah diperlukan kemoterapi konsolidasi? Atau mungkin perlu diberikan siklus kemoterapi tambahan pada kasus dengan remisi komplit untuk mencegah kekambuhan kembali?

Pada penelitian ini didapatkan bahwa pada penderita karsinoma ovarium, *survival*  $\geq 1$  tahun (70,5%), *survival*  $\geq 3$  tahun (47,1%), dan *survival*  $\geq 5$  tahun (41,2%). Data SEER mengatakan angka *survival* 5 tahun penderita kanker ovarium pada tahun 1974-1976 37%, meningkat pada tahun 1989-1994 menjadi 50%. Terdapat perbedaan angka *survival* dari penelitian oleh SEER, kemungkinan penderita sudah datang pada stadium lebih dini dan pemberian kemoterapi dapat lebih optimal dan tidak terpengaruh masalah biaya. Pada penelitian Khonsa dan Rarung di RSCM Jakarta mendapatkan angka *survival* 5 tahun 54,8% dan 45%, terdapat perbedaan pada penelitian ini lebih rendah, hal ini kemungkinan subjek penelitian sudah mengalami seleksi pada kriteria inklusi dan untuk mengetahui subjek penelitian masih hidup dilakukan pengamatan lanjut langsung terhadap pasien (saat kontrol ke Poliklinik, pengecekan ke alamat melalui telepon) kemudian dianalisis dengan uji Wilcoxon Gehan bukan melalui perhitungan proyeksi dari rumus produk limit dari Kaplan Meier.

### Ekspresi Protein Her-2/neu

Pada Tabel 3 didapatkan bahwa hasil ekspresi protein gen Her-2/neu (+2) adalah sebanyak 8,8% dibandingkan hasil negatif (-) dan (+1) yaitu 91,2%. Pada penelitian ini didapatkan *over* ekspresi pada subjek penelitian penderita karsinoma ovarium sebanyak 8,8%, lebih rendah dari yang didapatkan peneliti-peneliti lain, Reese mendapatkan 25-30%, Hellstrom  $< 25\%$ , Juhl 20-30%, dan mereka Reese, Hellstrom, dan Juhl menghubungkan *over* ekspresi Her-2/neu akan mempengaruhi prognosis, yakni kekambuhan penyakit, resistensi terhadap kemoterapi dan pada akhirnya akan mempengaruhi *survival*.<sup>8,9,19</sup>

Perbedaan hasil penelitian *over* ekspresi protein Her-2 ini mungkin dapat disebabkan beberapa hal, kemungkinannya adalah adanya kejadian negatif palsu, ras/etnik, reagen yang dipakai kurang sensitif. Pada literatur disebutkan terjadinya negatif palsu pada pemeriksaan *over* ekspresi onkoprotein Her-2 dengan teknik imunohistokimia karena berbagai keadaan berikut: saat melakukan fiksasi, lama fiksasi, pada saat memproses, denaturasi, panas, prosedur pewarnaan yang digunakan, antigen, dan interpretasi pemeriksa.<sup>10,36,37</sup> Kejadian positif palsu dan negatif palsu *over* ekspresi Her-2 yang diperiksa secara imunohistokimia pada sel kanker payudara sebesar 3-15%.<sup>7,38-40</sup>

Pada keadaan seperti ini pemeriksaan status Her-2 dengan *Fluorescence in-situ hybridization* (FISH) untuk mengetahui amplifikasi gen Her-2 mungkin berguna.<sup>7,10,39,40</sup> *Fluorescence in-situ hybridization* (FISH) merupakan pemeriksaan *gold standard* untuk amplifikasi gen Her-2.<sup>38,39</sup> FISH merupakan metode untuk mengetahui amplifikasi onkogen Her-2 dengan menggunakan probe DNA fluoresens untuk mengetahui peningkatan jumlah kopi gen Her-2.<sup>10,39,40</sup>

Amplifikasi onkogen adalah peningkatan jumlah kopi gen dalam sel, sehingga jumlah mRNA meningkat.<sup>39,40</sup> Karena pemeriksaan imunohistokimia adalah untuk memeriksa ekspresi onkoprotein Her-2 pada membran sel, yang memberikan hasil pewarnaan yang terlihat coklat, walaupun tidak terdapat amplifikasi atau peningkatan jumlah onkogen Her-2, hal ini merupakan kejadian positif palsu dan sebaliknya pada keadaan terdapat amplifikasi gen atau peningkatan jumlah onkogen, akan tetapi tidak memberikan pewarnaan coklat pada membran sel, kejadian negatif palsu.<sup>10</sup>

Telah dilaporkan lebih dari 100 proto-onkogen teridentifikasi salah satunya adalah Her-2/neu. Slamon, Berchuk dkk, melaporkan lebih dari 30% tumor ovarium jenis epitel mempunyai ekspresi Her-2/neu dan mempunyai prognosis jelek, terutama yang mempunyai 5 kali atau lebih kopi gen. Sedangkan Leany dkk hanya menemukan ekspresi gen Her-2/neu  $\pm$  11%, dan menyimpulkan tidak jelas hubungannya dengan nilai prognostik penyakit.

### Ekspresi Protein Gen p53 pada sampel penelitian

Ekspresi protein gen p53 positif (+1, +2, +3) pada penelitian ini didapatkan sebanyak 50% dan negatif ekspresi 50%. Mazar dkk menemukan mutasi gen Tp53 dalam 36% dari tumor ganas ovarium dengan kluster mutasi pada exon 5 dan 7. Marks dkk memeriksa ekspresi gen Tp53 pada lebih dari 100 pasien tumor ganas ovarium dan menemukan kadar

yang tinggi protein Tp53 mutan pada lebih dari 50% tumor, di mana Tp53 tidak terdeteksi pada beberapa jaringan ginekologis jinak. *Over* ekspresi protein Tp53 berhubungan dengan adanya mutasi gen dalam tumor. Penelitian ini menunjukkan bahwa gen Tp53 melalui delesi dan mutasi memegang peranan dalam perkembangan atau progresivitas beberapa tumor ganas ovarium.<sup>18,20,24,41</sup>

Dalam kepustakaan dikatakan pula secara *in vitro clonogenic assay* pada kanker ovarium, *over* ekspresi gen p53 terdapat korelasi yang erat dengan *survival*.<sup>18,20,24,41</sup>

### Hubungan Ekspresi Protein Gen Her-2/neu dan Gen p53 dengan Keadaan Klinis, Hasil Terapi, dan Survival

Pada beberapa penelitian dikatakan ekspresi gen Her-2/neu akan mempengaruhi prognosis penderita kanker ovarium, yakni dengan kekambuhan penyakit, resistensi pada kemoterapi, diferensiasi sel dan pada akhirnya akan mempengaruhi *survival* ratenya seperti yang dikemukakan oleh Reese, Helstrom, dan Juhl.

Pada penelitian ini dengan subjek penelitian 34 kasus, didapatkan positif ekspresi 11,7% terdiri dari positif ekspresi lemah (+1) 2,9% dan ekspresi positif sedang (+2) 8,8% dan pada analisa korelasi dengan berbagai variabel klinis, yakni tipe sel, diferensiasi sel, stadium, respons kemoterapi, lama bebas penyakit, dan *survival* 1 tahun, 2 tahun, dan 5 tahun tidak tampak perbedaan yang berarti, distribusi pada ekspresi her-2/neu positif dan negatif hampir merata, kemudian dibuktikan dengan uji statistik Chi-kuadrat (pada Tabel 4, memenuhi uji Chi-kuadrat) dan pada Tabel 5 dengan uji statistik Kolmogorov-Smirnov (tidak memenuhi uji Chi-kuadrat), begitu juga pada perhitungan *survival time* dengan menghitung proporsi kumulatif *survival* (Tabel 6), tidak terbukti adanya perbedaan yang bermakna dengan  $p > 0,05$ .

Perbedaan hasil pada penelitian ini dengan beberapa penelitian lain kemungkinan disebabkan, antara lain:

- Prevalensi ekspresi protein gen Her-2/neu pada penelitian ini rendah 8,8% dengan ekspresi sedang (positif ++), sehingga dampak terhadap variabel-variabel klinis yang diteliti belum tampak dengan jelas;
- Kemungkinan hasil pemeriksaan imunohistokimia *false* negatif ekspresi, sehingga ekspresi gen yang didapatkan pada penelitian ini rendah;
- Jaringan direndam di dalam formalin terlalu lama lebih dari 2 x 24 jam sebelum dilakukan pe-

motongan untuk sediaan parafin blok, dikatakan dari kepustakaan akan mempengaruhi protein sel pada pemeriksaan imunohistokimia;

- Kemungkinan mekanisme lain dari famili Re-septo Tirosin Kinase yang lain selain Her-2/neu, misal *human epidermal growth factor receptor-1* (Her-1) yang berperan pada subjek penelitian ini. Her-1 telah diketemukan pada awal tahun 1980-an, dan mempengaruhi perkembangan dan progresivitas berbagai jenis kanker, dengan diperlihatkannya Her-1 bertindak sebagai titik/poin integrasi signal dari berbagai reseptor dan mekanisme, misal *G-protein-coupled receptor* dan sitokin reseptor.

Pada ekspresi protein gen p53 didapatkan ekspresi positif pada 50% kasus subjek penelitian, tetapi dalam analisis korelasi dengan berbagai variabel klinis tampak distribusi ekspresi gen p53 positif dan negatif hampir merata, jadi secara klinis tidak perbedaan yang nyata, dibuktikan dengan uji statistik Chi kuadrat (Tabel 4) dan uji Kolmogorov-Smirnov (Tabel 5) tidak didapatkan hubungan bermakna dengan  $p < 0,05$ . Hal ini memberikan gambaran berbeda dengan hasil penelitian lain dan literatur, kenapa demikian? Apakah karena faktor *Tumor Necrosis Factor (TNF) alpha* kadarnya meningkat pada penderita kanker ovarium dengan asites? Atau penyebab lain masih belum jelas. Kita tahu bahwa TNF alfa berperan pada apoptosis dengan jalan yang berbeda, upregulasi pada p53 *wild type* akan merangsang terjadinya apoptosis sel kanker.<sup>16,18</sup>

### Hubungan variabel klinis dengan respons kemoterapi dan Survival

#### Hubungan Variabel Klinis dengan Respons Kemoterapi

Tampak pada subjek penelitian ini (lihat Tabel 7) memperlihatkan pada variabel jenis operasi, kasus yang dilakukan *staging* pembedahan komplit memberikan respons yang lebih baik terhadap kemoterapi yang diberikan (*Complete respond*) dibandingkan dengan kasus yang hanya dapat dilakukan sitoreduksi sub-optimal, terbukti dengan analisis statistik koefisien korelasi *rank Spearman* didapatkan angka  $rs = 0,450$  dengan  $p = 0,011$  ( $p < 0,05$ ). Demikian halnya pada diferensiasi sel dan stadium penyakit, diferensiasi baik, dan stadium awal memberikan respons kemoterapi yang lebih baik dibandingkan dengan diferensiasi sel buruk dan stadium lanjut ( $p < 0,05$ ).

#### Hubungan Variabel Klinis dengan Survival

Pada Tabel 8 tampak perbedaan yang nyata secara klinis pada variabel-variabel jenis operasi, diferensiasi sel, dan stadium. Jenis operasi *staging* pembedahan komplit memberikan angka *survival* 1 tahun, 3 tahun, dan 5 tahun yang lebih baik dibandingkan sitoreduksi sub-optimal, terbukti pada analisa statistik dengan uji koefisien korelasi rank Spearman didapatkan angka  $rs = -0,445$  dengan  $p = 0,008$  ( $p < 0,05$ ).

Pada variabel diferensiasi juga tampak bahwa diferensiasi baik memberikan angka ketahanan hidup yang lebih baik dibandingkan diferensiasi buruk, dengan uji koefisien korelasi *rank Spearman* didapatkan angka  $rs = -0,464$  dan  $p = 0,006$  ( $p < 0,05$ ).

Variabel stadium tampak subjek penelitian 12 kasus stadium I (35,3%) dan memberikan angka ketahanan hidup yang lebih baik dibandingkan pada 19 kasus (55,9%) pada stadium III, terbukti dengan uji statistik koefisien korelasi dari rank spearman didapatkan angka  $rs = -0,543$  dan  $p = 0,001$  ( $p < 0,05$ ).

Hasil hubungan variabel klinis dengan angka ketahanan pada penelitian ini tidak berbeda dengan penelitian-penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya dan dalam literatur, status performa klinik penderita akan mempengaruhi prognosis penderita karsinoma ovarium.

### KESIMPULAN

Dari penelitian terhadap 34 kasus subjek penelitian didapatkan angka *survival* keseluruhan 1 tahun (70,5%), 3 tahun (47,1%), dan 5 tahun (41,1%). Angka prevalensi *over* ekspresi protein gen Her-2/neu di RSCM (+2) sebanyak 8,8% dan ekspresi protein gen p53 sebanyak 50%, tetapi tidak ditemukan hubungan bermakna antara *over* ekspresi protein gen Her-2/ neu dan p53 dengan gambaran diferensiasi sel, respons terhadap kemoterapi, dan angka ketahanan hidup 1 tahun, 3 tahun, dan 5 tahun.

Terdapat hubungan yang bermakna antara variabel klinis jenis tindakan operasi, stadium, dan diferensiasi sel dengan respons kemoterapi. Pada penelitian ini didapatkan juga hubungan yang bermakna antara variabel klinis jenis tindakan operasi, stadium, dan diferensiasi sel dengan angka ketahanan hidup 1 tahun, 3 tahun, dan 5 tahun. Perlu dianalisis kembali kemungkinan penyebab negatif palsu ekspresi protein gen Her-2/neu pada penelitian ini,

dengan mengembangkan metoda pemeriksaan ekspresi protein gen Her-2/neu yang lain misalnya FISH (*Fluorescence In-Situ Hybridization*) untuk menghindari kemungkinan positif palsu dan negatif palsu pada pemeriksaan imunohistokimia.

### RUJUKAN

1. Look KY. Epidemiology, Etiology, and Screening of Ovarian Cancer. In: Rubin SC, Sutton GP. Ovarian Cancer. Second edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia USA. 2001; 167-80
2. Cramer DW. Epidemiology of sporadic ovarian cancer. In: Jacobs IJ, Shephard JH, Oram DH. Ovarian Cancer. First edition, Oxford University Press, New York USA. 2002; 3-13
3. Soper JT. Management of Early Stage Epithelial Ovarian Cancer. In: Clinical Obstetrics and Gynecology. Volume 37, Number 2, 1994: 433-8
4. Khonsa O. *survival* Karsinoma Ovarium dan faktor-faktor yang mempengaruhinya di RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo Jakarta dari tahun 1998 - 2003. Tesis Program Studi Obstetri dan Ginekologi. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta 2005
5. Rarung MR. *survival* Hidup Lima Tahun Kanker Ovarium yang dikelola di RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo Jakarta. Tesis Program Pendidikan Konsultan Ginekologi Onkologi. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta 2005
6. Andrijono. Kanker Ovarium. Dalam: Sinopsis Kanker Ginekologi. Divisi Onkologi, Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo, Jakarta. 2004
7. Camilleri-Broet S, Hardy-Bessard AC, Le Tourneau A et al. Her-2 overexpression is an independent marker of poor prognosis of advanced primary ovarian carcinoma: a multicenter study of the GINECO group. *Annals of Oncology*. 2004; 15: 104-12
8. Reese DM, Slamon DJ. Her-2/neu Signal Transduction in Human Breast and Ovarian Cancer. *Annuals Of Oncology*. 1997; 15: 1-8
9. Hellstrom I, Goodman G, Pullman J, Yang Y, Hellstrom KE. Overexpression of HER-2 in Ovarian Carcinomas. *Cancer Research* 61: March 15, 2001: 2420-3
10. Trimbors JB, Fleuren GJ. Tumor alat kelamin wanita. Dalam: Van de Velde CJH, Bosman FT, Wagener DJ Th. Onkologi. Edisi kelima. Alih Bahasa Arjono. Panitia kanker RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta. 1999; 493-531
11. Fiorica JV, Robert WS. Screening for Ovarian Cancer. *Cancer Control Journal*. 2000; 1-14
12. Diamandidou Eleni, Kavanagh JJ, Edwards CL, Kudelka AP. Ovarian Cancer. In: Medical Oncology, 2000, M.D. Anderson Cancer Center, Houston, Texas, 1-25
13. Holbro T, Beerli RR, Maurer F, Koziczak M, Barbas CF, Hynes NE. The ErbB2/ErbB3 heterodimer functions as an oncogenic unit: ErbB2 requires ErbB3 to drive breast tumor cell proliferation. *Proc Natl Sci USA*. 2003; 100 (15): 8933-8
14. Madrid MA, Lo RW. Chromogenic in situ hybridization (CISH): a novel alternative in screening archival breast cancer tissue samples for HER-2/ neu status. Retrieved March 31<sup>st</sup> 2005 from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?tool=pubmed&pubmedid=15318940>
15. Imaginis. Breast Cancer Treatment. TRASTUZUMAB and HER2. Retrived June 4<sup>th</sup> 2005 from: <http://imaginis. Trastuzumab and HER2.htm>
16. Berek JS. Novak's Gynecology. 13<sup>th</sup> ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins. 2002: 1260-1, 1275-6
17. Shaw RW, Soutter WP, Stanton SL. Turnbull's Gynaecology. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: Churchill Livingstone. 2003: 678-9
18. Chiarugi V, Magnelli L, Cinelli M, Basi G, 1994. Apoptosis and the cell cycle. *Cell Molec Biol Res*. 40 (7/8): 603-12
19. Akiyama T, Sudo C, Ogawara H et al. The product of the c-erbB-2 gene: a 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. *Science*. 1986; 232: 1644-6
20. Pawson T. The biochemical mechanisms of oncogene action. In: Bishop JM, Weinberg R, editors. *Molecular oncology*. New York: Scientific American, Inc. 1996: 85-106
21. Lindblom A, Liljegren A. Tumour markers in malignancies. *BMJ*. 2000; 320: 424-7
22. Shuk-Mei Ho. Estrogen, progesterone and epithelial ovarian cancer. *Reprod Biol Endocrinol*. 2003; 1: 73
23. Cvetkovic D. Early events in ovarian oncogenesis. *Reprod Biol Endocrinol*. 2003; 1: 68
24. Chan WY, Cheung KK, Schorge JO, Huang LW, Welch WR, Bell DA, et al. Bcl-2 and p53 protein expression, apoptosis, and p53 mutation in human epithelial ovarian cancers. *Am J Pathol* 2000; 156: 409-17. Retrieved from: <http://ajp.amjpathol.org/cgi/content/full/156/2/409>
25. Wang S, Saboorian MH, Frenkel E, Hynan L, Gokaslan T, Ashfaq R. Laboratory assessment of the status of Her-2/neu protein and oncogene in breast cancer specimens: comparison of immunohistochemistry assay with fluorescence in situ hybridization assays. *Journal of Clinical Pathology*. Retrived March 31<sup>st</sup> 2005 from : <http://jcp.bmjournals.com/cgi/content/full/53/5/374>
26. Benedet JL, Hacker NF, Ngan HYS. Staging classifications and clinical practice guidelines of gynaecologic cancers. FIGO Committee on Gynecologic Oncology. Elsevier. First Edition. 2000; 92-112
27. Hereditary factors in gynecologic cancer. Retrieved April 3<sup>rd</sup> 2004. From: <http://intl-theoncologist.alphamedpress.org/cgi/content/full/3/5/319>
28. Doherty JK, Bond C, Jardim A, Adelman JP, Clinton GM. The HER-2/neu receptor tyrosine kinase gene encodes a secreted autoinhibitor. *PNAS*. 1999; 96: 10869-74
29. Disaia PJ, Creasman WT. *Clinical Gynecologic Oncology*. 6<sup>th</sup> ed. Missouri: Mosby, Inc. 2002: 289-343; 581-2
30. Rutter JL, Wacholder S, Chetrit A, Lubin F, Menozzer J, Ebbers S et al. Gynecologic surgeries and risk of ovarian cancer in women with BRCA1 and BRCA2 Ashkenazi founder mutations: An Israeli population-based case-control study. *Journal of the National Cancer Institute*. 2003; 95 (14): 1072-8

31. BRCA1 Gene Mutations in Sporadic Ovarian Carcinomas: Detection by PCR and Reverse Allele-specific Oligonucleotide Hybridization. Retrived April 3<sup>rd</sup> 2004
32. Berek JS. Novak's Gynecology. 13<sup>th</sup> ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins. 2002: 1260-1, 1275-6
33. Shaw RW, Soutter WP, Stanton SL. Turnbull's Gynaecology. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2003: 678-9
34. Islam R, Stuart RK. Gynecologic Malignancies. Retrived Mei 26<sup>th</sup> 2004 from: <http://hccl.musc.edu/hemonc/gynma731.htm>
35. Chan WY, Cheung KK, Schorge JO, Huang LW, Welch WR, Bell DA, et al. Bcl-2 and p53 protein expression, apoptosis, and p53 mutation in human epithelial ovarian cancers. Am J Pathol. 2000; 156: 409-17. Retrieved from: <http://ajp.amjpathol.org/cgi/content/full/156/2/409>
36. Teneriello MG, Park RC. Early Detection of Ovarian Cancer. CA Cancer J Clin 1995; 45: 71-87