

# EKSPRESI p40 DAN CK 5/6 PADA DIAGNOSIS SITOLOGI EFUSI PLEURA DENGAN GAMBARAN KEGANASAN

Marliana Nurprilinda<sup>1</sup>, Ika Pawitra Miranti<sup>1</sup>, Indra Wijaya<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RSUP Dr Kariadi  
Jl. Dr. Sutomo 16-18 Semarang

\*Corresponding author: liana\_gaol@yahoo.com

## ABSTRACT

*Pleural effusion is a state of the presence of excess fluid in the pleural cavity, with 15% of cases associated with malignancy. This malignancy can be caused by adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, small cell carcinoma, mesothelioma malignancy, and others. One way to do the examination is by immunohistochemical staining for example, TTF-1, calretinin, p40, CK5/6, p63. ΔNp63 (p40) is a biomarker types of basal/squamous accordance with nontransactivating isoforms of p63 gene. CK5/6 is keratin intermediate size, expressed in benign and malignant epidermal tumors, squamous mucosa, and myoepithelial. This study aims to prove the immunohistochemical examination of p40 and CK5 / 6 confirm the diagnosis of squamous cell carcinoma on cytology of pleural effusions with malignancy. This study was a descriptive observational cross-sectional design. 20 blocks pleural effusion cytology eligible performed immunohistochemical staining p40 and CK5 / 6. Positive expression characterized by staining of nucleus and cytoplasm of cells suspected of being malignant. Expression is read by two specialists Pathology in blindly. A total of 20 samples were obtained the highest percentage of p40 expression in the whole sample is Squamous Cell Carcinoma ( 62.5%) and the highest expression of CK 5/6 also on Squamous Cell Carcinoma (40%). Immunocytochemistry p40 and CK 5/6 can be used to determine the malignancy of Squamous Cell Carcinoma on cytology samples of pleural effusions with malignancy.*

**Keyword:** p40, CK5 / 6, cytology, pleural effusion, malignancy.

## PENDAHULUAN

Kanker paru merupakan penyebab utama kematian didunia termasuk Indonesia, terutama jenis *Non-small cell lung cancer* (NSCLC) yang terdiri dari adenocarcinoma, squamous carcinoma (SqCCA) dan large cell carcinoma, yang terjadi pada 80% kasus kanker paru.<sup>[1,2]</sup> Insiden adenocarcinoma paru terus meningkat dewasa ini hingga 40% dari seluruh NSCLC.<sup>[3,4,5]</sup> Kanker paru di Indonesia menduduki peringkat ke 4 dari seluruh kanker.<sup>[6,7]</sup> Data Departemen Kesehatan menunjukkan jumlah kanker di Indonesia mencapai 6% dari populasi.<sup>[6,7]</sup>

Efusi pelura adalah suatu keadaan dimana terdapat cairan berlebihan dalam rongga pleura. Sebanyak 15 % kasus efusi pleura berhubungan dengan keganasan, yang dapat dibuktikan dengan penemuan sel ganas pada pemeriksaan sitologi cairan pleura ataupun biopsi.<sup>[8]</sup> Keganasan ini antara lain *adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, small cell carcinoma, malignancy mesothelioma*. Identifikasi keganasan adenocarcinoma pada cairan efusi pleura kadang sulit dilakukan, sedangkan bila dilakukan sangat beresiko tinggi karena posisi organ dan komplikasinya.<sup>[9]</sup> Salah satu cara pemeriksaan yang dapat dilakukan adalah

dengan pewarnaan imunositokimia misalnya *Thyroid transcription factor-1* (TTF-1), Napsin A, Calretinin, p40, CK5/6, p63, CKHMW.<sup>[9]</sup> Sitologi rutin sulit membedakan adenokarsinoma dengan karsinoma lain, sehingga dibutuhkan konfirmasi dengan pemeriksaan imunohistokimia.<sup>[10]</sup>

Imunositokimia merupakan suatu tehnik pewarnaan pada sediaan sitologi menggunakan antibodi tertentu.<sup>[11]</sup> Penelitian ini menggunakan blok sitologi dari pungsi efusi pleura. Mendiagnosis sel ganas pada sediaan sitologi terkadang relatif sulit untuk membedakan dengan sel jinak, hal ini dapat menyebabkan kesalahan diagnosis.<sup>[12]</sup> Pada penelitian ini digunakan antibodi p40 dan CK5/6 untuk membedakan adenocarcinoma dengan carcinoma lain.

Beberapa studi terbaru untuk utilitas p40 dalam diagnosis kanker paru-paru melaporkan bahwa antibodi p40 lebih spesifik daripada p63 pada karsinoma sel skuamosa paru dari adenokarsinoma. CK5/6 terekspresi dalam epitel skuamosa keratinisasi (epidermis) dan non-keratinizing (mukosa), serta dalam lapisan sel basal-mioepitel kelenjar prostat, payudara, dan saliva.<sup>[13]</sup> CK5/6 juga terlihat pada tumor jinak dan ganas epidermal, mukosa skuamosa, dan mioepitel. Imunoreaktivitas cytokeratin 5/6 (CK 5/6) telah diamati di sebagian besar kasus mesothelioma ganas tetapi jarang pada adenokarsinoma paru.<sup>[14]</sup>

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif observasional, dengan desain *cross sectional*. Tujuan penelitian ini untuk membuktikan pemeriksaan imunohistokimia p40 dan CK5/6 dalam memperkuat diagnosis squamous cell carcinoma pada sitologi efusi pleura dengan gambaran keganasan. Sampel yang digunakan adalah slide HE (*Hematoxillin Eosin*) dan blok parafin sediaan sitologi efusi pleura yang telah didiagnosa curiga suatu keganasan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Kariadi Semarang pada 2012-2013. Sebanyak 20 sampel yang memenuhi kriteria inklusi, blok sitologi dipotong dengan alat microtome dan dibuat dua slide, dilakukan pewarnaan papanicolaou dan kemudian dilakukan pewarnaan imunositokimia dengan menggunakan antibodi p40 dan CK 5/6. Data

hasil pewarnaan p40 dan CK 5/6 kemudian dibaca oleh dua dokter Spesialis Patologi Anatomi secara independen dengan mengobservasi 10 lapangan pandang besar menggunakan pembesaran 400 X secara acak, kemudian dibandingkan dengan menggunakan test Kappa.

Data yang terkumpul melalui proses *editing, coding, entrying*, dan *cleaning* data, kemudian dilakukan analisa statistik deskriptif. Hasil penelitian dibahas menggunakan teori dan kepustakaan yang ada.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 53 sampel efusi pleura dengan gambaran keganasan, namun yang memenuhi kriteria inklusi sejumlah 20 sampel. Penelitian ini menggunakan 20 sampel blok sitologi dari cairan efusi pleura dengan gambaran suatu keganasan, kemudian dilakukan pewarnaan p40 dan CK 5/6. Ekspresi p40 positif berwarna coklat pada inti sel, sedangkan CK 5/6 positif berwarna coklat pada sitoplasma. Hasil pewarnaan dibaca oleh dua dokter spesialis Patologi Anatomi independen selanjutnya dibandingkan dengan menggunakan test Kappa. Nilai kappa yang diperoleh adalah 0,608 (p40) dan 0,600 (CK 5/6).

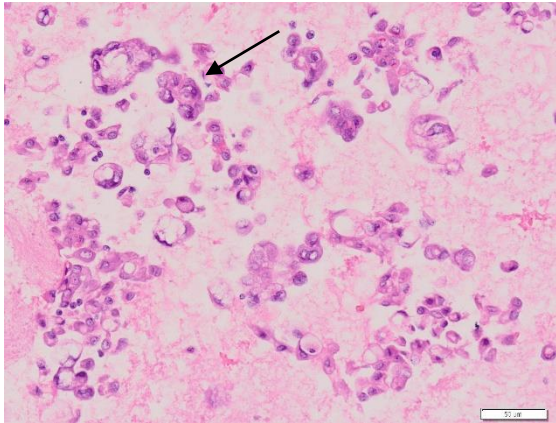
Tabel 1. Tabel Deskripsi Data

Variabel	I		II	
	F	%	F	%
p40				
Negatif	3	15	7	35
Positif 1	12	60	13	65
Positif 2	5	25	0	0
CK 5/6				
Negatif	14	70	10	50
Positif 1	6	30	10	50

Tabel 2. Tabel Hasil Uji Kappa

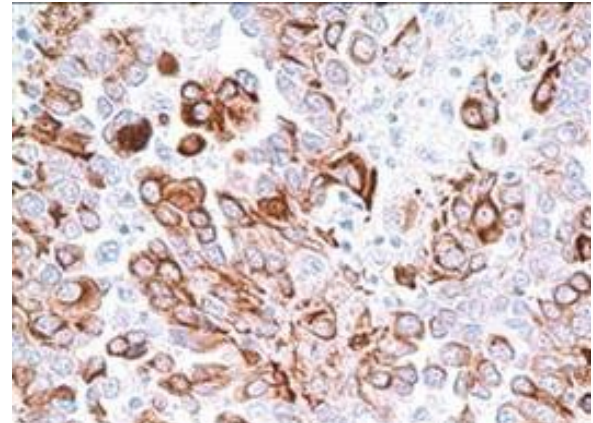
Variabel	$\kappa$	Keterangan
p40	0,608	Memuaskan
CK 5/6	0,600	Memuaskan

Pada tabel 1. terlihat bahwa frekuensi ekspresi p40 terbanyak adalah positif 1 yaitu sebanyak 12 sampel atau 60%, dan ekspresi CK 5/6 terbanyak adalah negatif sebanyak 14 sampel atau 70%. Gambar 1 merupakan sediaan sitologi efusi pleura yang diwarnai dengan HE, terlihat sel-sel yang dicurigai keganasan.



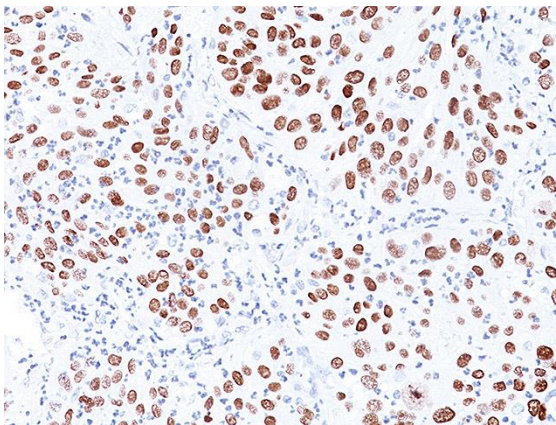
Gambar 1. Sediaan sitologi efusi pleura dengan pewarnaan HE, pembesaran 200x.

Sebaran serta kelompok-kelompok sel curiga ganas. Panah menunjukkan tanda sel ganas



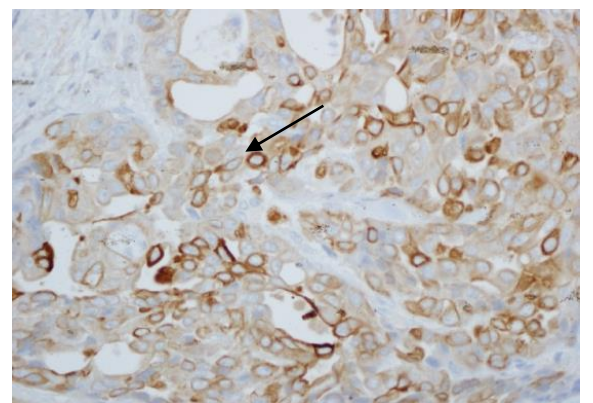
Gambar 4. Sediaan sitologi efusi pleura dengan pewarnaan CK 5/6, pembesaran 200x.

kontrol positif dimana sel-sel ganas berekspresi positif pada pengecatan dengan CK 5/6



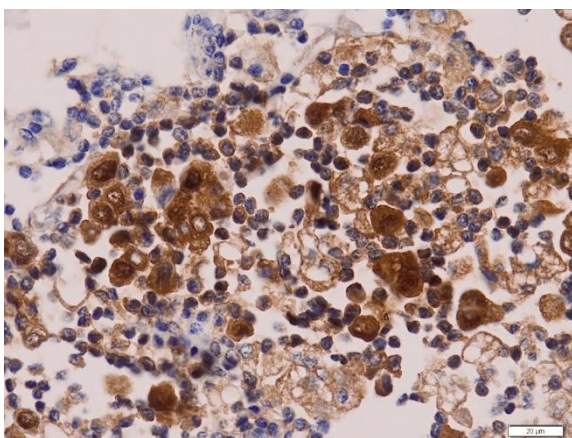
Gambar 2. Sediaan sitologi efusi pleura dengan pewarnaan p40, pembesaran 200x.

kontrol positif dimana sel-sel ganas berekspresi positif pada pewarnaan dengan p40.



Gambar 4. Sediaan sitologi efusi pleura dengan pewarnaan CK 5/6, pembesaran 200x.

Panah menunjukkan sel yang mencurigakan keganasan terwarnai pada sitoplasma



Gambar 3. Sediaan sitologi efusi pleura dengan pewarnaan p40, pembesaran 400x.

terlihat sel-sel yang mencurigakan keganasan dengan inti yang terwarnai.

Efusi pleura ganas didefinisikan sebagai efusi yang terjadi berhubungan dengan keganasan yang dibuktikan dengan penemuan sel ganas pada pemeriksaan sitologi cairan pleura atau biopsi pleura.<sup>[11]</sup> Kenyataannya sel ganas tidak dapat ditemukan pada sekitar 25% kasus efusi pleura yang berhubungan dengan penyakit keganasan, sehingga jika hanya menggunakan definisi di atas dapat terjadi kekeliruan pada kasus dengan sitologi atau histologi negatif.<sup>[12]</sup>

Menentukan diagnosa keganasan pada blok efusi pleura sangat sukar karena sel yang didapatkan tidak sebanyak pada biopsi histopatologi, sehingga diperlukan marker penanda tumor yang spesifik, dengan menggunakan pemeriksaan imunositokimia.

Pemeriksaan tersebut diperlukan untuk mendeteksi sel ganas guna mengurangi keterlambatan diagnosis, sehingga tindakan terapi dapat lebih cepat dilaksanakan. Berbagai penelitian telah dikembangkan untuk meningkatkan akurasi diagnosis misalnya menggunakan immunositokimia p40 atau CK 5/6 untuk squamous cell carcinoma.<sup>[15]</sup>

Lebih dari 75% efusi penderita efusi pleura disebabkan oleh metastasis tumor.<sup>[1]</sup> Setiap jenis tumor memiliki gambaran karakteristik morfologi masing-masing pada sitologi pleura, namun kadang ditemukan gambaran sitologi sel-sel ganas yang sulit ditentukan asalnya, misalnya untuk membedakan squamous cell carcinoma dari suatu adenocarcinoma.<sup>[4]</sup> Pada keadaan ini diperlukan pemeriksaan tambahan untuk dapat menegaskan diagnosis. P40 merupakan suatu antibodi yang mendeteksi Np63, suatu isoform p63 yang spesifik untuk sel squamous / basal. Immunohistokimia p40 sensitif digunakan untuk membantu menegaskan diagnosis suatu squamous cell carcinoma.<sup>[2,4]</sup> Menurut beberapa penelitian nilai sensitivitas p40 dapat mencapai 96%, sampai 100% untuk squamous cell carcinoma,<sup>[4,5,6,7,8,9]</sup> dengan spesifitas mencapai 96,7%.<sup>[9]</sup> Cytokeratin 5/6 (CK 5/6) merupakan suatu antibodi monoklonal yang terekspresi pada sel basal, intermediate dan superfisial, epitel transisional, mesothel, dan epitel squamous. Immunohistokimia CK 5/6 sensitif digunakan untuk membantu menegaskan diagnosis mesothelioma dan squamous cell carcinoma paru, dan tidak bereaksi dengan adenocarcinoma paru. Menurut beberapa penelitian nilai sensitivitas CK 5/6 dapat mencapai sekitar 81% untuk squamous cell carcinoma.<sup>[16]</sup>

Pada penelitian ini menggunakan blok sitologi yang telah di diagnosis mencurigakan suatu keganasan namun belum dapat ditentukan asal sel nya karena memiliki gambaran sitologis yang tidak spesifik. Diperoleh 20 blok sediaan sitologi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi kemudian dilakukan pewarnaan menggunakan p40 dan CK 5/6. Hasilnya dibaca oleh 2 orang spesialis Patologi Anatomi dan dibandingkan dengan test kappa, diperoleh nilai kappa 0,608 untuk p40 dan 0,600 untuk CK 5/6, sangat baik.<sup>[3]</sup> Dari 20 sampel yang digunakan, 15 sampel berekspresi positif atau 75% untuk

p40 dan 10 sampel berekspresi positif atau 50% untuk CK 5/6, sedangkan 5 sampel atau 30% negatif untuk p40 dan 10 sampel atau 50% negatif untuk CK 5/6. Nilai positif ditandai dengan tercatnya inti sel yang dicurigai ganas untuk p40 (gambar 2&3) dan sitoplasma sel yang dicurigai ganas pada CK 5/6 (gambar 4&5).

Pada 15 sampel yang bereaksi positif menunjukkan sel-sel tersebut mengandung p40 dan 10 sampel CK 5/6, dengan tingkat positivitas yang berbeda-beda. Pada beberapa penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa p40 tidak positif pada adenocarcinoma, dan hasil penelitian ini sejalan dengan studi tersebut. Sehingga p40 menunjukkan lebih spesifik dan sensitif untuk diagnosis squamous cell carcinoma pada paru, dibandingkan misalnya dengan p63 yang lebih dulu sering digunakan. Demikian untuk CK 5/6 juga sejalan dengan studi sebelumnya yang melaporkan CK 5/6 positif pada kasus squamous cell carcinoma.<sup>[16,17]</sup>

Penggunaan CK 5/6 disamping p40 tetap disarankan, karena dapat membantu ketika pengecatan menggunakan p40 menunjukkan hasil yang equivocal. Hal ini disebabkan pengecatan menggunakan CK 5/6 akan lebih mewarnai sitoplasma dibandingkan inti. Sehingga hasil equivocal yang mungkin terjadi pada ekspresi p40 dapat lebih dipastikan menggunakan CK 5/6. Penggunaan antibodi p40 dan CK 5/6 untuk mengidentifikasi tumor paru yaitu squamous cell carcinoma dapat digunakan bila secara sitomorfologi ragu untuk menentukan apakah sel tersebut ganas atau tidak.<sup>[16,18]</sup>

Penelitian ini memiliki keterbatasan antara lain disebabkan sampel sediaan cairan (sitologi) yang umumnya sulit untuk dibuat bloknya. Sehingga jumlah sampel diperoleh terbatas (kurang/tidak sebanyak yang diharapkan). Serta periode waktu yang terbatas, dan dana untuk pemeriksaan antibodi. Ketepatan diagnosa akan lebih spesifik dan akurat dengan penambahan jenis antibodi yang digunakan untuk pemeriksaan immunohistokimia.

## KESIMPULAN

Dari uraian diatas dapat disimpulkan bahwa ekspresi p40 dan CK 5/6 meningkat pada sampel squamous cell carcinoma.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incident and mortality in Europe in 2006. *Annals of Oncology*. 2007; 18(3):581-92.
2. Jermal A, Thun MJ, Ries LA, Howe HL, Weir HK, Center MM, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2005, featuring trends in lung cancer, tobacco use, and tobacco control. *Journal of the National Cancer Institute*. 2008; 100(23):1672-94.
3. Travis WD, Travis LB, Devesa SS. Lung cancer. *Cancer*. 1995;75:191-202.
4. Travis WD. Pathology of lung cancer. *Clinics in Chest Medicine*. 2002; 23(1):65-81.
5. College of American Pathologists. Lung Cancer, Lung Adenocarcinoma. 2006. Available at [www.cancer.gov](http://www.cancer.gov).
6. Persatuan Ahli Penyakit Dalam Indonesia. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam jilid 2. Jakarta: Balai Penerbit FK UI 1996; 915-18.
7. Syahrudin E, Hudoyo A, Arief N. Efusi Pleura Ganas Pada Kanker Paru. *Jurnal Respirologi Indonesia*. 2009; 29(4).
8. Lin CC, Chen LC, Tseng VS, Yan JJ, Lai WW, Su WP, et al. Malignant pleural effusion cells show aberrant glucose metabolism gene expression. *The European Respiratory Journal*. 2011; 37(6):1453-65.
9. Fatima N, Cohen C, Lawson DMT, Siddiqui MT. TTF-1 and Napsin A double Stain: a useful marker for diagnosing lung adenocarcinoma on fine-needle aspiration cell blocks. *Cancer Cytopathology* 2011; 119(2):127-33.
10. Hecht JL, Pinkus JL, Weinstein LJ, Pinkus G.S. The Value of Thyroid Transcription Factor-1 in Cytologic Preparations as a Marker for Metastatic Adenocarcinoma of Lung Origin. *American Journal of Clinical Pathology* 2001; 116(4):483-8.
11. Pradhan MP, Desai A, Palakal MJ. Systems biology approach to stage-wise characterization of epigenetic genes in lung adenocarcinoma. *BMC Systems Biology* 2013; 7:141.
12. Russell P, Wainer Z, Wright GM, Daniels M, Conron M, Williams RA. Does Lung Adenocarcinoma Subtype Predict Patient Survival? In A Clinicopathologic Study Based on the New International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Lung Adenocarcinoma Classification. *Journal of Thoracic Oncology*. 2011; 6(9): 1496-504.
13. Kadara H, Behrens C, Yuan P, Solis L, Liu D, Gu X, et al. A five-gene and corresponding-protein signature for stage-I lung adenocarcinoma prognosis. *Clinical Cancer Research*. 2011; 17(6):1490-501.
14. Parkin M, Tyczynski J.E, Boffetta P, Samet J, Shields P, Caporaso N. Lung cancer epidemiology and etiology. In: Travis WD, Brambilla E, Muller-Hermelink HK, Harris CC, Editors. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. World Health Organization . 2004.
15. Syahrudin E, Pratama AD, Arief N. A retrospective study : clinical and diagnostic characteristics in advanced stage of lung cancer patients with pleural effusion in persahabatan hospital 2004 – 2007. *Jurnal Respirologi Indonesia*. 2010; 30:146-51.
16. William D. Travis, Brambilla E, Noguchi M, Andrew G, Nicholson. Diagnosis of Lung Cancer in Small Biopsies and Cytology. In Implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/ American Thoracic Society/European Respiratory Society Classification. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2013; 137(5):668-84.
17. Rossi G, Marchioni A, Milani M, Scotti R M.D, Foroni M, Cesinaro AM, et al. TTF-

1, Cytokeratin 7, 34βE12, and CD56/NCAM Immunostaining in the Subclassification of Large Cell Carcinomas of the Lung. American Journal of Clinical Pathology 2004;122(6):884-93.

18. Holloway AJ, Diyagama DS, Opeskin K, Creaney J, Robinson BW, Lake RA, et al. A Molecular Diagnostic Test for Distinguishing Lung Adenocarcinoma from Malignant Mesothelioma Using Cells Collected from Pleural Effusions. Clin Cancer Res 2006;12(17):5129-135