

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ocular surface squamous neoplasia (OSSN) merupakan penyakit neoplastik segmen anterior yang paling umum. OSSN memiliki entitas patologis yang sangat mirip dengan patologi pada permukaan konjungtiva dan kornea yang umum seperti pinguecula, pterigium, granuloma konjungtiva, dan kista.¹ OSSN tidak dapat diabaikan karena potensinya yang tinggi untuk menyebabkan morbiditas okular dan sistemik. Sejarah OSSN berawal dari tahun 1860, saat pertama kali dijelaskan oleh Von Graefe.² Sejak itu, OSSN telah dipelajari secara ekstensif dengan evolusi modalitas terapi baru. OSSN dapat melibatkan konjungtiva murni, kornea murni, atau tumor konjungtiva yang meluas ke kornea. Keganasan berkisar dari *Conjunctival intraepithelial neoplasia* (CIN) hingga *Squamous cell carcinoma* (SCC).³

OSSN memiliki insiden yang bervariasi. Studi epidemiologi sebelumnya telah melaporkan insiden OSSN sebesar 35 kasus/ juta/ tahun di Uganda dan kurang dari 0,2 kasus/ juta/ tahun di Inggris Raya. Insiden di Brisbane, Australia, telah dilaporkan sebesar 1,9/100000 populasi.⁴ Insiden yang tinggi telah dilaporkan pada orang kulit putih, bervariasi dari 90 hingga 100%.⁵ Gichuhi et al. melaporkan insiden OSSN tertinggi di Afrika di seluruh dunia dengan dominasi pria dan wanita yang sama.⁶

Lee dan Hirst, dalam analisis mereka, melaporkan usia rata-rata kejadian OSSN adalah 56 tahun (kisaran 4 hingga 96 tahun).⁷ Usia rata-rata kejadian karsinoma adalah 5 hingga 9 tahun lebih muda daripada neoplasia intraepitelial. Di barat, OSSN telah sering dilaporkan pada pria ras kulit putih yang tinggal dekat dengan ekuator pada dekade keenam dan ketujuh mereka. Di benua Asia, dilaporkan lebih umum pada garis keturunan yang lebih muda yang terkait dengan HIV dan xeroderma pigmentosa.⁸ Dari total tumor okulo-orbital, OSSN mencakup hampir 4 hingga 29%.⁴ OSSN telah terdaftar sebagai tumor ketiga yang paling umum setelah melanoma dan limfoma.⁷

Di Indonesia, data epidemiologi OSSN masih terbatas. Studi rekam medik RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo melaporkan prevalensi OSSN selama lima tahun sebesar 0,9%, dengan karakteristik pasien mayoritas laki-laki usia pertengahan ($54,8 \pm 2,4$ tahun) dan paparan risiko seperti sinar matahari dan merokok. Data nasional mengenai OSSN secara spesifik masih minim, sehingga penelitian lokal diperlukan untuk memahami karakteristik klinis dan faktor pronostik tumor ini.^{9,10}

Faktor risiko OSSN antara lain paparan UV, usia, immunosupresi, infeksi *Human Immunodeficiency Virus* (HIV), dan kemungkinan infeksi *Human Papillomavirus* (HPV). HPV risiko tinggi, terutama tipe 16 dan 18, diketahui berperan pada neoplasia epitel serviks, kepala, dan leher melalui inaktivasi jalur retinoblastoma (pRb),¹¹ Hubungan HPV dengan OSSN masih kontroversial, dengan prevalensi pada studi-studi sebelumnya bervariasi antara 0–100%, dan rata-rata sekitar 33,8%.^{12, 13} OSSN juga lebih sering ditemukan pada individu dengan HIV, di mana risiko dapat meningkat hingga 30 kali lipat.^{14,15} Namun, tidak semua penelitian menemukan keterlibatan HPV atau HIV secara konsisten, sehingga patogenesis OSSN diduga bersifat multifaktorial..¹⁶

Penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa pasien OSSN dengan kategori TNM *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) yang lebih tinggi dari T3 atau T4 (infiltrasi orbita dan struktur intraokular) memiliki risiko lebih tinggi untuk mengalami penurunan kelangsungan hidup bebas penyakit.¹⁷ Tingkat kekambuhan lokal OSSN yang dilaporkan adalah 5%, dan metastasis kelenjar getah bening kurang dari 2%. Karsinoma invasif dan mukoepidermoid memiliki prognosis yang lebih buruk.¹⁸ Untuk meningkatkan tingkat kelangsungan hidup pasien dengan OSSN, identifikasi biomarker yang memprediksi prognosis buruk, sangat penting dilakukan.

Salah satu kandidat biomarker prognostik Adalah p16^{Ink4a}, suatu *tumor suppressor gene* yang berperan menghambat aktivasi *cyclin-dependent kinase 4/6* (CDK4/6) dan mempertahankan pRb dalam keadaan hipofosforilasi, sehingga mencegah progresi siklus sel pada fase G1.¹⁹ Overekspresi p16^{Ink4a} biasanya terjadi ketika jalur pRb mengalami inaktivasi, seperti pada lesi terkait HPV. Namun, dalam OSSN, overekspresi p16 masih jarang diteliti dan hasilnya tidak konsisten.

Beberapa studi menunjukkan bahwa p16^{Ink4a} dapat berhubungan dengan agresivitas atau invasi tumor, tetapi data lokal khususnya di Indonesia masih belum tersedia.

Di Kota Makassar, belum terdapat penelitian yang menilai p16^{Ink4a} sebagai biomarker prognosis pada OSSN. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menilai apakah ekspresi p16^{Ink4a} berdasarkan pemeriksaan imunohistokimia dapat digunakan sebagai penanda prognosis pada pasien OSSN.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana pemeriksaan imunohistokimia p16^{Ink4a} sebagai penilaian prognosis OSSN?

1.3. Hipotesis

Penelitian ini memiliki hipotesis bahwa pemeriksaan imunohistokimia p16^{Ink4a} memiliki peran sebagai penilaian prognosis OSSN, dimana tingginya p16^{Ink4a} berkaitan dengan prognosis yang buruk

1.4. Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Mengetahui bagaimana pemeriksaan imunohistokimia p16^{Ink4a} sebagai penilaian prognosis OSSN.

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui hasil pemeriksaan imunohistokimia p16^{Ink4a} pada pasien OSSN.
2. Mengetahui prognosis penyakit pasien OSSN.
3. Menganalisis hubungan pemeriksaan imunohistokimia p16^{Ink4a} pada pasien OSSN terhadap prognosis penyakitnya.
4. Mengetahui sensitivitas dan spesifitas pemeriksaan imunohistokimia p16^{Ink4a} sebagai penilaian prognosis penyakit OSSN.

1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini akan memberikan manfaat sebagai berikut:

1.5.1 Aspek Ilmiah

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai peran p16^{Ink4a} sebagai penanda prognosis pada pasien OSSN
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan untuk penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemeriksaan imunohistokimia p16^{Ink4a} sebagai penilaian prognosis OSSN.

1.5.2 Aspek Praktis

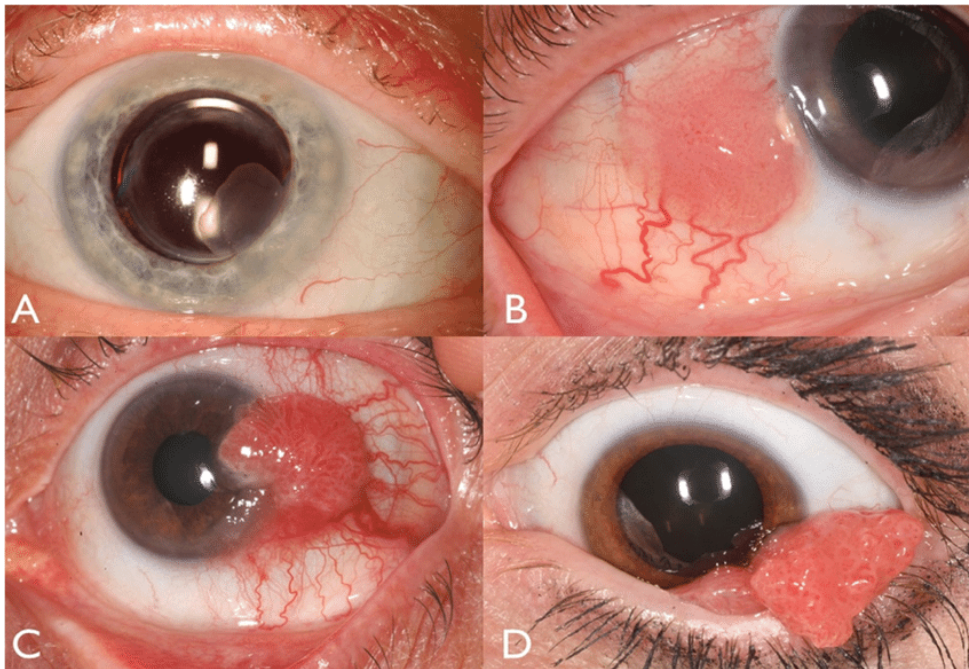
1. Hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan untuk mengembangkan metode prognostik berbasis imunohistokimia p16^{Ink4a} yang lebih efektif dalam menentukan prognosis pasien Ocular Surface Squamous Neoplasia (OSSN).
2. Hasil penelitian mengenai overekspresi p16^{Ink4a} pada OSSN dapat membantu dalam menentukan terapi yang diberikan.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ocular Surface Squamous Neoplasia (OSSN)

2.1.1 Definisi dan Klasifikasi

Ocular surface squamous neoplasia (OSSN) mencakup spektrum penyakit yang luas dan bervariasi yang melibatkan pertumbuhan abnormal sel epitel skuamosa displastik pada permukaan mata (Gambar 1).²⁰



Gambar 1. OSSN. A. OSSN Limbal meluas seperti lembaran datar ke kornea. B. OSSN Limbal dengan vaskularitas intrinsik yang menonjol dan pembuluh darah pengumpan. C. OSSN Limbal dengan vaskularitas yang menonjol dan meluas ke kornea. D. OSSN Fornikeal yang menjorok ke tepi kelopak mata.²⁰

- *Conjunctival intraepithelial neoplasia* (CIN) menurut definisinya bersifat non-invasif; membran basalis tetap utuh dan substansia propria di bawahnya tetap utuh. tumor ini tumbuh lambat dan muncul dari satu sel bermutasi pada permukaan mata. CIN dikenal dengan nama lain termasuk penyakit Bowen, displasia skuamosa konjungtiva, epitel intraepitelial, dan diskematosis epitel.²⁰

- Dismaturasi epitel kornea, displasia epitel kornea, dan neoplasia intraepitelial kornea mengacu pada lesi neoplastik pada kornea yang keberadaan konjungtivanya minimal. Pulau epitel kornea atau granularitas epitel geografis adalah temuan klinis yang dominan.²⁰
- *Squamous cell carcinoma* (SCC) menggambarkan lesi ganas di mana sel-sel epitel displastik telah menembus membran basal kornea, mendapatkan potensi metastasis.²⁰
- *Mucoepidermoid carcinoma* mewakili varian SCC yang jarang namun agresif. Namun, secara klinis tidak dapat dibedakan dari SCC dan harus dibedakan melalui pengambilan sampel histopatologis.²⁰

2.1.2 Epidemiologi

Menurut studi epidemiologi, prevalensi OSSN diperkirakan berkisar antara <0,2 kasus/juta/tahun (UK, 1996) hingga 35 kasus/juta/tahun (Uganda, 1992).^{21,22} Dalam beberapa studi, CIN telah dilaporkan sebagai neoplasia konjungtiva yang paling umum, sedangkan SCC ditemukan sebagai keganasan konjungtiva yang paling umum.²³ Di belahan bumi barat, OSSN terutama menyerang pria Kaukasia berusia 60-an hingga 70-an yang tinggal dekat garis khatulistiwa.²⁴ Namun di Afrika dan beberapa wilayah Asia, OSSN menyerang pasien yang lebih muda dan cenderung lebih agresif secara klinis.^{23,25,26} Pola serupa juga diamati pada pasien dengan *human immunodeficiency virus* (HIV) dan *xeroderma pigmentosum*.²⁷

Sun et al., melaporkan kejadian OSSN 5 kali lebih tinggi di Qhirwa dan menunjukkan bahwa individu berkulit gelap yang tinggal di iklim tropis dekat khatulistiwa memiliki lebih banyak kejadian OSSN.²⁸ Newton et al. melaporkan bagaimana kejadian OSSN bervariasi dengan distribusi radiasi UV matahari. Mereka menunjukkan bahwa kejadian karsinoma sel skuamosa berkurang sebesar 49% dengan setiap perbedaan garis lintang 10 derajat.²⁹ OSSN terutama dilaporkan terjadi pada pria berusia lanjut (sekitar 80%).³⁰ Dari total tumor oculo-orbital, OSSN mencakup hampir 4 hingga 29%. OSSN telah terdaftar sebagai tumor paling umum ketiga setelah melanoma dan limfoma.^{32,33}

Kejadian kanker atau tumor mata di Indonesia jarang dilaporkan secara spesifik dan terbatas pada regional-regional daerah di Indonesia. Dari penelusuran

rekam medik tahun 2016-2020 di RSUD Dr. Soetomo dengan dugaan OSSN seringkali dimasukkan dalam coding ICD C69 dengan 130 kasus, C69.6 dengan 225 kasus dan D31 dengan 249 kasus. Total jumlah kasus OSSN yang tertulis di ICD-10 dengan coding diatas sejumlah 604 kasus dengan rincian C69 (Malignan neoplasm of eye and adnexa), C69.6 (Malignant neoplasm of orbit) dan D31 (Benign neoplasm of eye and adnexa). Didapatkan jumlah sampel sebanyak 30 pasien dengan subjek terbanyak yang mengalami kekambuhan yaitu laki-laki (6.7%), kelompok usia 0-20 tahun, 21-40 tahun dan 41-60 tahun (3.3%), lateralitas pada mata kanan dan kiri (6.7%), lokasi tumor area nasal dan temporal (6.7%), tipe plak, nodul dan difus (3.3%) serta ukuran T1(<5mm) (6.7%).⁹ Di RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo Jakarta, melaporkan prevalensi OSSN selama lima tahun studi sebesar 0,9%. Pada studi ini, 61 pasien OSSN dengan karakteristik mayoritas adalah laki-laki (75,5%) berusia rata-rata $54,8 \pm 2,4$ tahun dengan faktor risiko paparan sinar matahari (68,4%) dan kebiasaan merokok (71,9%). Tanda klinis tersering adalah massa kemerahan di konjungtiva (44,3%), bersifat unilateral (98,4%), dengan tampilan klinis terbanyak berbentuk papiliformis (57,4%). Konjungtiva bulbi-limbus-kornea merupakan struktur bola mata yang paling sering terlibat (47,5%). Histopatologi tersering adalah squamous cell carcinoma (44,3%) dan conjunctival intraepithelial neoplasia (44,2%). Tatalaksana terbanyak berturut-turut adalah bedah eksisi luas dengan terapi ajuvan (47,6%), bedah eksisi luas (42%) dan Mitomycin C 0,04% topikal (4,9%).¹⁰

2.1.3 Etiologi

Etiologi OSSN tampaknya bersifat multifaktorial. Selain etiologi yang dibahas di bawah ini, merokok, rambut dan kulit berwarna terang, xerofthalmia (defisiensi vitamin A) dan paparan produk minyak bumi telah terlibat dalam patogenesis OSSN.^{19,20,27,26}

- Sinar ultraviolet

Telah diketahui dengan baik bahwa prevalensi OSSN meningkat pada populasi yang tinggal di wilayah garis lintang 30 derajat dari garis khatulistiwa. Selain itu, OSSN lebih sering terjadi pada orang Kaukasia dengan kulit cerah dan pasien dengan xeroderma pigmentosum, suatu kondisi genetik yang meningkatkan

kerentanan terhadap perubahan DNA akibat sinar UV. Selain itu, lesi mata paling sering terletak di celah interpalpebral yang terkena sinar matahari, khususnya di zona hidung atau temporal. Meskipun terdapat bukti, masih belum jelas mengapa sinar UV, paparan lingkungan yang umum, menyebabkan OSSN pada beberapa pasien namun tidak pada pasien lainnya. Tampaknya hal ini bertindak sebagai gangguan seluler pada pejamu yang sudah rentan.²⁰

- Imunosupresi/ HIV

Di Afrika, penelitian menunjukkan tingkat infeksi HIV sebesar 79% pada pasien OSSN dibandingkan dengan 14% pada populasi umum. Di Amerika Serikat, penelitian yang dilakukan di Bascom Palmer Eye Institute menemukan bahwa OSSN mungkin merupakan penanda HIV yang tidak terdiagnosis, setengah dari pasien yang didiagnosis OSSN berusia di bawah 50 tahun adalah seropositif terhadap virus tersebut.²⁰

- Human Papilloma Virus (HPV)

Hubungan HPV dengan OSSN masih belum jelas. Meskipun beberapa penelitian menunjukkan hubungan yang jelas antara OSSN dengan HPV, penelitian lain tidak. HPV 6,8, dan 11 telah dikaitkan dengan lesi epitel konjungtiva jinak, sedangkan HPV 16 dan 18 telah dikaitkan dengan lesi neoplastik ganas. Namun, status HPV tampaknya tidak berkorelasi dengan respon pengobatan.²⁰

- Mutasi atau penghapusan *tumor suppressor gene* p53.

Mutasi p53, *tumor suppressor gen*, dianggap sebagai kelainan genetik paling umum pada keganasan manusia. Beberapa orang berhipotesis bahwa HPV atau UV-B dapat mengubah p53, sehingga mengakibatkan berkembangnya OSSN pada individu yang rentan.²⁰

2.1.4 Patologi Umum

OSSN prainvasif telah diklasifikasikan sebagai ringan, sedang, atau berat berdasarkan tingkat keterlibatan epitel displastik dan lapisan yang terkena. OSSN ini ditandai dengan membran dasar yang utuh tanpa invasi substansia propria yang mendasarinya.^{30,34,35}

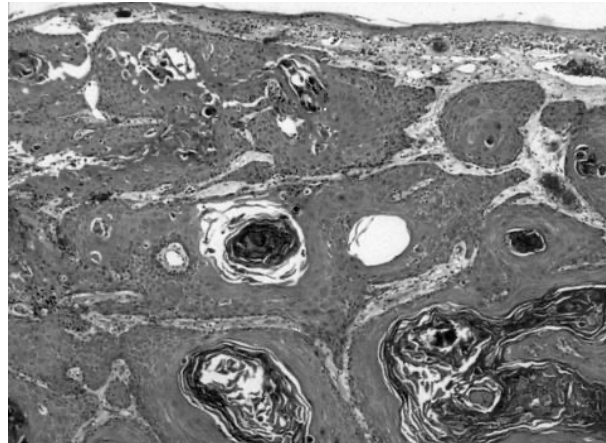
- Ringan – CIN I: displasia terbatas pada sepertiga bagian bawah epitel (Gambar. 2).

- Sedang - CIN II: displasia meluas hingga sepertiga bagian tengah.
- Berat - CIN III: displasia ketebalan penuh, juga disebut karsinoma in situ (Gambar. 3).

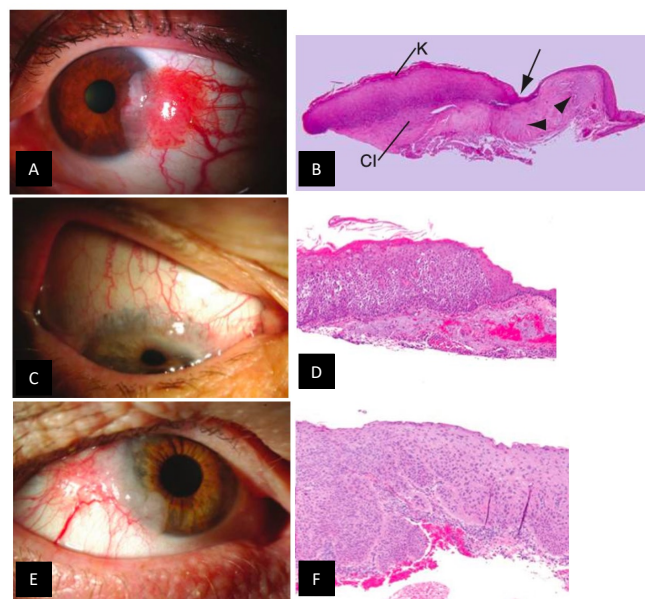
CIN yang melibatkan seluruh epitel disebut sebagai karsinoma in-situ. Secara histologis, lesi CIN mengandung campuran sel spindle dan sel epidermoid. Terdapat disorganisasi sel, polaritas abnormal, dan peningkatan rasio inti terhadap sitoplasma yang ringan hingga berat. Figur mitosis terkadang terlihat. Secara patologi, terdapat ciri garis demarkasi yang jelas antara epitel normal dan abnormal. Ciri-ciri ini tidak ada pada papiloma skuamosa. Pada dismaturasi epitel kornea mungkin terdapat rasio inti terhadap sitoplasma yang sedikit abnormal dan diskeratosis. Sebaliknya, terdapat disorganisasi seluler, dismaturasi, dan atypia dengan peningkatan rasio inti terhadap sitoplasma pada displasia epitel kornea.³⁶

CIN seringkali terjadi sebelum SCC konjungtiva. Karena adanya penghalang oleh membran Bowman, invasi sel subepitel hampir secara eksklusif terbatas pada konjungtiva. Secara histologis terjadi penggantian epitel normal dengan sel-sel yang tidak terorganisir, diskeratosis, dan akantotik dengan penetrasi membran basal. Sedangkan pada karsinoma mukoepidermoid mewakili varian SCC yang sangat agresif.³⁶

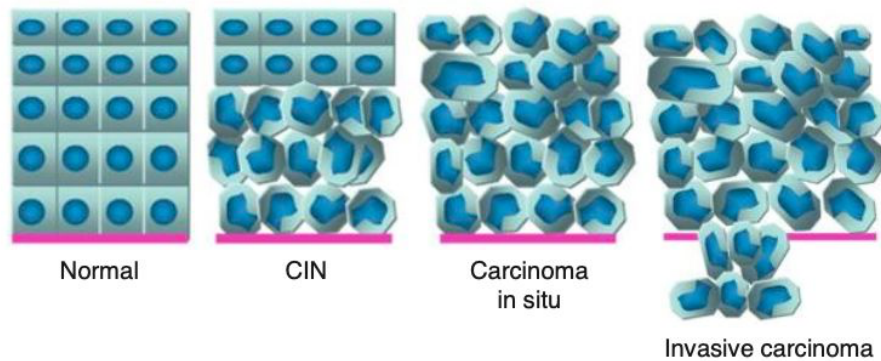
Perkembangan skematis OSSN dimulai dengan gambaran epitel normal dengan membran basalis. Pada neoplasia intraepitelial konjungtiva (CIN), lapisan epitel yang lebih dalam digantikan dengan sel-sel yang tidak teratur, sering kali atipikal, yang tidak mengalami pematangan normal (displasia). Karsinoma in situ adalah penggantian epitel secara menyeluruh oleh sel-sel displastik, dengan membran dasar masih utuh. Pada SCC yang invasif, invasi menembus membran basalis ke dalam stroma (Gambar 4).³⁷



Gambar 2. Karsinoma tipe endofit dengan lobulus karsinoma keratinisasi invasif di stroma



Gambar 3. Gambaran tingkatan OSSN. A. Foto klinis OSSN, tampak pembuluh darah yang berkelok pada bagian konjungtiva dan penampakan seperti jeli dengan leukoplakia fokal pada bagian kornea. B. Gambaran Histopatologi gambar A, menunjukkan batas tegas (panah) antara epitel yang tidak normal pada OSSN, keratinisasi di epitel (panah K), membran basalis masih intak sehingga didiagnosis dengan CIN. C. Foto klinis menunjukkan limbus yang tampak seperti jeli, lesi berwarna keabuan dan pembuluh darah masuk ke kornea. D. Gambaran histopatologi dari foto C, terdiagnosis CIN III yang menunjukkan keterlibatan hampir seluruh epitel. E. Foto klinis limbus superior tampak seperti jeli, dengan pembuluh darah besar yang memberi makan lesi dan invasi ke kornea. F. Gambaran histopatologi dari foto E, menunjukkan SCC superfisial



Gambar 4. Skematis derajat neoplasia skuamosa permukaan mata (OSSN)

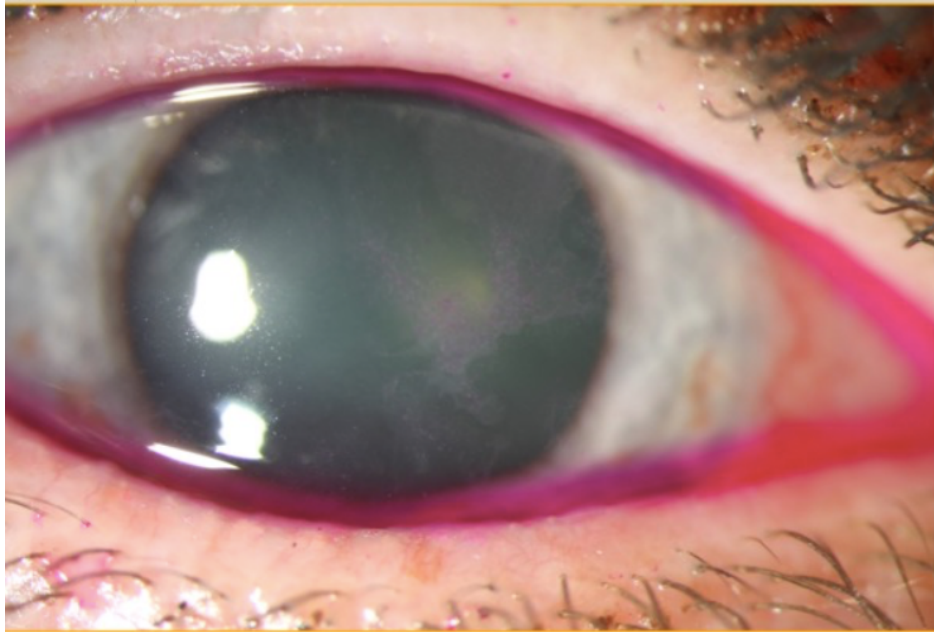
2.1.5 Diagnosis

Anamnesis

Pasien seringkali tidak menyadari adanya lesi OSSN, dan diagnosis ditegakkan hanya berdasarkan pemeriksaan mata rutin. Namun, pasien mungkin mengeluhkan kemerahan dan iritasi mata dengan derajat bervariasi akibat peradangan.¹⁹

Pemeriksaan Fisik

Gambaran klinis OSSN bervariasi, sehingga membuat diagnosis terkadang sulit. Biasanya, pasien datang dengan lesi berwarna abu-abu atau putih seperti gelatin atau plak seperti konjungtiva interpalpebral. Sekitar 95% lesi CIN terjadi di limbus, tempat sel mitosis paling aktif berada. Lesi mungkin datar atau meninggi dan mungkin berhubungan dengan pembuluh darah. Fluorescein, lissamine green, atau Rose Bengal sering digunakan untuk menandai lesi (Gambar 5). Epitel abnormal atau displastik memiliki penampakan granular dan difus, yang membedakannya dari epitel normal.³⁶



Gambar 5. Rose bengal stain pada displasia epitel kornea.

Ada tiga varian klinis utama CIN: papilliform, gelatin, atau leukoplakia. Kategori-kategori ini tidak eksklusif satu sama lain dan mungkin tumpang tindih. Leukoplakia mengacu pada pemutihan dan penebalan permukaan tumor akibat hiperkeratinisasi permukaan. Namun, sebagian besar CIN berbentuk agar-agar dengan konfigurasi pembuluh darah konjungtiva yang terkait. Konfigurasi ini berbeda dengan pola “red-dot” atau “strawberry” yang terlihat pada papiloma skuamosa. Mungkin juga terdapat pigmen terkait di dalam lesi, sehingga menyebabkan kesalahan diagnosis sebagai melanoma terutama pada individu dengan kulit lebih gelap.³⁶

Keterlibatan kornea merupakan akibat penyebaran epitel abnormal dari limbus yang berdekatan. Sel skuamosa yang abnormal seringkali tampak bening, keabu-abuan, dan buram. Selain itu, lesi kornea sering kali mempunyai konfigurasi fimbria atau pseudopodia yang khas. Seringkali terdapat pannus neoplastik yang berdekatan untuk mendukung sel-sel abnormal ini secara metabolik. Displasia kornea primer dan dismaturasi epitel kornea primer digunakan untuk menggambarkan lesi yang memiliki sedikit keterlibatan

konjungtiva. Biasanya pada lesi jinak ini, tidak terdapat pannus kornea. Lesi ini mungkin tidak bergerak atau progresif lambat.³⁶

SCC menunjukkan hal serupa dengan CIN; namun, lesi konjungtiva cenderung tidak bergerak dan tampak lebih menonjol. Adanya *feeder vessel* yang besar menunjukkan adanya kesurakan membran basal epitel. Terkadang, SCC dapat muncul sebagai lesi bilateral, yang biasanya berkeratin dan tampak papiler.

36

Karsinoma mukoepidermoid tampak identik secara klinis dengan SCC; namun, penyakit ini dapat muncul di mana saja pada permukaan mata, bukan di zona limbal seperti yang terlihat pada CIN dan SCC. Karena sulitnya diagnosis, sebagian besar kasus dibuat setelah dugaan SCC berulang berulang kali. Karsinoma mukoepidermoid cenderung lebih invasif dibandingkan SCC, dengan laporan penetrasi mata dan orbital.³⁶

Modalitas pencitraan

- *Optical coherence tomography* (OCT) telah digunakan sebagai modalitas diagnostik in vivo dalam mendeteksi OSSN. Terdapat ciri khas OSSN, seperti hiperreflektivitas, penebalan epitel, dan transisi mendadak dari jaringan normal ke jaringan abnormal yang terlihat pada OCT resolusi ultra tinggi yang membedakannya dari lesi konjungtiva lain seperti pterygium.³⁸
- Sitologi tayangan telah dilaporkan dalam literatur sebagai metode non-invasif untuk mendiagnosis dan memantau secara klinis pasien dengan OSSN. Namun, pemeriksaan ini hanya dapat menilai jaringan superfisial dan tidak dapat membedakan kedalaman keterlibatannya.³⁸
- Mikroskop confocal juga telah dilaporkan membantu dalam memandu pengobatan karena mampu mengungkap rincian sel. Kerugiannya meliputi kesulitan penggunaan dan terbatasnya bidang pandang.³⁸
- Ultrasonografi frekuensi tinggi dapat membantu dalam menentukan tingkat invasi ke mata pada kasus SCC.³⁶

2.1.6 Manajemen

Terapi medis

Penggunaan agen kemoterapi topikal, termasuk Interferon- α 2b, mitomycin C, dan 5-fluorouracil, memiliki keuntungan dalam merawat seluruh permukaan mata dan menghindari komplikasi bedah seperti margin positif, jaringan parut, dan defisiensi stem sel limbal.²⁰

- Interferon- α 2b (IFN α 2b) adalah sitokin yang diproduksi oleh sel imun untuk melawan mikroba dan virus. Mekanisme kerjanya diperkirakan terkait dengan sifat antiproliferatif, sitotoksik, antivirus, dan antigeniknya.²⁰
- 5- fluorouracil (5-FU) memblokir sintesis DNA dengan bertindak sebagai analog pirimidin setelah dimasukkan ke dalam RNA. Tingkat kemanjurannya dilaporkan mencapai 100% setelah satu hingga lima siklus (1 bulan aktif dan 3 bulan tidak aktif), dengan tingkat kekambuhan hingga 20%.²⁰
- Mitomycin C (MMC) topikal telah terbukti menjadi pengobatan OSSN yang efektif. Mitomycin C adalah antimetabolit yang mengalkilasi DNA dan mengganggu produksi RNA. Penelitian telah melaporkan tingkat kemanjurannya berkisar antara 80% hingga 100%.²⁰
- Laporan menunjukkan bahwa injeksi *Anti-vascular endothelial growth factor* (VEGF) topikal dan subkonjungtiva efektif dalam mengobati OSSN.²⁰

Pembedahan

Teknik “*no touch*” digunakan saat eksisi lesi OSSN. Lesi CIN dan SCC yang melibatkan limbus harus dieksisi dengan margin konjungtiva tidak terlibat setidaknya 3-4 mm. Margin konjungtiva yang besar penting karena jaringan yang tampaknya tidak terlibat secara klinis mungkin masih mengandung sel-sel displastik. Alkohol absolut kemudian dioleskan ke kornea untuk melepaskan epitel dari membran basal, dan kemudian dibilas dengan irigasi berlebihan setelah 30 hingga 40 detik. Semua epitel kornea yang terlibat dan pannus kornea terkait

kemudian dikikis dengan pisau atau spons bedah setelah pemberian alkohol absolut untuk melonggarkan sel.²⁰

Dengan menggunakan teknik pembekuan cepat ganda, *cryotherapy* diterapkan pada tepi konjungtiva, zona limbal yang terlibat, dan dasar scleral untuk membunuh sel-sel displastik yang tersisa. Cryotherapy sangat penting karena secara efektif memperluas batas pembedahan. Jika marginnya positif atau ada kekhawatiran akan sisa penyakit, kemoterapi topikal dapat digunakan setelah eksisi. Dismaturasi epitel dan displasia epitel kornea dianggap sebagai lesi jinak, dan diobati dengan kerokan kornea dan tepi limbus konjungtiva yang lebar jika terlibat.

Dalam kasus SCC, disarankan untuk melakukan flap sklera setelah pengangkatan lesi konjungtiva, dilanjutkan dengan pemberian alkohol absolut pada dasar skleral. Area reseksi bedah dapat dibiarkan terbuka atau ditutup dengan *graft* membrane amniom. Dalam kasus invasi lokal ke mata atau orbit, enukleasi dan ekstenerasi dapat dilakukan bekerja sama dengan ahli bedah okuloplastik. Biopsi kelenjar getah bening mungkin juga tepat untuk menentukan stadium penyakit. Terapi radiasi dapat dianggap sebagai terapi tambahan pada kasus-kasus tertentu yang sulit diobati dengan modalitas pengobatan lain.^{20,30,36}

2.1.7 Prognosis

Secara keseluruhan, OSSN memiliki prognosis yang baik, dengan kecenderungan metastasis yang rendah dan tingkat kematian yang rendah. Namun, jika OSSN tidak diobati, hal ini dapat menyebabkan penurunan visus, defisiensi stem sel limbus, dan invasi ke sklera atau orbit. Lesi OSSN yang diangkat melalui pembedahan memiliki tingkat kekambuhan satu tahun sebesar 10% dan tingkat kekambuhan lima tahun sebesar 21%. SCC konjungtiva memiliki tingkat kekambuhan hingga 39%. Tingkat kekambuhan setelah eksisi bedah dengan margin bedah positif telah dilaporkan sebesar 56%.

SCC konjungtiva cenderung lebih invasif secara lokal daripada menyebar melalui metastasis. Seri besar menunjukkan tingkat invasi orbital SCC konjungtiva sekitar 10%, dan tingkat metastasis kurang dari 1%. Rekurensi dapat mencapai 39%. Rata-rata invasi ke orbita pada SCC Konjungtiva 10%. SCC memiliki tingkat mortalitas 8%-24%. OSSN yang rekuren dan pasien dengan infeksi HIV dan HPV

dilaporkan lebih invasif sehingga membutuhkan terapi yang lebih agresif. Tingkat rekurensi meningkat pada pasien dengan lokasi lesi di tarsus inferior atau multisentrik.^{19, 42}

2.2. P16 Inhibitor of Cyclin-Dependent Kinase 4a (INK4A)

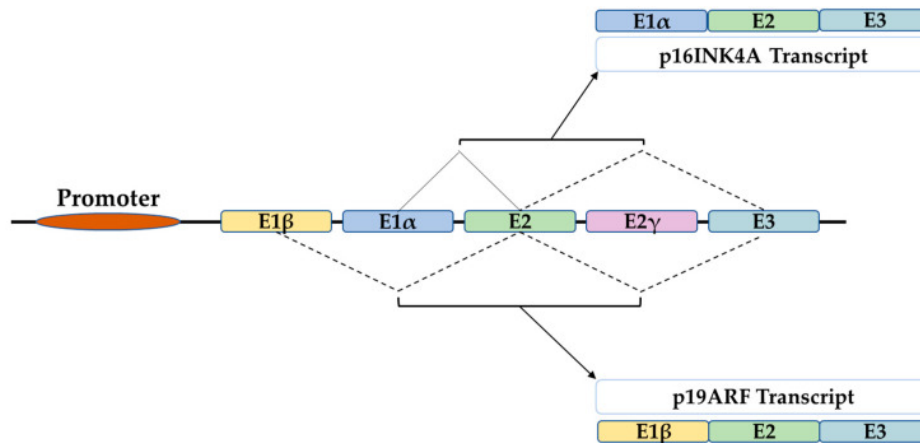
P16 adalah *tumor suppressor gen*, yang telah disebut dengan beberapa nama seperti *multiple tumor suppressor-1* (MTS-1), *inhibitor cyclin-dependent kinase 4a* (INK4A), atau *cyclin-dependent kinase inhibitor 2a* (CDKN2A). Gen p16 manusia terletak pada lengan pendek kromosom (9p21.3). Transkrip p16 terdiri dari tiga ekson yang mengkode 156 asam amino. Penggunaan kerangka baca alternatif menghasilkan protein p14Arf manusia (p19Arf pada tikus).³⁹

Sejak pertama kali diidentifikasi, p16 telah menjadi molekul penting dalam bidang penelitian penuaan dan penuaan sel (cellular senescence). Protein ini berperan sentral dalam menandai proses penuaan dan berhubungan erat dengan penekan tumor serta pengatur siklus sel lainnya, seperti p21 dan p19Arf. Ekspresi p16 diketahui meningkat secara signifikan pada berbagai jaringan hewan pengerat berusia lanjut, termasuk paru-paru, kelenjar getah bening, kelenjar adrenal, dan uterus. Lebih lanjut, penghilangan sel-sel senesen p16-positif terbukti dapat menunda munculnya serta progresi berbagai patologi terkait usia pada tikus secara *in vivo*, dan bahkan memperpanjang umur baik pada model penuaan dini maupun penuaan alami. Temuan-temuan ini menegaskan bahwa p16 merupakan penanda khas dari proses penuaan dan penyakit-penyakit yang berhubungan dengan usia.³⁹

2.2.1 Gen p16

Gen CDKN2A termasuk dalam keluarga gen INK4. CDKN2A mengkodekan p16^{Ink4a} dan p14ARF (p19Arf pada tikus), sementara CDKN2B mengkodekan p15Ink4B, CDKN2C untuk p18Ink4D, dan CDKN2D untuk p19Ink4D. Gen ini memiliki sifat biologis yang sama dalam pengaturan siklus sel dan penekanan tumor. Struktur p16^{Ink4a} terdiri dari lima ekson E1 β , E1 α , E2, E2 γ , dan E3. Penyambungan alternatif menghasilkan empat varian transkrip yang berbeda termasuk p16 (E1 α , E2, dan E3), p19Arf (E1 β , E2, dan E3), (ortolog murine dari p14ARF manusia), selain p16 γ dan p12. Dengan demikian, perbedaan

antara varian transkrip p16 dan p19ARF terletak pada penyambungan alternatif E1 α versus E1 β (Gambar 6).³⁹



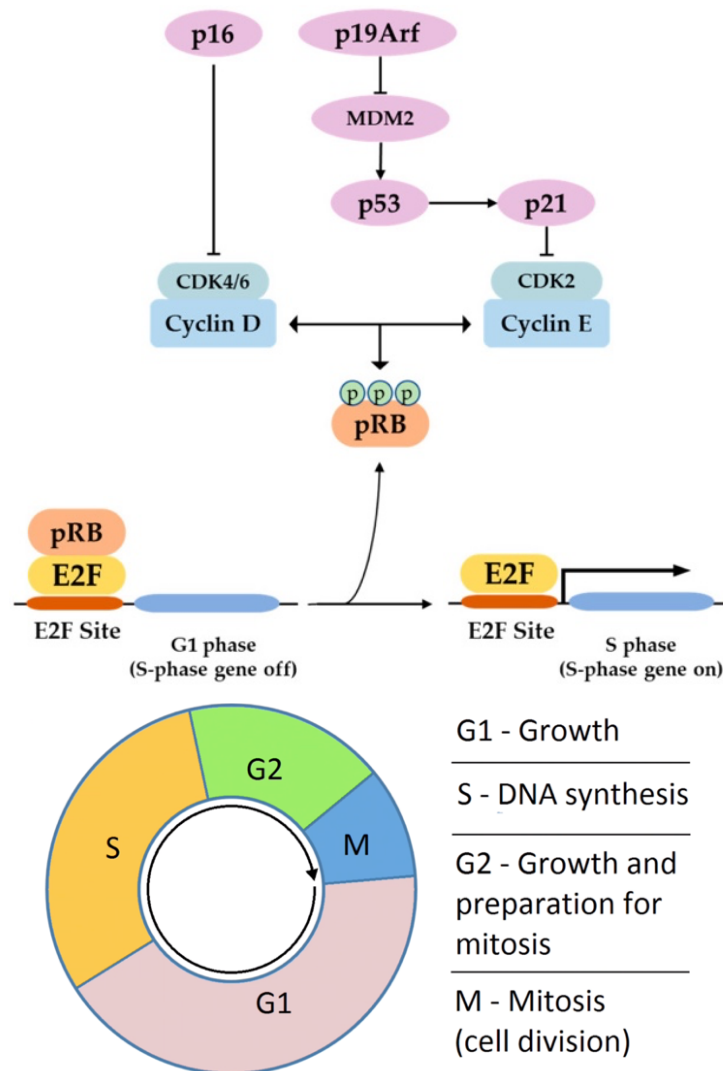
Gambar 6. Struktur lokus INK4A menghasilkan beberapa transkrip melalui penyambungan alternatif. p16^{Ink4a} dan p19ARF adalah dua transkrip dari 3 ekson yang hanya berbeda pada ekson pertama yaitu E1 α untuk p16 dan E1 β untuk p19ARF.³³

2.2.2 Fungsi dan Regulasi Gen p16

Siklus sel merupakan rangkaian proses kompleks yang mencakup penggandaan materi genetik sel induk pada fase S, yang kemudian diikuti dengan pemisahan akurat menjadi dua sel anak identik pada fase M. Setelah keluar dari fase G₀ (fase istirahat), dan sebelum memasuki fase S, sel melalui fase persiapan penting yang disebut fase G₁. Pada tahap ini, sel berada pada titik kendali (*restriction point*) yang menentukan apakah ia akan melanjutkan ke fase replikasi DNA atau tetap berada dalam kondisi tidak aktif. Secara umum, penggerak utama yang mengatur progresi siklus sel adalah siklin-dependent kinase (CDK). Aktivasi CDK terjadi melalui ikatan dengan siklin yang sesuai. Secara khusus, pada titik pemeriksaan G₁/S, transisi menuju fase S memerlukan pembentukan kompleks siklin D–CDK4/6.³⁹

p16 merupakan inhibitor spesifik bagi cyclin-dependent kinase (CDK) 4 dan CDK6, yang berperan mencegah transisi sel dari fase G₁ ke fase S, sehingga menghentikan proliferasi sel dengan mempertahankan protein retinoblastoma

(pRB) dalam keadaan hipofosforilasi. Pada fase G₀, pRB berada dalam bentuk tidak terfosforilasi. Ketika memasuki awal fase G₁, kompleks siklin D–CDK4/6 melakukan monofosforilasi terhadap pRB, yang pada tahap ini tetap berikatan dengan faktor transkripsi E2F. Saat sel melewati titik restriksi, kompleks siklin E–CDK2 kemudian menyebabkan hiperfosforilasi pRB, sehingga pRB terlepas dari E2F. Faktor E2F yang telah bebas selanjutnya bertranslokasi ke nukleus dan mengaktifkan transkripsi gen-gen fase S. Namun, menurut model alternatif yang diajukan oleh Ahlander dan Bosco, pRB yang terhipofosforilasi akan berikatan dengan E2F pada kromatin, serta merekrut histon deasetilase (HDAC) dan enzim-enzim perombakan kromatin lainnya yang bekerja sama menghambat transkripsi gen fase S dan menghambat progresi siklus sel. Sebaliknya, pRB yang terhiperfosforilasi akan melepaskan E2F, yang kemudian mengaktifkan transkripsi dan memungkinkan kelanjutan siklus sel. Ikatan p16 dengan CDK4/6 secara langsung dapat menghambat aktivitas kompleks tersebut, di luar mekanisme penghambatan oleh protein lain seperti p27, sehingga memperkuat keadaan hipofosforilasi pRB (lihat Gambar 7). Selain itu, poros p16–pRB–E2F juga diketahui dapat diperkuat melalui interaksi langsung p16 dengan gen GRIM-19 (*gene associated with retinoid–IFN-induced mortality-19*).³⁹



Gambar 7. a) Pada jalur p16/pRB, p16 menghambat pembentukan kompleks CDK4/6–siklin D dan menginduksi hipofosforilasi pRB berikutnya. Demikian pula, pada jalur p53/p21, p19ARF menangkap MDM2 dan mencegah degradasi p53, yang kemudian mengaktifkan p21. Ini bekerja sama seperti p16 tetapi dengan menghambat kompleks Cdk2–siklin E, dan, oleh karena itu, menginduksi fosforilasi pRB. b) Jalur siklus sel

Dengan demikian, ekspresi p16 tampak berhubungan dengan mekanisme umpan balik (*feedback loop*) yang melibatkan pRB. Secara sederhana, fosforilasi pRB akan mengaktifasi E2F, yang selanjutnya menginduksi ekspresi p16. Peningkatan p16 kemudian menghambat aktivitas CDK4/6, sehingga mempertahankan pRB dalam keadaan hipofosforilasi, yang pada gilirannya menurunkan regulasi p16 itu sendiri. Ekspresi p16 juga dapat dipengaruhi oleh

modifikasi epigenetik, terutama melalui hipermetilasi pada daerah promotor. Dalam proses ini, kompleks *Polycomb Repressive Complex 1* (PRC1) dan PRC2 berperan penting dengan memicu pembentukan heterokromatin dan menekan transkripsi gen p16. Hipermetilasi tersebut dimediasi oleh Ezh2, yaitu protein inti dari PRC2, yang menambahkan trimetilasi pada histon H3K27 bekerja sama dengan protein Polycomb Bmi-1, anggota kompleks PRC1. Disosiasi Bmi-1 dari kompleks represif ini dapat memulihkan kembali ekspresi p16. Selain itu, berbagai bentuk stres oksidatif, baik yang berasal dari sumber endogen maupun eksogen, serta peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS), diketahui dapat meningkatkan ekspresi p16 melalui jalur yang melibatkan *extracellular signal-regulated kinase* (ERK1/2) dan *stress-activated protein kinase p38*.³⁹

Lebih jauh lagi, beberapa penelitian telah menunjukkan mekanisme lain penghambatan p16 terhadap siklus sel secara independen dari jalur pRB–E2F. Salah satunya adalah p16 berinteraksi dengan subunit CDK7 dari faktor transkripsi umum TFIIH untuk menghambat fosforilasi domain karboksil-terminal (CTD) dari subunit besar RNA polimerase II, yang berkontribusi terhadap penghentian siklus sel. Lebih jauh lagi, p16 juga menghambat aktivitas kinase terminal-N c-jun (JNK1 dan JNK3) yang pada gilirannya memblokir aktivitas AP-1 dan menghambat transformasi sel.³⁹

Selain itu, penuaan sel yang diinduksi oleh onkogen juga dapat terjadi melalui peningkatan ekspresi p16. Fenomena ini telah diamati pada sel primer dengan aktivasi gen RAS maupun efektor hilirnya, yaitu Raf dan MEK. Secara lebih spesifik, faktor transkripsi Ets, khususnya Ets1 dan Ets2, yang diaktifkan melalui kaskade sinyal RAS–Raf–MEK, mampu berikatan dengan promotor gen p16 dan menginduksi aktivitasnya dengan peningkatan hingga 5–10 kali lipat. Secara terpisah, RAS juga dapat meningkatkan ekspresi p16 secara independen, serta menginduksi penuaan seluler melalui peningkatan ekspresi ektopik faktor transkripsi HBP-1, atau melalui aktivasi histone demethylase H3K27 (JMJD3) yang disertai dengan penurunan regulasi Ezh2.³⁹

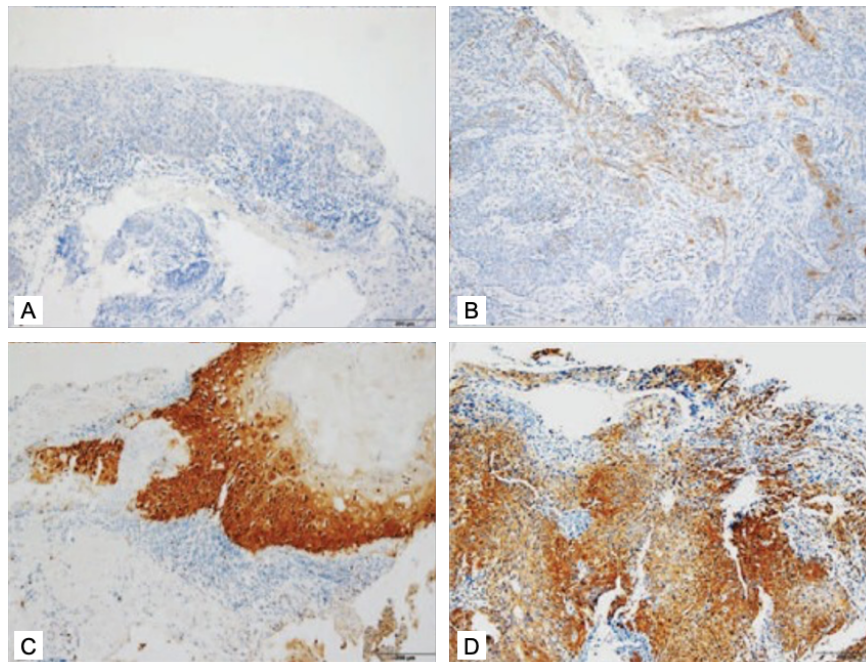
2.3. Pemeriksaan Imunohistokimia p16^{Ink4a} pada OSSN

p16 adalah protein yang ekspresinya sangat diinduksi oleh HPV pada karsinoma skuamosa serviks dan kepala dan leher.⁴⁰ Ekspresi p16 dapat dengan mudah dideteksi dalam jaringan dengan pendekatan imunohistokimia,⁴¹ dan reaktivitas imunohistokimia positif p16 banyak digunakan sebagai biomarker untuk mengidentifikasi HPV pada neoplasma skuamosa serviks, kepala dan leher. Pada infeksi HPV risiko tinggi, terutama melalui onkoprotein E7, terjadi inaktivasi protein retinoblastoma (pRb) yang normalnya membatasi aktivasi faktor transkripsi E2F. Ketika pRb diinaktivasi oleh E7, jalur kontrol G1/S menjadi hilang, dan sel merespons dengan meningkatkan ekspresi p16^{Ink4a} secara kompensatorik. Mekanisme pasti peningkatan ekspresi p16^{Ink4a} dalam subset OSSN masih belum jelas.⁴²

HPV telah dideteksi menggunakan berbagai macam metode, termasuk imunohistokimia p16^{Ink4a}, dalam rangkaian kasus OSSN.¹¹ Beberapa penelitian menunjukkan korelasi sempurna antara kepositifan HPV dan OSSN.⁴³ Akan tetapi, penelitian lain gagal mendeteksi bukti HPV pada pasien dengan OSSN.⁴⁴ Mirip dengan temuan dalam oleh Woods et al. yang mendeteksi HPV melalui pewarnaan imunohistokimia p16^{Ink4a} hanya pada sebagian kecil pasien OSSN mereka, semuanya adalah SCC konjungtiva.¹³ Lebih jauh, Chauhan et al. menemukan bahwa ekspresi p16 meningkat secara signifikan dari tumor OSSN stadium awal hingga lanjut.¹⁸ Meskipun induksi p16 tidak secara eksklusif terkait dengan infeksi HPV, penelitian ini menunjukkan bahwa HPV dapat berkontribusi pada OSSN yang lebih invasif.⁴⁵

Skor imunohistokimia (IHC) p16^{Ink4a} dilakukan berdasarkan intensitas dan luas area yang terwarnai. Setiap tumor diberikan skor berdasarkan intensitas (Tidak terwarnai = 0, pewarnaan lemah = 1, pewarnaan sedang = 2, pewarnaan kuat = 3) dan luas area yang terwarnai (0% = 0, 1-10% = 1, 11-50% = 2, 51-80% = 3, 81-100% = 4). Skor imunoreaktif ditentukan berdasarkan hasil perkalian antara skor intensitas dan area yang terwarnai. Penilaian skor dilakukan sebagai berikut :⁴⁶

- Negatif : Skor 0-3
- Positif : Skor 4-12



Gambar 8. Menunjukkan skor intensitas pewarnaan imunohistokimia p16^{INK4a}. A. Skor 0, B. Skor 2, C. Skor 9 dan D. Skor 14.

2.4. Pemeriksaan Imunohistokimia p16^{INK4a} sebagai Marker Prognostik OSSN

Peristiwa molekuler yang bertanggung jawab atas transformasi ganas dan perkembangan tumor pada OSSN masih belum dieksplorasi. Didapatkan bahwa 45% kasus OSSN tingkat lanjut menunjukkan imunoekspresi p16^{INK4a} yang kuat dan dikaitkan dengan prognosis yang buruk. Pengamatan ini konsisten dengan beberapa penelitian lain yang juga menunjukkan bahwa ekspresi berlebihan p16^{INK4a} dikaitkan dengan stadium tumor tingkat lanjut dan penurunan kelangsungan hidup secara keseluruhan pada karsinoma kepala dan leher, payudara, dan serviks. Beberapa jenis kanker menunjukkan ekspresi yang menurun seperti pada kanker kolorektal dan kanker paru.⁴⁷⁻⁴⁹

Peningkatan ekspresi p16^{INK4a} yang signifikan secara progresif dari stadium tumor T1 ke T4 diamati dalam beberapa penelitian. Peningkatan serupa pada ekspresi berlebih p16^{INK4a} telah dijelaskan dalam transformasi dari lesi preneoplastik menjadi karsinoma pada beberapa jenis kanker (karsinoma usus besar, payudara, kulit, mulut, dan kandung empedu).⁴⁸ Karena p16^{INK4a} seharusnya tidak terekspresi dalam sel dengan jalur p16^{INK4a} –Rb yang berfungsi dengan baik, oleh karena itu,

perubahan pada jalur ini mungkin bertanggung jawab atas peningkatan progresif p16^{Ink4a} dari lesi premaligna menjadi ganas.⁴⁰

Jung dkk. melaporkan overekspresi p16^{Ink4a} pada SCC konjungtiva dan menggambarkan hal ini sebagai peristiwa penting pada SCC konjungtiva. Pada neoplasia intraepitelial konjungtiva, frekuensi ekspresi p16^{Ink4a} yang dilaporkan bervariasi antara 0% dan 100%. Namun, signifikansi klinikopatologis dan prognostik belum dianalisis dalam laporan ini.²⁶ Overekspresi p16^{Ink4a} pada kanker serviks, kanker kepala dan leher, lesi perianal, dan OSSN telah dikaitkan secara langsung dengan keberadaan genotipe HPV risiko tinggi. Kanker terkait HPV dengan overekspresi p16^{Ink4a} sensitif terhadap radioterapi dan memiliki prognosis yang lebih baik. Pada tumor yang tidak terkait HPV seperti adenokarsinoma kolon, kanker payudara, dan beberapa lesi non-epitel, seperti astrositoma tingkat tinggi atau tumor stroma gastrointestinal, overekspresi p16^{Ink4a} telah dikaitkan dengan prognosis yang buruk.⁴⁰

Dalam penelitian lain, hipermetilasi p16^{Ink4a} diamati pada 53% kasus OSSN. Frekuensi metilasi promotor p16^{Ink4a} yang dilaporkan bervariasi antara 30% dan 74% di kepala dan leher, 28% dan 86% di mulut dan di >70% karsinoma paru.²⁰ Hipermetilasi promotor p16^{Ink4a} terjadi pada tahap awal neoplasia permukaan mata dan menurun seiring perkembangan stadium tumor. Demikian pula, penurunan signifikan dalam metilasi promotor p16^{Ink4a} dan peningkatan ekspresinya seiring perkembangan tumor telah dilaporkan pada karsinoma paru, kulit, payudara, kepala dan leher.¹⁸

Studi lainnya, dengan spesimen OSSN dari 75 pasien yang diwarnai dengan hematoxilin dan eosin (H&E), dan ekspresi p16 melalui imunohistokimia. Kaca objek H&E ditinjau untuk menentukan apakah OSSN merupakan neoplasma intraepitel konjungtiva noninvasif karsinoma sel skuamosa (SCC) invasif, menemukan bahwa hasil positif pada p16 ditemukan pada Sebagian kecil kasus OSSN (14/75). Positif p16^{Ink4a} dikaitkan secara signifikan dengan SCC invasif OSSN pada pasien yang terinfeksi OSSN pada pasien yang terinfeksi HIV (nilai p 0,026).⁴⁹