

HUBUNGAN EKSPRESI *PROGRAMMED DEATH LIGAND 1* (PD-L1) DENGAN DERAJAT DIFERENSIASI DAN DENSITAS *TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTE* (TIL) DI STROMA PADA KARSINOMA OVARIUM SEROSUM

TESIS



**PROGRAM STUDI PATOLOGI ANATOMIK PROGRAM SPESIALIS
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2022**

LEMBAR PERSETUJUAN

TESIS

HUBUNGAN EKSPRESI *PROGRAM DEATH LIGAN 1 (PD-L1)* DENGAN
DERAJAT DIFERENSIASI DAN DENSITAS *TUMOR INFILTRATING*
LYMPHOCYTE (TIL) DI STROMA PADA KARSINOMA
OVARIUM SEROSUM

Disusun oleh

VALENCIA
NIM. 1550312002

Telah dipertahankan di depan tim penguji pada tanggal 19 Mei 2022 dan
dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

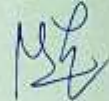
Menyetujui

Ketua Bagian
Patologi Anatomi



dr. Yenita, M. Biomed, SpPA

Ketua Program Studi
Patologi Anatomi



Dr. dr. Noza Hilbertina, M.Biomed, Sp.PA

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS

HUBUNGAN EKSPRESI *PROGRAM DEATH LIGAN 1 (PD-L1)* DENGAN
DERAJAT DIFERENSIASI DAN DENSITAS *TUMOR INFILTRATING
LYMPHOCYTE (TIL)* DI STROMA PADA KARSINOMA
OVARIUM SEROSUM

Disusun oleh

VALENCIA
NIM. 1550312002

Telah dipertahankan di depan tim penguji pada tanggal 19 Mei 2022 dan
dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima


Mengesahkan
Komisi Penguji,

Pembimbing I



dr. Aswiyanti Asri, Msi.Med. SpPA(K)

Pembimbing II



dr. RZ. Nizar SpPA (K)

Penguji I



Dr. dr. Noza Hilbertina, M.Biomed, Sp.PA

Penguji II



Dr. dr. Syamel Muhammad, SpOG (K-Onk)

Penguji III



dr. Husna Yetti, Ph.D

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa isi tesis yang saya tulis dengan judul: **Hubungan Ekspresi *Program Death Ligan 1* (PD-L1) dengan Derajat Diferensiasi dan Densitas *Tumor Infiltrating Lymphocyte* (TIL) di Stroma pada Karsinoma Ovarium Serosum** adalah pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di Perguruan Tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan dalam tulisan dan daftar pustaka. Jika dikemudian hari pernyataan ini terbukti tidak benar, maka status kelulusan saya dan gelar yang saya peroleh menjadi batal dengan sendirinya.

Padang, Mei 2022

Penulis



KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberi rahmat, karunia, taufik dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **Hubungan Ekspresi *Program Death Ligan 1 (PD-L1)* dengan Derajat Diferensiasi dan Densitas *Tumor Infiltrating Lymphocyte (TIL)* di Stroma pada Karsinoma Ovarium Serosum** dengan baik. Shalawat beriring salam kepada junjungan yang mulia Rasulullah SAW beserta keluarga, sahabat dan para penerus perjuangannya.

Penghargaan dan ucapan terima kasih yang tulus penulis haturkan kepada pembimbing Ibu dr. Aswiyanti Asri, Msi.Med, SpPA(K) selaku pembimbing I dan dr. RZ. Nizar, SpPA(K) selaku pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan, saran dan masukan dengan penuh perhatian sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis ini. Ucapan terima kasih juga penulis haturkan kepada ibu Dr.dr.Noza Hilbertina, M.Biomed, SpPA selaku penguji I, Dr.dr. Syamel Muhammad, SpOG (K-Onk) selaku penguji II dan dr. Husna Yetti, Ph.D selaku penguji III atas pertanyaan, kritikan dan saran perbaikan untuk penyempurnaan tesis ini. Tidak lupa ucapan terima kasih juga penulis haturkan kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dan Direktur Utama RSUP dr. M. Djamil Padang yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Anatomi di Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

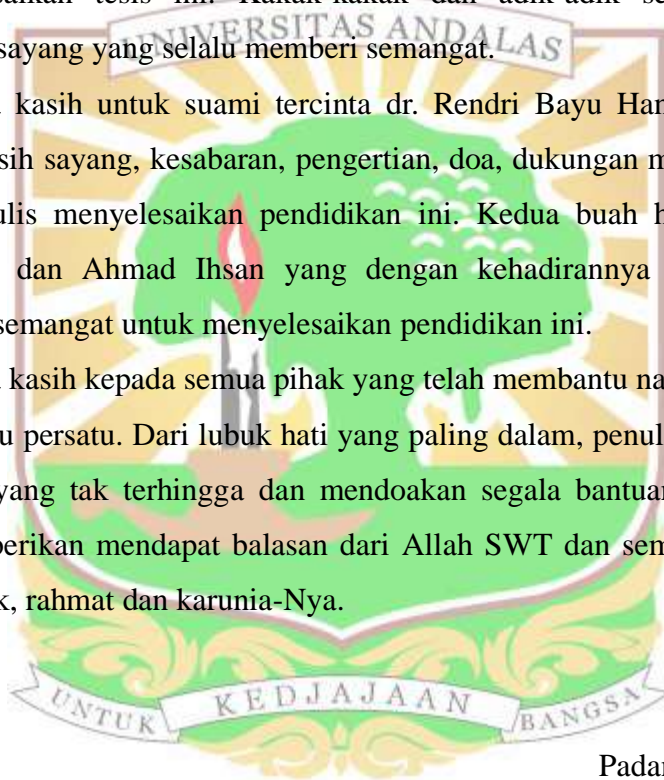
Terima kasih yang sedalam-dalamnya juga penulis haturkan kepada ibu Prof.dr. Salmiah Agus, Sp.PA (K), dr. Yenita, M. Biomed, Sp.PA, dr. Tofrizal, M.Biomed, SpPA, PhD, Dr. dr. Henny Mulyani, M. Biomed, Sp.PA, dr. Loli Devianti, SpPA(K), dr. Pamela Mayorita, Sp.PA, dr. Hera Novianti, Sp.PA, dr. Yessy Setiawati, M.Biomed, SpPA, dr. Shinta Ayu Intan, SpPA, dr. Zulda Musyarifah, SpPA, Dr. dr. Anandia Putriyuni, Sp.PA, dr. Rini Yulia, Sp.PA dan dr. Desi Aliefia, Sp.PA yang telah mencurahkan ilmu, memberi arahan dan dorongan selama penulis menjalankan pendidikan.

Terima kasih juga untuk teman-teman PPDS yang telah berbagi hari, berbagi suka dan duka selama proses pendidikan serta staf laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, RSUP dr. M. Djamil Padang, RSI Ibnu Sina, RSUD Ahmad Mochtar Bukittinggi dan RS Unand yang telah memberi semangat dan bantuan dalam menyelesaikan penelitian ini.

Terima kasih kepada yang tercinta orang tua kami Mama Erti Adriani, Papa Muchtim Pribadi (alm), Mama Irfa Irwani (almh) dan Papa Drs. Zulhaidir atas kasih sayang, doa, pengertian dan dukungan untuk meneruskan pendidikan dan menyelesaikan tesis ini. Kakak-kakak dan adik-adik serta keponakan-keponakan tersayang yang selalu memberi semangat.

Terima kasih untuk suami tercinta dr. Rendri Bayu Hansah, SpPD atas cinta tulus, kasih sayang, kesabaran, pengertian, doa, dukungan moril dan materil sehingga penulis menyelesaikan pendidikan ini. Kedua buah hatiku tersayang Kirana Latifa dan Ahmad Ihsan yang dengan kehadirannya Allah memberi kekuatan dan semangat untuk menyelesaikan pendidikan ini.

Terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu namun tidak dapat disebutkan satu persatu. Dari lubuk hati yang paling dalam, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga dan mendoakan segala bantuan dan dorongan yang telah diberikan mendapat balasan dari Allah SWT dan semoga kita semua diberi petunjuk, rahmat dan karunia-Nya.



Padang, Mei 2022

Penulis

Hubungan Ekspresi *Program Death Ligan 1* (PD-L1) dengan Derajat Diferensiasi dan Densitas *Tumor Infiltrating Lymphocyte* (TIL) di Stroma pada Karsinoma Ovarium Serosum

ABSTRAK

Valencia

Karsinoma ovarium serosum merupakan keganasan ginekologi yang mematikan dimana lebih dari 70% pasien datang pada stadium lanjut. Mortalitas yang tinggi pada karsinoma ovarium disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya adalah penyakit sering ditemukan pada usia tua, pasien datang pada stadium lanjut dan dengan diferensiasi *high grade*, keterbatasan akses untuk terapi yang adekuat, adanya komorbid, termasuk kemungkinan adanya variasi genetik. Faktor-faktor tersebut juga memengaruhi imunitas pasien terhadap tumor. Pada kasus keganasan, tumor dapat lolos dari pengenalan sel imun dan secara aktif menekan aktivitas antitumor yang dimediasi sel-T sehingga mendorong pertumbuhan tumor dan metastasis melalui modulasi *immune checkpoint* termasuk *programmed death ligand-1* (PD-L1). *Programmed death ligand-1* diekspresikan oleh sel tumor dan memiliki peran penting dalam menghindari sistem imun. Oleh karena itu ekspresi PD-L1 perlu dihubungkan dengan derajat diferensiasi dan densitas TIL di stroma karena dapat dipertimbangkan memiliki nilai prognostik.

Penelitian ini merupakan penelitian *cross sectional study*. Sampel penelitian sebanyak 45 kasus karsinoma ovarium serosum yang diambil dari 3 Laboratorium Patologi Anatomi di kota Padang tahun 2019-2020. Sampel diperoleh dari blok parafin yang berasal dari tindakan operasi ooforektomi/HTSOB kemudian dilakukan reevaluasi terhadap derajat diferensiasi dan densitas TIL di stroma. Ekspresi PD-L1 pada sel tumor dan TIL dilihat dengan pewarnaan imunohistokimia. Analisis statistik bivariat menggunakan uji *Fisher's Exact* dengan $p < 0,05$ dianggap bermakna.

Ekspresi PD-L1 intra tumoral, TIL stroma dan intra epitelial yang tinggi lebih banyak pada derajat diferensiasi *high grade* dibanding *low grade* yaitu berturut-turut sebanyak 95,7%, 89,7% dan 90%. Secara statistik terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi PD-L1 intratumoral dengan derajat diferensiasi pada karsinoma ovarium serosum dengan nilai $p = 0,022$.

Penelitian ini menyimpulkan bahwa ekspresi PD-L1 intratumoral mempunyai hubungan yang bermakna dengan derajat diferensiasi pada karsinoma ovarium serosum.

Kata kunci: Karsinoma ovarium serosum, ekspresi PD-L1, derajat diferensiasi, densitas TIL.

Correlation of Programmed Death Ligand-1 (PD-L1) Expression with Differentiation Grade and Stromal Tumor Infiltrating Lymphocyte (TIL) Density in Serous Ovarian Carcinoma

ABSTRACT

Valencia

Serous ovarian carcinoma is the most lethal gynecologic malignancy in which more than 70% of patients present at an advanced stage. The high mortality in ovarian carcinoma is caused by many factors, this disease most often occurs in old age, an advanced stage disease and with high-grade differentiation when diagnosed, limited access to adequate therapy, comorbidities, and genetic variation. These factors have an impact on the patient's tumor immunity. In the case of malignancy, tumors can escape immune cell recognition and actively suppress T-cell-mediated antitumor activity, thereby promoting tumor growth and metastasis through modulation of immune checkpoints, including programmed death ligand-1 (PD-L1). PD-L1 expressed in tumor cells and plays an important role in tumor immune escape. The PD-L1 expression need to be evaluated in correlation with differentiation grade and stromal TIL density. Thus, PD-L1 was considered had prognostic value.

This is a cross sectional study with 45 samples of serous ovarian carcinoma from 3 Pathology laboratory in Padang, between 2019-2020. TIL density and differentiation grade were evaluated from formalin fixed and paraffin embedded (FFPE) of surgical oophorectomy or HTSOB specimens. PD-L1 expression was evaluated by immunohistochemical staining. Bivariate analysis used Fisher's Exact test and value $p < 0,005$ was considered significant.

High PD-L1 expression of intratumoral, stromal TIL and intraepithelial mostly in high grade differentiation with 95,7%, 89,7% and 90% expression respectively. Statistical analysis showed significant correlation between PD-L1 expression of intratumoral and differentiation grade with $p = 0,002$.

As conclusion is this study shows significant correlation between PD-L1 expression of intratumoral and diferentiation grade in serous ovarian carcinoma.

Key words: ovarian serous carcinoma, PD-L1 expression, differentiation grade, TIL density

DAFTAR ISI

	Hal
LEMBAR PERSETUJUAN.....	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.3.1. Tujuan Umum.....	6
1.3.2. Tujuan Khusus.....	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Karsinoma Ovarium Serosum.....	8
2.1.1 Definisi	8
2.1.2 Klasifikasi	10
2.1.3 Epidemiologi	10
2.1.4 Faktor Risiko	11
2.1.5 Patogenesis dan Dasar Molekuler.....	14
2.1.6 Gejala Klinis	20
2.1.7 Gambaran Makroskopik.....	21
2.1.8 Gambaran Mikroskopik.....	23
2.1.9 Stadium Tumor Ovarium.....	24
2.1.10 Terapi.....	24
2.2 <i>Tumor Infiltrating Lymphocyte (TIL)</i>	28
2.3 <i>Programmed Death Ligan 1 (PD-L1)</i>	33
2.3.1 Struktur	34
2.3.2 Fungsi	35
2.3.3 Regulasi Ekspresi PD-L1/PD-1	36
2.3.4 Jalur Sinyal PD-L1	40
2.3.5 Ekspresi PD-L1 pada Karsinoma Ovarium	42
BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	44
3.1 Kerangka Teori Penelitian.....	44

3.2 Kerangka Konsep Penelitian.....	46
3.3 Hipotesis Penelitian.....	46
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	47
4.1 Jenis Penelitian.....	47
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	47
4.2.1 Populasi Penelitian	47
4.2.2 Sampel Penelitian	47
4.3 Variabel Penelitian	49
4.4 Definisi Operasional.....	49
4.5 Instrumen dan Bahan Penelitian.....	53
4.6 Tempat dan Waktu Penelitian.....	54
4.7 Alur Penelitian.....	54
4.8 Prosedur Kerja.....	55
4.9 Analisis Data	57
4.10 Etika Penelitian	57
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	58
5.1 Karakteristik Karsinoma Ovarium Serosum	58
5.2 Hubungan Ekspresi PD-L1 dengan Derajat Diferensiasi pada Karsinoma Ovarium serosum	60
5.3 Hubungan Ekspresi PD-L1 dengan Densitas TIL di Stroma pada Karsinoma Ovarium serosum	61
BAB 6 PEMBAHASAN	63
6.1 Karakteristik Karsinoma Ovarium Serosum	63
6.2 Hubungan Ekspresi PD-L1 dengan Derajat Diferensiasi pada Karsinoma Ovarium serosum	64
6.3 Hubungan Ekspresi PD-L1 dengan Densitas TIL Stroma pada Karsinoma Ovarium serosum	66
6.4 Keterbatasan Penelitian	67
BAB 7 PENUTUP.....	68
7.1 Kesimpulan	68
7.2 Saran.....	68
DAFTAR PUSTAKA	70
LAMPIRAN.....	77

DAFTAR GAMBAR

Hal		
	Gambar 2.1	Skema Patogenesis Karsinoma Ovarium Serosum <i>Low Grade</i> 16
	Gambar 2.2	Skema Mekanisme Asal Inklusi Epitel Permukaan Ovarium 18
	Gambar 2.3	Perubahan Molekuler dan Karsinogenesis Karsinoma Ovarium Serosum 20
	Gambar 2.4.	Makroskopik Karsinoma Ovarium Serosum <i>Low Grade</i> 22
	Gambar 2.5	Makroskopik Karsinoma Ovarium Serosum <i>High Grade</i> 22
	Gambar 2.6	Mikroskopik Karsinoma Ovarium Serosum <i>Low Grade</i> 25
	Gambar 2.7	Mikroskopik Karsinoma Ovarium Serosum <i>High Grade</i> 25
	Gambar 2.8	Struktur Gen PD-L1, mRNA dan Protein 35
	Gambar 2.9	Skema Jalur Regulasi Transkripsi PD-L1 pada Lingkungan Mikro Tumor 37
	Gambar 3.1	Kerangka Teori Penelitian 44
	Gambar 3.2	Kerangka Konsep Penelitian 46
	Gambar 4.1	Kerangka Alur Penelitian 54
	Gambar 5.1	Derajat Histopatologi Karsinoma Ovarium Serosum Penelitian 59
	Gambar 5.2	Densitas TIL di Stroma 60
	Gambar 5.3	Gambaran Ekspresi PD-L1 tinggi pada Karsinoma Ovarium Serosum 61
	Gambar 5.3	Gambaran Ekspresi PD-L1 rendah pada Karsinoma Ovarium Serosum 62



DAFTAR TABEL

Hal

Tabel 2.1	Klasifikasi Tumor Ovarium Serosum menurut WHO 2020.....	10
Tabel 2.2	Sistem Grading Karsinoma ovarium Serosum <i>Low Grade</i> dan Karsinoma ovarium Serosum <i>High Grade</i>	23
Tabel 2.3	Stadium Tumor Ovarium.....	26
Tabel 2.4	Jenis Imunoterapi Karsinoma Ovarium	28
Tabel 5.1	Karakteristik Karsinoma Ovarium Serosum.....	58
Tabel 5.2	Hubungan Ekspresi PD-L1 dengan Derajat Diferensiasi pada Karsinoma Ovarium Serosum.....	60
Tabel 5.3	Hubungan Ekspresi PD-L1 dengan Densitas TIL di Stroma pada Karsinoma Ovarium Serosum.....	62



DAFTAR SINGKATAN



Ag	: Antigen
ALK	: <i>Anaplastic Lymphoma Kinase</i>
BRCA	: <i>Breast Cancer</i>
BSO	: <i>Bilateral Salphingoophorectomy</i>
CCL	: <i>C-C Motif Ligand</i>
CD	: <i>Cluster Differentiation</i>
CDK	: <i>Cyclin Dependent Kinase</i>
CDKN2A	: <i>Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A</i>
CK	: <i>Cytokeratin</i>
CSMD	: <i>CUB and Sushi Multiple Domain</i>
CTL	: <i>Cytotoxic Lymphocyte</i>
CTNNB1	: <i>Catenin Beta 1</i>
CXCL	: <i>C-X-C Motif Chemokine Ligand</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DOCK4	: <i>Dedicator of Cytokines 4</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
EGFR	: <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
EMT	: <i>Epithelial Mesenchymal Transition</i>
ER	: <i>Estrogen Reseptor</i>
ERBB2	: <i>Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase2</i>
ERK	: <i>Extracellular Signal Regulated</i>
ET(B)R	: <i>Endothelin B Reseptor</i>
FAT3	: <i>Fat Atypical Cadherin 3</i>
FDA	: <i>Food Drug Association</i>
FIGO	: <i>Federation Internationale de Gynecologic ed d'Obstetrique</i>
GABRA6	: <i>Gamma-Aminobutiric Acid 6</i>
GATA-3	: <i>GATA Binding Protein 3</i>
GOG	: <i>Gynecologic Oncology Group</i>
HER2	: <i>Human Epithelial Reseptor 2</i>
HIF-1 α	: <i>Hipoxia Inducible Factor 1α</i>
HPF	: <i>High per field</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IRF	: <i>Interferon Regulation Factor</i>
ITSM	: <i>Immunoreseptor Thyrosine-Based Switch Motif</i>
KRAS	: <i>Kirsten Rat Sarcoma</i>
LAG-3	: <i>Lymphocyte Activation Gene 3</i>
LMP-1	: <i>Latent Membrane Protein-1</i>
MAPK	: <i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
MDSC	: <i>Myeloid Derived Supressor Cell</i>
MHC	: <i>Mayor Histocompatibility Complex</i>
MLH1	: <i>MUTL Homolog1</i>
MSH2	: <i>MUTS Homolog 2</i>

MSH6	: <i>MUTS Homolog 6</i>
NF1	: <i>Neurofibromatosis 1</i>
NF-kB	: <i>Nuclear factor kappa B</i>
NPM	: <i>Nucleophosmin</i>
PARP	: <i>Poli (ADP-ribosa)Polimerase</i>
PAX-8	: <i>Paired Box Protein Pax-8</i>
PD-1	: <i>Programmed Death 1</i>
PD-L1	: <i>Programmed Death Ligand 1</i>
PI3K	: <i>Phosphoinositide-3-Kinase</i>
PIK3CA	: <i>Phosphatidylinositol (4,5) Biphosphatase 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha</i>
PMS2	: <i>Post meiotic Segregation 2</i>
PTEN	: <i>Phosphatase and Tensin Homolog</i>
RB1	: <i>Retinoblastoma 1</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Spesies</i>
RR	: <i>Response Rate</i>
SHP	: <i>SH2-domain containing adaptor protein B</i>
STAT3	: <i>Signal Transducer and Activator of Transcription 3</i>
T Reg	: <i>T Regulator</i>
TAM	: <i>Tumor Associated Macrophage</i>
TCR	: <i>T Cell Reseptor</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor-β</i>
TIL	: <i>Tumor Infiltrating Lymphocyte</i>
TP53	: <i>Tumor Protein 53</i>
VCAM	: <i>Vascular Cell Adhesion Molecule</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
WT1	: <i>Wilm Tumor 1</i>



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Keterangan Lolos Kaji Etik

Lampiran 2 Surat Keterangan Penelitian

Lampiran 3 Riwayat Hidup

Lampiran 4 Hasil Analisis Statistik



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Karsinoma ovarium merupakan keganasan terbanyak ke-8 pada perempuan di dunia dan menjadi penyebab terbanyak ke-8 kematian akibat kanker.¹ Di negara barat, karsinoma ovarium merupakan keganasan ginekologi kedua terbanyak dan menjadi penyebab kematian terbanyak akibat keganasan ginekologi.² Pada tahun 2018, di Amerika diperkirakan terdapat 22.240 kasus baru karsinoma ovarium.³ Di Asia, estimasi insiden karsinoma ovarium di China sekitar 3,2 per 100.000 penduduk pertahun. Di Indonesia, belum ada data nasional yang melaporkan insiden karsinoma ovarium, namun pada tahun 2002 diperkirakan sekitar 829 kasus baru telah didiagnosis.⁴ Selama tahun 2010-2013, karsinoma ovarium merupakan kasus ke-4 terbanyak di RS Kanker Dharmais.⁵ Data dari Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Anatomi Indonesia tahun 2014, melaporkan bahwa insiden karsinoma ovarium di Sumatera Barat sekitar 100 kasus. Insiden karsinoma ovarium ini merupakan keganasan ke-4 terbanyak pada perempuan di Sumatera Barat.⁶

Pasien karsinoma ovarium biasanya sering datang pada stadium lanjut sehingga pengobatannya membutuhkan keterlibatan multidisiplin.⁷ Sebuah studi tentang angka harapan hidup pasien karsinoma ovarium melaporkan bahwa angka harapan hidup pasien di tahun pertama sebesar 95,8%, di tahun ke-2, 86,8%, dan persentasenya terus menurun di tahun ke-3 dan ke-4 menjadi 77%.⁸

Karsinoma ovarium diklasifikasikan menjadi subtipe serosum, musinosum, endometrioid, *clear cell*, dan *Brenner*.⁹ Karsinoma ovarium serosum merupakan keganasan ginekologi yang mematikan dimana lebih dari 70% pasien datang pada stadium lanjut.¹⁰ Insiden karsinoma ovarium serosum *high grade* sebanyak 70% dari seluruh kasus karsinoma ovarium.¹¹ Angka harapan hidup 5 tahunnya berkisar antara 15-55%. Prognosis pasien karsinoma ovarium serosum *high grade* sering buruk disebabkan oleh pasien yang sering datang terlambat sehingga diagnosis baru ditegakkan saat penyakit sudah pada stadium lanjut. Angka mortalitas karsinoma ovarium serosum *high grade* 70-80% dari seluruh mortalitas karsinoma ovarium.¹²

Mortalitas yang tinggi pada karsinoma ovarium disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya adalah penyakit sering ditemukan pada usia tua, pasien datang pada stadium lanjut dan dengan diferensiasi *high grade*, keterbatasan akses untuk terapi yang adekuat, adanya komorbid, termasuk kemungkinan adanya variasi genetik. Faktor-faktor tersebut juga memengaruhi imunitas pasien terhadap tumor.¹³

Sistem imun merupakan komponen utama lingkungan mikro tumor dan berkontribusi pada luaran pasien. Banyak efektor imun yang mendukung perkembangan tumor baik dengan melepaskan faktor-faktor yang secara langsung mendorong pertumbuhan tumor atau melalui blokade efektor imun yang menimbulkan destruksi imun.¹⁴

Sistem imun diketahui memiliki peran besar dalam mengontrol pertumbuhan tumor, tak terkecuali pada karsinoma ovarium.¹⁵ Interaksi antara

sistem imun dan sel tumor memengaruhi progresivitas tumor. Diketahui sistem imun tersebut secara aktif menyerang sel-sel tumor pada karsinoma ovarium. Terdapat bukti bahwa beberapa tipe karsinoma ovarium merangsang respon imun melalui peran *Tumor Infiltrating Lymphocyte* (TIL).¹⁶

Tumor Infiltrating Lymphocyte (TIL) merupakan populasi heterogen dimana sel limfosit T merupakan sel yang paling banyak terdapat di dalamnya. *Tumor Infiltrating Lymphocyte* biasanya terdapat di dua tempat, yaitu di dalam jaringan tumor (intratumoral) dan di stroma (peritumoral). Sel-sel tersebut akan mengenali sel tumor lalu memberikan respon imun. Banyak studi melaporkan bahwa adanya TIL pada karsinoma ovarium dikaitkan dengan perbaikan klinis dan mempertegas peran sel limfosit T dalam mengontrol progresivitas karsinoma.^{11,15,16}

Penelitian Zhang dkk. melaporkan bahwa pada pasien karsinoma ovarium stadium lanjut dengan densitas TIL yang adekuat memiliki angka harapan hidup 5 tahun sebesar 38% sedangkan pasien dengan densitas TIL rendah hanya sebesar 4,5%. Pasien karsinoma ovarium dengan densitas TIL tinggi yang menjalani kemoterapi memiliki angka harapan hidup 5 tahun sebesar 73,9% sedangkan pasien dengan densitas TIL yang rendah sebesar 11,9%.¹⁷

Terkait dengan densitas TIL, peningkatannya berhubungan dengan prognosis yang baik pada berbagai karsinoma.¹⁸ Stumpf dkk. melaporkan bahwa densitas TIL intratumoral berhubungan dengan perbaikan kelangsungan hidup.¹⁹ Meta analisis dari 10 studi yang melibatkan 1.815 pasien melaporkan bahwa penderita karsinoma ovarium yang densitas TIL intratumoralnya rendah memiliki

risiko kematian 1,53 kali dibandingkan pasien dengan densitas TIL tinggi.¹⁶ Studi James dkk. mendapatkan bahwa densitas TIL di stroma berbeda pada tipe karsinoma ovarium yang berbeda dimana densitas TIL lebih tinggi pada karsinoma ovarium serosum *high grade* dan tipe endometrioid.²⁰ Khusus pada karsinoma ovarium serosum *high grade* adanya peningkatan densitas TIL diduga berkaitan dengan mutasi BRCA 1/2 dimana mutasi BRCA 1/2 membuat adanya neoantigen spesifik tumor yang menstimulasi perekrutan TIL ke daerah tumor.²¹

Lokasi TIL juga memiliki peran penting pada karsinoma ovarium. Lokasi TIL dikatakan sangat penting peranannya untuk menyerang tumor secara efektif.²² Sebagai bukti analisis studi Jun Li dkk. bahwa evaluasi lokasi TIL bersama lingkungan mikro tumor penting untuk menilai prognosis.²³ Kebanyakan studi fokus pada kompartemen epitel ovarium. Studi Hwang dkk. menunjukkan bahwa TIL stroma merupakan faktor prognosis independen untuk seluruh tipe histopatologi karsinoma ovarium, khususnya untuk karsinoma ovarium serosum.¹⁸

Studi James dkk. menemukan hasil yang berbeda, bahwa TIL stroma bukan merupakan faktor prognosis independen pada karsinoma ovarium.²⁰ Studi Schietinger dkk. membuktikan bahwa TIL menginduksi hancurnya komponen-komponen di stroma, termasuk pembuluh darah, sehingga menyebabkan nekrosis. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa akumulasi TIL di stroma walaupun tanpa berinteraksi langsung dengan sel tumor tetap penting untuk mengatasi tumor sehingga TIL stroma juga berperan dalam memengaruhi kondisi pasien.²⁴ Perbedaan efek antara TIL intratumoral dan stroma perlu penelusuran lebih lanjut

sebab masih perlu penjelasan lanjut terkait beda peran TIL di intratumoral dan di stroma.²⁵

Pada kasus keganasan, tumor dapat lolos dari pengenalan sel imun dan secara aktif menekan aktivitas antitumor yang dimediasi sel-T sehingga mendorong pertumbuhan tumor dan metastasis melalui modulasi *immune checkpoint* termasuk *programmed death ligand-1* (PD-L1). *Programmed death ligand-1* diekspresikan oleh sel tumor dan memiliki peran penting dalam menghindari sistem imun.²⁶ Selain itu, PD-L1 juga diekspresikan pada permukaan *tumor associated macrophage* (TAM), *myeloid derived suppressor cell* (MDSC), sel dendritik, sel T dan sel B.²⁷

Neoantigen yang diproduksi oleh sel tumor dikenali oleh sel dendritik yang selanjutnya mengaktifkan sel T sitotoksik. Sel T yang diaktifkan kemudian menyusup ke lingkungan tumor, mengikat sel tumor, dan melepaskan sitokin yang memicu apoptosis pada sel tumor target. Untuk menghindari mekanisme anti tumor tersebut, sel-sel tumor mengekspresikan PD-L1 yang mengikat reseptor PD-1 pada sel T yang diaktifkan, sehingga menghambat aktivitas sel T sitotoksik. Karena itu PD-L1 dikenal sebagai bagian dari mekanisme *immune escape*, yang mengakibatkan terjadinya pertumbuhan sel tumor, proliferasi, dan metastasis.²⁸

Upaya mengategorikan karsinoma ovarium berdasarkan pola TIL, ekspresi gen, dan ekspresi PD-L1, menunjukkan bahwa sebagian besar karsinoma ovarium serosum *high grade* bersifat imunoreaktif.²⁹ Sel-sel karsinoma ovarium serosum *high grade* mengekspresikan sejumlah besar PD-L1 untuk menghindari sitolitik oleh sel T aktif, yang dapat membentuk lingkungan immunosupresor mikro tumor.

Berbeda dengan kesimpulan penelitian Yilmaz dkk. yang mengemukakan bahwa PD-L1 tidak diekspresikan secara ekstensif dalam jumlah yang banyak pada karsinoma ovarium serosum *high grade*.²⁷

Densitas TIL dan ekspresi PD-L1 pada karsinoma ovarium serosum *high grade* dikaitkan dengan prognosis yang baik. Webb dkk. menunjukkan bahwa PD-L1 positif pada karsinoma ovarium serosum *high grade* merupakan faktor prognostik independen yang bisa dipakai untuk menilai kelangsungan hidup pasien.²⁶ Beberapa penelitian lain menyelidiki efek prognostik PD-L1 pada karsinoma ovarium khususnya karsinoma ovarium serosum *high grade* dan hasilnya belum konsisten. Hal tersebut boleh jadi karena berbeda metode pengujian dan nilai *cut-off* yang dipakai.³⁰

Penelitian yang menganalisis hubungan antara PD-L1 dan densitas TIL di stroma pada karsinoma ovarium masih sedikit dan hasilnya belum konsisten. Hal ini kemungkinan terjadi karena berbedanya metodologi penelitian yang dipakai sehingga masih beragamnya variasi laporan. Berdasarkan uraian diatas dimana bervariasinya studi tentang PD-L1 dan densitas TIL di stroma pada karsinoma ovarium serta kaitannya dengan sub tipe histopatologi karsinoma ovarium maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Hubungan Ekspresi PD-L1 dengan Derajat Diferensiasi dan Densitas *Tumor Infiltrating Lymphocyte* di Stroma pada Karsinoma Ovarium Serosum”.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimanakah ekspresi PD-L1 pada karsinoma ovarium serosum? Apakah terdapat hubungan ekspresi PD-L1 dengan derajat diferensiasi dan densitas TIL di stroma pada karsinoma ovarium serosum?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui hubungan ekspresi PD-L1 dengan derajat diferensiasi dan densitas TIL di stroma pada karsinoma ovarium serosum.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui distribusi frekuensi berdasarkan usia, derajat diferensiasi, densitas TIL dan ekspresi PD-L1 pada karsinoma ovarium serosum.
2. Mengetahui hubungan ekspresi PD-L1 dengan derajat diferensiasi pada karsinoma ovarium serosum.
3. Mengetahui hubungan ekspresi PD-L1 dengan densitas *Tumor Infiltrating Lymphocyte* (TIL) di stroma pada karsinoma ovarium serosum.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat untuk Ilmu Pengetahuan

1. Menambah pengetahuan tentang hubungan PD-L1 dengan respon imun serta progresi dan diferensiasi pada karsinoma ovarium serosum.
2. Menjadi referensi bagi peneliti lain untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai ekspresi PD-L1 pada karsinoma ovarium serosum.

1.4.2 Manfaat untuk Institusi

Menjadi data penelitian mengenai ekspresi PD-L1 pada karsinoma ovarium serosum di 3 laboratorium Patologi Anatomi di kota Padang

1.4.3 Manfaat untuk klinisi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi masukan bagi klinisi dalam mempertimbangkan pemeriksaan IHK PD-L1 pada pasien karsinoma ovarium serosum.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karsinoma Ovarium Serosum

2.1.1 Definisi

Karsinoma ovarium serosum merupakan tumor ganas epitel permukaan ovarium yang terdiri dari epitel serosum (*tubal-type*). Karsinoma ini merupakan subtype histopatologi terbanyak dari karsinoma ovarium dan sekitar 60% bilateral.³¹

Menurut buku *World Health Organization (WHO) Female Genital Tract* edisi ke-3 tahun 2004, karsinoma ovarium serosum diklasifikasikan menjadi tiga *grade* berdasarkan 3 parameter yaitu pola dominan, atipia inti, dan jumlah mitosis.³² Selanjutnya, Malpica dkk. mengusulkan penilaian *grade* berdasarkan 2 parameter saja yaitu gambaran histopatologi sebagai parameter utama dan parameter tambahan berupa atipia inti dan jumlah mitosis sehingga akhirnya karsinoma ovarium serosum diklasifikasikan menjadi 2 *grade* saja yaitu karsinoma ovarium serosum *low grade* yang bersifat indolen dengan komponen *borderline* dan karsinoma ovarium serosum *high grade* yang merupakan neoplasma ganas agresif tanpa lesi prekursor yang jelas. Setelah itu, *Gynecologic Oncology Group (GOG)* melakukan perbandingan studi antara sistem *grading 2-tier dan 3-tier*, dan menyukai sistem penilaian biner, yang memungkinkan prediksi hasil klinis sederhana dan tepat.^{33,34}

Dalam buku *WHO female genital tract* edisi kelima tahun 2020, karsinoma ovarium dibagi menjadi lima subtype utama yang masing-masingnya

merupakan karsinoma ovarium yang berbeda. Adapun lima subtype utama tersebut adalah karsinoma ovarium serosum *high grade*, karsinoma ovarium serosum *low grade*, karsinoma endometrioid, *clear cell carcinoma* dan karsinoma musinosum. Patologi molekuler telah meningkatkan pengetahuan tentang susunan genomik karsinoma ovarium yang mengidentifikasi perubahan khusus untuk setiap subtype histopatologi.²

Karsinoma ovarium serosum *high grade* dan *low grade* adalah entitas yang terpisah dengan karakteristik morfologi dan molekuler yang sama sekali berbeda. Mutasi TP53 dan BRCA adalah tipikal dari karsinoma ovarium serosum *high grade*, sedangkan mutasi BRAF dan KRAS sering terjadi pada karsinoma ovarium serosum *low grade*. Sekarang diketahui bahwa sebagian besar karsinoma ovarium serosum *high grade* berasal dari lesi prekursor di ujung fimbria tuba fallopi distal yang dikenal sebagai karsinoma intraepithelial tuba, sedangkan hampir semua karsinoma ovarium serosum *low grade* berasal dari tumor jinak dan tumor serosum *borderline*.²

Karsinoma ovarium serosum *low grade* merupakan neoplasma serosum invasif dengan gambaran keganasan *low grade*.⁹ Morfologi Karsinoma ovarium serosum *low grade* ini sering bercampur dengan morfologi tumor serosum *borderline*.³⁵

Karsinoma ovarium serosum *high grade* merupakan karsinoma ovarium *high grade* dengan diferensiasi serosum.⁹ Karsinoma ini terdiri atas sel epitel yang menunjukkan gambaran pola papiler, glandular (sering seperti celah) dan solid dengan atipia inti *high-grade*.³⁶ Karsinoma ovarium serosum *high grade*

merupakan jenis karsinoma ovarium terbanyak dengan insiden sekitar 90% dari semua karsinoma ovarium serosum.³⁷

2.1.2 Klasifikasi

Pemeriksaan imunohistokimia dan molekuler semakin digunakan untuk mengklasifikasikan karsinoma ovarium serosum meskipun gambaran morfologi tetap menjadi andalan dalam diagnosis. Sebelumnya ada perbedaan antara ahli patologi dalam mengklasifikasikan karsinoma ovarium serosum tetapi sekarang klasifikasi dapat ditentukan dengan menggunakan kriteria diagnostik modern yang bila diperlukan dapat dilengkapi dengan imunohistokimia. Klasifikasi tumor ovarium serosum dijabarkan dalam tabel 2.1.⁹

Tabel 2.1. Klasifikasi tumor ovarium serosum menurut WHO 2020.⁹

ICD O	Tumor Epitel Ovarium
Serosus Tumor	
8441/0	<i>Serous cystadenoma NOS</i>
8461/0	<i>Serous surface papilloma</i>
9014/0	<i>Serous adenofibroma NOS</i>
9014/0	<i>Serous cystadenofibroma NOS</i>
8442/1	<i>Serous borderline tumor NOS</i>
8460/2	<i>Serous borderline tumor micropapillary varian</i>
8460/2	<i>Serous carcinoma non invasive, low grade</i>
8460/3	<i>Low grade serous carcinoma</i>
8461/3	<i>High grade serous carcinoma</i>

2.1.3 Epidemiologi

Insiden karsinoma ovarium menempati urutan ke-8 dari semua keganasan yang terbanyak pada perempuan di dunia dan merupakan keganasan terbanyak ke-8 penyebab kematian akibat kanker. Ada sekitar 295.000 kasus baru dan 152.000 kematian setiap tahun.¹ Tipe histopatologi yang paling banyak ditemukan pada keganasan ovarium adalah karsinoma ovarium sub tipe serosum *high grade*.⁹

Di negara-negara barat, insiden karsinoma ovarium sekitar 4% dari keganasan pada perempuan dan merupakan penyebab kematian akibat keganasan ginekologi tertinggi. Pada perempuan Amerika, insiden karsinoma ovarium sekitar 3% dari semua kasus baru karsinoma. Insiden ini menempati urutan ke-11 dan menjadi urutan ke-5 penyebab kematian serta termasuk 5% dari kematian akibat kanker. Di Amerika, diperkirakan pada tahun 2017, ada 22.440 kasus baru karsinoma ovarium dan 14.080 kematian, sehingga menyebabkan kanker ginekologi menjadi keganasan yang paling mematikan. Sekitar 1,3% perempuan Amerika akan menderita karsinoma ovarium dalam hidup mereka, atau 12 kasus baru per 100.000 penduduk.³⁸

Di Asia, estimasi insiden karsinoma ovarium di China sekitar 3,2 per 100.000 penduduk pertahun. Di Indonesia, belum ada data nasional yang melaporkan insiden karsinoma ovarium, namun pada tahun 2002 diperkirakan sekitar 829 kasus baru telah didiagnosis. Insiden karsinoma ovarium meningkat seiring bertambahnya usia dengan puncak insiden terjadi pada usia 50-60 tahun.⁴

Berdasarkan data Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Anatomi Indonesia tahun 2014, insiden karsinoma ovarium di Padang (Sumatera Barat) sekitar 100 kasus pertahun. Insiden karsinoma ovarium ini merupakan keganasan ke-4 tersering pada perempuan di kota Padang.⁶

Rentang usia pasien dengan karsinoma ovarium serosum *low grade* cukup lebar, biasanya satu dekade lebih awal dibanding karsinoma ovarium serosum *high grade* dengan usia rata-rata 43 tahun. Sekelompok kecil pasien memiliki

riwayat tumor serosum *borderline* sebelumnya. Insiden karsinoma ovarium serosum *low grade* ini sekitar 10% dari semua karsinoma ovarium serosum.⁹

2.1.4 Faktor Risiko

Ada beberapa faktor risiko yang diduga berperan dalam perkembangan karsinoma ovarium diantaranya adalah faktor usia, faktor reproduksi, faktor ginekologi, faktor hormonal, faktor genetik, faktor gaya hidup dan faktor lainnya seperti laktasi dan status sosioekonomi. Karsinoma ovarium merupakan penyakit yang sangat berhubungan dengan usia dan terutama muncul setelah menopause. Usia yang lebih tua dihubungkan dengan penyakit stadium lanjut dan angka kelangsungan hidup yang rendah.¹³

Faktor reproduksi dihubungkan dengan siklus menstruasi. Banyak peneliti mengemukakan bahwa terdapat hubungan antara siklus ovulasi dan risiko terjadinya karsinoma ovarium.¹³ Disamping itu nulipara, infertilitas, keterlambatan melahirkan anak, menarke dini dan menopause yang lambat juga menjadi faktor risiko terjadinya karsinoma ovarium.¹² Beberapa studi menunjukkan bahwa perempuan dengan menarke dini (usia <12 tahun) dan menopause terlambat (usia >50 tahun) memiliki risiko lebih tinggi terkena karsinoma ovarium karena jumlah siklus ovulasi yang lebih tinggi. Perempuan dengan menarke dini memiliki risiko 1,1 hingga 1,5 kali lebih tinggi untuk terkena karsinoma ovarium, begitu juga perempuan yang lambat menopause berisiko 1,4-4,6 kali terkena karsinoma ovarium. Sebaliknya, menyusui, kehamilan, dan penggunaan pil kontrasepsi oral yang menekan ovulasi, merupakan faktor protektif untuk karsinoma ovarium.⁴

Penyakit inflamasi pelvis, endometriosis, kista ovarium dan ligasi tuba termasuk faktor risiko ginekologi yang mempengaruhi terjadinya karsinoma ovarium.¹³ Beberapa studi epidemiologi telah menunjukkan hubungan antara kejadian endometriosis dan karsinoma ovarium, namun mekanisme terjadinya belum diketahui.⁴

Faktor hormonal juga dapat memengaruhi insiden karsinoma ovarium diantaranya adalah penggunaan pil kontrasepsi oral, terapi pengganti hormon dan terapi infertilitas. Penggunaan pil kontrasepsi oral yang mengandung progestin dihubungkan dengan reduksi karsinoma ovarium. Penggunaan terapi hormonal kombinasi dengan komponen progesteron dilaporkan dapat menurunkan insiden karsinoma ovarium. Beberapa peneliti mengemukakan bahwa penggunaan obat-obatan yang mengandung hormon estrogen untuk infertilitas yang bertujuan untuk merangsang ovulasi dapat meningkatkan risiko terjadinya karsinoma ovarium.¹³

Faktor genetik meliputi adanya riwayat pribadi atau keluarga yang menderita karsinoma payudara atau karsinoma ovarium, mutasi gen BRCA dan *Lynch syndrome*.¹³ Riwayat pribadi menderita karsinoma payudara dihubungkan dengan peningkatan risiko terjadinya karsinoma ovarium. Risiko juga meningkat bagi perempuan yang memiliki ibu atau saudara perempuan dengan riwayat karsinoma payudara, karsinoma uteri dan karsinoma ovarium.³⁹

Lebih dari seperlima karsinoma ovarium disebabkan oleh adanya mutasi pada gen supresor tumor dan 65-85% tumor ovarium yang diturunkan disebabkan oleh adanya mutasi *germline* pada gen BRCA.^{40,41} Meskipun risiko karsinoma ovarium

pada pembawa mutasi BRCA1 dan BRCA2 kurang dari 3% pada usia 40 tahun, risiko ini meningkat menjadi 10% pada usia 50 tahun. Risiko terjadinya karsinoma ovarium dalam 10 tahun pada individu dengan karsinoma payudara adalah 12,7% dan 6,8% pada pembawa mutasi BRCA1 dan BRCA2.⁴² Risiko kumulatif karsinoma ovarium hingga usia 80 tahun adalah 49% pada pembawa mutasi BRCA1 dan 21% pada pembawa mutasi BRCA2.⁴³ Salpingooforektomi pada individu yang positif BRCA mengurangi risiko karsinoma ovarium sebesar 75%.⁴⁴

Lynch syndrome adalah sindrom predisposisi karsinoma autosomal dominan yang bertanggung jawab atas 10-15% dari total kasus karsinoma ovarium yang diturunkan. Sindrom ini terjadi karena mutasi herediter pada salah satu dari empat gen *repair* DNA (MHL1, MSH2, MSH6, dan PMS2).¹³

Faktor risiko gaya hidup terdiri dari nutrisi dan diet, obesitas dan aktifitas fisik, konsumsi alkohol, kafein dan merokok. Menurut beberapa studi terdapat korelasi positif antara asupan harian ikan dan risiko karsinoma ovarium, dan korelasi ini negatif untuk asupan susu harian. Hasil studi menunjukkan bahwa risiko karsinoma ovarium terkait dengan asupan kolesterol yang lebih tinggi dan risiko ini bisa dikurangi dengan konsumsi sayuran, suplemen vitamin seperti beta-karoten dan vitamin B kompleks. Beberapa ahli mengemukakan bahwa ada peran protektif fitoestrogen dalam perkembangan karsinoma ovarium, dan percaya bahwa pola makan nabati memainkan peran penting dalam pengurangan karsinoma terkait hormon.¹³ Hasil studi lainnya juga mengungkapkan bahwa

peningkatan konsentrasi vitamin D dalam plasma dapat mengurangi risiko karsinoma ovarium.⁴⁵

2.1.5 Patogenesis dan Dasar Molekuler

Teori baru karsinogenesis karsinoma ovarium dibangun dengan mengintegrasikan temuan histopatologi, manifestasi klinis dan molekuler dari semua jenis tumor *borderline* dan karsinoma invasif. Konsep ini menjadi tantangan baru bagi konsep-konsep neoplasia ovarium yang sudah ada dan memiliki implikasi penting untuk pencegahan, deteksi dini, dan terapi. Selain itu, baru-baru ini penelitian telah memberikan bukti bahwa karsinoma ovarium yang dulunya dianggap berasal dari epitel permukaan ovarium, sekarang juga kemungkinan besar berasal dari tuba fallopi dan jaringan non-ovarium seperti endometriosis.³⁸

Teori baru membagi tumor epitel ovarium menjadi 2 kategori besar yaitu tipe I dan tipe II berdasarkan gambaran klinikopatologi dan karakteristik perubahan molekuler. Pembagian ini mengacu pada jalur tumorigenik, bukan mengacu pada terminologi diagnostik histopatologi.³⁸ Pada karsinoma ovarium tipe I lesi prekursor diduga berasal dari ovarium itu sendiri. Dalam hal ini, karsinoma tersebut tumbuh perlahan, biasanya hanya memengaruhi ovarium dan secara genetik stabil.⁴⁶

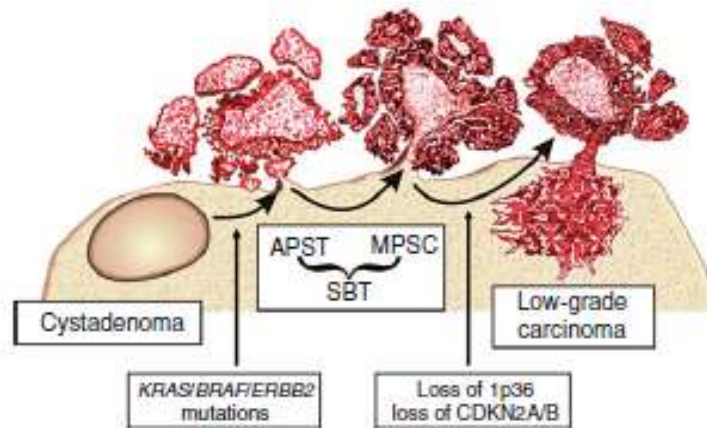
Karsinoma ovarium tipe I merupakan tumor *low grade* yang muncul dari lesi prekursor yang khas seperti tumor dengan proliferasi atipik/*borderline* dan endometriosis. Biasanya sebagian besar muncul sebagai tumor stadium I. Tumor tipe I terdiri dari karsinoma ovarium serosum *low grade*, karsinoma endometrioid *low grade*, karsinoma ovarium musinosum, *clear cell carcinoma* dan tumor

Brenner. Pada *clear cell carcinoma* sebagian besar gambarannya menunjukkan tumor Tipe I, karena berhubungan dengan prekursor endometriosis dan sering muncul pada stadium I. Berbeda dengan tipe I lainnya, *clear cell carcinoma* biasanya *high grade*. Meskipun demikian, data genetika molekuler menunjukkan kesamaan yang lebih besar ke tipe I dibandingkan tipe II.³⁸

Tumor ovarium mengalami serangkaian perubahan morfologi secara berkelanjutan dan menjadi karsinoma ovarium setelah melewati tahap *borderline*. Patogenesis karsinoma ovarium tipe I melalui jalur konvensional dimana kista inklusi epitel ovarium yang menerima stimulasi proliferasi dari lingkungan, akhirnya mengubahnya menjadi sel tumor. Perubahan genetik yang paling umum pada karsinoma ovarium tipe I adalah mutasi gen yang mengkode protein kinase termasuk KRAS, BRAF, PIK3CA, dan ERBB2, serta molekul pensinyalan lainnya termasuk PTEN dan CTNNB1 (β -catenin). Tumor serosum *borderline/atypical proliferative* dan tumor musinosum *borderline* berkembang dari *cystadenoma*, sedangkan endometrioid *borderline* dan *clear cell carcinoma* muncul dari endometriosis, biasanya dari *endometriotic cyst* (endometrioma).³⁸

Meskipun riwayat tumor jinak ovarium tidak dapat diamati secara akurat namun adanya area yang secara morfologi jinak dalam karsinoma dan adanya bukti molekuler akhir-akhir ini menyokong bahwa tumor *borderline* adalah prekursor karsinoma ovarium serosum *low grade*, endometrioid *low grade*, dan musinosum (tumor tipe I). Mutasi KRAS dan BRAF sebagian besar terbatas pada karsinoma ovarium serosum *low grade* dan tumor serosum *borderline* serta menyokong bahwa tumor serosum *borderline* adalah kemungkinan prekursor karsinoma

ovarium serosum *low grade*, tapi bukan prekursor karsinoma ovarium serosum *high grade* (Gambar. 2.1).^{38,47}



Gambar 2.1. Skema patogenesis karsinoma ovarium serosum *low grade* (Tumor tipe I). Modifikasi Singer dkk. 2005.³⁸

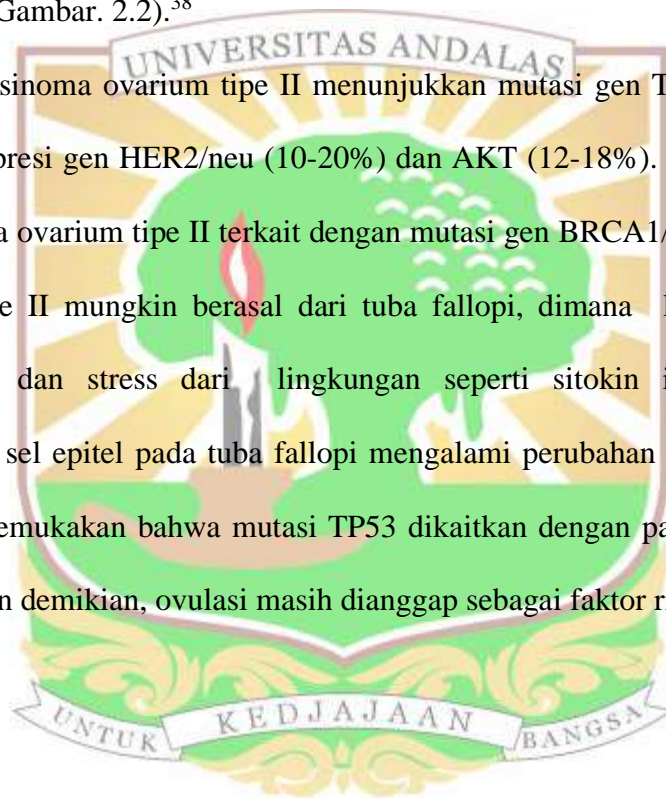
Mutasi KRAS dan BRAF kurang terlihat pada *cystadenoma* serosum, yang diduga sebagai prekursor tumor serosum *borderline*. Mutasi KRAS atau BRAF jelas terdeteksi pada tumor serosum *borderline* dan pada epitel *cystadenoma* serosum dengan fokus tumor serosum *borderline*. Temuan ini mengemukakan bahwa mutasi KRAS dan BRAF adalah proses awal yang dihubungkan dengan inisiasi tumor serosum. Proses ini terjadi pada satu subset dari *cystadenoma* serosum yang mengalami mutasi KRAS atau BRAF dan selanjutnya berkembang menjadi tumor serosum *borderline*.³⁸

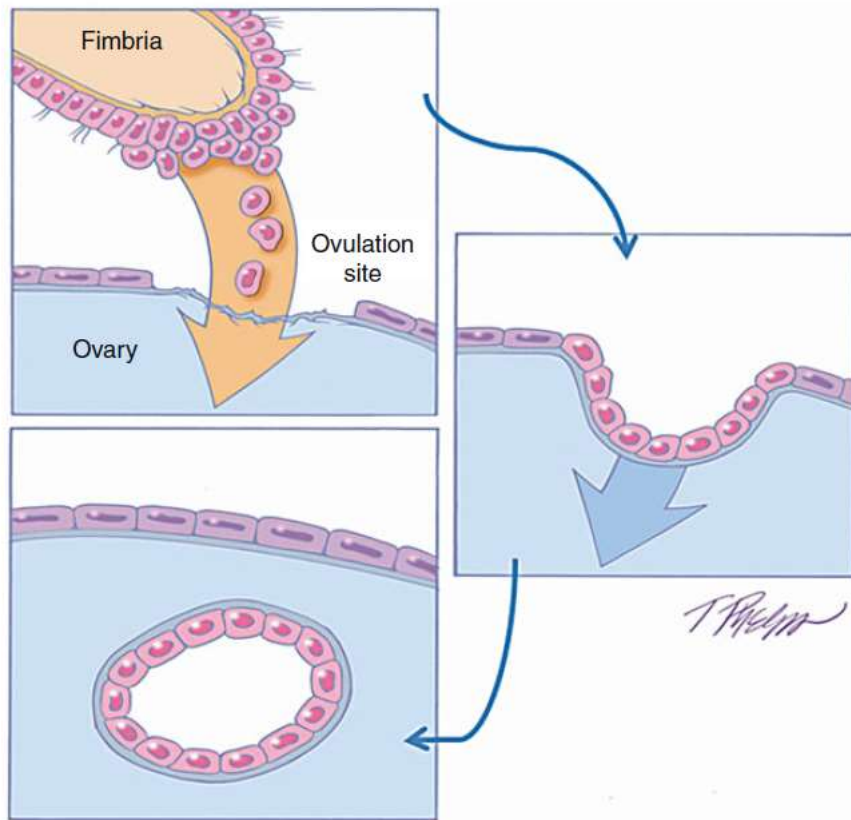
Tumor tipe II terdiri atas karsinoma ovarium serosum *high grade*, karsinoma endometrioid *high grade*, *malignant mixed mesodermal tumor (carcinosarcoma)*, dan *undifferentiated carcinoma*.⁴⁷ Berbeda dengan karsinoma ovarium tipe I, lesi prekursor pada karsinoma ovarium tipe II diduga berasal dari luar ovarium, salah satunya dari tuba fallopi. Karsinoma ovarium tipe II cenderung tumbuh lebih

agresif, secara genetik tidak stabil, dan biasanya didiagnosis pada stadium lanjut.^{46,48}

Tumor tipe II sebagian besar adalah karsinoma ovarium serosum *high grade*, biasanya lebih agresif, dan neoplasma *high grade* sejak awal, dahulu disebut “denovo”. Data terbaru menunjukkan bahwa karsinoma ovarium serosum *high grade* berasal dari karsinoma intraepitelial, yang sebagian besar telah terdeteksi di fimbria tuba (Gambar. 2.2).³⁸

Mayoritas karsinoma ovarium tipe II menunjukkan mutasi gen TP53 (50- 80%), juga over ekspresi gen HER2/neu (10-20%) dan AKT (12-18%). Hampir separuh dari karsinoma ovarium tipe II terkait dengan mutasi gen BRCA1/2. Sel prekursor karsinoma tipe II mungkin berasal dari tuba fallopi, dimana kombinasi dari mutasi TP53 dan stress dari lingkungan seperti sitokin inflamasi, ROS menyebabkan sel epitel pada tuba fallopi mengalami perubahan neoplastik. Para peneliti mengemukakan bahwa mutasi TP53 dikaitkan dengan paritas yang lebih rendah, dengan demikian, ovulasi masih dianggap sebagai faktor risiko mutasi gen TP53.^{46,48}





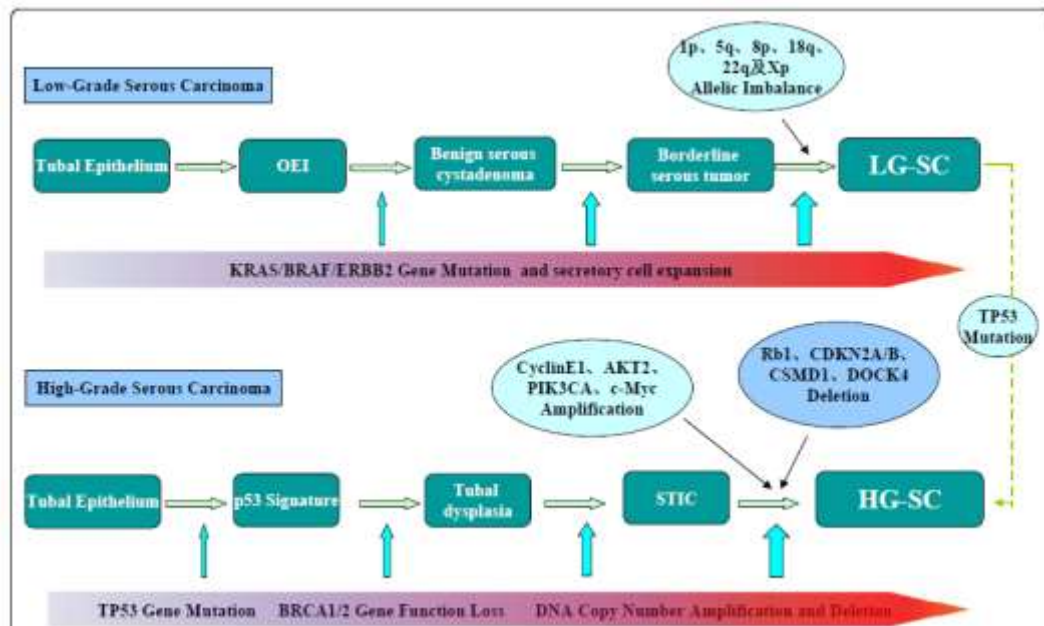
Gambar 2.2. Skema mekanisme asal inklusi epitel permukaan ovarium dari epitel fimbria. Sel epitel dari fimbria tertanam pada daerah ruptur ovarium ketika terjadi ovulasi. Sel epitel ini dapat mengalami invaginasi membentuk kista inklusi kortikal.³⁸

Proses molekuler utama yang terjadi pada karsinoma ovarium serosum *high grade* melibatkan gen TP53, BRCA1 dan BRCA2. Mutasi pada TP53 terlihat pada setidaknya 96% kasus, dan perubahan BRCA1/2 terlihat pada 22% tumor karena kombinasi mutasi *germline* dan somatik. Secara umum, sebagian besar mutasi pada TP53 adalah pergeseran kerangka atau mutasi *nonsense* yang meningkatkan stabilitas protein yang diubah dan dipotong, sehingga menyebabkan akumulasi dan dapat dideteksi dengan imunohistokimia. Namun, mutasi kadang-kadang berupa insersi, delesi atau penghentian kodon yang menyebabkan kurangnya produksi p53.⁴⁷

Pewarnaan p53 intens dan mutasi TP53 telah terlihat pada p53 *signature* dan karsinoma intraepithelial serosum tuba fallopi. Dengan demikian, hingga saat ini, mutasi TP53 adalah perubahan paling awal yang telah dikaitkan dengan lesi prekursor karsinoma ovarium serosum *high grade*, dan tampaknya merupakan proses awal terjadinya karsinoma ovarium serosum *high grade*.⁴⁷

Gen BRCA memberi kode protein inti yang berperan dalam *repair* DNA melalui rekombinasi homolog *non error prone*.⁴⁹ Mutasi gen BRCA1 atau BRCA2 mewakili faktor risiko tinggi untuk karsinoma ovarium serosum *high grade*, dan perempuan yang mengalami mutasi tersebut memiliki kemungkinan 30% hingga 70% untuk menderita karsinoma ovarium pada usia 70 tahun.⁵⁰ Mutasi ini biasanya terjadi pada kasus karsinoma ovarium serosum *high grade* herediter dan frekuensi mutasi *germline* BRCA1 atau BRCA2 sebanyak 18% pada kohort berbasis populasi perempuan dengan karsinoma ovarium serosum.⁵¹

Mutasi TP53 dan inaktivasi BRCA1 atau BRCA2 adalah dua proses awal pada karsinoma ovarium serosum *high grade*, dan urutan karsinogenesis spesifik dari perubahan gen ini sudah lebih jelas. p53 *signature* sering terjadi pada perempuan dengan dan tanpa mutasi bawaan BRCA1 atau BRCA2.⁴⁷ Semua karsinoma ovarium serosum *high grade*, termasuk tumor yang paling awal menunjukkan tingkat ketidakseimbangan alel yang tinggi.⁵² Analisis genomik yang luas dari perubahan jumlah salinan DNA telah menunjukkan jumlah amplifikasi dan delesi yang signifikan. Perubahan molekuler utama dan yang paling sering adalah pada cyclin E1, AKT2, Notch3, PIK3CA, c-Myc, RB1, CDKN2A/B, CDK12, CSMD1, CSMD3, DOCK4, NF1, FAT3, GABRA6 yang dirangkum dalam (Gambar 2.3).⁴⁷



Gambar 2.3. Perubahan molekuler dan karsinogenesis karsinoma ovarium serosum. Perkembangan karsinoma ovarium serosum *low grade* dimulai dari epitel tuba, yang berinvaginasi ke dalam stroma ovarium membentuk inklusi epitel ovarium. Selanjutnya inklusi epitel ovarium tumbuh menjadi *cystadenoma* serosum, tumor serosum *borderline*, karsinoma ovarium serosum *low grade* secara bertahap. Perubahan molekuler yang paling umum adalah mutasi KRAS, BRAF, atau ERBB2 yang meningkat dalam proses ini seperti yang ditunjukkan pada panel atas. Perubahan kromosom lebih sering terjadi sebelum perkembangan menjadi karsinoma ovarium serosum *low grade*. Berbeda dengan karsinoma ovarium serosum *high grade* yang berkembang pada jalur yang berbeda. Dimulai dari epitel tuba, kemudian berkembang menjadi prekarsinoma laten (*p53 signature*), prekarsinoma (displasia tuba), karsinoma dini (karsinoma intraepitel serosum/ STIC), hingga menjadi karsinoma ovarium serosum *high grade*. Dengan proses ini, perubahan molekul paling awal adalah mutasi gen TP53 seperti yang ditunjukkan pada panel bawah. Perubahan molekuler lainnya termasuk dalam gambar. Ada sekitar 10% atau kurang karsinoma ovarium serosum *low grade* yang dapat berkembang menjadi karsinoma ovarium serosum *high grade* setelah mengalami mutasi p53.⁴⁷

2.1.6 Gejala Klinis

Gejala klinis karsinoma ovarium serosum *high grade* mirip dengan *low grade* bedanya karsinoma ovarium serosum *high grade* sering ditemukan pada perempuan dengan usia yang lebih tua (usia rata-rata 60 tahun). Berbeda dengan tumor *low grade*, karsinoma ovarium serosum *high grade* merupakan neoplasma agresif yang berkembang pesat dengan jalur perkembangan utamanya diperkirakan melibatkan mutasi p53 daripada mutasi pada gen KRAS, BRAF, atau

ERBB2.³⁷ Karsinoma ovarium serosum *low grade* sering asimtomatik dan ditemukan secara kebetulan, kadang-kadang pasien datang dengan keluhan perut membesar, sakit perut bagian bawah (*pelvic*), gejala saluran kemih, gejala gastrointestinal dan asites. Ditemukan juga adanya peningkatan serum CA-125. Sebagian besar kasus berada pada stadium lanjut (stadium III) saat didiagnosis. Tumor ini sering juga ditemukan bilateral.¹²

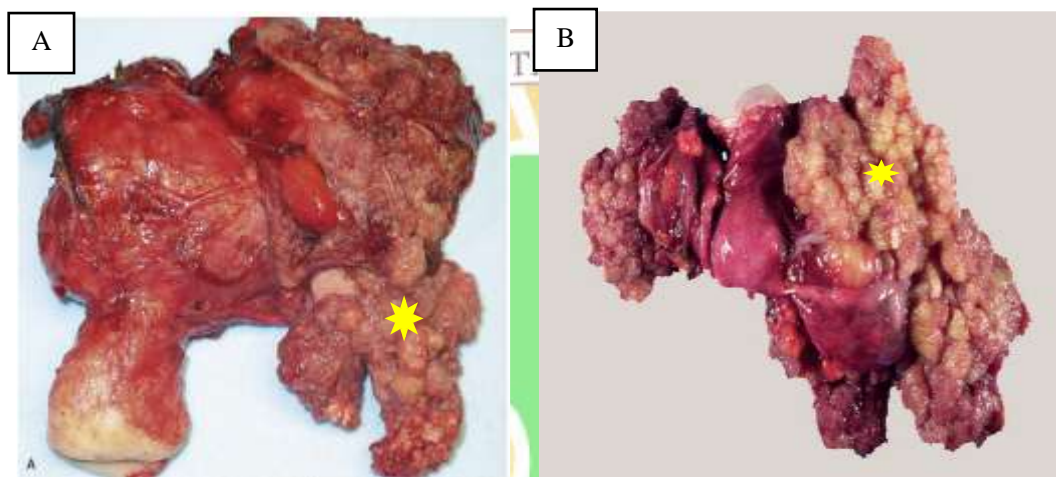
Gejala karsinoma ovarium serosum *high grade* relatif tidak spesifik, sering menunjukkan gejala gastrointestinal seperti mual, anoreksia, distensi abdomen, rasa cepat kenyang, kembung, nyeri perut, tenesmus, konstipasi, nyeri punggung dan juga sering buang air kecil. Diagnosis karsinoma ovarium serosum *high grade* sering terlambat karena gejala yang tidak spesifik. Gambaran pencitraan menunjukkan massa pelvis yang besar, kompleks, hipervaskularisasi, asites, dan nodul pada omentum atau peritoneum. Serum CA125 biasanya meningkat dengan nilai median berkisar antara 500-1000 U/ml pada penyakit yang lebih lanjut.^{12,36}

2.1.7 Gambaran Makroskopik

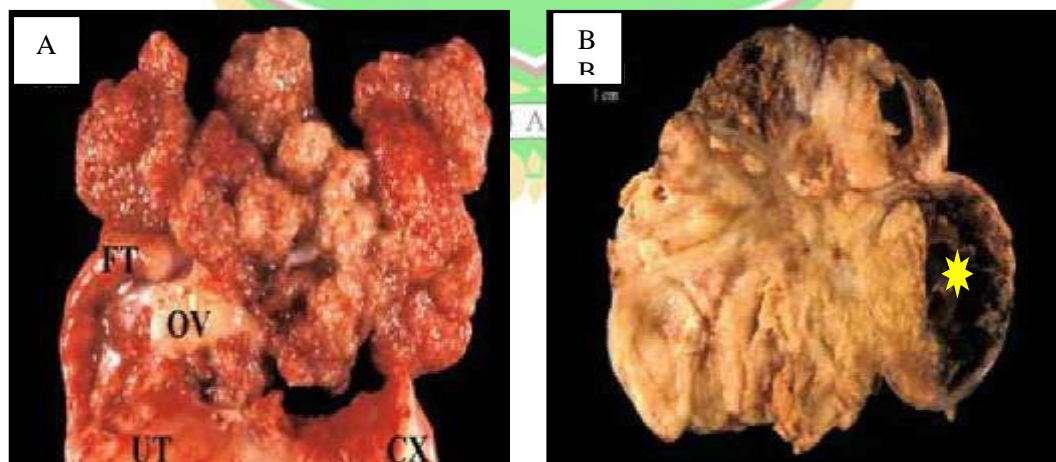
Secara umum, karsinoma ovarium serosum *low grade* ini sering bilateral. Tumor terdiri dari massa besar multikistik, dengan pertumbuhan berpapil. Ukuran rata-rata 8 cm dan sering secara makroskopik memperlihatkan komponen papiler non invasif. Pada massa yang banyak *psammoma bodies* dapat memberikan konsistensi berpasir sampai kalsifikasi (Gambar 2.4).^{9,37}

Gambaran makroskopik karsinoma ovarium serosum *high grade* biasanya bilateral, massa besar dengan ukuran rata-rata lebih dari 10cm dengan pertumbuhan eksofitik, adanya massa solid, pertumbuhan berpapil dan kista yang

berisi cairan. Area solid biasanya berwarna coklat sampai putih dan sering memperlihatkan adanya area hemoragik serta nekrosis yang luas. Jaringan tuba falopi sering terperangkap dalam tumor ovarium dan biasanya tidak bisa dikenali secara makroskopik. Nodul tumor yang kecil kadang-kadang ditemukan pada fimbria tuba.⁹ Tuba fallopi dapat lengket dengan massa atau bisa tertanam secara parsial atau seluruhnya (Gambar 2.5).¹²



Gambar 2.4. Makroskopik karsinoma ovarium serosum *low grade*. A,B. Predominan tumor dengan pertumbuhan eksofitik berpapil (bintang kuning).^{37,53}



Gambar 2.5. Makroskopik karsinoma ovarium serosum *high grade*. (A). Tampak tumor melekat pada permukaan ovarium membentuk agregat polipoid dan berpapil. Tampak tumor berasal dari fimbria tuba fallopi. (B). Tampak penampang tumor terdiri atas campuran massa solid, area nekrosis (bintang) dan degenerasi kistik serta perdarahan.³⁷

Penampang potongan berupa daerah solid berwarna merah muda sampai abu-abu dengan konsistensi lunak atau kenyal. Perdarahan dan nekrosis sering ditemukan. Metastasis ke omentum digambarkan dengan adanya nodul kenyal dengan ukuran bervariasi, penampang potongan berwarna putih atau abu-abu. Omentum yang normal secara makroskopik, bisa mengandung tumor pada gambaran mikroskopiknya sekitar 20% kasus.³⁸

2.1.8 Gambaran Mikroskopik

Perbedaan antara karsinoma ovarium serosum *low grade* dan *high grade* terutama berdasarkan pada gambaran inti dan indeks mitosis (Tabel 2.2)¹²

Tabel 2.2. Sistem *grading* karsinoma ovarium serosum *low grade* dan karsinoma ovarium serosum *high grade*.¹²

	Low grade	High grade
Inti	Inti uniform, bulat-oval	Inti pleomorfik,
Kromatin	Halus	Kasar
Indeks mitosis	<12 mitosis/10HPF	≥12 mitosis/10HPF

Secara mikroskopik karsinoma ovarium serosum *low grade* memperlihatkan adanya invasi ke stroma yang destruktif (≥ 5 mm perluasan ke stroma). Adanya pola/arsitektur yang bervariasi berupa komponen sel tumor invasif yang tumbuh membentuk sarang-sarang kecil ireguler dan menginfiltrasi stroma desmoplastik, glandular, papiler atau mikropapiler yang *haphazard* dan makropapiler *inverted* yang sering terapung di dalam ruang kosong (lakunar)/*stromal cleft*. Beberapa pola invasi sering muncul dalam bentuk sel tumor individual.^{9,12}

Sel tumor berbentuk *tall* atau kolumnar uniform kadang-kadang bersilia dengan atipia inti ringan sampai sedang. Ukuran inti bervariasi sampai < 3 x ukuran inti normal. Kadang-kadang anak inti nyata di sentral dan aktivitas mitosis rendah.

Indeks mitosis biasanya rendah ($< 12/10\text{HPF}$). *Psammoma bodies* sering terlihat namun nekrosis jarang ditemukan (Gambar 2.6). Tumor ini sering dikaitkan dengan tumor serosum *borderline*. Tumor biasanya positif difus dengan pemeriksaan imunohistokimia CK7, PAX8, ER dan WT1. Ekspresi p16 *patchy* dan p53 menunjukkan imunoreaktivitas *wild type*.^{9,12}

Karsinoma ovarium serosum *high grade* dalam bentuk klasik digambarkan dengan pertumbuhan papiler bercabang kompleks dan kelenjar yang dilapisi oleh sel-sel yang kehilangan polaritas dengan inti pleomorfik. Sel tumbuh membentuk struktur mikropapiler dan celah sempit. Pada stroma tampak gambaran invasi yang destruktif oleh sel-sel dengan inti atipik dengan pertumbuhan konfluen, glandular, *papiler* dan sarang-sarang sel tumor yang tersusun ireguler.¹²

Sel-sel menunjukkan gambaran inti yang atipik, bulat-pleomorfik dengan *N/C ratio* meningkat, kromatin kasar, anak inti nyata (kadang-kadang dengan gambaran merah buah ceri), adanya sel *bizzare* dengan inti besar (Gambar 2.7). Mitosis biasanya banyak (≥ 12 mitosis/10HPF).¹²

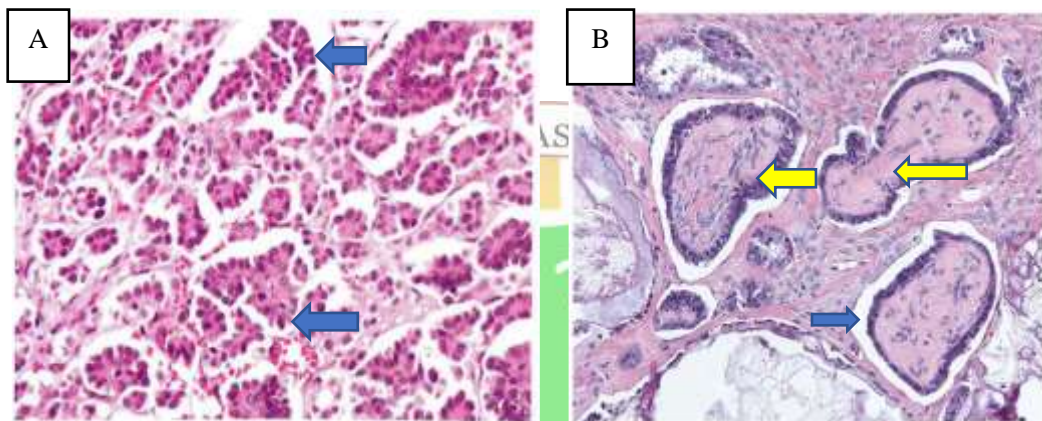
2.1.9 Stadium Tumor Ovarium

Penentuan stadium tumor ovarium berdasarkan sistem FIGO dapat dilihat pada Tabel 2.3. Stadium FIGO ini terdiri dari stadium I-IV.⁹

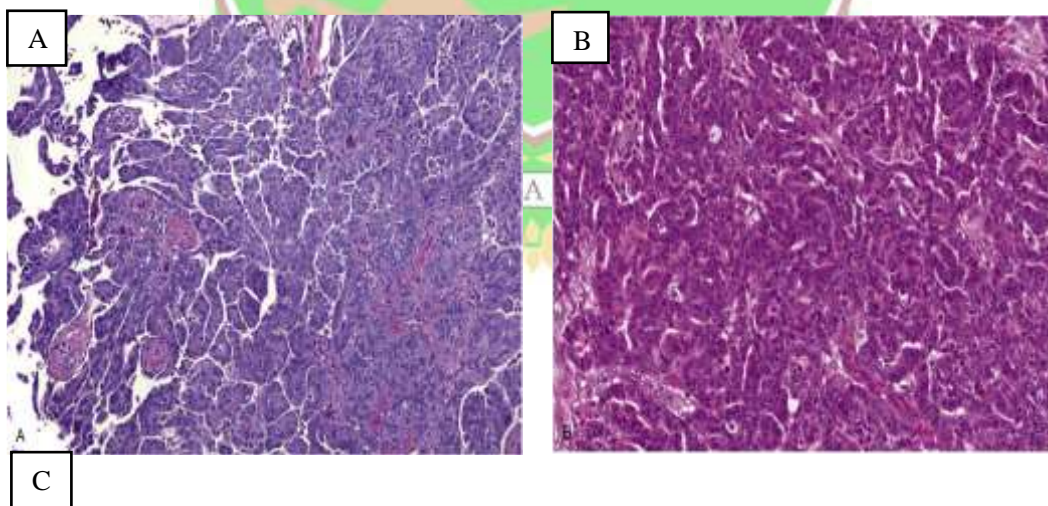
2.1.10 Terapi

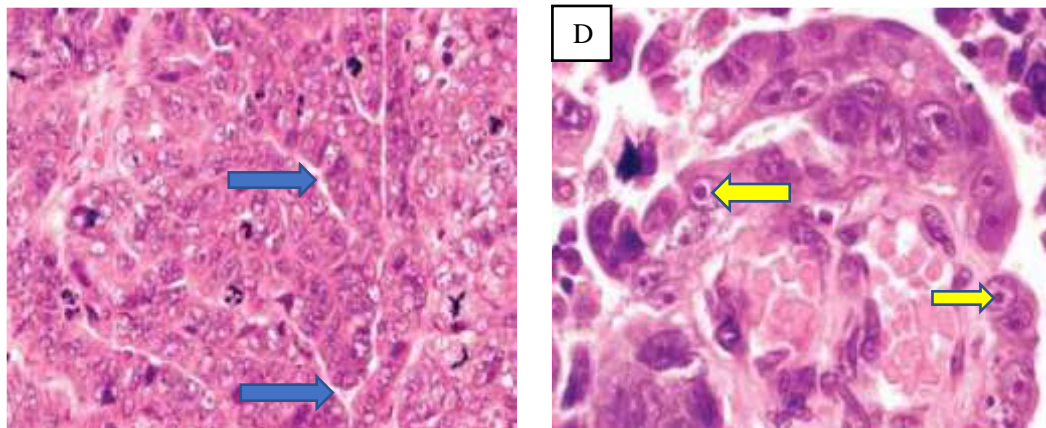
Standar terapi lini pertama pada karsinoma ovarium adalah kombinasi operasi dan kemoterapi berbasis carboplatin/paclitaxel (platinum). Operasi *debulking* primer yang diikuti dengan kemoterapi telah menjadi standar terapi

lanjutan pada karsinoma ovarium sejak 1980-an, meskipun saat itu hanya sedikit yang melaporkan manfaatnya. Tidak adanya sisa tumor setelah operasi *debulking* primer adalah faktor prognostik yang paling penting untuk kelangsungan hidup pasien.⁷



Gambar 2.6. Mikroskopik karsinoma ovarium serosum *low grade*. A. Struktur mikropapiler terdiri atas sel-sel dengan inti hampir seragam (panah biru) dan tanpa adanya mitosis. B. Struktur makropapiler *inverted* (panah kuning) dikelilingi oleh *stromal cleft* (panah biru).^{9,12}





Gambar 2.7 Mikroskopik *karsinoma ovarium serosum high grade*. A. Pada bentuk klasik, tumor menunjukkan gambaran pertumbuhan papiler dengan percabangan hirarki. B. Ruang luminal yang menjadi sempit karena sel tumor membentuk seperti celah. C. Sel tumor dengan inti pleomorfik, mitosis banyak, adanya *slit like space* (panah biru) yang karakteristik untuk tumor diferensiasi serosum. D. Sel tumor dengan makronukleoli (panah kuning).^{12,37}

Tabel 2.3 Stadium Tumor Ovarium.⁹

TNM Categories	FIGO Stages	Definition
Tx		Tumor primer tidak dapat dinilai
T0		Tidak ada riwayat tumor primer
T1	I	Tumor terbatas di ovarium (satu/dua) atau Tuba Falopii
T1a	IA	Tumor terbatas pada satu ovarium/tuba falopii, kapsul intak, tak ditemukan tumor dipermukaan ovarium, tak ada sel maligna pada cairan asites atau pada bilasan peritoneal
T1b	IB	Tumor terbatas pada dua ovarium/tuba falopii, kapsul intak, tak ditemukan tumor dipermukaan ovarium, tak ada sel maligna pada cairan asites atau pada bilasan peritoneal
T1c	IC	Tumor terbatas pada satu/dua ovarium/tuba falopii, dengan diikuti :
T1c1		Jaringan operasi bentuk fragmen
T1c2		Kapsul ruptur sebelum operasi atau ada tumor di permukaan ovarium atau tuba falopii.
T1c3		Ditemukan sel maligna di cairan asites atau bilasan peritoneum.
T2	II	Tumor mengenai satu/dua ovarium atau tuba falopii dengan perluasan ke pelvis, atau primer di peritoneum.
T2a	IIA	Ada infiltrasi/implant pada uterus dan atau tuba falopii /ovarium.
T2b	IIB	Ada perluasan ke jaringan sekitar pelvik termasuk saluran cerna dalam rongga pelvik.
T3 and/or N1	III ^a	Tumor mengenai satu/dua ovarium atau tuba falopii atau karsinoma primer peritoneum dengan penyebaran ke peritoneum diluar pelvik yang dikonfirmasi dari sitologi atau histopatologi dan/atau ada metastasis ke KGB

N1		retroperitoneal
N1a	IIIA1i	Hanya metastasis ke retroperitoneal
N1b	IIIA1ii	Metastasis ke KGB dengan ukuran kurang dari 10 mm
T3a any N	IIIA2	Metastasis ke KGB dengan ukuran >10 mm
T3b any N	IIIB	Mikroskopik ekstrapelvik (diatas rongga panggul) keterlibatan peritoneum dengan/tanpa KGB retroperitoneum termasuk keterlibatan usus.
T3c any N	IIIC	Secara makroskopik ada metastasis di luar rongga pelvik ukuran 2cm/kurang termasuk keterlibatan usus di luar pelvik dengan/tanpa KGB retroperitoneal.
M1	IV	Metastasis peritoneum di luar rongga pelvik ukuran >2cm dan/atau metastasis KGB retroperitoneum (termasuk perluasan tumor ke kapsul hepar dan limpa tanpa melibatkan parenkim atau organ lain).
M1a	IVA	Metastasis jauh (Tidak termasuk metastasis peritoneal)
M1b ^b	IVB	Efusi pleura dengan sitologi positif
		Metastasis ke parenkim dan metastasis ke organ ekstra abdomen (termasuk KGB inguinal dan KGB di luar rongga abdomen).

Pada *staging* yang komprehensif umumnya terapi pasien dengan stadium I/II cukup dengan operasi. Pasien dengan penyakit stadium lanjut sering memerlukan *debulking*, atau operasi sitoreduktif. Pembedahan sitoreduktif, baik primer dan sekunder, memperpanjang kelangsungan hidup dan interval *progression free*.³⁸

Kemoterapi platinum dan *paclitaxel* (berbasis platinum) pada pasien dengan penyakit stadium lanjut (FIGO IIB, III, dan IV) besar manfaatnya. Kemoterapi berbasis platinum telah menghasilkan peningkatan yang signifikan dalam hal tingkat respon, durasi respon, *progression free*, dan kelangsungan hidup secara keseluruhan. Waktu rata-rata kekambuhan pertama adalah 16 bulan. Kelangsungan hidup jangka panjang (lebih dari 5 tahun) dapat dicapai dengan kemoterapi kombinasi berbasis platinum pada hampir setengah dari pasien dengan stadium III yang masih ada sedikit sisa tumornya.³⁸

Saat ini, *initial response rate* (RR) kemoterapi adalah 60–80%, namun 70% pasien stadium lanjut akan kambuh dalam waktu 5 tahun, dan banyak dari mereka menjadi resistan terhadap obat. Untuk pasien yang resisten platinum,

harapan hidup tidak melebihi 1 tahun. Sebagian besar pasien yang sensitif terhadap terapi lini pertama juga mengalami kekambuhan dalam 2 tahun sejak diagnosis, sehingga penting untuk menemukan terapi baru untuk meningkatkan kelangsungan hidup.⁵⁴

Imunoterapi mengalami perkembangan yang pesat dalam beberapa tahun terakhir dan memberikan hasil yang menggembirakan pada melanoma, kanker paru-paru *non small cell*, kanker ginjal dan urothelial. Karsinoma ovarium telah lama dianggap sebagai neoplasma dengan imunogenik yang buruk, tetapi bukti mekanisme *immune evasion*, regresi tumor spontan dan respon terhadap *immune check point inhibitor* telah membuktikan sebaliknya. Banyak penelitian telah dilakukan, dan beberapa bukti menunjukkan bahwa karsinoma ovarium dapat memperoleh manfaat dari imunoterapi.⁵⁴

Imunoterapi terdiri dari tiga strategi berbeda yaitu imunoterapi aktif, imunoterapi pasif, dan imunomodulasi (Tabel 2.4). Imunoterapi aktif bertujuan merangsang respons antitumor dari sistem imun pasien itu sendiri yang juga mendorong memori imunologis. Imunoterapi pasif menggunakan pemberian komponen imun yang secara langsung bertindak dan meningkatkan respons antitumor. Imunomodulasi mencakup semua pendekatan yang hampir tidak dapat diklasifikasikan, untuk meningkatkan respons imun secara umum. Peran potensial dari respon imun telah diselidiki pada karsinoma ovarium dan dalam beberapa penelitian ditemukan korelasi antara densitas TIL, ekspresi PD-L1 dan kelangsungan hidup.⁵⁴

Immune check point inhibitor merupakan agen target jalur regulasi imunitas seperti PD-1/PD-L1 dapat memberikan peluang baru untuk pengobatan karsinoma ovarium. Agen target ini telah dibuktikan pada karsinoma paru-paru dan beberapa organ lain, dimana respon klinis berkorelasi dengan ekspresi PD-L1 dalam sel tumor dan sel imun yang menginfiltrasi tumor.³⁸

Tabel 2.4. Jenis Imunoterapi Karsinoma ovarium.⁵⁴

Mekanisme kerja	Kelas	
Aktif	Vaksin kanker (pencegahan/pengobatan)	Sel Dendritik Peptida Alogenik
	Inhibitor <i>immune check point</i>	Anti CTLA-4 Anti PD-1/PD-L1
Pasif	Antibodi monoclonal (MAB)	
	Sitokin	
	Transfer sel adopsi	<i>MHC-Independent</i>
		<i>MHC dependent</i>
Imunomodulasi	Obatnya sulit diklasifikasikan	<i>IDO Inhibitor</i>
		<i>COX-2 Inhibitor</i>

2.2. *Tumor Infiltrating Lymphocyte (TIL)*

Tumor Infiltrating Lymphocyte (TIL) merupakan sejumlah limfosit T dan B yang berasal dari peredaran darah masuk ke lingkungan mikro tumor sebagai bentuk respon imun pejamu.⁵⁵ Lingkungan mikro tumor secara konseptual dapat dianggap sebagai suatu lapangan olahraga/permainan dimana pemain utamanya adalah komponen-komponen seluler residen dan non-residen, yang masing-masingnya memiliki peran tertentu dan saling berhubungan satu sama lain melalui suatu jaringan kompleks mediator-mediator terlarut. Kaitan antara sel-sel ini dan sel-sel tumor dalam lingkungan mikro tersebut sangat menentukan kelanjutan perkembangan tumor. Sel-sel imun yang menginfiltrasi jaringan tumor ditransportasikan ke lokasi tersebut melalui sirkulasi darah dan dapat

menimbulkan berbagai efek, baik efek yang menghalangi maupun membantu pertumbuhan tumor.⁵⁶

Tumor Infiltrating Lymphocyte bisa terdapat pada tumor primer karsinoma ovarium atau lesi metastatik lanjut. Bisa terdapat pada kompartemen intratumoral atau stroma, dan bisa terdapat dalam bentuk TIL yang berbeda, tergantung pada stadium penyakitnya, manajemen terapi, respon kemoterapi, dan memiliki signifikansi prognostik.⁵⁵

Sekitar 55% pasien dengan karsinoma ovarium menunjukkan respon imun antitumor spontan. Pada pasien-pasien ini biasanya terdapat akumulasi sel limfosit T intratumoral, kelangsungan hidup yang lebih lama dan respon terhadap kemoterapi yang lebih baik. Respon imun spontan tersebut dapat dideteksi pada darah tepi, tumor, dan asites.⁵⁷

Tumor Infiltrating Lymphocyte telah diketahui ada di dalam jaringan tumor ovarium, hal ini membuktikan adanya interaksi antara sistem imun dan karsinoma. Pada karsinoma, keberadaan TIL berhubungan dengan kelangsungan hidup pasien. *Tumor Infiltrating Lymphocyte* terbukti memiliki peran pada beberapa keganasan, termasuk keganasan ginekologi, terutama karsinoma ovarium. Dengan asumsi bahwa infiltrasi limfosit ke tumor mencerminkan respon imun spesifik terhadap tumor maka TIL dapat dipakai sebagai penanda potensial untuk menilai intensitas respon imun terhadap tumor. Adanya limfosit T di lingkungan mikro menjadi faktor prognostik pada beberapa tumor, termasuk keganasan ginekologi. Limfosit yang menyusup secara difus ke seluruh komponen

tumor invasif atau ke seluruh dasar pertumbuhan tumor berkaitan dengan prognosis yang baik.⁵⁸

Populasi sel T yang berbeda perlu dipelajari pada saat diagnosis, setelah operasi, dan pada setiap program kemoterapi untuk menentukan pentingnya subset sel T pada berbagai tahap perkembangan tumor, serta untuk menentukan apakah pengobatan berjalan efektif dalam mengurangi sel T regulator. Akhirnya, adanya parameter sistem imun yang baik penting untuk memantau status imunologi pasien yang terkena karsinoma ovarium. Pemahaman yang baik terhadap TIL terbukti bermanfaat untuk analisis lebih dalam dan mendapatkan langkah personalisasi terapi.⁵⁸

Tumor Infiltrating Lymphocyte dapat ditemukan di stroma (peritumoral) dan di dalam tumor itu sendiri (intratumoral). *Tumor Infiltrating Lymphocyte* merupakan populasi yang heterogen, termasuk di antaranya sel T CD8 dan CD4 serta sel B (CD20) dalam proporsi yang bervariasi, namun sel T yang paling banyak ditemukan. Adanya TIL CD8 dikaitkan dengan peningkatan kelangsungan hidup di sebagian besar tumor padat. Pemahaman yang baik tentang berbagai macam TIL akan membuat prognosis, prediksi respon imunoterapi terhadap karsinoma ovarium menjadi lebih baik.¹⁷

Korelasi yang lebih bermakna telah dilaporkan ketika TIL CD8+ terletak di intratumoral dibandingkan dengan di stroma. Beberapa studi telah memaparkan mekanisme terjadinya proses tersebut. Baru-baru ini telah diselidiki pula penanda spesifik (CD103) dari sel T spesifik antigen dalam epitel jaringan yang muncul untuk memediasi kekebalan protektif antitumor. CD103 dalam epitel banyak

menyusup ke jaringan karsinoma ovarium dan berkorelasi kuat dengan peningkatan kelangsungan hidup.⁵⁹

Tumor Infiltrating Lymphocyte sangat bervariasi pada sub tipe karsinoma ovarium yang berbeda. Milne dkk. menilai infiltrasi leukosit dan ekspresi penanda imun pada sebagian besar pasien dengan karsinoma ovarium, termasuk 199 kasus karsinoma ovarium serosum *high grade*, 132 kasus *clear cell carcinoma*, 125 kasus karsinoma endometrioid, dan 31 kasus karsinoma ovarium musinosum. Milne dkk. menemukan bahwa karsinoma ovarium serosum *high grade* menunjukkan frekuensi tertinggi sel CD45 dan lebih sering mengandung sel imun lain yang mengekspresikan FoxP3, CD25 dan CD20, dibandingkan dengan sub tipe lainnya.⁶⁰

Lokasi TIL mungkin memiliki arti khusus dalam karsinoma ovarium. Berdasarkan deskripsi dari TIL intratumoral pada karsinoma ovarium, sebagian besar penelitian telah difokuskan pada kompartemen intratumoral. Stumpf dkk. melaporkan bahwa densitas TIL intratumoral yang tinggi, berkaitan dengan peningkatan kelangsungan hidup, namun tidak demikian halnya dengan TIL di stroma. Temuan serupa dilaporkan oleh Darb-Esfahani dkk. Webb dkk. telah membuktikan bahwa tingginya kadar CD103, berkontribusi terhadap prognosis yang lebih baik, hal ini terlihat dengan densitas TIL yang tinggi. Demikian pula, Bosmuller dkk. menemukan CD103 menambahkan nilai prognostik untuk penanda sel T konvensional dalam penilaian TIL pada karsinoma ovarium. Namun, 2 penelitian telah melaporkan nilai prognostik penting dari TIL di stroma, mirip dengan yang terlihat di intratumoral. Selain itu, interaksi penting antara sel

T, sel B dan sel plasma dijelaskan oleh Nielsen dkk. dan Kroeger dkk. dan pembentukan struktur limfoid tersier, terjadi terutama di stroma tumor. Karena itu meskipun TIL intratumoral jelas telah didemonstrasikan dengan baik signifikansi prognostiknya pada karsinoma ovarium, TIL di stroma juga harus dipertimbangkan saat mengevaluasi TIL pada tumor ini.¹⁹

Antara pasien yang menderita karsinoma ovarium serosum *high grade* bisa berbeda densitas TIL-nya. Akibatnya, karsinoma ovarium serosum *high grade* dibedakan menjadi tumor tipe inflamasi dan tipe non-inflamasi. Tumor tipe inflamasi dicirikan oleh densitas sel T CD8 yang tinggi pada tumor. Tumor tersebut menunjukkan tingginya ekspresi gen yang mengodekan molekul MHC kelas I dan II, serta komponen pemroses MHC kelas I Ag. Hal ini menunjukkan bahwa presentasi Ag mungkin menjadi penentu penting dari infiltrasi sel-T. Sesuai dengan gagasan ini, tumor dengan mutasi dari gen BRCA1/2 atau TP53 memiliki peningkatan densitas TIL. Hal ini menunjukkan bahwa perbaikan DNA yang rusak dan ketidakstabilan genomik pada tumor dapat menyebabkan generasi neoAgs yang memicu respons sel T inang. Tumor dengan inflamasi sel-T dicirikan oleh ekspresi gen yang tinggi terkait dengan pensinyalan TCR, respons IFN, sitotoksitas, kemokin, dan reseptor kemokin, inflamasi dan CT Ags, serta adanya mekanisme penekanan imunitas dengan tingginya kadar PD-L1, PD-1, LAG-3 dan penghambatan reseptor lainnya.¹¹

Tumor non inflamasi ditandai dengan tidak adanya sel T di dasar dan di pinggir tumor. Ciri khas dari karsinoma ovarium serosum non inflamasi adalah pensinyalan WNT/ β -catenin yang merusak *priming* sel T. Tumor ini juga

mengekspresikan gen yang terlibat dalam proliferasi, matriks ekstraseluler, dan menunjukkan rendahnya ekspresi sel imun, musin, kalikrein dan mengurangi lokalisasi membran E-cadherin, yang dapat mengganggu kemampuan mereka untuk merekrut TIL CD103. Tumor dengan infiltrasi sel T CD8 rendah sering mengekspresikan CXCR6, reseptor kemokin yang telah dikaitkan dengan metastasis pada beberapa tipe tumor, termasuk karsinoma ovarium.¹¹

2.3. Programmed death ligand 1 (PD-L1)

Programmed death ligand 1 (PD-L1) adalah ligan utama *programmed cell death 1* (PD-1) yang merupakan reseptor ko-inhibitor yang dapat diekspresikan atau diinduksi secara konstitutif oleh mieloid, limfoid, sel epitel normal dan sel tumor. Dalam kondisi fisiologis, interaksi PD-1/PD-L1 sangat penting dalam pengembangan toleransi imun untuk mencegah aktivitas sel imun berlebihan yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan autoimunitas.⁶¹ Sistem imun berfungsi untuk melindungi pejamu dari autoimunitas, alergi, dan penyakit menular yang disebabkan oleh serangkaian reseptor yang berperan sebagai ko-inhibitor dan ko-stimulator serta ligannya yang dikenal dengan *immune check point*. Data yang terkumpul mengungkapkan bahwa banyak tumor menggunakan jalur ini sebagai mekanisme penting untuk menghindari respons imun antitumor sehingga tumor akhirnya berkembang, menyebar, dan bemetastasis. Di antara jalur tersebut, *programmed cell death 1* (PD-1) dan *programmed cell death ligand* (PD-L1) memainkan peran kunci dalam homeostasis imun secara fisiologis dan diduga berfungsi sebagai sarana sel tumor dalam menghindari sistem imun.⁶²

Interaksi PD-L1/PD-1 dalam lingkungan mikro tumor memberikan mekanisme penghindaran imun oleh sel tumor dengan mematikan sel T sitotoksik, yang menghalangi interaksi ini. Selain itu, PD-L1 diekspresikan pada beberapa jenis tumor, termasuk karsinoma urothelial, karsinoma gastrointestinal, karsinoma paru-paru, karsinoma payudara, melanoma, dan karsinoma ovarium, serta pada sel imun yang menginfiltrasi tumor di lingkungan mikro tumor.⁶³

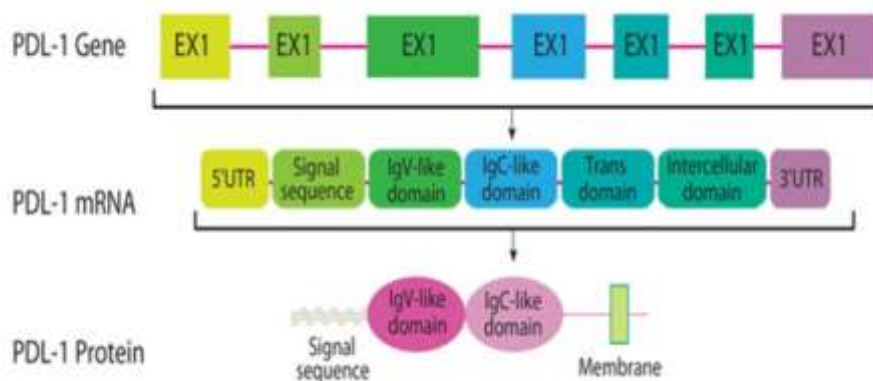
Ekspresi PD-L1 adalah mekanisme *immune escape* yang dimanfaatkan oleh berbagai keganasan dan umumnya dikaitkan dengan prognosis yang lebih buruk. Ekspresi PD-L1 juga disarankan sebagai biomarka prediktif dari respon terhadap terapi anti-PD-1/PD-L1. Selama bertahun-tahun, agen anti-PD-1/PD-L1 telah mendapatkan momentum sebagai terapi antikanker baru, dengan menginduksi regresi tumor pada banyak keganasan termasuk karsinoma paru-paru metastatik, melanoma dan banyak karsinoma lainnya.⁶¹

2.3.1. Struktur

Programmed death ligand 1 (PD-L1) dikodekan oleh gen PDCDL1 dan ditemukan di kromosom 9 pada posisi p24.1. *Programmed death ligand 1* pertama kali dijelaskan oleh Dong dkk. pada tahun 1999 sebagai B7-H1. PD-L1 diakui sebagai anggota ketiga dari keluarga protein B7, 15-20% homolog dengan protein B7.1 dan B7.2.⁶¹ *Programmed death ligand 1* dikodekan oleh tujuh ekson, 40kDa protein dari 290 asam amino. *Programmed death ligand 1* adalah protein transmembran tipe 1 dan terdiri dari domain ekstraseluler *IgV-like* dan *IgC-like*,

yang merupakan domain transmembran hidrofobik dengan ekor sitoplasma pendek yang terbuat dari 30 asam amino, dengan sifat transduksi sinyal yang tidak jelas.⁶⁴ Domain sitoplasma PD-L1 yang pendek memicu jalur pensinyalan interseluler di dalam sel. Gen CD-274 yang mengkode protein PD-L1, memiliki tujuh ekson dan terletak di kromosom 9 pada manusia, dan setiap ekson mengkodekan bagian varian dari protein PD-L1 (Gambar 2.8).⁶³

Interaksi antara reseptor dan *ligand* dalam sistem PD-1 jauh lebih rumit daripada sistem CD28/CTLA-4. *Programmed cell death 1* (PD-1) memiliki dua *ligand* yang berbeda, PD-L1 (CD274, B7-H1) dan PD-L2 (CD273, B7-DC). Anggota keluarga B7 memiliki urutan homolog 37% yang dihasilkan oleh duplikasi gen, meskipun regulasinya sangat beragam. Umumnya, PD-L1 diekspresikan pada permukaan berbagai sel sistem imun, seperti sel T dan B, makrofag, serta sel tumor, sedangkan PD-L2 terutama diekspresikan pada makrofag yang teraktivasi dan sel dendritik.⁶³



Gamb

ar 2.8. Struktur gen PD-L1, mRNA, dan protein. Gen PD-L1 berisi tujuh ekson dengan ekson 1 mengkode 5-UTR dan ekson 2 hingga ekson 6 mengkodekan urutan sinyal, domain *IgV-like*, domain *IgC-like*, domain transmembran, dan domain intraseluler. Exon 7 mengkodekan bagian dari domain intraseluler dan 3-UTR. Protein PD-L1 terdiri dari domain transmembran dan dua domain ekstraseluler, *IgV-like* dan *IgC-like*.⁶³

2.3.2. Fungsi PD-L1

2.3.2.1 Toleransi sentral dan perifer

Jalur PD-1/PD-L1 sangat penting untuk pengembangan toleransi imun, suatu proses seleksi negatif limfosit autoreaktif yang terjadi di organ limfoid primer (toleransi sentral) dan organ limfoid sekunder (toleransi perifer). Ekspresi PD-L1 yang tinggi sebenarnya ditunjukkan di dalam timus dan pada sel dendritik, di mana interaksi PD-L1/PD-1 mencegah proliferasi dan diferensiasi sel T naif.⁶¹

2.3.2.2 Immune Exhaustion

Immune exhaustion adalah penurunan progresif fungsi sel T efektor setelah presentasi antigen persisten, yang merupakan mekanisme fisiologis untuk mencegah kerusakan jaringan pada infeksi kronik. Gambaran utama dari kelelahan sel T adalah induksi berbagai jalur ko-inhibitor termasuk PD-1/PD-L1.⁶⁵ Sel CD4/CD8 spesifik HIV mengekspresikan PD-1, dan peran serupa untuk PD-1/PD-L1 telah ditemukan pada virus hepatitis dan tuberkulosis, di mana gangguan fungsi sel T efektor diinduksi melalui apoptosis, penghambatan replikasi dan pematangan sel T serta induksi paralel sel T regulator.⁶¹

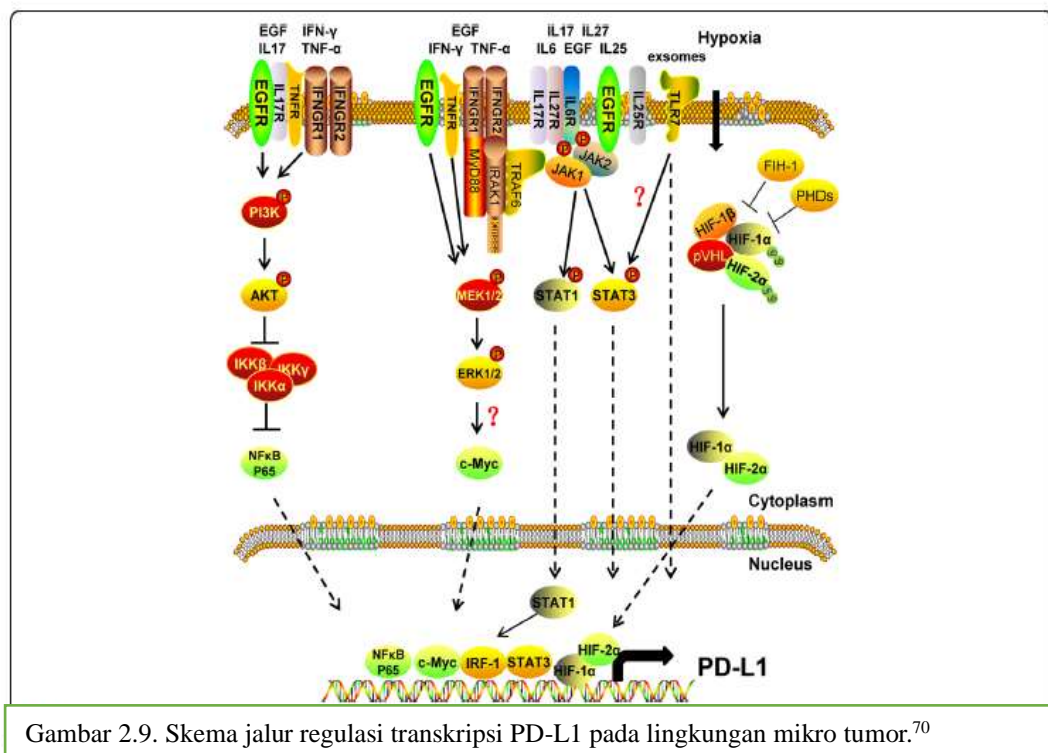
2.3.2.3 Regulasi respon imun antitumor

Regulasi PD-1 yang persisten umumnya ditemukan pada TIL, di mana ekspresi PD-L1 dimanfaatkan oleh sel-sel ganas untuk menghindari penghancuran oleh sistem imun.⁶⁶ Aktivasi PD-1 oleh PD-L1 meningkatkan regulasi *Slug*, *Snail* dan *Twist* melalui jalur MAPK/ERK yang menunjukkan hubungan antara invasi tumor dan kontrol imun antitumor. *Programmed death ligand 1* juga diatur oleh faktor-

1 α yang diinduksi hipoksia yang menunjukkan interaksi dengan neoangiogenesis, ciri independen dari perkembangan kanker.⁶¹

2.3.3. Regulasi Ekspresi PD-L1/PD-1

Selain diekspresikan secara luas pada permukaan limfosit T, limfosit B, Dendritic cell (DC) dan makrofag, over ekspresi PD-L1 juga ditemukan pada banyak permukaan sel tumor yang menyebabkan sel T *exhaustion* dan toleransi imun yang mengarah pada *immune escape*. Berbagai sitokin dan eksosom dalam lingkungan mikro tumor dapat menginduksi ekspresi PD-L1, meningkatkan sinyal PD-L1/ PD-1 untuk menghambat aktivasi CTL di lingkungan mikro tumor, dan dengan demikian mendorong *immune escape* tumor. Mekanisme induksi PD-L1 oleh sitokin dan eksosom ini secara skematis dirangkum dalam (Gambar 2.9).⁶⁷



2.3.3.1 Jalur Pensinyalan MAPK

Jalur ini memainkan peran penting dalam kelangsungan hidup sel dan proliferasi dalam kondisi fisiologis. Jalur ini diaktifkan secara menyimpang pada banyak jenis karsinoma melalui mutasi onkogenik pada komponen utamanya seperti: BRAF (V600E) yang merupakan gen yang paling sering bermutasi pada karsinoma. Bukti pertama yang menunjukkan aktivasi onkogenik dari jalur *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) dikaitkan dengan *immune escape* sel tumor berawal dari temuan bahwa pengobatan dengan mutan BRAF inhibitor menyebabkan peningkatan infiltrasi sel T dan penurunan regulasi ekspresi PD-L1 di lingkungan mikro tumor. Jalur MAPK juga terlibat dalam upregulasi PD-L1 dalam sel tumor sebagai respons terhadap pengobatan dengan obat kemoterapi. Misalnya, paclitaxel menginduksi ekspresi PD-L1 yang diblokir oleh inhibitor MEK dan konsentrasi cisplatin yang rendah juga merangsang ekspresi PD-L1 melalui aktivasi MAPK.⁶³

2.3.3.2 Jalur PI3K/Akt

Aktivasi jalur PI3K/Akt juga memainkan peran penting dalam patogenesis karsinoma melalui aktivasi banyak target hilir yang mengontrol kelangsungan hidup sel, proliferasi, dan migrasi. Beberapa penelitian menunjukkan peran jalur PI3K/Akt dalam regulasi PD-L1 dalam sel karsinoma sebagai respons terhadap efek inhibitor PI3K pada sel melanoma yang resisten terhadap inhibitor BRAF, yang menyebabkan penurunan ekspresi PD-L1. Studi menunjukkan bahwa mungkin jalur PI3K/Akt mengatur ekspresi PD-L1 melalui mekanisme transkripsi atau pascatranskripsi pada sel dan jaringan. Penghambatan Akt menyebabkan

penurunan ekspresi PD-L1, dan mTOR/S6 sebagai efektor hilirnya tidak terbukti memediasi ekspresi PD-L1 yang diinduksi Akt. Selain mTOR, target hilir Akt lainnya, *nuclear factor kappa B* (NF- κ B) mengatur ekspresi PD-L1. Telah ditunjukkan bahwa Akt melalui aktivasi NF- κ B meningkatkan regulasi ekspresi PD-L1.⁶³

Nuclear factor kappa B (NF- κ B) adalah faktor transkripsi umum dan telah terbukti terlibat dalam regulasi PD-L1, namun mekanisme yang mendasarinya membutuhkan lebih banyak penelitian untuk pemahaman yang lebih dalam. NF- κ B mengatur ekspresi PD-L1 yang diinduksi LMP-1 sebagai asam *caffeic phenethyl ester* yang merupakan inhibitor NF- κ B, yang menurunkan induksi ekspresi PD-L1. NF- κ B juga memiliki peran utama dalam ekspresi PD-L1 yang diinduksi INF- γ .⁶³

2.3.3.3 *Hipoxia-Inducible Factor 1* (HIF-1)

Hipoxia-inducible factor 1 (HIF-1) adalah faktor onkogenik utama, dan blokadanya telah diterapkan untuk pengobatan karsinoma. *Hipoxia-inducible factor 1* mengatur PD-L1 melalui pengikatan ke promotor PD-L1 dan lokasi *hypoxia response element* (HRE), untuk mempromosikan transkripsi PD-L1 tidak hanya pada sel tumor saja, tetapi juga makrofag, sel dendritik dan *myeloid-derived suppressor cells* (MDSCs) dalam lingkungan mikro tumor. Ada dua lokasi pengikatan HRE, HRE-1 dan HRE-4, dimana HRE-4 memiliki afinitas lebih tinggi terhadap HIF-1 daripada HRE-1.⁶³

2.3.3.4 *Signal Transducer and Activator of Transcription 3* (STAT 3)

Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT 3) juga telah diketahui mengatur ekspresi PD-L1 melalui pengikatan dengan promotor PD-L1 dan mengatur transkripsinya. PD-L1 meningkat pada mutasi onkogen *chimeric nucleophosmin / anaplastic lymphoma kinase* dan RNA kecil yang mengganggu penghapusan ekspresi STAT3.⁶³

2.3.3.5 *Transforming Growth Factor - β*

Ligasi antara PD-L1 dan PD-1 juga terlibat dalam jalur pensinyalan yang dimediasi oleh TGF- β dimana fungsi TGF- β dalam perkembangan sel regulasi sel T yang diinduksi (iTreg) dapat diturunkan dengan hilangnya PD-L1. Studi ini juga melaporkan bahwa pensinyalan PD-L1/PD1 mengurangi fosforilasi AKT dan substrat hilirnya mTOR dan S6 selama konversi sel iTreg dari sel T matur.⁶³

2.3.3.6 GATA-3 dan T-bet

Interaksi PD-L1 dan PD-1 menghambat ekspresi GATA-3 dan T-bet. GATA-3 sebagai faktor transkripsi yang signifikan untuk diferensiasi sel T *helper 2* namun T-bet yang dikenal sebagai faktor transkripsi T-box, dapat berkontribusi pada pematangan sel T.⁶³

2.3.4 Jalur Sinyal PD-L1

Programmed cell death 1 (PD-1) merupakan reseptor PD-L1, apabila sudah berikatan maka PD-1 dapat menghambat aktivasi limfosit, menurunkan sekresi sitokin limfosit dan mendorong apoptosis limfosit.⁶⁷ Fungsi biologis PD-L1 bergantung pada ikatan dengan PD-1 (CD279), reseptor transmembran tipe 1

panjang asam amino 288 yang dikodekan oleh gen PDCD1 dan secara fisiologis diekspresikan pada limfosit dan sel mieloid.⁶¹

Programmed cell death (PD-1) terdiri dari domain *IgV-like* ekstraseluler dan daerah transmembran. Ekor intraselulernya terdiri dari *tyrosine based switch motif* (ITSM) dan reseptor imun berbasis tirosin yang merupakan inhibitor urutan motif. Pada ligasi dengan PD-L1, perekrutan domain homologi 2 Src yang mengandung fosfatase 1 dan 2 (SHP-1/SHP-2) ke ITSM menyebabkan defosforilasi kinase pensinyalan seperti CD3 ζ , PKC θ dan ZAP70 yang menghasilkan aksi penghambatan ekspansi sel T global.⁶⁸ Respon penghambatan tersebut adalah sekunder dari inaktivasi PI3K-Akt dan Ras-MEK-ERK kaskade. Kasein kinase 2 adalah target SHP-2. Defosforilasi kasein kinase 2 (CK-2) menyebabkan aktivasi PTEN yang tidak terkendali, antagonis pensinyalan PI3KAkt fisiologis. Efek penghambatan PD-1 pada kaskade Ras-MEK-ERK sebagian besar tergantung pada penghambatan langsung Ras dan defosforilasi phospholipase-C γ (PLC γ).⁶¹ Pentingnya jalur PD-1/PD-L1 dalam karsinogenesis pertama kali diketahui ketika para ilmuwan menemukan bahwa hampir 30% dari jenis tumor padat dan keganasan hematologi mengekspresikan PD-L1 secara berlebihan sebagai cara untuk menghambat respon imun antitumor dan mendorong pertumbuhan tumor, proliferasi, dan kelangsungan hidup berbagai jenis tumor, termasuk karsinoma kolorektal, melanoma, karsinoma ginjal, karsinoma kandung kemih, karsinoma paru *non small cell*, karsinoma kepala dan leher, dan juga jenis karsinoma lain yang sedang dalam studi klinis.⁶³

Sebuah penelitian baru-baru ini menunjukkan bahwa PD-L1 dapat mengambil bagian dalam proses seluler yang sangat penting selain fungsi regulernya seperti metastasis, mempromosikan pembentukan sel pemicu tumor, pemeliharaan sel punca, EMT dan memiliki fitur klinis, seperti kemoresistensi dan juga prognosis yang buruk. Ekspresi PD-L1 pada sel tumor dan surveilans imun berikutnya terjadi melalui dua jalur terpisah. Jalur pertama adalah respon terhadap onkogen (misalnya, upregulasi EGFR mutan, BRAF, dan KRAS dan juga downregulasi PTEN) dan sel anti tumor aktif (misalnya, sel T sitotoksik, sitokin proinflamasi) sebagai sistem imun bawaan dan adaptif. Jalur kedua adalah jalur onkogenik (pensinyalan PI3K-Akt) dan inflamasi, yang memicu induksi ekspresi PD-L1 pada permukaan sel tumor, ini berbanding terbalik dengan induksi ekspresi PD-L1 pada permukaan sel T.⁶³

Ligasi PD-1 dan PD-L1 mengarah pada penurunan regulasi sel T dan apoptosisnya kemudian dieksklusi dari lingkungan mikro tumor, sehingga menyebabkan sel tumor melepaskan diri dari respon imun. Ekspresi PD-L1 di berbagai jenis tumor biasanya heterogen dan biasanya dipengaruhi keberadaan PD-L1 dan TIL. Sel tumor dapat dibedakan dari rendahnya PD-L1 dan densitas TIL yang tinggi, atau sebaliknya. Di sisi lain, tumor dapat memperoleh ekspresi keduanya dimana ekspresi PD-L1 dan densitas TIL tinggi atau tidak memiliki ekspresi sama sekali.⁶³

2.3.5 Ekspresi PD-L1 pada Karsinoma Ovarium

Ekspresi PD-L1 umumnya terjadi pada 70% karsinoma ovarium dan diprediksi angka kelangsungan hidup 5 tahunnya lebih buruk (53%) dibandingkan dengan

tumor negatif PD-L1 (80%). *Programmed death ligand 1* berkorelasi terbalik dengan infiltrasi sel T CD8+ yang berperan dalam respon sitotoksik antitumor dan bersifat sebagai prognostik positif pada karsinoma ovarium.⁶⁹

Studi mekanistik telah menunjukkan induksi ekspresi PD-L1 untuk melemahkan aktivitas sitolitik sel T CD8+ in vitro dan mempromosikan penyebaran peritoneal karsinoma ovarium. Ekspresi PD-L1 sangat bergantung pada lepasnya IFN- γ dalam lingkungan mikro tumor. *Genetic silencing* reseptor IFN- γ 1 menurunkan ekspresi PD-L1 tumor dan meningkatkan kelangsungan hidup pada hewan model.⁶¹

Ekspresi PD-L1 terutama dipengaruhi oleh *toll like reseptor* (TLR), subtype reseptor non-katalitik, sangat diekspresikan dalam APC dan diaktifkan oleh pola molekul terkait patogen. Regulasi PD-L1 yang dimediasi TLR bergantung pada aktivasi MEK/ERK kinase, yang meningkatkan transkripsi PD-L1 messenger RNA (mRNA) melalui faktor inti kappa.⁶¹

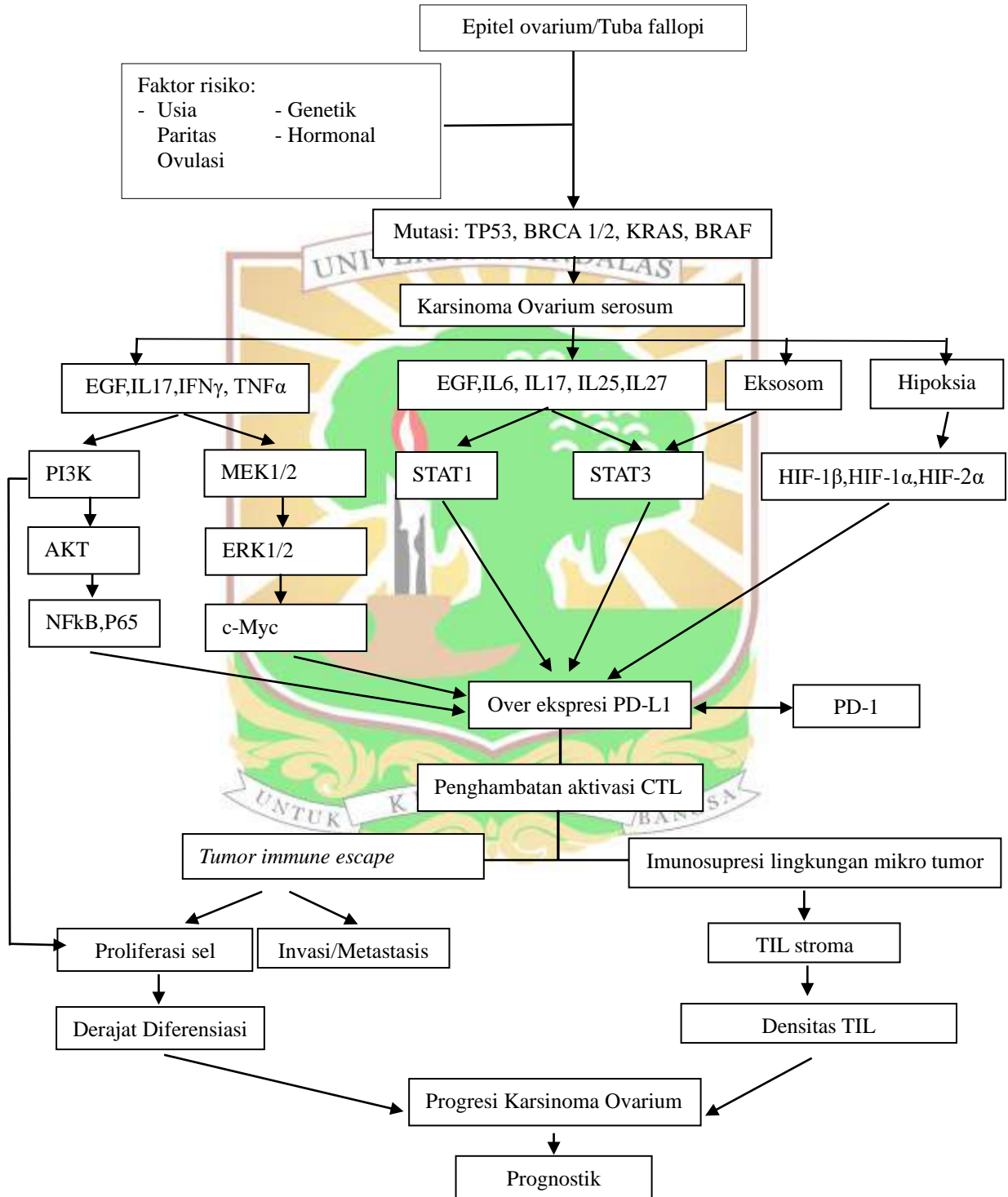
Reseptor interferon- γ (IFN- γ) 1 dan 2 juga terlibat dalam regulasi ekspresi PD-L1, Sebagian besar melalui aktivasi IRF-1 yang dimediasi Jak/STAT. Aktivasi Jak/STAT yang dimediasi interferon juga dapat meningkatkan regulasi ekspresi PD-L1 melalui MEK/ERK dan jalur phosphatidyl-inositol 3 kinase (PI3K)/AKT, yang memberikan peran permisif pada transkripsi PD-L1 melalui fosforilasi. Dalam karsinogenesis, PD-L1 dapat diekspresikan secara berlebihan sebagai akibat dari peristiwa *oncogenic driver*. Mutasi *epidermal growth factor reseptor* (EGFR) berkorelasi positif dengan ekspresi PD-L1 pada karsinoma paru-paru, dengan inhibitor EGFR bertindak sebagai penekan transkripsi PD-L1. Pada tumor

dengan mutan *phosphatase and tensin homolog* (PTEN), overekspresi berlebih PD-L1 ditopang oleh aktivasi jalur PI3K/AKT yang tidak terkendali. Pada limfoma sel T, gen fusi *nucleophosmin (NPM)/anaplastic lymphoma kinase* (ALK) mengatur overekspresi PD-L1 melalui aktivasi STAT3 konstitutif.⁶¹



BAB 3
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS
PENELITIAN

3.1 Kerangka Teori Penelitian



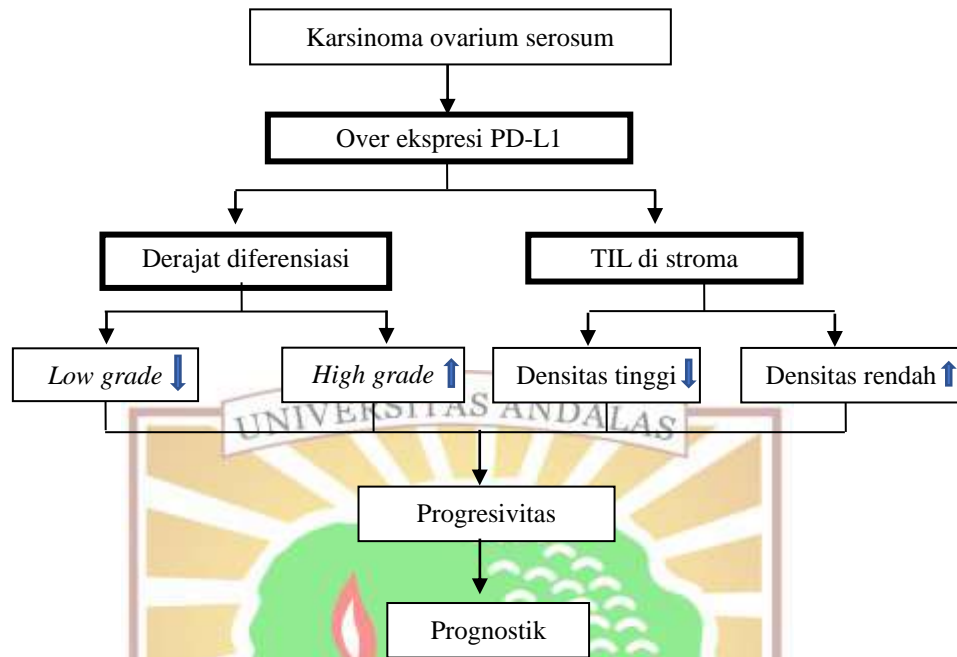
Gambar 3.1 Kerangka teori penelitian

Keterangan kerangka teori:

Terdapat beberapa faktor risiko yang berhubungan dengan karsinoma ovarium diantaranya usia, paritas, hormonal, ovulasi dan kelainan genetik yang menyebabkan perubahan genetik pada sel-sel epitel normal.¹³ Terjadi serangkaian peristiwa molekuler yang berbeda melalui dua kelompok jalur karsinogenesis yaitu mutasi KRAS, BRAF dan kelompok molekuler mutasi P53 dan BRCA I/II yang menyebabkan terjadinya karsinoma ovarium.⁴⁷

Adanya karsinoma ovarium menyebabkan munculnya respon imun host berupa lepasnya berbagai sitokin dan eksosom serta terjadinya hipoksia di lingkungan mikro tumor. Hal ini menginduksi over ekspresi PD-L1, meningkatkan sinyal PD-L1/PD-1 untuk menghambat aktivasi CTL di lingkungan mikro tumor dan mendorong *tumor immune escape*. *Tumor immune escape* mengacu pada fenomena dimana sel tumor dapat berproliferasi sehingga mempengaruhi diferensiasi dan bermetastasis dengan menghindari pengenalan dan eliminasi oleh sistem imun. Ligasi PD-1 dengan PD-L1 juga menyebabkan imunosupresi lingkungan mikro tumor yang memengaruhi densitas TIL. Derajat diferensiasi dan densitas TIL di stroma menyebabkan progresivitas karsinoma ovarium serosum dan memengaruhi prognostik.

3.2 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.2 Kerangka konsep penelitian

Keterangan :

: Yang diteliti : Tidak diteliti

3.3 Hipotesis Penelitian

Over ekspresi PD-L1 akan meningkatkan derajat diferensiasi dan menurunkan densitas TIL di stroma.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *cross sectional study*. Variabel independen dan variabel dependen diperiksa pada waktu bersamaan.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi adalah semua kasus karsinoma ovarium serosum yang telah didiagnosis di 3 laboratorium Patologi Anatomi yang berada di kota Padang pada tahun 2019-2020 yaitu sebanyak 73 kasus. Laboratorium Patologi Anatomi tersebut adalah Sentral Diagnostik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, RSUP dr. M. Djamil Padang dan RSI Ibnu Sina Padang.

4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah semua populasi yang memenuhi kriteria inklusi. **4.2.2.1**

Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi adalah kasus karsinoma ovarium serosum yang mempunyai data lengkap meliputi umur, menjalani tindakan ooforektomi/HTSOB dan ada minimal tiga blok dari sediaan tumor serta dinilai derajat diferensiasi dan densitas TIL di stroma.²⁶

4.2.2.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi adalah kasus karsinoma ovarium serosum yang masuk kriteria inklusi namun tidak dapat dilakukan reevaluasi karena kondisi slaid dan atau blok

parafin yang rusak atau tidak ditemukan serta tidak cukup mengandung jaringan tumor untuk pemeriksaan imunohistokimia PD-L1. Pada penelitian ini jumlah sampel yang didapatkan adalah sebanyak 55 kasus.

4.2.2.1 Besar Sampel

Besar sampel minimal ditentukan berdasarkan rumus :⁷⁰

$$n = \frac{Z^2 1-\alpha/2P(1-P) N}{d^2(N-1)+Z^2 1-\alpha/2P(1-P)}$$

n = besar sampel

N = Populasi

Z α = derivate baku α = 1,96

P = proporsi ekspresi PD-L1 pada karsinoma ovarium serosum

Q = 1 - P

d = toleransi estimasi = 10%

Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui bahwa proporsi ekspresi PD-L1 pada karsinoma ovarium serosum adalah 5%.^{26,27} Nilai Z pada uji dua arah dengan derajat kemaknaan 5% berdasarkan tabel adalah 1,96 dan toleransi estimasi ditetapkan sebesar 0,1. Besar sampel pada penelitian ini diperkirakan sebagai berikut:

$$n = \frac{Z^2 1-\alpha/2P(1-P) N}{d^2(N-1)+Z^2 1-\alpha/2P(1-P)}$$

$$n = \frac{1,96^2 \times 1 - 1,96/2 \times 0,05(0,95) \times 55}{0,1^2(55-1) + 1,96^2 \times 1 - 1,96/2 \times 0,05(0,95)}$$

$$n = 42,44$$

Dengan demikian besar sampel minimal pada penelitian ini adalah 43 sampel. Pada penelitian ini sampel diambil sebanyak 45 sampel.

4.2.2.2 Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini adalah secara *simple random sampling*. Kasus karsinoma ovarium serosum yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi didapatkan sebanyak 55 kasus. Selanjutnya sampel diambil secara random sesuai dengan besar sampel yang telah ditentukan.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel yang diteliti adalah :

1. Variable independen adalah ekspresi PD-L1.
2. Variabel dependen adalah derajat diferensiasi dan densitas TIL di stroma.

4.4 Definisi Operasional

1. Usia

Definisi: usia yang tercatat pada lembaran status rekam medis saat pasien didiagnosis karsinoma ovarium serosum di Laboratorium Patologi Anatomi

Cara ukur: dengan mencatat data usia dari lembaran status pasien kemudian dikelompokkan dalam interval tertentu.

Alat ukur: rekam medis

Hasil ukur: berupa angka yaitu : <31 tahun, 31-40 tahun, 41-50 tahun, 51-60 tahun, 61-70 tahun, >70 tahun.⁷¹

Skala ukur: ordinal

2. Derajat diferensiasi

Definisi: Gambaran mikroskopik derajat diferensiasi karsinoma ovarium serosum dibagi menjadi 2 yaitu karsinoma ovarium serosum *low grade* dan *high grade* yang ditentukan berdasarkan klasifikasi WHO 2020, yaitu:

Kriteria karsinoma ovarium serosum *low grade* jika ditemukan Adanya komponen sel tumor invasif yang tumbuh membentuk sarang-sarang kecil ireguler dan menginfiltrasi stroma desmoplastik, glandular, papiler atau mikropapiler yang *haphazard* dan makropapiler *inverted* yang sering terapung di dalam ruang kosong (*lakunar*)/*stromal cleft*. Sel tumor berukuran kecil, uniform dengan atipia inti ringan sampai sedang. Ukuran inti bervariasi sampai <3x ukuran inti normal. Kadang-kadang anak inti nyata di sentral dan aktivitas mitosis rendah (Indeks mitosis $\leq 12/10\text{HPF}$). *Psammoma bodies* sering terlihat namun nekrosis jarang ditemukan.⁹

Kriteria karsinoma ovarium serosum *high grade* jika ditemukan gambaran klasik berupa pola papiler bercabang kompleks dan kelenjar dilapisi oleh sel epitel yang pleomorfik dan kehilangan polaritas, sel epitel tumbuh membentuk struktur mikropapiler dan celah sempit. Stroma menunjukkan gambaran invasi yang destruktif oleh sel ganas dengan pertumbuhan konfluen atau kelenjar, papiler dan sarang-sarang sel tumor yang tersusun ireguler. Inti sel atipik pada perbesaran kecil, termasuk sel *bizarre* dengan inti besar bulat-pleomorfik dengan *N/C ratio* meningkat. kromatin kasar, anak inti nyata (kadang-kadang dengan gambaran merah buah ceri). Mitosis biasanya banyak (>12 mitosis per 10 lapangan pandang

besar).¹²

Cara ukur: Mengamati gambaran mikroskopik slaid histopatologi karsinoma ovarium serosum dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE).

Alat ukur: Menggunakan mikroskop cahaya binokuler merk Olympus seri CX23 dengan pembesaran 40x, 100x dan 400x.

Hasil ukur: berupa subtype karsinoma ovarium serosum *low grade* dan *high grade*

Skala ukur: ordinal

3. *Tumor infiltrating lymphocyte (TIL) di stroma.*¹⁸

Definisi: Terdapatnya TIL di stroma peritumoral yang merupakan sejumlah limfosit T dan B yang berasal dari peredaran darah masuk ke lokasi tumor sebagai bentuk respon imun pejamu. Penghitungan TIL di stroma mengacu pada penelitian Hwang C dkk. dimana:

- Densitas rendah : terdapatnya TIL di stroma $\leq 10\%$
- Densitas tinggi : terdapatnya TIL di stroma $>10\%$.¹⁸

Cara Ukur: Mengamati adanya TIL yang berada di stroma peritumoral melalui pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan HE. Penilaian TIL mengacu pada rekomendasi International TILs working group 2014 (Salgado dkk.).⁷²

Alat ukur: menggunakan mikroskop cahaya binokuler merk Olympus seri BX 51 dengan kamera DP 20 serta program kamera DP2-BSW dengan pembesaran 400x.

Hasil ukur: Densitas rendah, densitas tinggi.

Skala ukur: ordinal

4. Ekspresi PD-L1.²⁶

Definisi : Ekspresi yang disebabkan oleh reaksi antigen PD-L1 yang ada pada TIL

di stroma peritumoral, TIL intraepitelial dan sel tumor dengan antibodi PD-L1 melalui pulasan imunohistokimia. Hal ini mengacu pada penelitian Kim KH dkk.

Cara Ukur : Analisis dilakukan secara terpisah antara TIL di stroma peritumoral, TIL intraepitelial dan sel tumor. Baik sel tumor ataupun TIL dianggap sebagai imunopositif jika membran atau membran dan sitoplasma terwarnai. Mengamati dengan mikroskop ekspresi PD-L1 yang positif berupa intensitas dan proporsi warna coklat pada membran dan/atau sitoplasma sel. Pemeriksaan dilakukan dengan aplikasi *image J* dengan melihat intensitas dan proporsi sel yang terpulas positif. Berdasarkan intensitas sel yang terpulas dibagi menjadi skor 0-3 yaitu : 0 (bila tidak ada sel yang terwarnai), 1+ (ekspresi lemah, jika jauh lebih lemah dibanding kontrol positif), 2+ (ekspresi sedang jika pewarnaan hampir sama atau mendekati kontrol positif/sedang) dan 3+ (ekspresi kuat jika ada ekspresi yang setara atau lebih kuat dari kontrol positif). Proporsi ekspresi PD-L1 pada sel tumor atau TIL stroma dikatakan tinggi bila 5% atau lebih area sel tumor atau TIL stroma terwarnai.²⁷

Alat Ukur : Mikroskop cahaya binokuler Olympus BX51 dengan kamera DP 20 serta program kamera DP2-BSW dengan pembesaran 400x.

Hasil Ukur :

1. Rendah : jika skor intensitas 0 atau +1 . Terwarnai pada membran atau membran dan sitoplasma sel serta proporsi ekspresi PD-L1 pada sel tumor atau TIL stroma < 5%

2. Tinggi : jika skor intensitas +2 atau +3 pada membran atau membran dan sitoplasma sel serta proporsi ekspresi PD-L1 pada sel tumor atau TIL stroma $\geq 5\%$.²⁶

Skala ukur : ordinal

4.5 Instrumen dan Bahan Penelitian

1. Status kiriman pemeriksaan jaringan pasien yang telah didiagnosis karsinoma ovarium serosum.

2. Slaid HE dari kasus karsinoma ovarium serosum yang telah didiagnosis.

3. Blok parafin kasus karsinoma ovarium serosum yang telah didiagnosis

4. Pulasan Imunohistokimia

- a. *Microtom, waterbath, staining jar, microwave, micro pipette, rak pulasan dan peralatan lain yang dibutuhkan untuk pewarnaan imunohistokimia.*

- b. *Object glass (silane coating)*

- c. *Xylene*

- d. Alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 100%)

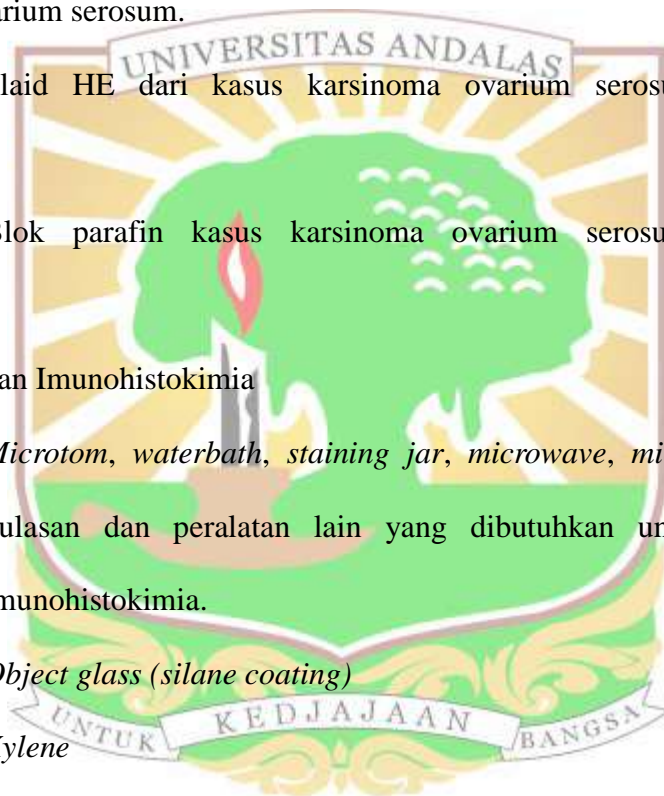
- e. Aquades

- f. *Sodium citrate buffer, 10 mM, pH 6,0*

- g. *Hydrogen peroxide 0,1% - 1%*

- h. Normal blocking serum 1,5%

- i. PBS (*phosphate buffered saline*), pH 7,0

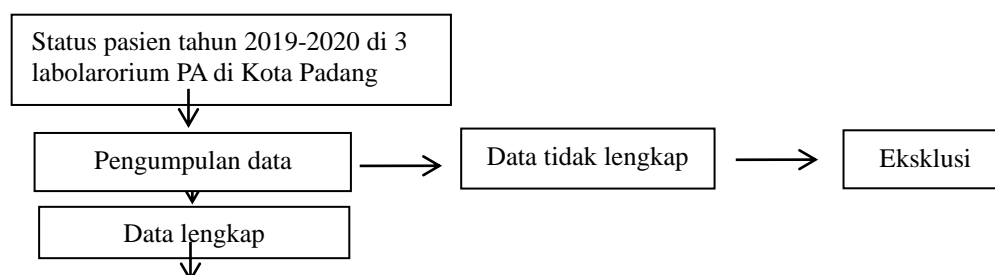


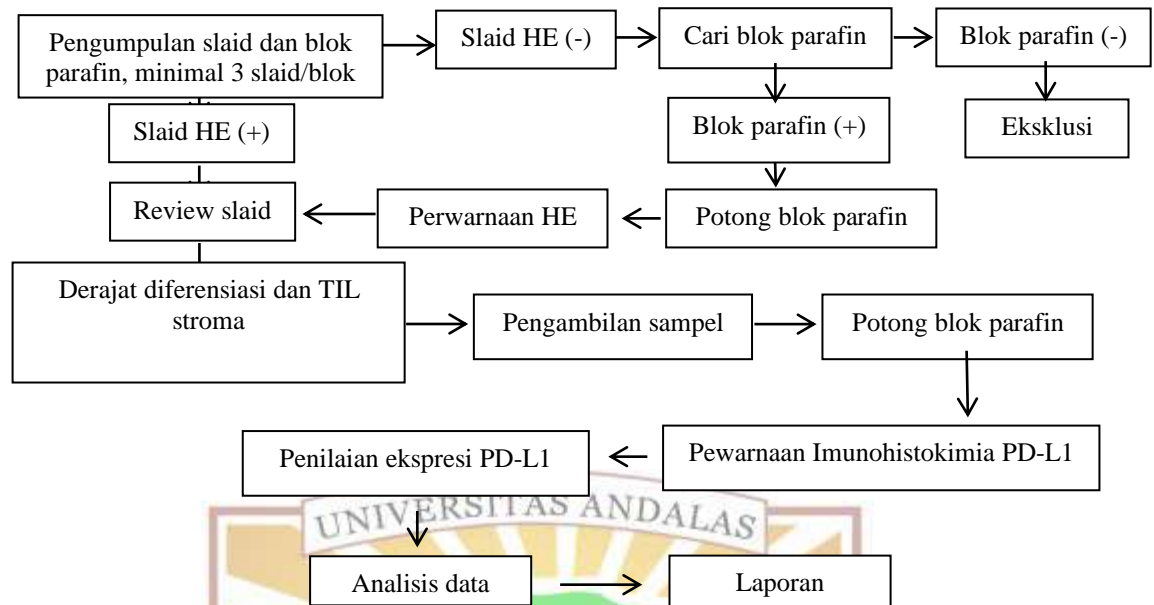
- j. Antibodi primer PD-L1 (Dako, clone 22C3, Fine test, pengenceran 1:200)
- k. Antibodi sekunder
- l. Kromogen DAB dan buffernya.
- m. Hematoksilin (*Modified Mayer's Hematoxylin*)
- n. *Permanent mounting medium*
- o. *Deck glass*
- p. Mikroskop cahaya binokuler merk Olympus CX 23 LED dan BX51

4.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Pengumpulan data berupa status, slaid HE, dan blok parafin periode Februari 2021–September 2021, dilakukan di 3 laboratorium Patologi Anatomi di kota Padang yaitu Sentral Diagnostik Patologi Anatomi FK Unand, RS M.Djamil Padang, RSI Ibnu Sina. Kemudian dilakukan reevaluasi slaid dan analisis data di Sentra Diagnostik Patologi Anatomik FK Unand. Pewarnaan imunohistokimia dilakukan di bagian Patologi Anatomik RSU Sardjito, Yogyakarta. Penelitian ini dilakukan dari bulan Februari 2021 sampai bulan Mei 2022.

4.7 Alur Penelitian





Gambar 4.1 Kerangka Alur Penelitian

4.8 Prosedur Kerja

Data penelitian berupa kasus karsinoma ovarium serosum yang telah didiagnosis pada bulan Januari 2019 sampai Desember 2020 dari 3 Laboratorium Patologi Anatomi di kota Padang yaitu Sentral Diagnostik Patologi Anatomi FK Unand, RSUP dr. M. Djamil, RSI Ibnu Sina. Penelitian ini menganalisis data primer berupa hasil reevaluasi slaid HE terhadap derajat diferensiasi dan TIL di stroma serta penilaian ekspresi PD-L1 pada pewarnaan imunohistokimia.

Pada penelitian ini dilakukan pengumpulan slaid HE dan blok parafin, kemudian dilakukan reevaluasi slaid untuk menentukan derajat diferensiasi berdasarkan klasifikasi WHO 2020 dan dilakukan juga penilaian TIL di stroma. Jika slaid tidak ada, maka dilakukan potong ulang blok parafin dan pewarnaan HE kemudian dilakukan reevaluasi slaid. Potong ulang blok parafin juga dilakukan untuk pewarnaan imunohistokimia PD-L1. Penilaian ekspresi PD-L1 dilakukan dengan cara yang telah ditetapkan.

Teknik pewarnaan imunohistokimia PD-L1 menggunakan metode *Streptavidin Biotin Complex* (SBC), dilakukan dengan prosedur manual sebagai berikut:

1. Blok parafin dipotong dengan ketebalan 3 μ m, lalu diletakkan pada *object glass* (*silene coating*) dan diberi label.
2. Slaid dikeringkan pada suhu 37°C, panaskan diatas *slide warmer* 60°C, supaya jaringan menempel kuat ke slaid.
3. Lakukan deparafinasi dalam larutan *xylene* sebanyak 3 kali, masing-masing selama 5 menit.
4. Rehidrasi slaid dalam alkohol bertingkat 100%, 90%, 80% dan 70% masing masing selama 5 menit, keringkan.
5. Bilas dengan air mengalir sampai alkohol bersih selama 5 menit.
6. Masukkan slaid ke dalam larutan *citrate buffer* 10 μ m, panaskan dalam *microwave* selama 15 menit dengan suhu 95°C, kemudian slaid didinginkan pada suhu ruangan selama 10-20 menit. Bilas slaid dengan aquades selama 5 menit dan keringkan air disekitar potongan jaringan.
7. Blok endogen peroksidase dengan merendam slaid dalam larutan H₂O₂ 0,3% selama 30 menit pada suhu ruangan. Bilas slaid dengan PBS selama 5 menit.
8. Teteskan normal blocking serum 1,5%, diamkan selama 30 menit pada suhu ruangan. Bilas slaid dengan PBS selama 5 menit.

9. Teteskan antibodi primer PD-L1 pada slaid, inkubasi dalam tempat tertutup selama 1 malam (*overnight*) pada suhu ruangan. Bilas slaid dengan PBS sebanyak 2 kali, masing-masing selama 5 menit.
10. Teteskan antibodi sekunder (trekkie universal link) pada slaid, inkubasi dalam tempat tertutup selama 30 menit pada suhu ruangan. Bilas slaid dengan PBS sebanyak 2 kali, masing-masing selama 5 menit.
11. Teteskan Trek avidin HRP, inkubasi dalam tempat tertutup selama 30 menit pada suhu ruangan. Bilas slaid dengan PBS sebanyak 2 kali, masing-masing selama 5 menit.
12. Teteskan larutan kromogen DAB dan substrat buffer, inkubasi selama 5 menit pada suhu ruangan. Bilas dengan air mengalir selama 5 menit.
13. Lakukan *counterstain* dengan hematoksin selama 5 menit. Bilas dengan air mengalir.
14. Dehidrasi dengan mencelupkan slaid ke dalam alkohol 70%, 80%, 90% dan 100% secara berurutan masing-masing selama 5 menit, kemudian keringkan.
15. Masukkan slaid ke dalam *xylene* selama 5 menit.
16. *Mounting* dengan entelan dan tutup dengan *deck glass*.

Setelah dilakukan prosedur di atas, sediaan dilihat di bawah mikroskop cahaya untuk menilai ekspresi PD-L1.

4.9 Analisis Data

Data histopatologik yang diperoleh, diolah dan dianalisis dengan metode statistik yang sesuai.

1. Analisis univariat

Berupa deskripsi karakteristik data dasar yaitu karakteristik umum, derajat diferensiasi dan densitas TIL di stroma serta ekspresi PD-L1 yang disajikan dalam bentuk tabel distribusi frekuensi dan narasi.

2. Analisis bivariat

Dilakukan untuk mengetahui hubungan antara ekspresi PD-L1 dengan derajat diferensiasi dan densitas TIL di stroma pada karsinoma ovarium serosum. Analisis bivariat dilakukan dengan uji *Chi-Square*, hasil uji statistik dianggap bermakna jika nilai $p < 0,05$. Data disajikan dalam bentuk tabel dan narasi.

4.10 Etika Penelitian

Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang. Nomor surat lolos kaji etik: 596/UN.16.2/KEP-FK/2022.



BAB 5 HASIL PENELITIAN

Tujuh puluh tiga kasus karsinoma ovarium serosum didapatkan di 3 laboratorium patologi Anatomi di Padang (Sentral Diagnostik Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, RSUP Dr. M.Djamil Padang, RSI Ibnu Sina Padang). Sampel yang memenuhi kriteria inklusi diambil sebanyak 45 kasus.

5.1 Karakteristik Karsinoma Ovarium Serosum

Pada penelitian ini didapatkan distribusi frekuensi karakteristik karsinoma ovarium serosum yang dapat dilihat pada tabel 5.1.

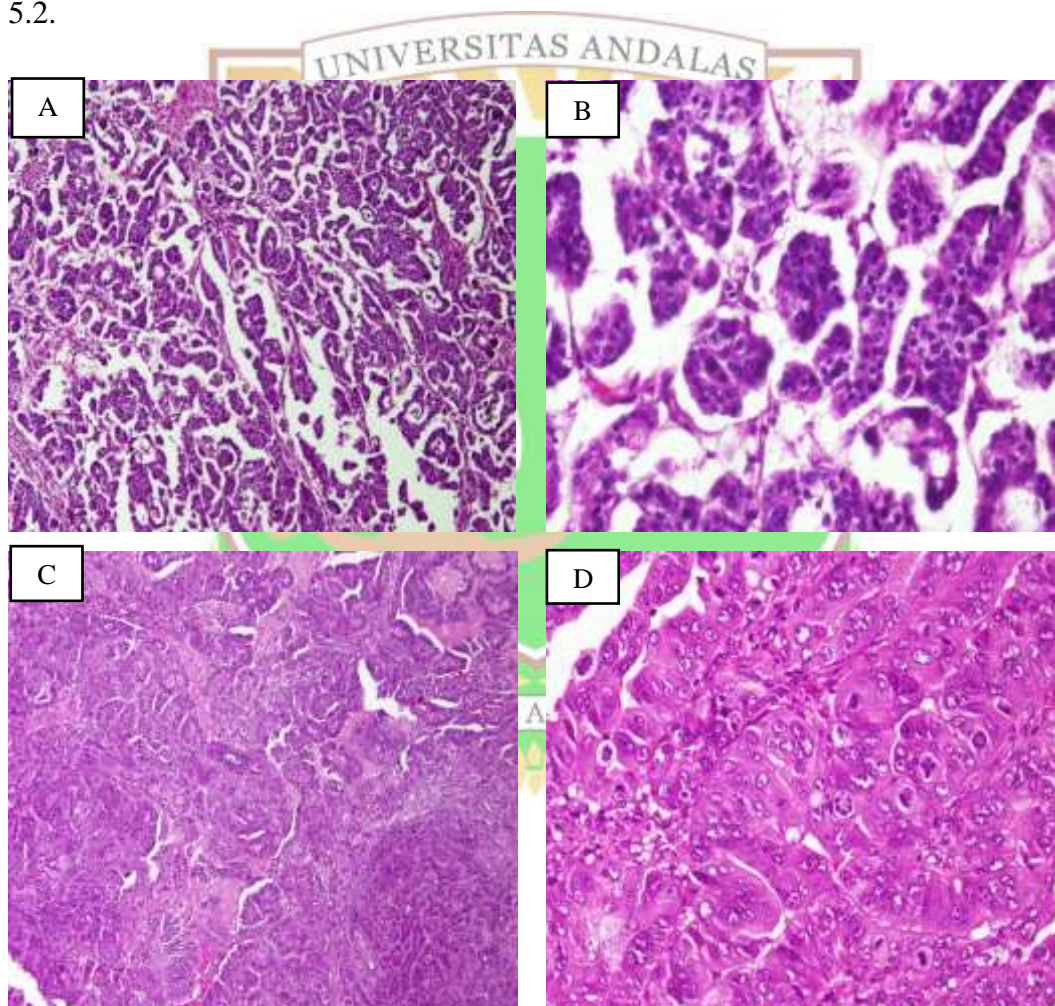
Tabel 5.1. Karakteristik karsinoma ovarium serosum

Variabel		f(n= 45)	%
Usia (Tahun)	Mean	52,9	
	< 31 tahun	0	0
	31-40 tahun	4	8,9
	41-50 tahun	15	33,3
	51-60 tahun	16	35,6
	61-70 tahun	9	20
	>70	1	2,2
Derajat Diferensiasi	<i>High grade</i>	37	82,2
	<i>Low grade</i>	8	17,8
<i>Tumor infiltrating lymphocyte</i>	Densitas tinggi	27	60
	Densitas rendah	18	40
Ekspresi PD-L1 Ekspresi PD-L1 Intra tumoral	Tinggi	23	51,1
	Rendah	22	48,9
Ekspresi PD-L1 Intra epitelial	Tinggi	30	66,7
	Rendah	15	33,3
Ekspresi PD-L1 Stroma	Tinggi	29	64,4
	Rendah	16	35,6

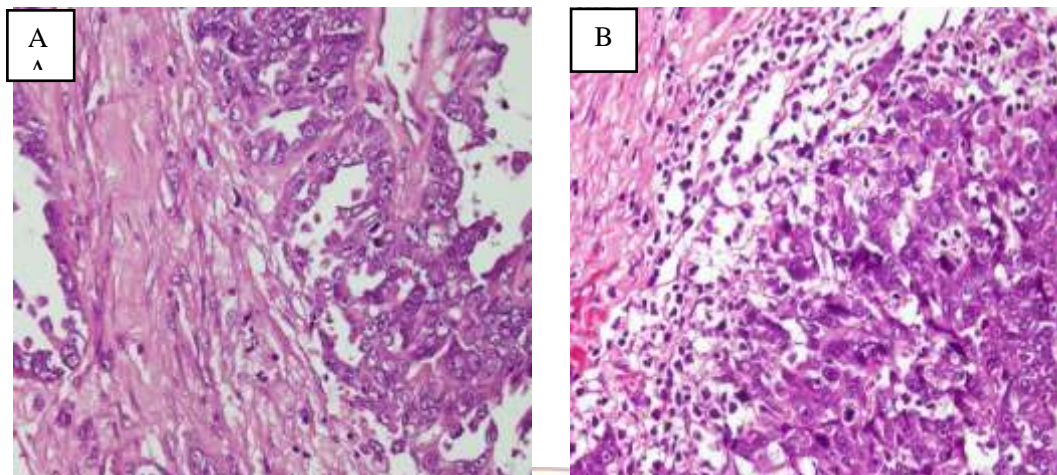
Pada tabel 5.1 terlihat bahwa kelompok usia terbanyak kasus karsinoma ovarium serosum adalah kelompok usia 51-60 tahun yaitu sebanyak 16 kasus (35,6%)

dengan usia pasien rata-rata adalah 53 tahun. Usia termuda adalah 35 tahun dan usia tertua adalah 80 tahun. Karsinoma ovarium serosum *high grade* merupakan derajat diferensiasi terbanyak yaitu sebesar 37 kasus (82,2%). Sebagian karsinoma ovarium serosum ditemukan dengan densitas TIL yang tinggi yaitu 27 kasus (60%) serta ekspresi PD-L1 intratumoral, stroma dan intra epitelial yang tinggi (51,1%, 64,4% dan 66,7%).

Gambaran mikroskopik karsinoma ovarium serosum dari hasil *review* slaid terkait derajat diferensiasi dan densitas TIL di stroma dapat dilihat pada gambar 5.1 dan 5.2.



Gambar 5.1 Derajat histopatologi karsinoma ovarium serosum penelitian. A&B. Karsinoma ovarium serosum *low grade*. (HE. A. Pembesaran 100X dan B. 400X). C&D. Karsinoma ovarium serosum *high grade*. (HE. C. Pembesaran 100X dan D. Pembesaran 400x)



Gambar 5.2 Densitas TIL di stroma. A. Densitas TIL rendah di stroma (HE. Pembesaran 400X). B. Densitas TIL tinggi di stroma. (HE. Pembesaran 400X)

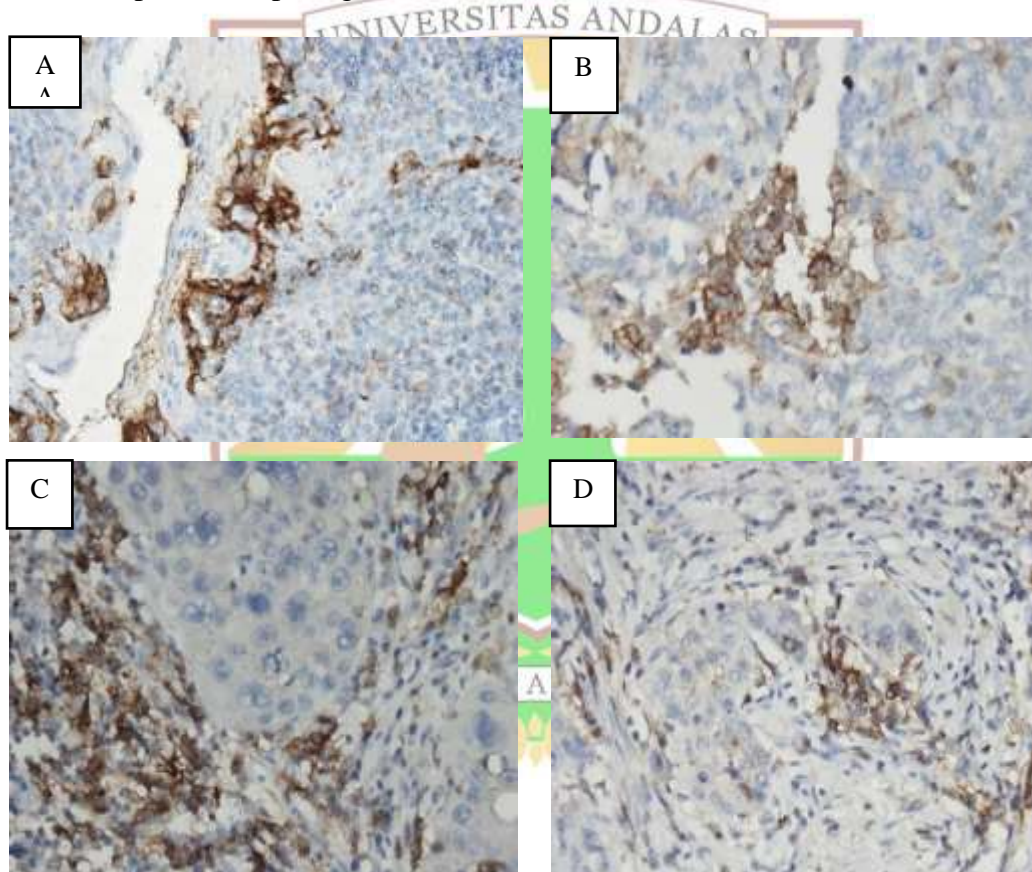
5.2 Hubungan Ekspresi PD-L1 dengan Derajat Diferensiasi pada Karsinoma Ovarium Serosum

Hubungan ekspresi PD-L1 dengan derajat diferensiasi pada karsinoma ovarium serosum dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2. Hubungan Ekspresi PD-L1 dengan Derajat Diferensiasi pada Karsinoma Ovarium Serosum

OR	Karakteristik	Derajat Diferensiasi				Total	<i>p-value</i>	
		High grade		Low grade				
		f	%	f	%			
Ekspresi PD-L1	Intra							
tumoral								
- Tinggi		22	95,7%	1	4,3%	23	100	0,022
- Rendah		15	68,2%	7	31,8%	22	100	
Ekspresi PD-L1	Stroma							
- Tinggi		26	89,7%	3	10,3%	29	100	0,111
- Rendah		11	68,8%	5	31,2%	16	100	
Ekspresi PD-L1	Intra							
Epitelial								
- Tinggi		27	90%	3	10%	30	100	0,095
- Rendah		10	66,7%	5	33,3%	15	100	

Pada Tabel 5.2 terlihat bahwa pada derajat diferensiasi *high grade* ekspresi PD-L1 intra tumoral tinggi lebih banyak (95,7%), dibandingkan ekspresi PD-L1 rendah (68,2%). Secara statistik terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi PD-L1 intratumoral dengan derajat diferensiasi pada karsinoma ovarium serosum ($p=0,022$), namun tidak berhubungan pada ekspresi PD-L1 di stroma dan intraepitelial dengan derajat diferensiasi tumor. Hasil pewarnaan imunohistokimia PD-L1 dapat dilihat pada gambar 5.3 dan 5.4.



Gambar 5.3 Gambaran ekspresi PD-L1 tinggi pada karsinoma ovarium serosum. A. Ekspresi PD-L1 pada kontrol positif, tampak membran dan sitoplasma sel tumor terpulas kecoklatan. B. Ekspresi PD-L1 tinggi intratumoral (derajat diferensiasi *high grade*). C. Ekspresi PD-L1 tinggi di stroma (derajat diferensiasi *high grade*). D. Ekspresi PD-L1 tinggi intraepitelial (derajat diferensiasi *high grade*) (HE. Pembesaran 400X)

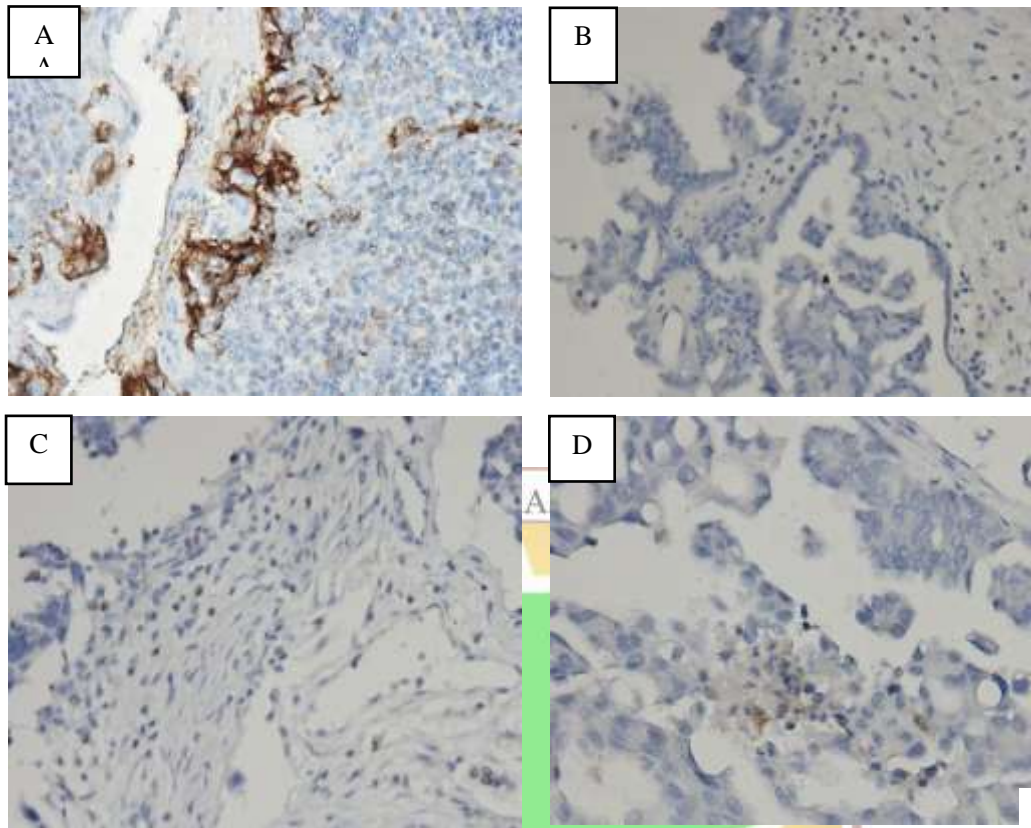
5.3 Hubungan Ekspresi PD-L1 dengan Densitas TIL di stroma pada Karsinoma Ovarium Serosum

Hubungan ekspresi PD-L1 dengan densitas TIL di stroma pada karsinoma ovarium serosum dapat dilihat pada tabel 5.3.

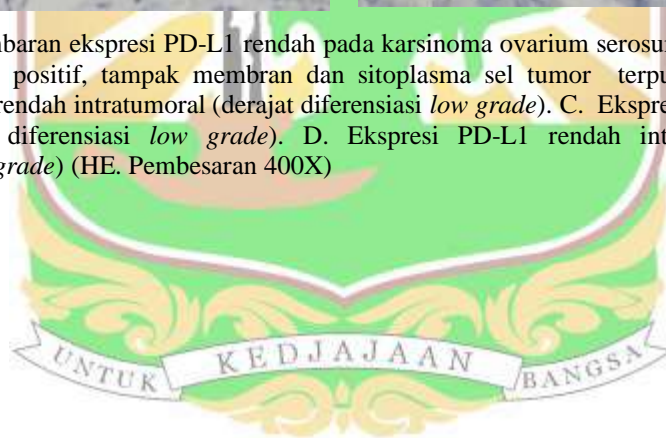
Pada Tabel 5.3 terlihat bahwa pada densitas TIL stroma rendah, ekspresi PD-L1 intra tumoral, stroma dan intraepitelial tinggi lebih sedikit (30,4%, 31%, 33,3%) dibandingkan ekspresi PD-L1 intra tumoral, stroma dan intraepitelial rendah (50%, 56,2%, 53,3%). Secara statistik tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi PD-L1 intratumoral, stroma dan intra epitelial dengan densitas TIL di stroma pada karsinoma ovarium serosum.

Tabel 5.3. Hubungan Ekspresi PD-L1 dengan Densitas TIL di stroma pada Karsinoma Ovarium Serosum

Karakteristik	Densitas TIL Stroma				Total		<i>p-value</i>
	Densitas Rendah		Densitas Tinggi		f	%	
	f	%	f	%			
Ekspresi PD-L1 Intra tumoral							
- Tinggi	7	30,4%	16	69,6%	23	100	0,181
- Rendah	11	50%	11	50%	22	100	
Ekspresi PD-L1 Stroma							
- Tinggi	9	31%	20	69%	29	100	0,098
- Rendah	9	56,2%	7	43,8%	16	100	
Ekspresi PD-L1 Intra Epitelial							
- Tinggi	10	33,3%	20	66,7%	30	100	0,333
- Rendah	8	53,3%	7	46,7%	15	100	



Gambar 5.4 Gambaran ekspresi PD-L1 rendah pada karsinoma ovarium serosum. A. Ekspresi PD-L1 pada kontrol positif, tampak membran dan sitoplasma sel tumor terpulas kecoklatan. Ekspresi PD-L1 rendah intratumoral (derajat diferensiasi *low grade*). C. Ekspresi PD-L1 rendah di stroma (derajat diferensiasi *low grade*). D. Ekspresi PD-L1 rendah intraepitelial (derajat diferensiasi *low grade*) (HE. Pembesaran 400X)



BAB 6 PEMBAHASAN

6.1. Karakteristik Karsinoma Ovarium Serosum

Penelitian ini mendapatkan usia rata-rata pasien adalah 53 tahun dengan rentang usia antara 35-80 tahun. Kelompok usia terbanyak karsinoma ovarium serosum adalah usia 51-60 tahun yaitu 35,6% sedangkan kelompok usia terendah adalah usia >70 tahun yaitu 2,2%. Goulding dkk. melaporkan bahwa usia rata-rata karsinoma ovarium serosum saat didiagnosis adalah 56 tahun. Insiden karsinoma ovarium ini terbanyak pada usia perimenopause yang dihubungkan dengan peran hormonal dalam patogenesis.⁷³

Proporsi umur terbanyak pada penelitian ini pada dekade ke-6 sebanyak 35,6% selanjutnya dekade ke-5 sebanyak 33,3%. Sedikit berbeda dengan hasil penelitian Oktari dkk. pada kelompok karsinoma ovarium serosum banyak menemukan pada dekade ke-5 yaitu 35%, selanjutnya dekade ke-6 sebanyak 30%.⁷¹

Penelitian ini mendapatkan derajat diferensiasi tumor terbanyak adalah karsinoma ovarium serosum *high grade* yaitu 37 kasus (82,2%). Sebagai pembandingan, penelitian James dkk. dari total 337 sampel karsinoma ovarium serosum mendapatkan bahwa 93,1% sampel merupakan karsinoma ovarium serosum *high grade*.²⁰

Terkait densitas TIL di stroma pada karsinoma ovarium serosum, penelitian ini mendapatkan sampel paling banyak masuk kategori TIL densitas tinggi, yaitu sebanyak 27 kasus (60%). Sementara penelitian James dkk. mendapatkan 32,3% yang masuk kategori TIL stroma densitas tinggi pada karsinoma ovarium

serosum. Penelitian Hwang C dkk. bahkan mendapatkan persentase yang lebih rendah lagi, yaitu sebanyak 23% yang masuk kategori TIL stroma densitas tinggi pada karsinoma ovarium serosum, dari total 145 sampel.^{18,20}

Pada penelitian ini didapatkan ekspresi PD-L1 tinggi lebih banyak dibandingkan ekspresi PD-L1 rendah baik di intratumoral, intraepitelial dan di stroma yang secara berturut-turut sebanyak 51,1%, 66,7% dan 64,4%.

6.2. Hubungan antara Ekspresi PD-L1 dengan Derajat Diferensiasi pada Karsinoma Ovarium Serosum

Penelitian ini mendapatkan hubungan yang bermakna antara ekspresi PD-L1 intra tumoral dengan derajat diferensiasi karsinoma ovarium serosum dan tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi PD-L1 stroma dan intra epitelial dengan derajat diferensiasi karsinoma ovarium. Sebagai pembanding, penelitian Kim dkk. (2019) mendapatkan bahwa tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi PD-L1 intra tumoral dengan derajat diferensiasi karsinoma ovarium serosum namun terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi PD-L1 stroma dan intra epitelial dengan derajat diferensiasi karsinoma ovarium.²⁶

Terkait hasil penelitiannya, Kim dkk. menjelaskan bahwa tingginya ekspresi PD-L1 stroma dan intraepitelial pada karsinoma ovarium serosum *high grade* menunjukkan bahwa progresi karsinoma ovarium serosum *high grade* sudah mulai dideteksi oleh sistem imun *host* sejak di daerah stroma dan intraepitelial sehingga menarik lebih banyak TIL di daerah tersebut dan dengan demikian memunculkan ekspresi PD-L1 di TIL sebagai mekanisme resistensi adaptif. Ini

mungkin juga karena fakta bahwa akumulasi sel-sel imun di stroma adalah tahap awal untuk invasi sel imun ke sarang sel tumor.²⁶

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekspresi PD-L1 tinggi di intratumoral karsinoma ovarium serosum yang mempengaruhi derajat diferensiasi. Ekspresi PD-L1 di intratumoral yang tinggi diinduksi karena adanya respon imun *host* berupa lepasnya berbagai sitokin dan eksosom serta terjadinya hipoksia di lingkungan mikro tumor pada karsinoma ovarium. Selanjutnya pada proses ini akan meningkatkan sinyal PD-L1/PD-1 untuk menghambat aktivasi CTL di lingkungan mikro tumor dan mendorong *tumor immune escape*. *Tumor immune escape* mengacu pada fenomena dimana sel tumor dapat berproliferasi secara progresif sehingga mempengaruhi diferensiasi dan tumor dapat bermetastasis dengan menghindari pengenalan dan eliminasi oleh sistem imun.²⁸

PD-L1 memainkan peran kunci dalam mekanisme *immune escape* sel tumor. PD-L1 secara khusus mengikat reseptor PD-1 sel T dan mengganggu aktivasi dan diferensiasi sel T. Sel imun yang menginfiltrasi tumor telah terbukti menginduksi sitokin dan faktor pertumbuhan endotel vaskular yang dapat meningkatkan ekspresi PD-L1. Oleh karena itu ekspresi PD-L1 yang tinggi berpotensi mempengaruhi perkembangan tumor,²⁸ sehingga diketahui bahwa pasien dengan ekspresi PD-L1 tinggi angka harapan hidupnya lebih pendek.⁷⁴

PD-L1 diekspresikan juga oleh sel tumor sebagai mekanisme imun adaptif untuk menghindari respon antitumor. PD-L1 dikaitkan dengan lingkungan imun yang kaya akan sel T CD8, sitokin Th1, interferon dan karakteristik ekspresi gen tertentu. PD-L1 bertindak sebagai faktor pro-tumorigenik dalam sel tumor melalui

pengikatan pada reseptornya dan mengaktifkan jalur pensinyalan proliferasi. Temuan ini menunjukkan bahwa PD-L1 terlibat dalam perkembangan tumor selanjutnya.⁷⁵

Studi-studi saat ini menunjukkan bahwa hampir 60% kasus menunjukkan ekspresi PD-L1 yang positif dalam sel tumor. Studi juga menunjukkan bahwa ekspresi PD-L1 bervariasi dalam kasus karsinoma ovarium serosum, mulai dari 11 hingga 60%. Sementara metaanalisis oleh Wang (2019) mendapatkan bahwa ekspresi PDL1 tidak terkait dengan derajat tumor.⁶⁷

Penyebab potensial untuk hasil-hasil penelitian yang tidak konsisten di antaranya heterogenitas tumor, ukuran sampel, stadium klinis, nilai cut-off pengukuran PD-L1, dan berbagai metodologi yang dipakai dalam penelitian.³⁰

6.3. Hubungan antara Ekspresi PD-L1 dengan Densitas TIL Stroma pada Karsinoma Ovarium Serosum

Penelitian ini mendapatkan bahwa tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi PD-L1 intra tumoral, stroma, dan intraepitelial dengan densitas TIL stroma pada karsinoma ovarium serosum. Berbeda dengan penelitian Murakami dkk (2020) mempelajari limfosit CD8 positif intraepitelial dan stroma serta mereka menemukan bahwa ada korelasi yang bermakna dengan karsinoma ovarium serosum *high grade*.⁷⁵

Penelitian Farraq dkk. mengemukakan bahwa ekspresi PD-L1 intratumoral memprediksi kurangnya TIL intraepitelial pada karsinoma ovarium. Dalam analisis multivariat karsinoma ovarium serosum, ekspresi PD-L1 pada TIL stroma merupakan faktor prognostik independen. Hal ini menunjukkan bahwa ekspresi

PD-L1 di TIL stroma mungkin merupakan faktor yang sangat penting dalam diagnosis pasien dengan tumor karsinoma ovarium serosum.^{26,30}

Walaupun tidak bermakna namun pola hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan meningkatnya ekspresi PD-L1 di intra tumoral dan stroma maka meningkat pula densitas TIL di stroma. Kemungkinan hasil ini terjadi karena dalam perkembangan awal tumor, sel tumor memproduksi neo antigen yang dapat merangsang sistem imun. Sistem imun yang terinduksi mencoba mengeliminasi sel tumor dengan harapan untuk menghambat progresivitas tumor namun sel tumor mengekspresikan PD-L1 untuk mencoba menghindari pengenalan sistem imun host. Akibatnya sel tumor tetap semakin berkembang, sementara di saat yang sama sistem imun juga terus berusaha mengeliminasi sel tumor yang coba terus berkembang sehingga kadar sel imun di stroma juga tetap meningkat.²⁸

Kemungkinan penyebab lain adalah adanya gangguan ekspresi PD-L1 pada sel tumor yang disebabkan oleh gangguan regulasi metilasi DNA, gangguan regulasi microRNA, dan keterlibatan banyak faktor dalam *oncogenic drivers* yang memodulasi ekspresi PD-L1.⁷⁶

Selain itu ada pula faktor-faktor yang mempengaruhi keakuratan pewarnaan IHC PD-L1 diantaranya adalah perbedaan jenis antibodi yang digunakan, nilai *cut-off* positif pewarnaan PD-L1 yang berbeda, dan ekspresi PD-L1 pada tumor yang berbeda.³⁰

6.4 Keterbatasan penelitian

Jumlah sampel antara karsinoma ovarium serosum *low grade* dan *high grade* sangat berbeda dan penilaian TIL stroma hanya dilakukan pada sediaan yang diwarnai dengan H&E. Pewarnaan imunohistokimia tambahan untuk subtipe TIL

seperti CD8 tidak dilakukan sehingga terdapat keterbatasan untuk mengidentifikasi subtype TIL.

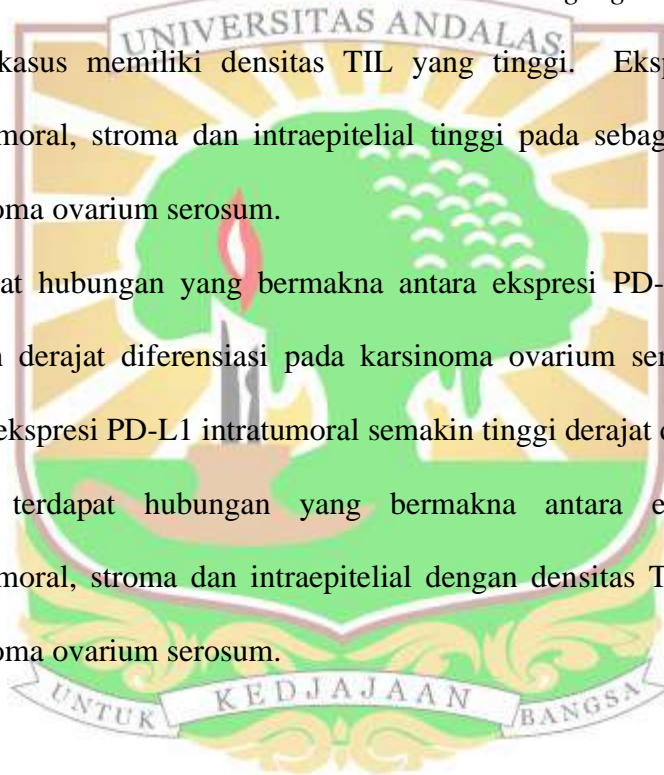


BAB 7 PENUTUP

7.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini disimpulkan:

1. Karsinoma ovarium serosum paling banyak ditemukan pada kelompok usia 51-60 tahun, dengan usia rata-rata 53 tahun. Derajat diferensiasi terbanyak adalah karsinoma ovarium serosum *high grade* dan sebagian besar kasus memiliki densitas TIL yang tinggi. Ekspresi PD-L1 di intratumoral, stroma dan intraepitelial tinggi pada sebagian besar kasus karsinoma ovarium serosum.
2. Terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi PD-L1 intratumoral dengan derajat diferensiasi pada karsinoma ovarium serosum. Semakin tinggi ekspresi PD-L1 intratumoral semakin tinggi derajat diferensiasi.
3. Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi PD-L1 intratumoral, stroma dan intraepitelial dengan densitas TIL stroma pada karsinoma ovarium serosum.



7.2. Saran

1. Pada penelitian ini kasus terbanyak karsinoma ovarium serosum ditemukan pada kelompok umur 51-60 tahun. Untuk mengurangi insiden tumor ini sebaiknya dilakukan deteksi dini seperti pemeriksaan CA 125 dan USG pelvik bagi individu yang berisiko sejak usia 40 tahun.
2. Pemeriksaan ekspresi PD-L1 intratumoral dan penilaian *survival rate* dapat dianjurkan pada karsinoma ovarium serosum *high grade* untuk memprediksi

prognosis dan respon terapi anti PD-L1 sehingga diharapkan pemilihan terapi lebih tepat dan harapan hidup penderita menjadi meningkat.

3. Perlu penelitian lanjutan hubungan ekspresi PD-L1 dengan densitas TIL CD8 pada karsinoma ovarium serosum *high grade* dengan jumlah sampel yang lebih banyak.



DAFTAR PUSTAKA

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394–424.
2. De Leo A, Santini D, Ceccarelli C, Santandrea G, Palicelli A, Acquaviva G, et al. What Is New on Ovarian Carcinoma: Integrated Morphologic and Molecular Analysis Following the New 2020 World Health Organization Classification of Female Genital Tumors. *Diagnostics.* 2021;11(4):697.
3. Torre LA, Trabert B, DeSantis CE, Miller KD, Samimi G, Runowicz CD et al. Ovarian cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2018;4(68):284–96.
4. Budiana ING, Angelina M, Pemayun TGA. Ovarian cancer: Pathogenesis and current recommendations for prophylactic surgery. *J Turkish-German Gynecol Assoc.* 2019;20(1):47–54.
5. Kementerian Kesehatan RI. Pusat Data dan Informasi. :2015.
6. Yayasan Kanker Indonesia. Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia. Kanker di Indonesia tahun 2014, Data Histopatologik. Jakarta: Yayasan Kanker Indonesia; 2017.
7. Lheureux S, Gourley C, Vergote I, Oza AM. Epithelial ovarian cancer. *Lancet.* 2019;393(10177):1240–53.
8. Data P Kanker, E, Cipto R. Epidemiology data of ovarian cancer in Dr. Cipto Mangunkusumo Hospital, Jakarta.Indonesia. *J Obs Gynecol.* 2016;4:101–6.
9. McCluggage, W. Glenn, Lax SF, Longacre TA, Malpica A SR. Tumor of the ovary. In: The WHO classification of tumours editorial board, editor. WHO classification of tumours, Female genital tumours. 5th editio. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2020. p. 32–47.
10. Kurman RJ SL. The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory. *Am J Surg Pathol.* 2010;34:433–43.
11. Salas-Benito D, Vercher E, Conde E, Glez-Vaz J, Tamayo I, Hervas-Stubbs S. Inflammation and immunity in ovarian cancer. *Eur J Cancer.* 2020;15:56–66.

12. Longacre TA GC. Epithelial neoplasms of the ovary. In: Nucci MR HC, editor. *Gynecologic pathology*. Second ed. Philadelphia: Elsevier; 2021. p. 577–602.
13. Momenimovahed Z, Tiznobaik A, Taheri S, Salehiniya H. Ovarian cancer in the world: Epidemiology and risk factors. *Int J Womens Health*. 2019;11:287–99.
14. Bridget C, Goode EL, Kalli KR, Knutson KL, DeRycke MS. The immune system in the pathogenesis of ovarian cancer. *Crit Rev Immunol*. 2013;33(2):137–64.
15. Leffers N, Gooden Mj, de Jong RA, Hoogeboom Bn, Ten Hoor KA HH et al. Prognostic significance of tumor infiltrating T-Lymphocytes in primary and metastatic lesion of advanced stage ovarian cancer. *Cancer Immunol Immunother*. 2009;58:449–59.
16. Khatchapuridze K, Kordzaia S, Kekelidze N, Tsitsishvili Z, Mchedlishvili M KD. Tumor infiltrating lymphocytes influence on prognosis and outcome of ovarian cancer. *TCM&GMJ*. 2020;5(1).
17. Santolemma PP, Powell DJ. Tumor infiltrating lymphocytes in ovarian cancer. *Cancer Biol Ther*. 2015;16(6):807–20.
18. Hwang C, Lee SJ, Lee JH, Kim KH, Suh DS, Kwon BS, et al. Stromal tumor-infiltrating lymphocytes evaluated on H&E-stained slides are an independent prognostic factor in epithelial ovarian cancer and ovarian serous carcinoma. *Oncol Lett*. 2019;17(5):4557–65.
19. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, Russell PA, John T, Thapa B, et al. Assessing Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Solid Tumors: A Practical Review for Pathologists and Proposal for a Standardized Method from the International Immunology Biomarkers Working Group: Part 2: TILs in Melanoma, Gastrointestinal Tract Carcinom. *Adv Anat Pathol*. 2017;24(6):311–35.
20. James FR, Jiminez-Linan M, Alsop J, Mack M, Song H, Brenton JD, et al. Association between tumour infiltrating lymphocytes, histotype and clinical outcome in epithelial ovarian cancer. *BMC Cancer*. 2017;17(1):1–7.
21. Strickland KC, Howitt BE, Shukla SA, Rodig S, Ritterhouse LL, Liu JF, et al. Association and prognostic significance of BRCA1/2-mutation status with neoantigen load, number of tumor-infiltrating lymphocytes and expression of PD-1/PD-L1 in high grade serous ovarian cancer. *Oncotarget*. 2016;7(12):13587–98.

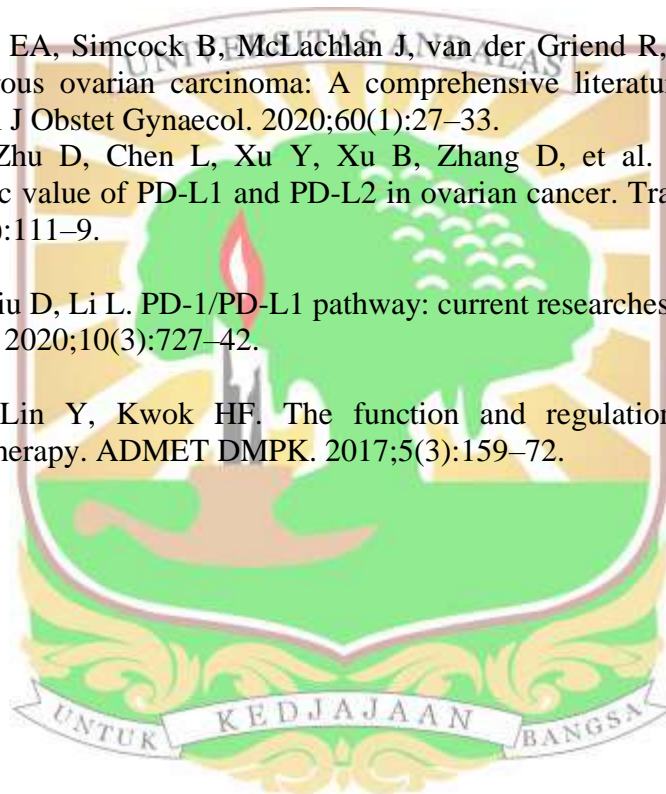
22. Hermans C, Anz D, Engel J, Kirchner T, Endres S, Mayr D. Analysis of FoxP3+ T-regulatory cells and CD8+T-Cells in ovarian carcinoma: Location and tumor infiltration patterns are key prognostic markers. *PLoS One*. 2014;9(11):1–9.
23. Li J, Wang J, Chen R, Bai Y, Lu X. The prognostic value of tumor infiltrating T lymphocytes in ovarian cancer. *Oncotarget*. 2017;8(9):15621–31.
24. Schietinger A, Arina A, Liu RB, Well S, Huang J, Engels B et al. Longitudinal confocal microscopic imaging of solid tumor destruction following adoptive T cell transfer. *Oncoimmunology*. 2013;2.
25. Joyce JA, FD. T cell exclusion, immune privilege, and the tumor microenvironment. *Science*. 2015;348:74–80.
26. Kim KH, Choi KU, Kim A, Lee SJ, Lee JH, Suh DS, et al. Correction: PD-L1 expression on stromal tumor-infiltrating lymphocytes is a favorable prognostic factor in ovarian serous carcinoma. *J Ovarian Res*. 2019;12(1):1–9.
27. Baş Y, Koç N, Helvacı K, Koçak C, Akdeniz R, Şahin HHK. Clinical and pathological significance of programmed cell death 1 (PD-1)/programmed cell death ligand 1 (PD-L1) expression in high grade serous ovarian cancer. *Transl Oncol*. 2021;14(2):0–9.
28. Piao J, Lim HJ, Lee M. Prognostic value of programmed cell death ligand-1 expression in ovarian cancer: An updated meta-analysis. *Obstet Gynecol Sci*. 2020;63(3):346–56.
29. Gaillard SL, Coleman RL. Identifying markers of immune response in ovarian cancer: does PD-L1 expression meet the mark? *Ann Oncol*. 2019;30(7): 1025–8.
30. Farrag MS, Abdelwahab K, Farrag NS, Elrefaie WE, Emarah Z. Programmed death ligand-1 and CD8 tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) as prognostic predictors in ovarian high-grade serous carcinoma (HGSC). 2021;33(16):1–10
31. Longacre TA, GC. Surface epithelial stromal tumors. In: JR G, editor. *Gynecologic pathology*. first edit. Livingstone: Elsevier churchil; 2009. p. 393–412.
32. Silverberg SG. Histopathologic grading of ovarian carcinoma: a review and proposal. *Int J Gynecol Pathol*. 2004;19:7–15.

33. Malpica A, Deavers MT, Lu K et al. Grading ovarian serous carcinoma using a two-tier system. *Am J Surg Pathol*. 2004;28:496–504.
34. Bodurka DC, Deavers MT TC et al. Reclasification of serous ovarian carcinoma by a 2-tier system. *A Gynecol Oncol Gr Study Cancer*. 2012;118:3087–94.
35. Crum CP, Quick CM, Laury AR, Peters WA HM, editor. *Gynecologic and obstetric pathology high-yield pathology*. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2016. 586–606.
36. Longacre T, M W. Serous tumor. In: Kurman RJ, Carcangiu M, Herrington C, Young R, editors. *WHO Female 2014*. 4th editio. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2014. p. 15–24.
37. RA R. Pathology of ovarian tumors. In: JW PJ, editor. *Diagnostic gynecologic and obstetric pathology an atlas and text*. Philadelphia: Lippincot william and wilkins; 2012. p. 370–88.
38. Seidman JD, Ronnett BM, Shih LM, Cho KR KR. Epithelial tumors of the ovary. In: Kurman RJ, Ellenson LH RB, editor. *Blaustein's pathology of the female genital tract*. 7th editio. Switzerland: Springer; 2019. p. 841–906.
39. Mori M, Harabuchi I, Miyake H, Casagrande JT, Henderson BE, Ross RK. Reproductive, genetic, and dietary risk factors for ovarian cancer. *Am J Epidemiol*. 1988;128(4):771–7.
40. Toss A, Tomasello C, Razzaboni E, Contu G, Grandi G, Cagnacci A, et al. Hereditary ovarian cancer: Not only BRCA 1 and 2 Genes. *Biomed Res Int*. 2015.
41. Walsh T, Casadei S, Lee MK, Pennil CC, Nord AS, Thornton AM, et al. Mutations in 12 genes for inherited ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinoma identified by massively parallel sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(44):18032–7.
42. Andrews L, Mutch DG. Hereditary Ovarian Cancer and Risk Reduction. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2017;41:31–48.
43. Kotsopoulos J, Gronwald J, Karlan B, Rosen B, Huzarski T, Moller P, et al. Age-specific ovarian cancer risks among women with a BRCA1 or BRCA2 mutation. *Gynecol Oncol*. 2018;150(1):85–91.
44. Oah N, Auff DK, Aya J, Atagopan MS, Obson AER, Auren L, et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation (abstract). *N Engl J Med*. 2002;346(21):1609–15.

45. Ong JS, Cuellar-Partida G, Lu Y, Fasching PA, Hein A, Burghaus S, et al. Association of vitamin D levels and risk of ovarian cancer: A Mendelian randomization study. *Int J Epidemiol*. 2016;45(5):1619–30.
46. Koshiyama M, Matsumura N, Konishi I. Recent concepts of ovarian carcinogenesis: Type I and type II. *Biomed Res Int*. 2014.
47. Li J, Fadare O, Xiang L, Kong B, Zheng W. Ovarian serous carcinoma: Recent concepts on its origin and carcinogenesis. *J Hematol Oncol*. 2012;5:1–11.
48. Kurman RJ, Shih IM. The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: A proposed unifying theory. *Am J Surg Pathol*. 2010;34(3):433–43.
49. Venkitaraman AR. Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2. *Cell*. 2002;108(2):171–82.
50. Risch HA, McLaughlin JR, Cole DEC, Rosen B, Bradley L, Fan I, et al. Population BRCA1 and BRCA2 mutation frequencies and cancer penetrances: A kin-cohort study in Ontario, Canada. *J Natl Cancer Inst*. 2006;98(23):1694–706.
51. Bell D, Berchuck A, Birrer M, Chien J, Cramer DW, Dao F, et al. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature*. 2011;474(7353):609–15.
52. Singer G, Kurman RJ, Chang HW, Cho SKR, Shih IM. Diverse tumorigenic pathways in ovarian serous carcinoma. *Am J Pathol*. 2002;160(4):1223–8.
53. Kurman Rj, Carcangiu ML, Herrington CS YR, editor. Serous tumor. In: WHO classification of tumours of female reproductive organ. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2014. p. 15–24.
54. Palaia I, Tomao F, Sassu CM, Musacchio L, Panici PB. Immunotherapy for ovarian cancer. Recent advanced combination therapeutic approaches. *Onco Target Ther*. 2020;13:6109–29.
55. Klymenko Y, Nephew KP. Epigenetic crosstalk between the tumor microenvironment and ovarian cancer cells: A therapeutic road less traveled. *Cancers (Basel)*. 2018;10(9).
56. Schiavoni G, Gabriele L, Mattei F. The tumor microenvironment: A pitch for multiple players. *Front Oncol*. 2013;3:1–15.
57. Schlienger K, Chu CS, Woo EY, Rivers PM, Toll AJ, Hudson B, et al. TRANCE- and CD40 ligand-matured dendritic cells reveal MHC class I-

- restricted T cells specific for autologous tumor in late-stage ovarian cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2003;9(4):1517–27.
58. Gasparri ML, Attar R, Palaia I, Perniola G, Marchetti C, Di Donato V, et al. Tumor infiltrating lymphocytes in ovarian cancer. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2015;16(9):3635–8.
 59. Webb JR, Milne K, Watson P, DeLeeuw RJ, Nelson BH. Tumor-infiltrating lymphocytes expressing the tissue resident memory marker cd103 are associated with increased survival in high-grade serous ovarian cancer. *Clin Cancer Res.* 2014;20(2):434–44.
 60. Milne K, Köbel M, Kalloger SE, Barnes RO, Gao D, Gilks CB, et al. Systematic analysis of immune infiltrates in high-grade serous ovarian cancer reveals CD20, FoxP3 and TIA-1 as positive prognostic factors. *PLoS One.* 2009;4(7).
 61. Kythreotou A, Siddique A, Mauri FA, Bower M, Pinato DJ. Pd-L1. *J Clin Pathol.* 2018;71(3):189–94.
 62. Akinleye A, Rasool Z. Immune checkpoint inhibitors of PD-L1 as cancer therapeutics. *J Hematol Oncol.* 2019;12(1):1–13.
 63. Buchbinder EI, Desai N. PD-1/PD-L1 immune checkpoint Potential target for cancer therapy. *American Journal of Clinical Oncology.* 2016;39:98–106.
 64. Chen J, Jiang CC, Jin L, Zhang XD. Regulation of PD-L1: A novel role of pro-survival signalling in cancer. *Ann Oncol.* 2016;27(3):409–16.
 65. Wherry EJ, Kurachi M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. *Nat Rev Immunol.* 2015;15(8):486–99.
 66. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2012;12(4):252–64.
 67. Jiang X, Wang J, Deng X, Xiong F, Ge J, Xiang B, et al. Role of the tumor microenvironment in PD-L1/PD-1-mediated tumor immune escape. *Mol Cancer.* 2019;18(1):1–17.
 68. Yokosuka T, Takamatsu M, Kobayashi-Imanishi W. Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2. 2012;(5).
 69. Hwang WT, Adams SF, Tahirovic E, Hagemann IS, Coukos G. Prognostic significance of tumor infiltrating T cell in ovarian cancer. A meta-analysis. *Gynecol Oncol.* 2012;124(2):192–8.

70. Sastroasmoro I. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. Jakarta: Sagung seto; 2011.
71. Oktari D, Maulani H, Auline Rusminan S, Bahar E. Tumor infiltrating lymphocytes can help to identify CD8+ tumor infiltrating lymphocytes and histopathologic subtypes of ovarian carcinoma. *J Phys Conf Ser.* 2019;1246(1):8–14.
72. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILS) in breast cancer: Recommendations by an International TILS Working Group 2014. *Ann Oncol.* 2015;26(2):259–71.
73. Goulding EA, Simcock B, McLachlan J, van der Griend R, Sykes P. Low-grade serous ovarian carcinoma: A comprehensive literature review. *Aust New Zeal J Obstet Gynaecol.* 2020;60(1):27–33.
74. Xue C, Zhu D, Chen L, Xu Y, Xu B, Zhang D, et al. Expression and prognostic value of PD-L1 and PD-L2 in ovarian cancer. *Transl Cancer Res.* 2019;8(1):111–9.
75. Han Y, Liu D, Li L. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer. *Am J Cancer.* 2020;10(3):727–42.
76. Guo L, Lin Y, Kwok HF. The function and regulation of PD-L1 in immunotherapy. *ADMET DMPK.* 2017;5(3):159–72.



Lampiran 1 Surat Keterangan Lolos Kaji Etik



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ANDALAS
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN

Alamat : Kampus Universitas Andalas, Limau Manis Padang Kode Pos 25163
Telepon : 0751-31746, Faksimile : 0751-32838, Dekan : 0751-39844
Laman : <http://fk.unand.ac.id> e-mail : dekanat@fk.unand.ac.id

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL

No : *56* /UN.16.2/KEP-FK/2022

Tim Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, dalam upaya melindungi Hak Azasi dan Kesejahteraan Subjek Penelitian kedokteran/kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian dengan judul :

The Research Ethics Committee of Medical Faculty Andalas University, in order to protect human rights and welfare of medical/health research subject, has carefully reviewed the research protocol entitled :

**HUBUNGAN EKSPRESI PD-L1 DENGAN DERAJAT DIFERENSIASI DAN DENSITAS
TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTE (TIL) DI STROMA PADA KARSINOMA
OVARIUM SEROSUM**

Nama Peneliti Utama : dr. Valencia
Principal Researcher

Nama Institusi : Patologi Anatomik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas
Institution

Protokol Penelitian tersebut dapat disetujui pelaksanaannya.
and approved the research protocol.

Padang, 18 Februari 2022

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas
Dean of Medical Faculty Andalas University

Ketua
Chairman

Dr. dr. Afriwardi, SH. Sp.KO, MA
NIP 196704211997021001



Dr. dr. Yuliarni Syafrita, SpS (K)
NIP 196407081991032001

Keterangan/notes:

Keterangan lolos kaji etik ini berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan.

This ethical approval is effective for one year from the due date.

Jika ada kejadian serius yang tidak diinginkan (KTD) harus segera dilaporkan ke Komisi Etik Penelitian.

If there are Serious Adverse Events (SAE) should be immediately reported to the Research Ethics Committee.

Lampiran 2 Surat Keterangan Penelitian



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS KEDOKTERAN, KESEHATAN MASYARAKAT, DAN KEPERAWATAN
DEPARTEMEN PATOLOGI ANATOMIK

Alamat : Gedung Radloputro Lantai 4, Jalan Farmako, Sekip Utara, Yogyakarta 55281 Telp. 0274540460
Email : paf@ugm@yahoo.com

SURAT KETERANGAN

Nomor : 082/UN1/FKKMK/PA/LT/2022

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : **Dr. dr. Irianiwati, Sp.PA(K)**
NIP. : **19620523 198803 2 002**
Jabatan : **Ketua Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran,
Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan, UGM**

menerangkan bahwa Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan UGM, telah melakukan **pengecatan** preparat sebanyak 45 slide dengan pengecatan IHC PD-L1, periode bulan November 2021, nama mahasiswa sebagai berikut :

Nama : **dr. Valencia**
Mahasiswa : **Program Studi Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas
Andalas, Padang**
Judul Penelitian : **Hubungan Ekspresi PD-L1 dengan Derajat Diferensiasi dan Densitas
TIL di Stroma pada Karsinoma Ovarium Serosum**
Pembimbing : **1. dr. Aswiyanti Asri, M.Si.Med., Sp.P.A.(K)**
2. dr. RZ. Nizar, Sp.P.A.(K)

Demikianlah surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Yogyakarta, 14 April 2022

Ketua
Departemen Patologi Anatomi



(Signature)
Dr. dr. Irianiwati, Sp.PA(K)
NIP. 196205231988032002

Lampiran 3

RIWAYAT HIDUP

Nama : dr. Valencia, MARS

Jenis Kelamin : Perempuan

Tempat/ Tanggal Lahir : Painan/ 15 Juli 1979

Kewarganegaraan : Indonesia

Status Perkawinan : Menikah

Orang Tua : Muchtim Pribadi (Alm)
Erti Adriani

Suami : dr. Rendri Bayu Hansah, SpPD

Alamat : Villaku Indah III Blok G no. 1 Sungai Sapih Kuranji,
Kota Padang

Email : valencia.rendri@gmail.com

Riwayat Pendidikan :

- SD Negeri 03 Lubuk Basung, lulus tahun 1992
- SLTP Negeri 3 Lubuk Basung, lulus tahun 1995
- SMU Negeri 1 Lubuk basung, lulus tahun 1998
- Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, lulus tahun 2005
- Program Pasca Sarjana Kesehatan Masyarakat, Peminatan Kajian Administrasi RS Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, lulus tahun 2017
- PPDS Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang

Riwayat Pekerjaan :

- Dokter Jaga Klinik Herlinda Pekanbaru 2005-2006
- Dokter PNS di RSUD Lubuk Basung 2008 – sekarang

Lampiran 4 Hasil Analisis Statistik

1. Tabel Distribusi Frekuensi

Statistics

Usia

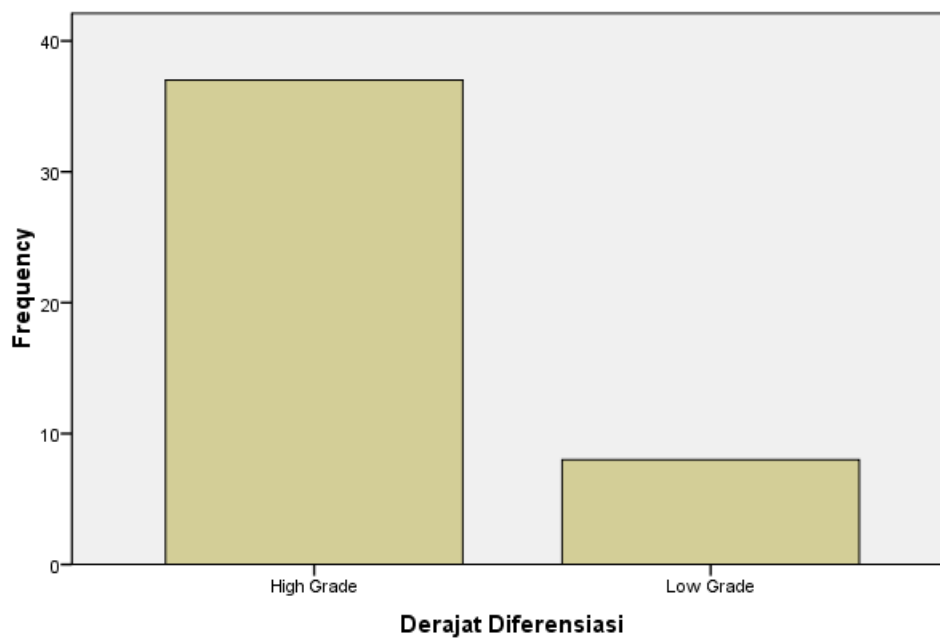
N	Valid	45
	Missing	0
Mean		52.9111
Median		53.0000
Std. Deviation		9.50555
Minimum		35.00
Maximum		80.00

Usia

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 35	1	2.2	2.2	2.2
36	2	4.4	4.4	6.7
38	1	2.2	2.2	8.9
41	1	2.2	2.2	11.1
42	2	4.4	4.4	15.6
43	1	2.2	2.2	17.8
45	1	2.2	2.2	20.0
46	2	4.4	4.4	24.4
47	2	4.4	4.4	28.9
48	3	6.7	6.7	35.6
49	1	2.2	2.2	37.8
50	2	4.4	4.4	42.2
51	1	2.2	2.2	44.4
52	1	2.2	2.2	46.7
53	3	6.7	6.7	53.3
54	1	2.2	2.2	55.6
55	2	4.4	4.4	60.0
56	2	4.4	4.4	64.4
57	2	4.4	4.4	68.9
59	1	2.2	2.2	71.1
60	3	6.7	6.7	77.8
62	2	4.4	4.4	82.2
63	3	6.7	6.7	88.9
64	2	4.4	4.4	93.3
65	1	2.2	2.2	95.6
67	1	2.2	2.2	97.8

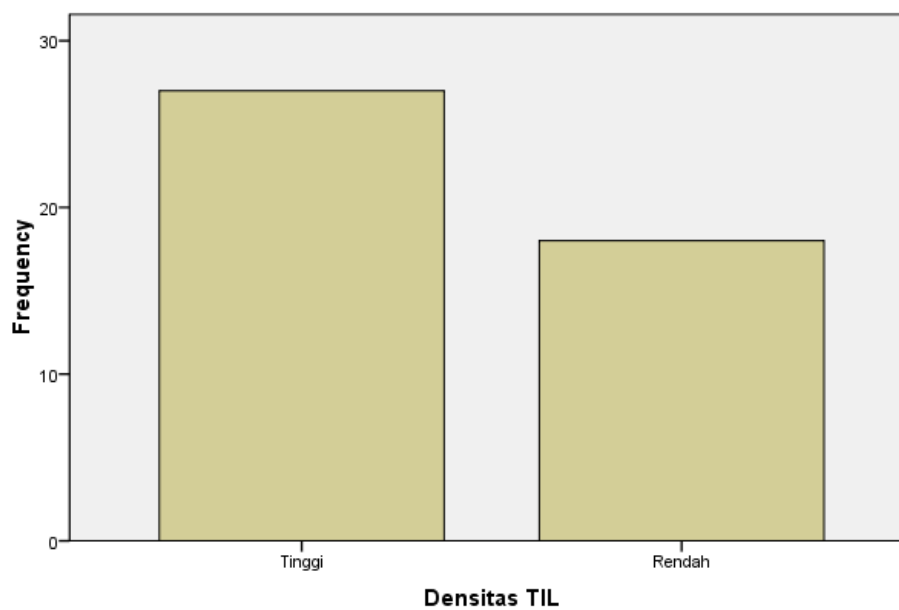
Derajat Diferensiasi

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	High Grade	37	82.2	82.2	82.2
	Low Grade	8	17.8	17.8	100.0
	Total	45	100.0	100.0	

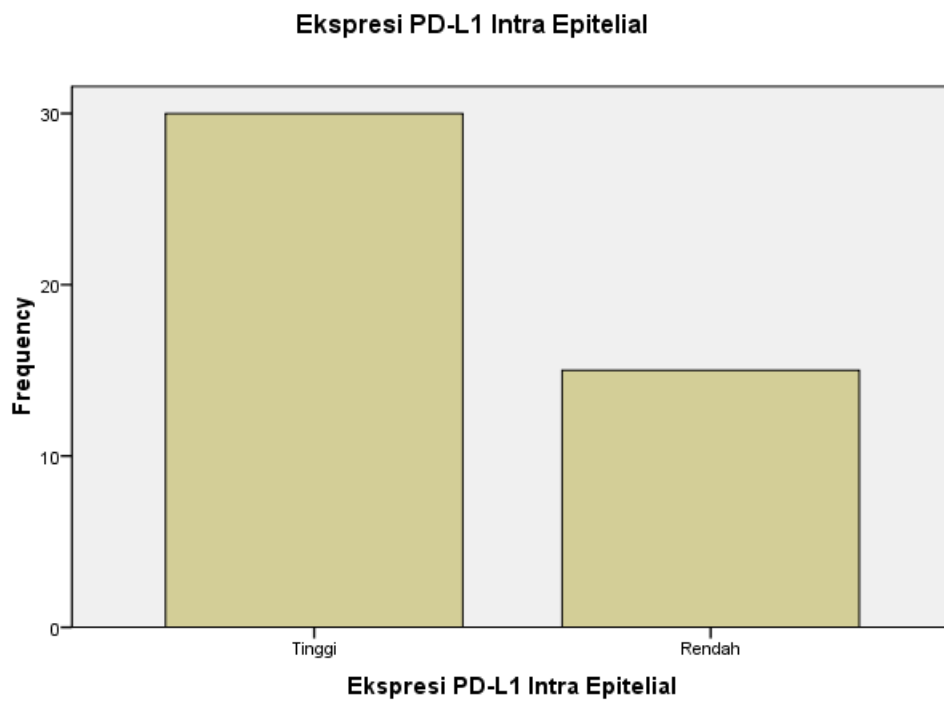
Derajat Diferensiasi

Densitas TIL

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Tinggi	27	60.0	60.0	60.0
	Rendah	18	40.0	40.0	100.0
	Total	45	100.0	100.0	

**Densitas TIL****Ekspresi PD-L1 Intra Epitelial**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Tinggi	30	66.7	66.7	66.7
	Rendah	15	33.3	33.3	100.0
	Total	45	100.0	100.0	

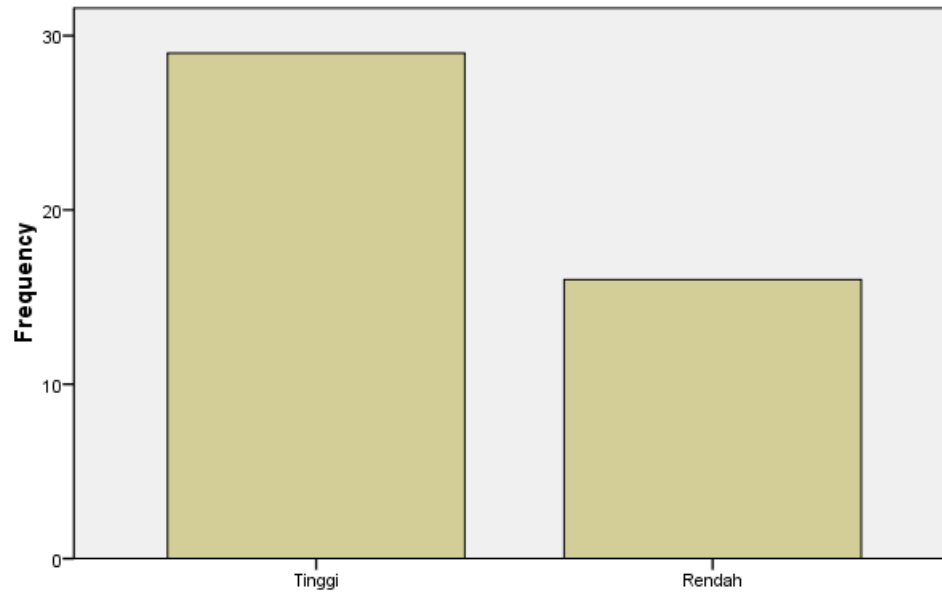


**Ekspresi PD-L1 Stroma**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Tinggi	29	64.4	64.4	64.4
	Rendah	16	35.6	35.6	100.0
	Total	45	100.0	100.0	



Ekspresi PD-L1 Stroma



Ekspresi PD-L1 Stroma



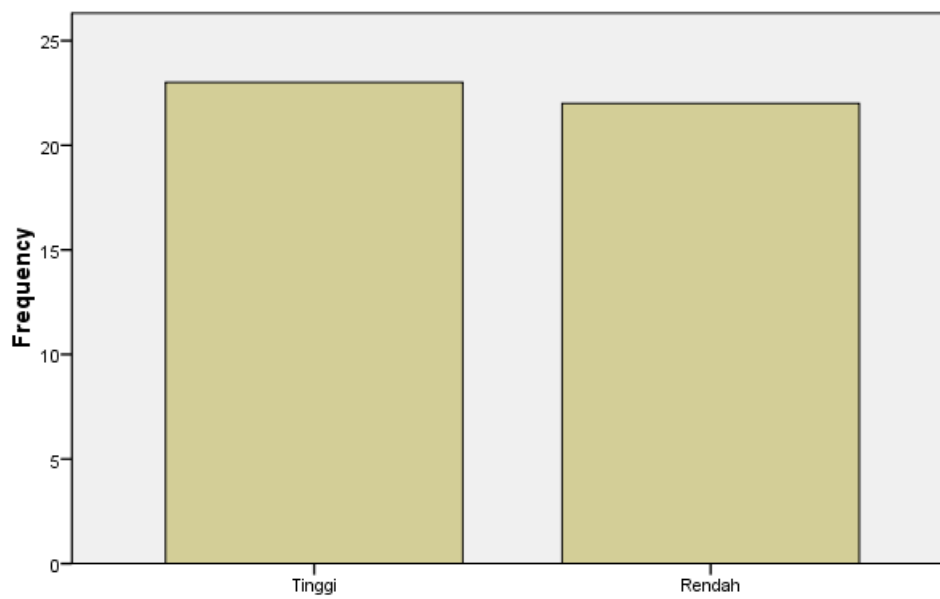
EkspresiPD-L1 Intra Tumoral

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Tinggi	23	51.1	51.1	51.1
	Rendah	22	48.9	48.9	100.0

EkspresiPD-L1 Intra Tumoral

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Tinggi	23	51.1	51.1	51.1
	Rendah	22	48.9	48.9	100.0
	Total	45	100.0	100.0	

EkspresiPD-L1 Intra Tumoral

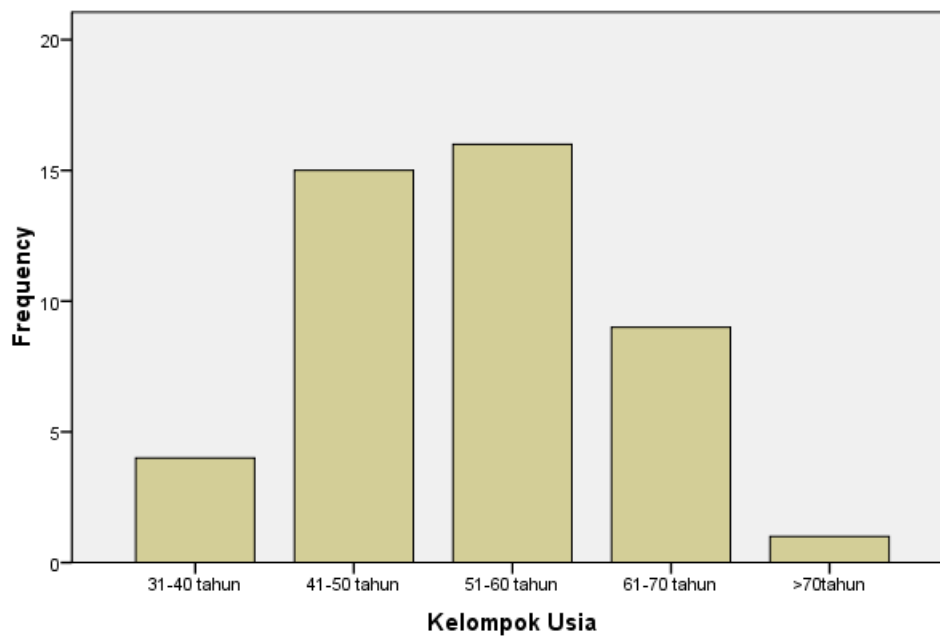


EkspresiPD-L1 Intra Tumoral



Kelompok Usia

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	31-40 tahun	4	8.9	8.9	8.9
	41-50 tahun	15	33.3	33.3	42.2
	51-60 tahun	16	35.6	35.6	77.8
	61-70 tahun	9	20.0	20.0	97.8
	>70tahun	1	2.2	2.2	100.0
	Total	45	100.0	100.0	

Kelompok Usia

2. Analisis Hubungan Ekspresi PD-L1 dengan Derajat Diferensiasi

Ekspresi PD-L1 Intraepitelial dengan Derajat Diferensiasi

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Ekspresi PD-L1 Intra Epitelial * Derajat Diferensiasi	45	100.0%	0	.0%	45	100.0%

Ekspresi PD-L1 Intra Epitelial * Derajat Diferensiasi Crosstabulation

		Derajat Diferensiasi		Total
		High Grade	Low Grade	
Ekspresi PD-L1 Intra Epitelial Tinggi	Count	27	3	30
	% within Ekspresi PD-L1 Intra Epitelial	90.0%	10.0%	100.0%
	% within Derajat Diferensiasi	73.0%	37.5%	66.7%
	% of Total	60.0%	6.7%	66.7%
Rendah	Count	10	5	15
	% within Ekspresi PD-L1 Intra Epitelial	66.7%	33.3%	100.0%
	% within Derajat Diferensiasi	27.0%	62.5%	33.3%
	% of Total	22.2%	11.1%	33.3%
Total	Count	37	8	45
	% within Ekspresi PD-L1 Intra Epitelial	82.2%	17.8%	100.0%
	% within Derajat Diferensiasi	100.0%	100.0%	100.0%
	% of Total	82.2%	17.8%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3.725 ^a	1	.054		
Continuity Correction ^b	2.299	1	.129		
Likelihood Ratio	3.520	1	.061		
Fisher's Exact Test				.095	.068
Linear-by-Linear Association	3.642	1	.056		
N of Valid Cases ^b	45				

a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,67.

b. Computed only for a 2x2 table

Ekspresi PD-L1 Stroma Dengan Derajat Diferensiasi

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Ekspresi PD-L1 Stroma * Derajat Diferensiasi	45	100.0%	0	.0%	45	100.0%

Ekspresi PD-L1 Stroma * Derajat Diferensiasi Crosstabulation

			Derajat Diferensiasi		Total
			High Grade	Low Grade	
Ekspresi PD-L1 Stroma	Tinggi	Count	26	3	29
		% within Ekspresi PD-L1 Stroma	89.7%	10.3%	100.0%
		% within Derajat Diferensiasi	70.3%	37.5%	64.4%

		% of Total	57.8%	6.7%	64.4%
Rendah	Count		11	5	16
	% within Ekspresi PD-L1 Stroma		68.8%	31.2%	100.0%
	% within Derajat Diferensiasi		29.7%	62.5%	35.6%
	% of Total		24.4%	11.1%	35.6%
Total	Count		37	8	45
	% within Ekspresi PD-L1 Stroma		82.2%	17.8%	100.0%
	% within Derajat Diferensiasi		100.0%	100.0%	100.0%
	% of Total		82.2%	17.8%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3.083 ^a	1	.079		
Continuity Correction ^b	1.819	1	.177		
Likelihood Ratio	2.955	1	.086		
Fisher's Exact Test				.111	.091
Linear-by-Linear Association	3.014	1	.083		
N of Valid Cases ^b	45				

a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,84.

b. Computed only for a 2x2 table

Ekspresi PD-L1 Intra Tumoral dengan Derajat Diferensiasi

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
EkspresiPD-L1 Intra Tumoral * Derajat Diferensiasi	45	100.0%	0	.0%	45	100.0%

Ekspresi PD-L1 Intra Tumoral * Derajat Diferensiasi Crosstabulation

		Derajat Diferensiasi		Total
		High Grade	Low Grade	
EkspresiPD-L1 Intra Tumoral Tinggi	Count	22	1	23

	% within EkspresiPD-L1 Intra Tumoral	95.7%	4.3%	100.0%
	% within Derajat Diferensiasi	59.5%	12.5%	51.1%
	% of Total	48.9%	2.2%	51.1%
Rendah	Count	15	7	22
	% within EkspresiPD-L1 Intra Tumoral	68.2%	31.8%	100.0%
	% within Derajat Diferensiasi	40.5%	87.5%	48.9%
	% of Total	33.3%	15.6%	48.9%
Total	Count	37	8	45
	% within EkspresiPD-L1 Intra Tumoral	82.2%	17.8%	100.0%
	% within Derajat Diferensiasi	100.0%	100.0%	100.0%
	% of Total	82.2%	17.8%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	5.805 ^a	1	.016		
Continuity Correction ^b	4.078	1	.043		
Likelihood Ratio	6.372	1	.012		
Fisher's Exact Test				.022	.020
Linear-by-Linear Association	5.676	1	.017		
N of Valid Cases ^b	45				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,91.

b. Computed only for a 2x2 table

3. Analisis Hubungan Ekspresi PD-L1 dengan Densitas TIL di Stroma

Ekspresi PD-L1 Intra Epitelial dengan Densitas TIL

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Ekspresi PD-L1 Intra Epitelial * Densitas TIL	45	100.0%	0	.0%	45	100.0%

Ekspresi PD-L1 Intra Epitelial * Densitas TIL Crosstabulation

		Densitas TIL		Total
		rendah	tinggi	
Ekspresi PD-L1 Intra Epitelial Tinggi	Count	10	20	30
	% within Ekspresi PD-L1 Intra Epitelial	33.3%	66.7%	100.0%
	% within Densitas TIL	55.6%	74.1%	66.7%
	% of Total	22.2%	44.4%	66.7%
Rendah	Count	8	7	15
	% within Ekspresi PD-L1 Intra Epitelial	53.3%	46.7%	100.0%
	% within Densitas TIL	44.4%	25.9%	33.3%
	% of Total	17.8%	15.6%	33.3%
Total	Count	18	27	45
	% within Ekspresi PD-L1 Intra Epitelial	40.0%	60.0%	100.0%
	% within Densitas TIL	100.0%	100.0%	100.0%
	% of Total	40.0%	60.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1.667 ^a	1	.197		
Continuity Correction ^b	.938	1	.333		
Likelihood Ratio	1.653	1	.199		
Fisher's Exact Test				.218	.166
Linear-by-Linear Association	1.630	1	.202		
N of Valid Cases ^b	45				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 6,00.

b. Computed only for a 2x2 table

Ekspresi PD-L1 Stroma dengan Densitas TIL

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Ekspresi PD-L1 Stroma * Densitas TIL	45	100.0%	0	.0%	45	100.0%

Ekspresi PD-L1 Stroma * Densitas TIL Crosstabulation

			Densitas TIL		Total
			rendah	tinggi	
Ekspresi PD-L1 Stroma	Tinggi	Count	9	20	29
		% within Ekspresi PD-L1 Stroma	31.0%	69.0%	100.0%
		% within Densitas TIL	50.0%	74.1%	64.4%
		% of Total	20.0%	44.4%	64.4%
	Rendah	Count	9	7	16
		% within Ekspresi PD-L1 Stroma	56.2%	43.8%	100.0%
		% within Densitas TIL	50.0%	25.9%	35.6%
		% of Total	20.0%	15.6%	35.6%
Total	Count	18	27	45	
	% within Ekspresi PD-L1 Stroma	40.0%	60.0%	100.0%	
	% within Densitas TIL	100.0%	100.0%	100.0%	
	% of Total	40.0%	60.0%	100.0%	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	2.732 ^a	1	.098		
Continuity Correction ^b	1.782	1	.182		
Likelihood Ratio	2.717	1	.099		

Fisher's Exact Test				.122	.091
Linear-by-Linear Association	2.671	1	.102		
N of Valid Cases ^b	45				

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 6,40.

b. Computed only for a 2x2 table

Ekspresi PD-L1 Intra Tumoral dengan Densitas TIL

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
EkspresiPD-L1 Intra Tumoral * Densitas TIL	45	100.0%	0	.0%	45	100.0%

Ekspresi PD-L1 Intra Tumoral * Densitas TIL Crosstabulation

		Densitas TIL		Total
		rendah	tinggi	
EkspresiPD-L1 Intra Tumoral Tinggi	Count	7	16	23
	% within EkspresiPD-L1 Intra Tumoral	30.4%	69.6%	100.0%
	% within Densitas TIL	38.9%	59.3%	51.1%
	% of Total	15.6%	35.6%	51.1%
Rendah	Count	11	11	22
	% within EkspresiPD-L1 Intra Tumoral	50.0%	50.0%	100.0%
	% within Densitas TIL	61.1%	40.7%	48.9%
	% of Total	24.4%	24.4%	48.9%
Total	Count	18	27	45
	% within EkspresiPD-L1 Intra Tumoral	40.0%	60.0%	100.0%
	% within Densitas TIL	100.0%	100.0%	100.0%
	% of Total	40.0%	60.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)

Pearson Chi-Square	1.793^a	1	.181		
Continuity Correction ^b	1.071	1	.301		
Likelihood Ratio	1.805	1	.179		
Fisher's Exact Test				.231	.150
Linear-by-Linear Association	1.754	1	.185		
N of Valid Cases ^b	45				

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 8,80.

b. Computed only for a 2x2 table

