

Peranan *Human Papillomavirus* pada Keganasan Laring

Muluina

Abstrak

Infeksi Human papillomavirus (HPV) merupakan salah satu faktor predisposisi keganasan pada daerah laring. Kekekapan infeksi HPV pada karsinoma laring bervariasi antara 8-58%. Infeksi HPV bukan merupakan satu-satunya penyebab karsinoma dan diperkirakan masih terdapat kofaktor yang lain. Terapi kanker laring positif HPV tidak mempengaruhi acuan tatalaksana yang ada saat ini tetapi respon terhadap terapi kemoterapi, radiasi dan kemoradiasi lebih baik bila dibandingkan dengan pasien yang tanpa infeksi HPV. Dilaporkan satu kasus pada laki-laki, 36 tahun dengan hasil biopsi terdapat gambaran koilocyt yang merupakan tanda patognomonik untuk HPV, karsinoma in situ dan gambaran karsinoma sel skuamosa. Pada Laringoskopi langsung ditemukan massa pada pita suara kiri dan komisura anterior. Pasien didiagnosis sebagai karsinoma sel skuamosa laring T1N0M0 dan direncanakan untuk radioterapi 60 Gy.

Kata kunci : *Human papillomavirus*, karsinoma laring, karsinoma sel skuamosa kepala dan leher

Abstract

Human papillomavirus is one of the predisposing factors for laryngeal carcinoma. The incidence of HPV in laryngeal cancer is between 8-58%. Human papillomavirus is not the only factor for causing malignancy and another cofactor could lead to carcinoma transformation. The HPV positive will not influence the guidance for treatment but their responses to the radiotherapy, chemotherapy and chemoradiation will be better compared to HPV negative patients. We reported a case 36 y.o male, biopsy result shows there was koilocytes as pathognomonic sign of human papilloma infection, carcinoma in situ and squamous cell carcinoma. Direct laryngoscopy examination showed left vocal cord and anterior commissure tumor. This patient was diagnosed as laryngeal squamous cell carcinoma T1N0M0 and was plan to undergo radiotherapy 60 Gy.

Keywords : *Human papillomavirus, larynx carcinoma, head and neck squamous cell carcinoma*

Pendahuluan

Keganasan kepala dan leher seperti keganasan pada nasofaring, orofaring, sinus paranasal dan laring mempunyai prevalensi yang tinggi dan patogenesis yang kompleks. Keganasan laring di negara kita menempati urutan ketiga setelah keganasan di nasofaring dan sinus paranasal. Pada tahun 2000 di seluruh dunia ditemukan kasus baru keganasan laring sebanyak 161,403 pasien.

Keganasan laring ditemukan pada 1.5% pasien dari semua pasien kanker, 30% dari semua keganasan kepala dan leher pada pria dan 12% dari semua kasus keganasan kepala dan leher pada wanita.¹ Di RSCM ditemukan 120 kasus karsinoma laring dari tahun 2005-2009.

Secara histologi, karsinoma sel skuamosa mencapai 95% dari keganasan laring. Meskipun merokok dan alkohol merupakan

faktor risiko utama untuk keganasan laring, infeksi virus juga dipikirkan pada beberapa kasus. Antara 15-20% keganasan laring terjadi pada orang yang bukan perokok dan bukan peminum alkohol dan dipikirkan adanya faktor risiko yang lain sebagai pemicu kanker pada pasien.² Human papillomavirus (HPV) merupakan virus yang paling banyak diteliti yang dihubungkan dengan keganasan laring, tetapi beberapa penulis lain juga menyatakan *Epstein-Barr virus (EBV)* berperan dalam pathogenesis keganasan ini.¹

Peningkatan infeksi papillomavirus pada karsinoma laring tanpa faktor risiko merokok meningkatkan kemungkinan infeksi HPV sebagai etiologi penting pada karsinoma laring.²

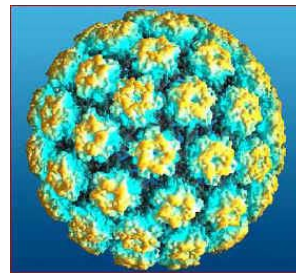
Biologi HPV

HPV terdiri atas 2 tipe yaitu tipe kulit dan tipe mukosa. Tipe mukosa dapat menginfeksi nasofaring, kavum oral, laring dan saluran genital. Human Papillomavirus yang menginfeksi mukosa biasanya HPV 16 dan HPV 18 yang sering menginfeksi daerah genital dan menyebabkan kanker leher rahim serta kanker di daerah kepala dan leher.³

Human Papillomavirus merupakan partikel icosahedral yang tidak berselubung. Kapsidnya terdiri dari 72 kapsomer dengan ukuran diameter 55 nm. Virus ini mengandung DNA dengan berat 8 kb. Genom virus ini diatur oleh 8 *frames* dan satu region yang tak dikode. Protein yang terlibat dalam replikasi DNA, transkripsi dan transformasi selular dikode oleh E1-E6. Kapsul protein (L1 dan L2) akan dikode oleh *late open reading frames*.³

Gen E1 dan E2 diekspresikan sebagai protein yang melekat pada DNA dan bertindak

sebagai pemicu atau penekan transkripsi dan replikasi. Gen E4 dilepaskan belakangan pada replikasi virus dan berfungsi dalam maturasi dan melepaskan partikel papilloma. Gen E6 dan E7 dideskripsikan sebagai onkogen virus. Gen E6 mengkode protein yang melekat pada tumor supresor p53, dan menginduksi degradasi p53. Gen E7 mengkode protein yang melekat pada protein retinoblastoma (pRb). Regio yang tidak dikode atau *Long Control Region (LCR)* mengandung sekuen pengatur yang respon terhadap reseptor hormone kortikosteroid. Lebih dari 100 jenis HPV telah ditemukan yang dapat menginfeksi kulit dan mukosa. Letak perbedaan pada masing-masing jenis HPV adalah sekuen pada L, E6, dan E7 dan terdapat perbedaan sebanyak 10%.^{3,4}



Gambar 1. Gambar HPV memperlihatkan susunan kapsid protein³

Siklus hidup HPV

Virus menginfeksi lapisan epitel sel basal epitelium melalui abrasi di kulit. Virus akan memasuki sel, melepaskan kapsidnya dan menyalurkan DNANYa pada nukleus sel. Gen pertama yang diekspresikan terlebih dahulu adalah E6 dan E7 yang kemudian akan bertransformasi dan bertanggung jawab pada perubahan menjadi lesi prekanker. Bila sel yang terinfeksi berdiferensiasi gen E1, E2, E4 dan E5 akan diekspresikan. Gen E1 dan E2 terlibat dalam replikasi virus, E4 menandakan protein pada tahap akhir

replikasi dan E5 mengkode protein yang ditransformasikan. Gen E6 dan E7 menekan regulasi siklus sel dan menghambat apoptosis. Saat sel yang terinfeksi mencapai tahap akhir diferensiasi, gen L1 dan L2 akan diekspresikan.^{4,5}

Gen E6 menghambat p53. Gen p53 merupakan penghambat aktif siklus sel meskipun pada DNA yang rusak dan menstimulasi apoptosis bila sel tsb terlalu rusak untuk memperbaiki dirinya. Gen E6 juga mengaktivasi telomerase selular yang merupakan enzim yang mensintesis telomere untuk mengulang sekuen pada akhir kromosom eukariotik yang akan menyebabkan virus untuk terus bereplikasi.⁴

Gen E7 mengaktivasi pembelahan sel dengan berikatan dengan Rb yang merupakan tumor supresor. Protein Rb dapat berikatan dengan E2F yang merupakan faktor transkripsi dan dapat mengaktivasi faktor tsb. Bila E2F bebas maka akan memicu transkripsi dan memicu replikasi DNA dan pembelahan sel. Selama fase awal infeksi jumlah genom virus yang diduplikasi adalah antara 50 sampai 100 dan genom virus berada pada siklus ekstrakromosom DNA (*plasmid*) yang bereplikasi sebagai kromosom sel pejamu.⁴

Bila sel yang terinfeksi berdiferensiasi, E1 dan E2 meregulasi transkripsi dan replikasi

genom virus. Gen E4 berperan pada aktivasi siklus hidup HPV pada fase produktif. Gen E5 berperan dalam transformasi yang menginduksi aktivitas *epidermal growth factor* (EGF). Saat sel mencapai tahap akhir diferensiasi, gen L1 dan L2 akan diaktivasi. Gen L1 dan L2 mengaktivasi protein kapsul mayor dan minor. Pada level ini jumlah virus yang direplikasi meningkat mencapai jumlah ribuan per satu sel.^{4,5}

Human papillomavirus risiko tinggi dan risiko rendah

Infeksi HPV pada populasi umum angkanya bervariasi tergantung pada berbagai faktor seperti pemakaian vaksin dll. Infeksi HPV lebih sering pada wanita muda berkisar 2-44% dan menurun seiring dengan usia. Genotip risiko tinggi dan risiko rendah ditentukan oleh prevalensi pada karsinoma leher rahim. Tidak semua infeksi HPV akan bertransformasi menjadi ganas. Lebih dari 50% populasi yang seksual aktif (berganti pasangan) akan positif terhadap infeksi HPV sepanjang masa hidupnya. Sementara jumlah populasi yang terkena infeksi HPV risiko tinggi hanya 27,4%. Pada penelitian prospektif 70% pasien yang terinfeksi HPV dalam 12 bulan akan menjadi HPV negatif dengan pemeriksaan DNA dan hal ini menunjukkan adanya mekanisme proteksi tubuh terhadap HPV secara alami.^{4,5}

Tabel I. Tabel Genotip risiko HPV pada karsinoma leher rahim⁴

	Genotip
Risiko tinggi	16,18,26,31,33,35,39,45,51,52,53,56,58,59,66,68,73,82
Risiko rendah	6,11,40,42,43,44,54,61,70,72,81.CP6108

Human Papillomavirus tipe 16 dan 18 merupakan penyebab tersering pada kanker leher rahim, tetapi urutan ketiga ditempati

oleh HPV 52 dan 51 di Afrika, di Asia HPV 58 dan 33, di Amerika Selatan HPV 31 dan 45. Variasi tsb disebabkan oleh vaksin HPV.^{4,5}

Kekerapan HPV pada keganasan laring

Pada lesi karsinoma laring, frekuensi infeksi HPV bervariasi antara 2% dan 58.8%. Variasi hasil ini dijelaskan dengan metode deteksi yang berbeda dan jumlah percontoh yang berbeda. Ada beberapa penelitian yang dilaporkan untuk prevalensi HPV. Pada 90 kasus dengan prevalensi HPV 6.8% tetapi peneliti hanya melakukan pemeriksaan polymerase chain reaction (PCR) selektif terhadap HPV 16, 18, 31, 33 dan 45 dengan mengeksklusi genotip yang jarang pada laring sehingga seharusnya angka infeksi HPV dapat lebih tinggi. Pada penelitian kedua pada kasus 86 pasien karsinoma laring diteliti dengan probe MY09/MY11 dan mengidentifikasi DNA HPV pada 19% percontoh. Penelitian ketiga meneliti 91 kasus karsinoma laring mendapatkan 13% positif terhadap DNA HPV yang dideteksi dengan nested PCR untuk L1 dan GP5/GP6.^{4,5}

Pada penelitian yang membandingkan 93 karsinoma sel skuamosa laring, 49 mukosa laring yang normal dan 22 jaringan nodul laring yang digunakan sebagai kontrol didapatkan DNA HPV yang dideteksi dengan menggunakan PCR, didapatkan 33 (35.5%) pasien karsinoma laring, pada 4 (8.2%) dari 49 jaringan dari mukosa yang normal. Tidak ditemukan HPV pada jaringan nodul yang dijadikan sebagai kontrol pada penelitian tsb. Dari 33 pasien karsinoma laring yang positif mengandung HPV, 28(81.8%) merupakan HPV-16, 6 (18.2%) positif terhadap HPV-18 dan 5 (15.1%) positif untuk HPV-33. Infeksi multipel didapatkan pada 5 dari 33 pasien (15.1%) dengan 3 percontoh positif terhadap HPV-16 dan HPV-33, 2 percontoh positif terhadap HPV-16 dan HPV-18.⁶

Ress dkk,² pada penelitiannya dengan metode kasus kontrol dengan meninjau penelitian yang dilakukan sejak tahun 1966 sampai 2004 menemukan kisaran infeksi HPV-16 pada karsinoma laring adalah 2,7%-46,9% dan hanya 0-5,7% pada populasi normal. Didapatkan juga *odds ratio* adalah 18,5 dengan interval kepercayaan 95%. Peningkatan risiko juga didapatkan pada karsinoma glotis dibandingkan pada supraglotis.^{6,7}

Brandsma dkk,⁸ pada penelitian karsinoma verukosa melaporkan 6 pasien karsinoma verukosa laring yang dengan hibridisasi DNA HPV menemukan HPV-16, tetapi 4 kasus karsinoma sel skuamosa laring dan jaringan normal laring ternyata tidak mengandung HPV.

Genotip HPV pada karsinoma laring belum diketahui. Penelitian saat ini tentang HPV yang mencari genotip pada karsinoma laring hanya ada di Amerika Utara dan Eropa yang melaporkan infeksi HPV pada keganasan kepala dan leher, sementara infeksi HPV dapat berbeda di satu tempat dengan tempat lainnya di kepala leher. Pada karsinoma leher rahim genotip yang paling sering ditemukan adalah HPV-16 yang dilaporkan pada 63% kasus dan 10% pada karsinoma laring, dan 89% tumor kepala dan leher. Sama halnya pada karsinoma leher rahim, HPV risiko tinggi bukan satu-satunya faktor yang dapat menyebabkan terjadinya karsinoma tetapi mesti ada kofaktor lain. Bukti pada berbagai kepustakaan memungkinkan untuk mencari hubungan infeksi HPV pada karsinoma laring yang kemungkinan adalah HPV 16 dan HPV 18 dan mencari peranan vaksin dalam mencegah kanker laring.³

Fakhry dkk,⁹ menemukan dari 96 pasien genom DNA dari HPV didapatkan tipe 16, 33 dan 35 berlokasi pada nukleus sel pada 40%

pasien karsinoma sel skuamosa laring dan orofaring dengan pemeriksaan *in situ hybridization (ISH)*.

Table II. Tabel prevalensi HPV pada beberapa penelitian pada karsinoma laring

Peneliti	Jumlah kasus	Metode deteksi HPV	Prevalensi HPV	Genotip yang diidentifikasi
Fouret et al	39	PCR E6 langsung ke HPV 6, 18, 31, 33 dan 45	6.8%	HPV 16
Gillison et al	40	PCR MY09/MY11 1	19%	Tidak ada data
Gorgoulis et al	14	Nested PCR GP5/GP6	21%	HPV 16, 18, and 33
Torrente et al	38	PCR MY09/MY11	32%	HPV 16, 58, 39, 45, 51, 59, 66 dan 69

Bao Guo dkk,¹⁰ meneliti prevalensi HPV-L1, HPV-16 E6, HPV-18 E6 sebagai karsinogenik pada karsinoma laring dengan PCR dan menemukan 7.3% positif HPV-L1, 52.03% positif terhadap HPV-16 E6 dan 30.89% positif terhadap HPV-18 E6. Pada kesimpulannya Bao mengungkapkan integrasi E6 pada genom pejamu dan ekspresi yang stabil terhadap gen ini akan menyebabkan terjadinya karsinoma laring. Gungor dkk,¹¹ pada penelitian dengan menggunakan blok parafin pada 99 pasien hanya menemukan 7,3% pasien yang positif terhadap HPV dengan pemeriksaan PCR dan menemukan kebanyakan positif terhadap HPV 6 dan 11 dan hanya satu kasus yang positif terhadap HPV 16.

Baumann dkk,¹¹ mendeteksi DNA HPV pada 6 pasien karsinoma laring stadium awal (T1 dan karsinoma insitu) dari 38 pasien dan mendapatkan HPV tipe 16, 26, 31, 39 and 52. Pasien karsinoma laring dengan HPV-positif

biasanya berusia muda dan jarang mempunyai riwayat merokok.

Infeksi HPV dan transformasi onkogenik

Untuk melengkapi proses siklus hidupnya, Papillomavirus yang menginfeksi sel epitel bergantung pada diferensiasi epitelial. Ekspresi dari gen virus diatur dari sel basal yang terinfeksi dan bergerak ke permukaan sel epitelial. Infeksi awal terjadi bila ada akses untuk infeksi sel basal. Virus harus menginfeksi stem sel epitelial untuk dapat bertahan hidup. Untuk virus HPV yang tipe mukosa seperti halnya HPV-16, lesi difasilitasi oleh sel torak yang terinfeksi yang dapat bergerak dari lapisan basal ke lapisan epitel bertingkat. Kontroversi terjadi pada cara perlekatan virus. Adanya reseptor permukaan yang menyebabkan virus dapat melekat pada sel yang diperantarai oleh heparin sulfat. Penelitian terbaru mengungkapkan pengikatan merupakan proses yang lambat dan terjadi melalui

endositosis vesikel selubung Claritin. Papillomavirus yang tidak berselubung difasilitasi oleh kerusakan ikatan disulfida intrakapsomer dan mengurangi lingkungan untuk sel pejamu sehingga DNA virus dapat ditransportasikan pada nukleus sel. Ekspresi E6 dan E7 pada lapisan epitelial pada fase S akan mengkreasi lingkungan yang kondusif untuk replikasi genom virus. Amplifikasi genom yang penting untuk infeksi virus dicegah sampai kadar replikasi virus meningkat. Protein kapsid virus mengekspresikan E4 sebagai sel yang terinfeksi yang memasuki lapisan epitel bagian atas. Efek sitopatik didapatkan pada saat produksi koilosit. Infeksi HPV dengan risiko tinggi dihubungkan dengan lesi yang mempunyai kecenderungan untuk menjadi karsinogenik. Selama proses progresi karsinogenesis genom virus menjadi terintegrasi pada genom pejamu. Integrasi bahkan selalu diganggu prosesnya oleh faktor virus E2 (regulasi transkripsi/replikasi ekspresi gen). Sebagai konsekuensinya ekspresi E6 dan E7 diregulasi ulang dan lebih banyak di tumor. Gen E6 dan E7 dari HPV risiko tinggi mengkode protein yang mengikat p53 dan retinoblastoma yang merupakan tumor supresor. Untuk degradasi efek terhadap onkoprotein ini maka akan terjadi induksi proliferasi sel dan penghambatan apoptosis yang meningkatkan ketahanan hidup sel. Gen E6 juga memfasilitasi aktivasi telomerase. Bila dilihat kenyataan bahwa hanya sedikit wanita yang terinfeksi HPV yang berkembang menjadi tumor, harus juga dipikirkan faktor tambahan lain seperti p53 polimorphism proline/arginine pada codon 72. Penelitian menyebutkan p53Arg lebih rentan terhadap penghancuran dibanding p53Pro terhadap HPV-16 and 18. Sebagai contoh kasus pada karsinoma leher rahim dibandingkan antara

frekuensi alel Arg and Pro p53. Alel p53Arg dideteksi pada 76.6% tumor dibanding dengan 36.6% pada kontrol.³

Pada kasus kumulatif 14999 kasus karsinoma leher rahim dan 8195 kontrol, mutan homozygous Arg/Arg mempunyai Odd Ratio 1.2 bila dibandingkan dengan mutan heterozigous Arg/Pro, tetapi nilai ini akan bervariasi sesuai dengan negara dan genotip HPV.³

Pada karsinoma sel skuamosa kepala dan leher polimorfism p53 telah dipublikasikan pada beberapa jurnal. Pada sebuah penelitian pada 50 kasus tidak ada hubungan genotip p53 atau alel pada karsinoma kepala dan leher yang diamati. Penelitian ini mencakup penelitian pada 32 kasus orofaring, 15 kasus laring dan 3 lainnya. Hanya 8 kasus yang positif terinfeksi DNA HPV. Frekuensi Polimorfism p53 pada tumor adalah 52% Arg/Arg, 32% Arg/Pro, and 16% Pro/Pro. Pada kontrol sehat didapatkan 50% Arg/Arg, 43% Arg/Pro, and 7% Pro/Pro.³

Human leukocyte antigen (HLA) telah diteliti pada kasus yang terinfeksi HPV dan dihubungkan dengan kanker. Molekul HLA bertanggung jawab untuk sistem imun terhadap antigen benda asing. Molekul HLA terdiri atas gen yang tergolong dalam kompleks mayor *histocompatibility* dan dibedakan atas dua golongan besar yaitu kelas I (HLA A, B, dan C) dan gen kelas II (HLA DR, DQ, dan DP). Di literatur menyebutkan DRB1 dan 13 dan DQB1*0603 berperan dalam proteksi terhadap karsinoma leher rahim sementara tidak ada alel lainnya yang meningkatkan risiko keganasan ini.³

Mekanisme onkogenesis laring merupakan suatu proses yang kompleks dan dipengaruhi berbagai factor, kebanyakan dipengaruhi oleh

proliferasi sel dan apoptosis. Maria dkk,³ dalam penelitiannya meneliti dua protein tumor supresor (pRb dan p53) dan 2 protein onkogen (c-Myc dan Bcl-2), penanda apoptosis dan menilai adanya HPV atau tidak pada tumor laring jenis papilomatosis dan membandingkan dengan karsinoma laring. HPV diperiksa dengan menggunakan PCR. Protein dilihat dengan pemeriksaan imunohistokimia. Apoptosis dinilai dengan deteksi kematian sel in-situ. Hasil penelitian tersebut menyatakan papilomatosis mengandung HPV risiko rendah. Pada karsinoma laring 25% percontoh positif terhadap HPV. Pada papilomatosis kadar pRb dan p53 lebih tinggi dibandingkan dengan laring yang normal, akan tetapi kadar p53 dan pRb paling rendah pada karsinoma laring. Onkogen c-Myc sangat sedikit pada sel normal laring dan jaringan kanker tetapi meningkat sangat banyak pada papilomatosis. Ekspresi Bcl-2 sangat sedikit pada papiloma laring dan sel normal dan keduanya tidak berbeda bermakna. Ekspresi Bcl-2 sangat meningkat pada karsinoma laring. Laring yang normal dan papiloma laring mempunyai nilai apoptosis yang tinggi di mana pada karsinoma laring sedikit. Penelitian ini membuktikan peranan HPV pada papilomatosis dan karsinoma laring dengan induksi pada gen selular yang berhubungan dengan proliferasi dan apoptosis. Pada papilomatosis laring terdapat peningkatan p53 yang menginduksi apoptosis tetapi pada karsinoma laring terdapat kadar p53 yang rendah dan peningkatan bcl-2 yang ekspresinya mencegah terjadinya apoptosis.¹³

Pemeriksaan HPV

Human Papillomavirus tidak dapat dikultur. Tes infeksi HPV ditujukan untuk mendeteksi asam nukleat viral pada jaringan yang

terinfeksi. Beberapa penelitian menggunakan metode yang berbeda untuk mendeteksi HPV diantaranya adalah *in situ hybridization*, PCR dan imunohistokimia.¹⁴ Pada penelitian yang membandingkan antara penggunaan PGMY09/11 mendeteksi HPV pada 100% *brushing* pada kanker leher rahim dan lesi jinak papiloma di leher rahim wart (92.9%) dibandingkan penggunaan MY09/11 (90% dan 64.3%) serta GP5+/6+ 80% dan 64.3%. PGMY/GP nested PCR pada sedian orofaring menemukan 66.7% dari kanker orofaring dan merupakan pilihan dibandingkan dengan pemeriksaan MY09/11 dan GP5+/6.¹⁵

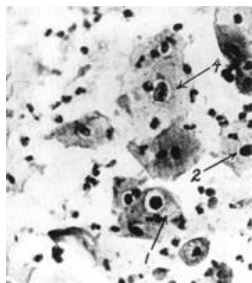
Tes terhadap HPV yang banyak dikerjakan adalah hibridisasi langsung atau tehnik amplifikasi DNA. *In situ hybridization* (ISH) menggunakan kromogen atau fluoresensi yang bisa dilihat pada hapusan swab atau jaringan biopsi.¹⁵

Tes amplifikasi E6 dan E7 mRNA virus dan adanya onkogen virus dapat dideteksi dengan *reverse-transcriptase (RT)-PCR* atau dengan *nucleic acid sequence-based amplification* (NASBA). Pemeriksaan dengan NASBA mendeteksi E6/E7 dari 5 tipe HPV pada karsinoma leher rahim (16, 18, 31, 33 dan 45). Beberapa merk untuk pemeriksaan NASBA seperti PreTect™ HPV-Proofer, NorChip AS, Klokkarstua, Norway dan NucliSENS EasyQ®, BioMerieux SA, France.¹⁵

Pemeriksaan imunohistokimia p16INK4a (CDKN2A) yang merupakan *cyclin-dependent kinase inhibitor* yang menghambat pRb phosphorylation dan menghambat siklus sel pada fase G1 ke *S check point*. Jarangnya ekspresi p16 karena mutasi, atau hipermetilasi sering pada karsinoma kepala dan leher. Inaktivasi pRb oleh HPV E7 mengakibatkan ekspresi yang banyak

p16INK4a dan merupakan salah satu penanda HPV. Protein ini dapat dideteksi dengan pewarnaan imunohistokimia.¹⁶

Pada pemeriksaan histopatologi ataupun pemeriksaan sitologi dapat ditemukan adanya koilocyt yang merupakan tanda patognomonik untuk infeksi HPV. Koilocyt merupakan sel skuamosa yang displasia yang mungkin ditemukan pada lesi prekanker. Koilocyt mempunyai beberapa kriteria yaitu inti yang besar (2-3 kali dibanding inti normal), bentuk inti yang iregular, hiperkromatik, dan terdapat gambaran halo perinuklear. Koilocyt biasanya didapatkan bila terdapat *human papillomavirus* dan dapat menyebabkan keganasan.^{17,18}



Gambar 3. Gambar koilocyt

Vaksin HPV

Saat ini telah ada 2 tipe vaksin yang telah dikembangkan yaitu untuk profilaksis dan terapi. Dengan mengetahui genotip HPV yang risiko tinggi yaitu HPV-16 dan 18 pada karsinoma laring dan karsinoma leher rahim maka infeksi HPV yang dikaitkan keganasan dapat dicegah dan diobati dengan dengan vaksin yang didisain untuk menginduksi respon imun yang protektif terhadap HPV tertentu. Dalam pembuatan vaksin digunakan *virus like particle* (VLP) HPV yang dibuat dari protein capsid L1 HPV 16 yang telah terbukti imunogenik.¹⁶

Pada percobaan klinis didapatkan vaksin yang berisi HPV VLP bekerja sebagai profilaksis yang melindungi terhadap HPV 16 dan HPV 18. Proteksi ini bertahan setidaknya selama 4,5 tahun. Vaksin yang ada saat ini tidaklah memberikan efek proteksi terhadap HPV risiko tinggi lainnya, sehingga dampak vaksin terhadap karsinoma leher rahim dan laring bisa berbeda. Saat ini penelitian yang meneliti genotip HPV pada laring masih sedikit.³

Vaksin yang bersifat terapeutik saat ini ditujukan pada protein onkogenik non struktur dari virus (E2, E6 dan E7) yang berperan dalam transformasi selular menjadi keganasan. Diharapkan vaksin HPV yang terapeutik berpotensi terhadap HPV yang berhubungan dengan keganasan. Saat ini diharapkan vaksin di masa yang akan datang dapat bekerja efektif, aman dengan harga yang murah yang dapat memberikan tambahan terapi bagi para klinisi sebagai imunoterapi atau terapi tambahan bagi pengobatan tradisional kanker seperti operasi, radiasi dan kemoterapi.¹⁴

Prognosis

Status HPV tumor merupakan penanda molekular yang penting terhadap respons kemoterapi dan kemoradiasi pasien tumor kepala dan leher. Respon terlihat lebih baik pada pasien dengan HPV positif. Status HPV tumor tidak mempengaruhi keputusan terapi dan terapi yang diberikan sesuai dengan standar yang telah ditetapkan. Morshed dkk,⁶ menemukan tidak ada korelasi antara infeksi HPV dengan stadium klinis dan rekurensi karsinoma laring.

Penelitian yang melibatkan 96 pasien dengan stadium 3 atau 4 karsinoma sel skuamosa kepala dan leher yang diikuti selama 2 tahun.

Pasien-pasien ini diterapi dengan 2 siklus induksi kemoterapi menggunakan paclitaxel dan carboplatin intravena, diikuti dengan paclitaxel intravena perminggu dan radioterapi. Pasien yang positif terhadap HPV memperlihatkan hasil yang berbeda bermakna bila dibandingkan dengan yang negatif terhadap HPV. Karsinoma laring yang positif HPV memberikan respon yang lebih baik terhadap kemoterapi 85% dibanding hanya 55% yang memberikan respon pada mereka yang HPV negatif ($P = .01$). Respon terhadap kemoradiasi didapatkan 84% pada pasien HPV positif dan 57% HPV negatif ($P = .007$), angka ketahanan hidup 2 tahun 95% pada HPV positif dibanding 62% pada HPV negatif ($P = .005$).¹⁵

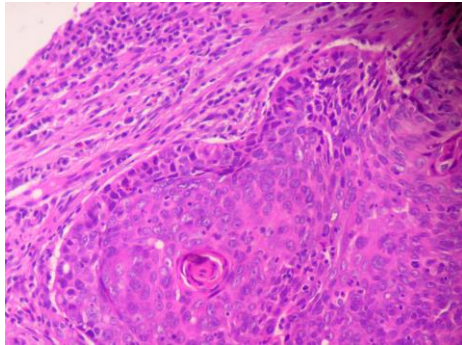
Kies sebagaimana yang dikutip oleh Rischin,¹⁹ pada penelitian karsinoma orofaring, HPV sering terdeteksi pada tumor primer yang kecil tetapi dengan status kelenjar limfe yang lanjut (86% pada HPV positif dengan N2 dan N3 dibandingkan dengan 65% pada HPV negatif). Dalam penelitian tsb disarankan untuk pemberian kemoterapi pada karsinoma orofaring dengan HPV positif untuk mengurangi metastasis jauh.

Szladek,²⁰ dalam penelitiannya yang meneliti adanya *transfusion transmitted virus* (TTV) yang merupakan koinfeksi dengan infeksi virus lainnya dan membandingkannya dengan derajat keparahan pada keganasan laring. Infeksi TTV dan HPV pada 8 dari 11 pasien memiliki metastasis jauh atau rekurensi pada karsinoma laring. Koinfeksi juga dihubungkan dengan rendahnya ketahanan hidup pasien. Empat dari 5 pasien papiloma laring yang bertransformasi maligna juga mempunyai infeksi TTV dan HPV.

Laporan Kasus

Seorang laki-laki, 36 tahun datang ke poliklinik laring-faring pada tanggal 24 Desember 2009 dengan keluhan suara serak sejak 1 tahun yang terasa semakin bertambah serak untuk 1 tahun. Pasien tidak mengeluhkan sesak nafas, riwayat pemakaian suara berlebihan, rasa panas di dada, mendehem, batuk, pilek, sulit menelan, nyeri lambung, mual dan muntah serta benjolan leher. Pasien juga tidak mengkonsumsi alkohol. Pasien merokok selama 12 tahun ini rata-rata $\frac{1}{2}$ bungkus perhari. Terdapat riwayat kanker di keluarga. Banyak sepupu dari ibu yang menderita karsinoma payudara dan paru. Pada pemeriksaan fisik hidung dan telinga tidak didapatkan kelainan. Pada pemeriksaan *laryngoscopy indirect* didapatkan massa berwarna kemerahan pada pita suara kiri. *Laryngoscopy direct* dilakukan pada tanggal 27 Desember 2009, terlihat massa berbentuk seperti anggur di daerah pita suara kiri sampai dengan komisura anterior. Massa diekstirpasi dan massa yang diambil dilakukan pemeriksaan histopatologi. Hasil dari pemeriksaan histopatologi didapatkan hasil sediaan yang berasal dari pita suara kiri dan komisura anterior berinti pleomorfik, hiperkromatik/vesikuler dengan nukleoli, sitoplasma eosinofilik banyak. Tampak mutiara keratin, mitosis ditemukan terdapat juga bagian-bagian yang displasia keras dan karsinoma insitu. Kesimpulan sediaan histopatologi adalah papiloma skuamosa dengan bagian-bagian yang menunjukkan displasia keras/karsinoma in situ dan karsinoma sel skuamosa berkeratin berdiferensiasi baik. Pada pemeriksaan *CT scan* tanggal 4 Januari 2010 didapatkan tidak tampak massa di daerah laring dan tidak terdapat kelenjar limfa leher. Pada foto dada tidak didapatkan kelainan.

Pasien didiagnosis sebagai karsinoma sel skuamosa T1N0M0 dan dikonsulkan ke bagian radioterapi. Pasien oleh bagian radioterapi direncanakan untuk radiasi eksterna 60 Gy



Gambar 2. Gambaran histologi sediaan biopsi laring pasien

Diskusi

Pada kasus ini dilaporkan seorang laki-laki berumur 36 tahun dengan keluhan serak yang memberat sejak 1 tahun. Prevalensi pada karsinoma laring positif HPV sering terjadi pada usia kurang dari 50 tahun dan sesuai dengan predileksi pada pasien ini.⁶

Karsinoma laring dengan HPV positif juga dikatakan lebih sering terjadi pada daerah glotis pada laring di banding pada supraglotis. Pada pasien didapatkan gambaran massa pada daerah pita suara kiri dan komisura anterior yang merupakan daerah glotis. Pasien ini ditegakkan stadium T1b berdasarkan penilaian *laryngoscopy direct* yang menyatakan terdapat massa yang sudah menyeberang ke komisura anterior kanan. Baumann,¹³ dalam penelitiannya menemukan pasien 32% kasus karsinoma laring T1b glotis dengan HPV positif.

Adanya Infeksi HPV ditegakkan berdasarkan ditemukannya koilocyt yang merupakan

tanda patognomonik untuk HPV.^{17,18} Penentuan *subtype* HPV pada pasien ini dapat dilakukan dengan pemeriksaan PCR atau ISH. Saat ini penentuan tsb lebih dibutuhkan untuk kepentingan penelitian dan tidak merubah terapi yang telah ada. Penggunaan vaksinasi yang bersifat terapeutik belum dapat digunakan sebagai imunoterapi atau terapi tambahan, dan saat ini masih menjadi penelitian tahap II. Diharapkan akan banyak penelitian yang meneliti prevalensi HPV pada karsinoma laring dan membandingkan dengan gambaran klinis pada pasien karsinoma laring sehingga memberikan masukan terhadap pencegahan dengan pemakaian vaksin atau dapat menambahkan protokol yang telah ada.

Pada karsinoma laring tidak ditemukan adanya perbedaan stadium pada yang HPV positif atau negatif.⁶ Pada karsinoma orofaring karsinoma orofaring yang positif HPV lebih sering dengan N2-3 sehingga di beberapa sentra kesehatan di luar negeri mulai menganjurkan pemakaian kemoterapi induksi untuk mencegah metastasis jauh. Saat ini untuk karsinoma laring belum ada terapi tambahan untuk karsinoma laring dengan HPV positif.¹⁹

Prevalensi dan gambaran klinis HPV di negara kita dapat berbeda dengan negara lain. Perbedaan gaya hidup terutama tentang pergaulan bebas yang berbeda antara budaya kita dan budaya di negara lain dapat mempengaruhi prevalensi HPV. Prevalensi HPV juga akan berbeda dan tergantung dari pemakaian vaksinasi HPV, yang jelas pemakaian vaksin HPV masih jarang digunakan di negara kita.^{4,5}

Prognosis pada pasien ini dubia at bonam. Pasien dengan HPV positif mempunyai

prognosis yang lebih baik terhadap respon terapi kemoterapi, radiasi dan kemoradiasi dibandingkan dengan karsinoma laring dengan tanpa HPV. Pasien direncanakan untuk terapi radiasi karena pasien masih tergolong T1 dan telah ada penyebaran ke komisura anterior.⁹

Pada pasien ini didapatkan faktor predisposisi merokok dan infeksi papiloma. Kumar dkk,⁵ dalam penelitiannya menemukan bahwa angka kesintasan pada pasien karsinoma sel skuamosa kepala dan leher akan berkurang pada perokok dibanding bukan perokok. Pada sediaan biopsi pasien karsinoma kepala dan leher sebelum terapi yang merupakan bukan perokok dengan HPV positif ditemukan lebih sedikit mendapat terapi dibanding dengan perokok. Tentunya hal ini akan mengurangi toksisitas. Ekspresi *epidermal growth factor receptor* (EGFR) lebih tinggi pada perokok dibandingkan bukan perokok. Hal ini menimbulkan dugaan bahwa merokok dapat meningkatkan ekspresi EGFR yang terbentuk karena hipoksia dari jaringan karena merokok. Pasien dengan ekspresi EGFR dan perokok mempunyai prognosis yang lebih buruk dibandingkan dengan yang bukan perokok dengan EGFR yang rendah. Banyaknya ekspresi EGFR merupakan salah satu tanda prognostik buruk pada karsinoma laring.²¹

Daftar Pustaka

1. Oliveira DE, Bacchi M, Macarenco R, tagliarini JV, Cordeiro RC, Bacchi CE. Human Papillomavirus and Epstein-Barr Virus Infection, p53 Expression, and Cellular Proliferation in Laryngeal Carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2006;126:284-293
2. Rees L, Birchall M, Baykey M, Thomas S. A systematic review of case-control of human papillomavirus infection in laryngeal squamous cell carcinoma. *Acta Otolaryngol* 2004; 29: 310-6
3. Doorbar. HPV information. Available from: http://www.bristol.ac.uk/biochemistry/gaston/HPV/hpv_information.htm. cited december 2009.
4. Mariela C, Torente, Jose M.O. Exploring the relation between human papilloma virus and larynx cancer. *Acta oto-Laryngologica* 2007;127:900-906
5. Kumar B, Cordel KI, Lee JS, Worden FP, Prince ME, Tran H et al. EGFR, p16, HPV Titer, Bcl-xL and p53, Sex, and Smoking As Indicators of Response to Therapy and Survival in Oropharyngeal Cancer. *J Clin Oncol* 26:3128-3137.
6. Morshed K, Dacewicz MP, Polz D, szymajski M. Short-fragment PCR assay for highly sensitive broad-spectrum detection of human papillomaviruses in laryngeal squamous cell carcinoma and normal mucosa: clinico-pathological evaluation. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2008;265:89-96
7. Sharifi N, Omidi A, Tavakoli Y, Ghannadan A, Khodadust. Study on the association between squamous cell carcinoma of larynx and HPV by PCR. *The Iranian Journal of Otorhinolaryngology* 2006;18:85
8. Brandsma JL, Steinberg BM, Abramson AL, and Winkler B. Presence of Human Papillomavirus Type 16 Related Sequences in Verrucous Carcinoma of the Larynx. *Cancer research* 1986; 2185-88
9. Fakhry C, Westra WH, Li Sigui, Cmelak A, Ridge JA, Pinto H. et al. Improved Survival of Patients With Human Papillomavirus Positive Head and Neck Squamous Cell Carcinoma in a Prospective Clinical Trial. *JNCI* 2008; 100:263-8
10. Bao Guo L, Ming LZ, yong Li, Hai Rong J, Fei Lio, Fang yi P. Detection of Human papillomavirus L1-16 and -18 DNA and Epstein barr virus DNA in laryngeal carcinoma. *Chinese Journal of Cancer Research* 2005; 17(2): 121—126
11. Gungor A, Cincik H, Baloglu H, Cekin H, Dogru S, Dursun S. Human papillomavirus prevalence in laryngeal squamous cell

- carcinoma. *The Journal of Laryngology & Otology* 2007;121:772-774
12. Baumann J, Cohen S, Evjen AN, Jonathan H, Vadivelu S, Attia A et al. Human Papillomavirus in Early Laryngeal Carcinoma. *Laryngoscope* 2009;119:1531-37
 13. Manjarez M, Ocadiz R, Valle L, Pacheco C, Marroquin A, Torre C et al. Detection of Human Papillomavirus and Relevant Tumor Suppressors and Oncoproteins in Laryngeal Tumors. *Clin Cancer Res* 2006;12(23) : 6946-9
 14. Hoory T, Monie A, Gravit Pt. Wu TC. Molecular Epidemiology of Human Papillomavirus. *J Formos Med Assoc* 2008;107(3):198-217
 15. Winder DM, Ball SLR, Vaughan K, Hanna N, Yin Ling Woo, Fränzer JT et al. Sensitive HPV detection in oropharyngeal cancers. *BMC Cancer* 2009;9:440-50
 16. Cutts FT, Franceschi S, Goldie S, Castellsague C, Sanjose D, Garnett D et al. Human papillomavirus and HPV vaccines: a review. *Bulletin of the World Health Organization* 2007;9:85
 17. Hajdu SI. The Link between Koilocytes and Human Papillomaviruses. Available from : <http://www.annclinlabsci.org> (cited Januari 2010)
 18. Koilocyt. Available from <http://en.wikipedia.org/wiki/Koilocyte> (cited Januari 2010)
 19. Rischin D. Oropharyngeal Cancer, Human Papilloma Virus, and Clinical Trials. *Journal of Clinical Oncology* 2010; 28: 1-7
 20. Szladek K, Juha'sz A, Kardos G, Szó'ke K, Major T, Sziklai I et al. High co-prevalence of genogroup 1 TT virus and human papillomavirus is associated with poor clinical outcome of laryngeal carcinoma. *J Clin Pathol* 2005;58:402-5
 21. Kamal Morshed K, Dacewicz MP, SzymańskiM, Polz D, Smoleń A, Siwiec H et al. HPV detection in laryngeal cancer using nested-PCR. *ANNALS* 2008;24:40