

Ekspresi HPV16 Onkoprotein E7 pada Lesi Prakanker dan Karsinoma Sel Skuamosa Serviks

Verli Saniba¹, Wresnindyatsih¹, Zulkarnain Musa¹, Zen Hafy²

¹Departemen Patologi Anatomi, ²Bagian Ilmu Histologi dan Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya
Palembang

Penulis korespondensi: dr. Wresnindyatsih, SpPA.
Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya
Jl. Jenderal Sudirman Km. 3½
Palembang 30126.
e-mail: wresnindyatsih@yahoo.co.id
e-mail: verlisniba96@gmail.com

ABSTRAK

Latar belakang

Kanker serviks merupakan keganasan kedua terbanyak pada wanita di dunia, yang sebagian besar disebabkan oleh infeksi *human papillomavirus* (HPV) risiko tinggi yaitu HPV tipe 16. Persistensi infeksi HPV16 dan integrasi DNA virus pada genom sel pejamu berperan terhadap perkembangan lesi prakanker dan KSS serviks. Integrasi DNA virus pada genom sel pejamu mengakibatkan regulasi onkoprotein E7. Ekspresi HPV16 E7 dapat dideteksi pada lesi prakanker dan KSS serviks. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan ekspresi HPV16 E7 pada lesi prakanker dan KSS serviks.

Metode

Penelitian retrospektif observasional dengan pendekatan *cross-sectional*. Populasi penelitian adalah blok parafin sediaan lesi prakanker (LSIL, HSIL) dan KSS serviks yang tersimpan di Departemen Patologi Anatomi RSUP Dr. Moh. Hoesin Palembang periode 1 Juli 2014 sampai dengan 30 Juni 2017. Jumlah sampel 50 kasus, dari masing-masing kelompok kasus dipilih: lesi prakanker (25 kasus, meliputi 13 kasus LSIL dan 12 kasus HSIL) dan KSS (25 kasus). Slaid blok parafin yang memenuhi kriteria dilakukan pulasan imunohistokimia menggunakan antibodi HPV16 E7. Perbedaan ekspresi HPV16 E7 pada lesi prakanker dan KSS serviks dianalisis menggunakan uji *Fisher Exact's*.

Hasil

Usia terbanyak pasien lesi prakanker adalah 30-40 tahun dan KSS adalah 51-60 tahun. Ekspresi HPV16 E7 positif lemah sampai kuat pada 100% kasus KSS dan 91,6% kasus HSIL, sedangkan ekspresi HPV16 E7 negatif pada 86,4% kasus LSIL. Analisis statistik ekspresi HPV16 E7 antara lesi prakanker dan KSS serviks menunjukkan perbedaan bermakna ($p=0,000$).

Kesimpulan

Positivitas ekspresi HPV16 E7 meningkat pada lesi HSIL dan KSS.

Kata kunci: lesi prakanker, KSS, HPV16 E7

Expression of HPV16 Oncoprotein E7 in Precancerous Lesions and Cervical Squamous Cell Carcinoma

ABSTRACT

Background

Cervical cancer is the secondmost common malignancy in women worldwide. The vast majority of cervical cancers are associated with high risk HPV16 infection. The persistence of HPV16 and integration of viral DNA into cell genome are necessary for the development of precancerous lesion and squamous cell carcinoma (SCC) of the cervix. The integration of viral DNA in the host cell genome resulted in the regulation of oncoprotein E7 leading to detection of HPV16 E7 expression in precancerous lesions and SCC of the cervix. The aim of this study was to evaluate differences of HPV16 E7 expression in precancerous lesions and cervical SCC.

Methods

An observational study with cross-sectional design was performed at Department of Anatomical Pathology Faculty of Medicine University of Sriwijaya/dr. Mohammad Hoesin General Hospital Palembang, from 1st July 2014 to 30st Juni 2017. The selected samples consisted of 25 precancerous cases lesions (13 cases of LSIL and 12 samples of HSIL) and SCC (25 cases). Immunohistochemical stained was conducted using HPV16 E7 antibody. Fisher exact's test was used to analyze differences in expression of HPV16 E7 among precancerous lesions and cervical SCC.

Results

The precancerous lesions occurred mostly between the ages of 30-40 years, while SCC were those between the ages of 51-60 years. All SCC cases (100%) and 91.6% of HSIL showed weak to strong HPV16 E7 expression, and 84.6% cases of LSIL showed immunonegative.

Conclusion

The positivity of HPV16 E7 increased in HSIL and KSS lesions.

Key words: HPV16 E7, precancerous lesions, SCC.

PENDAHULUAN

Kanker serviks merupakan salah satu keganasan terbanyak pada wanita dan penyebab kedua akibat kanker pada wanita.^{1,2} Berdasarkan data 2017 HPV *Information Centre* 2017 setiap tahun terdapat 527.624 wanita didiagnosis kanker serviks dan 265.672 diantaranya meninggal dunia.³ Menurut Ekawati dkk, di Sentra Diagnostik Patologi Anatomi RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang sejak tahun 2011 sampai dengan 2016 dijumpai 319 kasus KSS serviks, 134 kasus LSIL dan 44 kasus HSIL.⁴

Sebagian besar kanker serviks dikaitkan dengan infeksi *human papilloma virus* (HPV) risiko tinggi yaitu 16 dan 18. Infeksi HPV terjadi melalui mikro trauma berulang pada epitel serviks sehingga virus dapat mencapai lapisan sel basal.² Umumnya kanker serviks berkembang secara bertahap diawali lesi prakanker berupa *Cervical Intraepithelial Neoplasia* (CIN) sampai menjadi karsinoma invasif yang memerlukan waktu sekitar 10-15 tahun.²

Human papillomavirus (HPV) 16 merupakan HPV risiko tinggi dan termasuk HPV tipe alfa yang sering menginfeksi mukosa terutama anogenital. Karsinoma invasif berhubungan dengan integrasi genom, persistensi infeksi HPV risiko tinggi pada sel pejamu, hilangnya atau gangguan pada E2 dan *up regulasi* ekspresi E6 dan E7.² Kanker serviks berkembang secara bertahap diawali lesi prakanker berupa *cervical intraepithelial neoplasia* (CIN).² CIN dibagi menjadi 3 yaitu CIN 1 untuk displasia ringan, CIN 2 untuk displasia sedang dan CIN 3 untuk displasia berat. Berdasarkan sistem Bethesda terbagi menjadi dua yaitu *low grade intraepithelial lesions* (LSIL/CIN 1) dan *high grade intraepithelial lesions* (HSIL/CIN 2 dan 3).⁵

Beberapa penelitian dengan penanda imunohistokimia HPV16 E7 terhadap lesi prakanker dan kanker serviks telah dilakukan, seperti (a) Ressler dkk (2007) melaporkan HPV16 E6 dan E7 pada KSS,⁶ (b) Faoro dkk melaporkan ekspresi HPV16 yang kuat pada KSS, sehingga terdapat perbedaan bermakna ekspresi HPV16 pada LSIL dan KSS, serta pada HSIL dan KSS,⁷ (c) Ramirez dkk (2015) melaporkan ekspresi HPV16 pada lesi premaligna dan maligna serviks uteri,⁸ (d) Stiasny dkk (2016), mendapatkan sebagian besar ekspresi HPV16 kurang intens pada CIN III dibandingkan KSS walupun dijumpai ekspresi negatif pada

KSS;⁹ (e) Krishnappa dkk (2014) melaporkan 100% ekspresi HPV16 L1 pada servitis, 96% pada lesi prakanker dan 40% pada KSS.¹⁰ (f) Soma dkk menggunakan teknik PCR dan *indirect immunofluorescence* pada lesi prakanker dan KSS.¹¹

Di Indonesia terdapat satu penelitian HPV16 L1 (Arlena 2013) yang menemukan ekspresi negatif pada KSS dan positif pada lesi prakanker,¹² namun penelitian penanda imunohistokimia HPV16 E7 belum pernah dilakukan, khususnya di Rumah Sakit Mohammad Hoesin Palembang.

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk mengetahui ekspresi HPV16 E7 pada lesi prakanker (LSIL dan HSIL) dan KSS serviks uteri.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan pendekatan potong lintang. Sampel penelitian adalah arsip preparat HE dan blok parafin dari hasil biopsi dan histerektomi penderita dengan diagnosis lesi prakanker (LSIL, HSIL) dan KSS serviks uteri periode 1 Juli 2014-30 Juni 2017 yang diperiksa di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP dr. Mohammad Hoesin Palembang yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara *purposive/judgmental sampling*, didapatkan 50 sampel penelitian yang terdiri dari 25 lesi prakanker (13 LSIL, 12 HSIL) dan 25 KSS serviks. Interpretasi ulang dilakukan pada sediaan histologik dan hasilnya dikelompokkan menjadi lesi prakanker (LSIL, HSIL) dan KSS. Karsinoma sel skuamosa dikelompokkan menjadi derajat diferensiasi baik, sedang dan buruk. Pulasan imunohistokimia HPV16 E7 menggunakan antibodi primer monoklonal HPV16 E7 (tanpa dilusi, Santa Cruz, ED17: sc-6981, *Biotechnology, Inc*) untuk *human* dan tercatat positif pada inti dan atau sitoplasma sel tumor. Imunoreaktif HPV16 E7 dilihat di area yang terpulas menggunakan pembesaran lemah (40x) terlebih dahulu untuk memilih daerah lesi. Selanjutnya pembesaran ditingkatkan menjadi 400x, dihitung jumlah sel target terpulas dibandingkan jumlah sel seluruhnya pada area tersebut. Sel terpulas dihitung mulai 1 LPB maksimal 10 LPB. Tergantung besar/luas jaringan yang diperiksa lalu dibuat atau rerata proporsi jumlah sel yang terpulas

dari beberapa lapang pandang besar dalam bentuk persentase, lalu tentukan intensitas pulasan dominan. Setelah itu ditentukan penilaian berdasarkan skor Allred. Ekspresi HPV16 E7 terlihat pada inti dan atau sitoplasma sel yang ditandai dengan warna coklat. Ekspresi HPV16 E7 dihitung secara semikuantitatif yaitu menilai intensitas (I) dan luas area yang terpulasku (P).¹⁰ Intensitas pulasan dibagi menjadi 4 kelompok, 0: sel tumor tidak terwarnai (negatif), 1: sel tumor terwarnai lemah, 2: sel tumor terwarnai sedang, 3: sel tumor terwarnai kuat. Luas area yang terpulasku (P) dibagi menjadi 4 kelompok: 0: negatif, 1: sel tumor terpulasku <10%, 2: sel tumor terpulasku 10-50%, 3: sel tumor terpulasku 50-90% dan 4: sel tumor terpulasku >90%. Penilaian ekspresi HPV16 E7 berdasarkan skor Allred, dengan menjumlahkan skor intensitas dan luas daerah terpulasku yang dibagi menjadi 2 kelompok yaitu negatif: skor 0-2 dan ekspresi positif: skor 3-7. Analisis data menggunakan SPSS versi 22.0. Uji *fisher exact's* digunakan untuk menilai perbandingan ekspresi HPV16 E7 antara lesi prakanker dan KSS, nilai p dianggap bermakna bila <0,05. Selain itu, data yang diperoleh diolah secara deskriptif untuk mengetahui karakteristik sampel (frekuensi umur, status pernikahan, penggunaan kontrasepsi, subtipe histopatologi dan derajat diferensiasi) dan hasilnya disajikan dalam bentuk tabulasi.

HASIL

Tabel 1 menunjukkan usia terbanyak penderita lesi prakanker adalah kelompok 30-40 tahun sebanyak 15 kasus (60%). Penderita LSIL terbanyak usia 30-40 tahun yaitu 84,6%. Kasus HSIL terbanyak dijumpai pada kelompok usia 30-40 tahun (33%) dan 51-60 tahun (33%), namun pada usia <30 tahun tidak dijumpai kasus HSIL. Seluruh penderita lesi prakanker, baik LSIL maupun HSIL (100%) sudah menikah. Sebagian besar penderita lesi prakanker merupakan wanita multipara dan menggunakan kontrasepsi hormonal (52%). Lesi prakanker dilakukan tindakan biopsi (80%) dan histerektomi (20%).

Tabel 1. Karakteristik aspek klinis pada lesi prakanker (LSIL, HSIL).

Aspek Klinis	LSIL (n=13) n (%)	HSIL (n=12) n (%)	Jumlah (n=25) n (%)
Usia			
< 30 tahun	1 (7,7)	0 (0)	1 (4)
30-40 tahun	11 (84,6)	4 (33,3)	15 (60)
41-50 tahun	1 (7,7)	2 (16,7)	3 (12)
51-60 tahun	0 (0)	4 (33,3)	4 (16)
>60 tahun	0 (0)	2 (16,7)	2 (8)
Status Pernikahan			
Menikah	13 (100)	12 (100)	25 (100)
Belum menikah	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Paritas			
Nullipara	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Primipara	2 (15,4)	1 (12)	3 (12)
Multipara	11 (84,6)	8 (68)	19 (76)
Grandemultipara	0 (0)	3 (20)	3 (12)
Kontrasepsi			
Tidak memakai kontrasepsi	4 (30,8)	1 (8,3)	5 (20)
Kontrasepsi hormonal	7 (53,8)	6 (50)	13 (52)
Kontrasepsi non hormonal	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Tanpa keterangan	2 (15,4)	5 (41,7)	7 (28)
Tindakan			
Biopsi	10 (77)	10 (83)	20 (80)
Histerektomi	3 (23)	2 (17)	5 (20)
Total	13 (100)	12 (100)	25 (100)

Tabel 2. Karakteristik aspek klinis dan derajat histopatologi KSS.

Klinikopatologik	n	%
Umur		
< 30 tahun	0	0
31-40 tahun	2	8
41-50 tahun	9	36
51-60 tahun	11	44
>60 tahun	3	12
Status pernikahan		
Menikah	25	100
Belum menikah	0	0
Paritas		
Nullipara	0	0
Primipara	3	12
Multipara	17	68
Grandemultipara	5	20
Kontrasepsi		
Tidak memakai kontrasepsi	3	12
Kontrasepsi hormonal	21	84
Kontrasepsi non hormonal	0	0
Tanpa keterangan	1	4
Subtipe histopatologi:		
<i>Keratinizing</i>	7	28
<i>Non Keratinizing</i>	12	48
<i>Papillary</i>	4	16
<i>Basaloid</i>	2	8
Derajat diferensiasi:		
Baik	7	28
Sedang	11	44
Buruk	7	28
Tindakan:		
Biopsi	17	68
Histerektomi	8	32
Total	25	100

Tabel 2 menunjukkan kasus KSS terbanyak ditemukan pada usia 51-60 tahun (44%), namun tidak dijumpai kasus KSS pada usia <30 tahun. Semua penderita KSS serviks pada penelitian ini sudah menikah (100%), sebagian besar merupakan multipara (68%) dan memakai kontrasepsi hormonal (84%).

Subtipe histopatologi KSS *nonkeratinizing* 48%, *keratinizing* 28%, *papillary* 16% dan *basaloid* 8%. KSS derajat diferensiasi baik 28%, sedang dijumpai 44%, dan diferensiasi buruk 28%. Sebagian besar KSS didapatkan dari biopsi yaitu 68% dan 25% didapat dari histerektomi.

Tabel 3, menunjukkan sampel KSS terwarnai 92%, LSIL tidak terwarnai (76,9%), HSIL terwarnai lemah sampai sedang (91,7%).

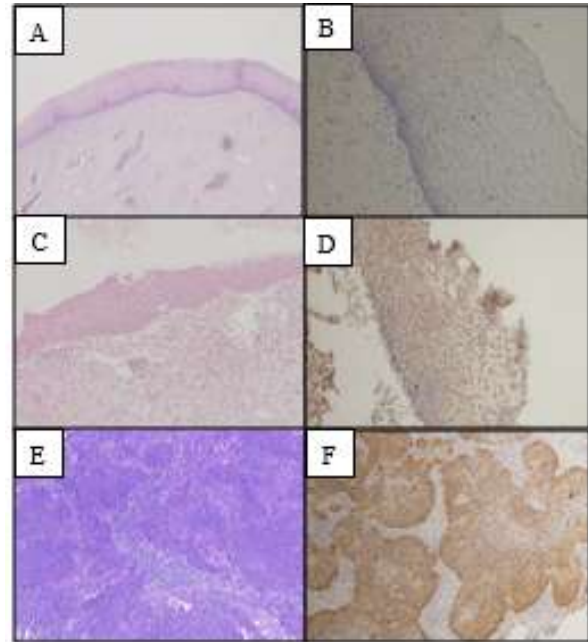
Tabel 3. Distribusi imunoreaktivitas (intensitas reaksi dan luas area terpulasa) HPV16 E7 terhadap diagnosis histopatologi.

Penilaian ekspresi HPV16 E7	Diagnosis histopatologi			Total
	LSIL n%	HSIL n%	KSS n%	
Intensitas pewarnaan				
0 : (tidak terwarnai)	10 (76,9)	1 (8,3)	0 (0)	11 (22)
1 : (Lemah)	3 (23,1)	6 (50)	8 (32)	17 (34)
2 : (Sedang)	0 (0)	5 (41,7)	15 (60)	20 (40)
3 : (Kuat)	0 (0)	0 (0)	2 (8)	2 (4)
Luas area terpulasa				
0 : Negatif	10 (76,9)	1 (8,4)	0 (0)	11 (22)
1 : (<10%)	1 (7,7)	0 (0)	1 (4)	2 (4)
2 : (10-50%)	2 (15,4)	0 (0)	1 (4)	3 (6)
3 : (51-90%)	0 (0)	7 (58,3)	5 (20)	12 (24)
4 : (>90%)	0 (0)	4 (33,3)	18 (72)	22 (44)
Total	13 (100)	12 (100)	25 (100)	50 (100)

Tabel 4, menunjukkan ekspresi positif HPV16 E7 pada sampel KSS (25%), HSIL (91,6%); sedangkan ekspresi negatif pada sampel LSIL (11%).

Tabel 4. Distribusi subjek penelitian berdasarkan penilaian ekspresi imunoreaktivitas HPV 16 E7.

Diagnosis histopatologi	Ekspresi HPV 16 E7		Total (n%)
	Negatif n (%)	Positif n (%)	
Lesi prakanker			
LSIL	11 (84,6)	2 (15,4)	13 (100)
HSIL	1 (8,4)	11 (91,6)	12 (100)
KSS	0 (0)	25 (100)	25 (100)
Total	12 (4)	38 (76)	50 (100)



Gambar 1. Gambaran histopatologi LSIL, HSIL dan KSS beserta ekspresi anti-HPV16 E7. A. LSIL (HE, 40X); B. Ekspresi anti-HPV 16 E7 negatif pada LSIL (anti-HPV16 E7,200X); C. HSIL (HE,100X); D. Ekspresi positif sedang 95% pada HSIL (anti-HPV16 E7,200X); E. Gambaran histopatologi KSS subtipe *nonkeratinizing*, diferensiasi sedang (HE,40X); F. Ekspresi positif sedang 95% pada KSS subtipe *non keratinizing*, diferensiasi sedang (HPV16 E7 100X).

Tabel 5. Ekspresi HPV 16 E7 terhadap diagnosis histopatologi lesi prakanker dan KSS.

Ekspresi HPV16 E7	Ekspresi HPV 16 E7		Total	p value
	Lesi pra-kanker n (%)	KSS n (%)		
Positif	13 (35)	25 (65)	38 (100)	0,000
Negatif	12 (100)	0 (0)	12 (100)	
Total	25 (50)	25 (50)	50 (100)	

Tabel 6. Ekspresi HPV 16 E7 terhadap diagnosis histopatologi (LSIL dan HSIL).

Ekspresi HPV16 E7	Ekspresi HPV 16 E7		Total	p value
	LSIL n (%)	HSIL n (%)		
Positif	2 (15,4)	11 (84,6)	13 (100)	0,002
Negatif	11 (91,7)	1 (8,3)	12 (100)	
Total	13 (52)	12 (48)	25 (100)	

Tabel 7. Ekspresi HPV16 E7 terhadap diagnosis histopatologi (LSIL dan KSS).

Ekspresi HPV16 E7	Ekspresi HPV 16 E7		Total	p value
	LSIL n (%)	KSS n (%)		
Positif	2 (7,4)	25 (65)	27 (100)	0,000
Negatif	11 (100)	0 (0)	11 (100)	
Total	13 (34,2)	25 (65,8)	38 (100)	

Tabel 8. Ekspresi HPV16 E7 terhadap diagnosis histopatologi (HSIL dan KSS).

Ekspresi HPV16 E7	Ekspresi HPV 16 E7		Total	p value
	HSIL n (%)	KSS n (%)		
Positif	11 (84,6)	25 (65)	27 (100)	0,324
Negatif	1 (8,3)	0 (0)	11 (100)	
Total	12 (32,5)	25 (67,5)	37 (100)	

Analisis statistik menggunakan uji *fisher's exact* menunjukkan adanya perbedaan bermakna ekspresi HPV16 E7 antara lesi prakanker dan KSS serviks uteri (p=0,000), antara LSIL dan HSIL (p=0,002) dan antara LSIL dan KSS (p=0,000) (Tabel 5-7), Namun, terdapat perbedaan tidak bermakna ekspresi HPV16 E7 antara HSIL dan KSS (p=0,324) (Tabel 8).

DISKUSI

Penelitian ini menunjukkan bahwa sebaran usia pada lesi prakanker (LSIL dan HSIL) terbanyak pada usia 30-40 tahun sebanyak 14 kasus (56%). Usia terbanyak pada LSIL adalah pada rentang usia 30-40 tahun yaitu sebanyak 10 kasus, 1 kasus pada usia kurang dari 30 tahun dan 2 kasus pada usia 41-50 tahun. HSIL mempunyai gambaran sebaran usia yang hampir merata pada semua usia, namun pada usia kurang dari 30 tahun tidak ditemukan kasus HSIL. Hasil ini didukung oleh penelitian terdahulu yang menunjukkan usia penderita lesi prakanker terbanyak pada usia 30-39 tahun.¹⁵

Menurut data WHO 2014 lesi prakanker merupakan penyakit predominan pada wanita usia reproduktif. Insidensi puncak LSIL terjadi pada dekade ketiga, sedangkan HSIL terjadi pada usia dua dekade lebih awal dari karsinoma invasif dan lebih tua dari LSIL, dan meningkat pada usia 35-39 tahun.^{1,2,13} Faktor risiko kanker serviks berdasarkan *American Cancer Society* yang tertinggi karena infeksi HPV risiko tinggi yang juga diikuti faktor risiko lain antara lain infeksi HIV, klamidia, merokok, penyakit menular seksual, gizi, status sosioekonomi, ras dan kebangsaan. Hal ini menyokong teori bahwa lesi prakanker dapat terjadi pada usia lebih muda. Di

Indonesia faktor risiko penyakit menular seksual lebih tinggi sehingga kemungkinan terpapar oleh infeksi virus HPV lebih banyak, sedangkan di negara Arab risiko infeksi HPV lebih rendah karena kultur budaya.^{2,14}

Semua penderita lesi prakanker pada penelitian ini merupakan wanita yang sudah menikah. Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang melaporkan lesi prakanker dan KSS serviks lebih sering pada wanita yang sudah menikah dibandingkan dengan wanita yang tidak menikah,¹⁶ dan penelitian lain melaporkan DNA HPV positif pada semua wanita yang sudah menikah.¹⁷

Secara klinis lesi prakanker tanpa gejala dan diidentifikasi pada skrining sitologi dan kolposkopi. Delapan puluh persen lesi prakanker berhubungan dengan infeksi HPV. Infeksi HPV risiko tinggi berperan terhadap perkembangan kanker serviks. HPV16 merupakan penyebab terbanyak dari lesi prakanker baik LSIL maupun HSIL. Prevalensi lesi prakanker (SIL) berbeda pada setiap negara dan populasi, tergantung dari faktor risiko yang mendasari dan tingkat penyaringan sitologi. Di USA, walaupun SIL bukan dilaporkan sebagai penyakit, tetapi terdapat data dari berbagai sumber tentang perkiraan prevalensi kelainan pada wanita yang menjalani skrining. Di antara wanita yang terinfeksi HPV risiko tinggi, terdapat beberapa faktor risiko untuk menjadi HSIL dan kanker invasif seperti merokok, immunosupresi dan penggunaan kontrasepsi oral.^{1,2}

Perubahan morfologi serviks selama kehamilan berhubungan dengan efek stimulasi hormon steroid. Hal ini menyebabkan eversi serviks sehingga rentan terhadap infeksi HPV. Pada Tabel 1 dijumpai 19 kasus lesi prakanker (76%) merupakan wanita multiparitas. Hal ini didukung oleh penelitian terdahulu yang melaporkan hubungan signifikan antara wanita paritas tinggi dengan nullipara, wanita paritas 4 memiliki risiko 4 kali terkena lesi prakanker dibandingkan nulipara.²

Epitel pada ektoserviks akan dimodifikasi melalui proliferasi, maturasi dan deskuamasi selama periode reproduksi. Epitel ini akan benar-benar diganti dengan populasi sel baru setiap 4-5 hari, proses maturasi epitel skuamosa bisa dipercepat sampai 3 hari dengan pemberian senyawa estrogen. Reseptor estrogen berada pada inti dilapisan sel basal, parabasal dan intermediet. Secara umum, estradiol-17β

merangsang proliferasi epitel, pematangan, dan deskuamasi, sedangkan progesteron menghambat pematangan pada tingkat zona tengah atas epitel.² Walaupun, data klinis tidak lengkap pada penelitian ini 52% penderita lesi prakanker menggunakan kontrasepsi hormonal (6 menggunakan pil, 7 suntik). Hal ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang menunjukkan hubungan signifikan antara pengguna kontrasepsi dan risiko terjadinya lesi prakanker atau kanker serviks, dan penelitian lainnya yang menunjukkan bahwa beta estradiol dapat meningkatkan transkripsi E6 dan E7 sampai delapan kali.²

Tabel 2 menunjukkan KSS kelompok umur 51-60 tahun sebanyak 12 kasus (48%), kelompok umur kurang dari 30 tahun sebanyak 0 kasus (0%), kelompok 40-50 tahun sebanyak 9 kasus (36%).² Penelitian terdahulu menyatakan bahwa KSS dapat terjadi pada usia 17-90 tahun,² 40-45 tahun,¹⁸ usia 51-60 tahun,^{1,19,20} KSS serviks berkembang secara bertahap diawali lesi prakanker berupa *cervical intra-epithelial neoplasia* (CIN) dan memerlukan waktu sekitar 10-15 tahun, sehingga insidensi KSS serviks terjadi rata-rata pada usia 55 tahun. Lesi displastik pada beberapa literatur disebutkan sebagian akan mengalami regresi dan sebagian akan progresif berkembang menjadi kanker tergantung dari derajat displasia, respon imun masing-masing individu dan tipe HPV yang menginfeksi.^{1,2,13}

Karsinogenesis pada kanker serviks melalui tiga tahap, yaitu infeksi awal HPV risiko tinggi, progresi menjadi lesi prakanker yang memerlukan persistensi HPV dan terakhir invasi. Penelitian epidemiologi mencatat bahwa faktor risiko mayor pada KSS serviks adalah infeksi oleh HPV risiko tinggi dan tidak adanya tindakan skrining kankers serviks. Selain itu diperlukan kofaktor lain pada patogenesis neoplasia seperti merokok, paritas, immunosupresi, penggunaan kontrasepsi jangka panjang, immunosupresi dan lain-lain.^{2,18,21} Tabel 1 dan 2 menunjukkan bahwa seluruh pasien sudah menikah. Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang melaporkan wanita yang sudah menikah lebih sering terkena kanker serviks dibandingkan wanita yang belum menikah sebab hal ini berhubungan dengan peningkatan paparan oleh virus HPV.¹⁶ Peneliti lain melaporkan kasus wanita *virgin* yang terkena kanker serviks dan bahwa p53 merupakan HPV *independent carcinogenesis* pada serviks uteri, di mana walaupun p53

berhubungan dengan onkoprotein E6 HPV risiko tinggi, tetapi dapat melalui mekanisme lain seperti point mutasi yang mengawali proses transformasi.²²

Tabel 2 menunjukkan KSS pada wanita multiparitas sebanyak 17 orang (68%). Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menemukan KSS pada wanita paritas,^{2,16} wanita grandemultipara.² Paritas merupakan salah satu kofaktor untuk terjadinya KSS serviks. Perubahan morfologi serviks selama kehamilan atau setelah kehamilan akan lebih terlihat dibandingkan wanita yang tidak hamil. Hal ini berhubungan dengan efek stimulasi dari peningkatan hormon steroid. Pada saat kehamilan, uterus dan serviks membesar menyebabkan serviks lebih eversi sehingga zona transformasi rentan terhadap paparan terutama virus HPV. Beberapa penelitian menunjukkan paparan zona transformasi selama proses melahirkan meningkatkan risiko terjadinya kanker serviks. Wanita yang telah menjalani operasi saesaria memiliki risiko yang lebih rendah terkena kanker serviks.^{1,2,21}

Infeksi HPV merupakan prasyarat pada perkembangan kanker, namun peran hormon steroid seksual juga diperlukan sebagai kofaktor. Laporan pertama tentang kemungkinan efek pada kanker genital pada manusia dengan hormon steroid seks muncul pada tahun 1971.¹⁶ Selama masa reproduksi, ovarium menghasilkan dan melepaskan progesteron dan estrogens *estron* (E1), *17 β -estradiol* (E2) dan *estriol* (E3). E2 merupakan bentuk estrogen alami yang paling aktif mengikat dan mengaktifkan reseptor estrogen (ERs), bersama dengan progesteron sangat penting untuk fungsi uterus normal, pembentukan dan pemeliharaan kehamilan.²⁸ E2 juga dapat meningkatkan transkripsi E6 dan E7 HPV16 sampai enam belas kali lipat. Selain E2, progesteron juga meningkatkan efisiensi dan frekuensi transformasi sel yang terinfeksi HPV tipe 16.^{16,24,25}

Tabel 2 menunjukkan pasien KSS menggunakan kontrasepsi hormonal, 24 kasus (84%) tetapi sebagian besar tidak didapatkan data masa penggunaan kontrasepsi hormonal serta jenis kontrasepsi yang digunakan. Hal ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang menunjukkan hubungan signifikan antara penggunaan kontrasepsi hormonal dengan risiko terjadinya kanker serviks.^{16,26}

Tabel 2 menunjukkan KSS subtype *non keratinizing* 12 kasus (48%), *keratinizing* 7 kasus (28%), *papillary* 4 kasus (16%) dan basaloid 2 kasus (8%). Peneliti terdahulu melaporkan bahwa subtype histopatologi *non keratinizing* terjadi pada dua pertiga kasus KSS serviks dan *keratinizing* meliputi seperenam kasus KSS serviks,²¹ sedangkan menurut WHO (2014) menyebutkan bahwa mayoritas KSS serviks yang biasa dikenal adalah *non keratinizing* atau *keratinizing*.¹ Berdasarkan derajat diferensiasi menunjukkan KSS diferensiasi sedang 11 kasus (48%), diferensiasi baik 7 kasus (28%), dan diferensiasi buruk 7 kasus (28%). Peneliti terdahulu melaporkan KSS serviks berdiferensiasi sedang adalah 60%,¹⁸ sedangkan peneliti lain melaporkan urutan derajat diferensiasi sedang, diikuti diferensiasi baik dan diferensiasi buruk.¹⁴

Tabel 3 menunjukkan ekspresi HPV16 E7 positif pada KSS sebanyak 25 kasus (100%), HSIL sebanyak 11 kasus (91,7%); sedangkan ekspresi HPV16 E7 negatif pada LSIL sebanyak 10 kasus (76,9%) dan HSIL sebanyak 1 kasus (8,3%). Hal-hal tersebut di atas diduga karena sebagian besar sel yang terinfeksi berada pada status episomal, atau karena prosedur fiksasi jaringan kurang adekuat. Hal-hal tersebut didukung oleh penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa: (1) LSIL merupakan lesi intraepithelial pada epitel skuamosa yang merupakan manifestasi dari infeksi HPV produktif. Pada LSIL DNA HPV berada dalam status episomal dan terjadi ekspresi E1 dan E2 pada lapisan basal, sedangkan ekspresi E6 dan E7 masih diregulasi dan ditekan oleh sel pejamu dan E2.^{2,8,27,28} (2) Pada HSIL terjadi deregulasi ekspresi gen virus sehingga ekspresi E6 dan E7 meningkat. Persistensi dari lesi derajat tinggi akan mengakibatkan integrasi genom pada sel pejamu, di mana E6 akan berikatan dengan p53 untuk degradasi, sedangkan E7 akan berikatan dan menginaktifkan pRB dan memungkinkan virus untuk bereplikasi, sehingga terjadi ekspresi dari E6 dan E7.²⁸ (3) Progresi karsinoma invasif berhubungan dengan infeksi persisten HPV risiko tinggi dan integrasi genom HPV pada sel pejamu, sehingga terjadi *up regulasi* dari ekspresi E7.⁶⁻⁸

Analisis dengan *uji fisher's exact* menunjukkan perbedaan bermakna ekspresi HPV16 E7 antara lesi prakanker dan KSS serviks uteri (p=0,000); antara LSIL dan HSIL

(p=0,002) serta antara LSIL dan KSS (p=0,000), sedangkan perbedaan tidak bermakna ditemukan antara HSIL dan KSS (p=0,324).

KESIMPULAN

Positivitas ekspresi HPV16 E7 meningkat pada lesi HSIL dan KSS.

DAFTAR PUSTAKA

1. Stoler M, Bergeron C, Colgan TJ, Ferenczy AS, Herrington CS, Kim KR *et al.* Tumours of The Uterine Cervix. In: Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS. WHO Classification of Tomours of Female Reproductive Organs. 4th Edition. Lyon: IARC; 2014.p169-82.
2. Witkiewicz AK, Wright TC, Ferenczy A, Kurman RJ, Ronnett BM. Carcinoma and Other Tumors of The Cervix. In: Kurman RJ, Ellenson LH, Ronnett BM. Blaustein's pathology of the female genital tract. 6th Edition. New York: Springer; 2011.p156-63, 255-303.
3. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Disease Report. ICO; 2017.
4. Nayar R, Wilbur DC. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. 3rd edition. New York: Springer; 2015. p135-37
5. Ekawati D, Wresnindyatsih, Apriyani N. Korelasi ekspresi p16 dengan lesi prakanker dan karsinoma sel skuamosa serviks uteri. Majalah Patologi Indonesia. In press; 2018
6. Ressler S, Scheiden R, Dreier K, Laich A, Holzner EM, Pircher H *et al.* High risk human papillomavirus E7 oncoprotein detection in cervical squamous cell carcinoma. Clin Cancer Res. 2007; 13: 7067-72.
7. Faoro V, Barbazza R, Bonin S, Brunetti D, Sulfaro S, Stanta G. Detection of HPV E7 oncoviral protein in cervical lesions by a new antibody. Applie Immunohistochem Mol Morphol. 2013; 21: 341-50.
8. Ramirez N, Guerra F, Camporeale G, Quintana S, Diaz LB, Cuneo N *et al.* Expression of E2 and E7 HPV16 proteins in premalignant and malignant lesion of the uterine cervix. Biotech Histochem. 2015; 90: 573-80.
9. Stiasny A, Kuhn C, Mayr D, Alexiou C, Janko C, Wiest I *et al.* Immunohistochemical evaluation of E6/E7 HPV oncoproteins

- staining in cervical cancer. *Anticancer Res.* 2016; 36: 3195-8.
10. Krishnappa P, Mohammad IB, Lin YJ, Barua A. Expression of p16 in high risk human papillomavirus related lesions of the uterine cervix in a government hospital, Malaysia. *Diagn Pathol.* 2014; 19: 1-6.
 11. Soma M, Kamaraj S. Detection of human papillomavirus in cervical gradings by immunohistochemistry and typing of HPV 16 and 18 in high grade by polymerase chain reaction. *J Lab Physicians.* 2010; 2: 31-6.
 12. Elizabeth A, Laksmi LY, Moestikaningsih, Widiana. Perbedaan ekspresi P16INK4a dan HPV16 pada cervical intraepithelial neoplasia 1, cervical intraepithelial neoplasia 2, cervical intraepithelial neoplasia 3 dan squamous cell carcinoma serviks uteri. *Medicina.* 2013; 44: 77-81.
 13. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbin and Cotran Pathologic Basis of Disease. 9th Edition.* Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015. p280-387,1001-7.
 14. Omran OM, Alsheeha M. Human Papilloma Virus Early Proteins E6 (HPV16/18-E6) and the Cell Cycle Marker P16 (INK4a) are useful prognostic markers in uterine cervical carcinomas in Qassim Region-Saudi Arabia. *Pathol Oncol Res.* 2015; 21: 157-66.
 15. Gupta K, Malik NP, Sharma VK, Verma N, Gupta A. Prevalence of cervical dysplasia in western Uttar Pradesh. *J Cytol.* 2013; 30: 257-62.
 16. Hellberg D. Sex steroids and cervical cancer. *Anticancer Res.* 2012; 32: 3045-54.
 17. Tran LTH, Tran LT, Bui TC, Le DTK, Nyitray AG, Markham CM, *et al.* Risk factors for high risk and multitype human papillomavirus infections among women in Ho Chi minh City, Vietnam: a cross sectional study. *BMC.* 2015; 15: 1-9.
 18. Harman ML, Cooper K. Cervical Neoplasia. In: Nucci MR, Oliva E. *Gynecologic Pathology.* Boston: Churchill Livingstone Elsevier; 2009; p141-65.
 19. Moselhy E, Borg HM, Atlam SA. Cervical Cancer: Sociodemographic and clinical risk factors among adult egyptian females. *AORT.* 2016;1-7
 20. Elmajjaoui S, Ismail N, Kacemi HE, kebdani T, Sifat H, Benjaafar N. Epidemiology and outcome of cervical cancer in National Institute of Morocco. *BMC.* 2016; 16: 1-8. DOI 10.1186/s12905-016-0342-2.
 21. Wang SS, Sherman WME. Cervix: epidemiology of squamous neoplasia. In: Robboy SJ, Mutter GL, Prat J, Bentley RC, Russel P, Anderson MC. *Robboy's Pathology Female Reproductive Tract. 2nd Edition.* China: Churchill Livingstone: Elsevier; 2013; p173-85,189-224, 227-45.
 22. Shim AR, Choi EK, Yun SH, Lee M, Lee MK, Kim SW. A case of squamous cell carcinoma of the uterine cervix with diffuse hematogenous lung metastasis in a 36 years old virgin. *Korean J Obstet Gynecol.* 2011; 54: 634-8.
 23. Mungenast F, Thalhammer T. Estrogen biosynthesis and action in ovarian cancer. *Front Endocrinol.* 2014; 5: 1-12.
 24. Senapati R, Senapati NN, Dwibedi B. Molecular mechanism of HPV mediated neoplastic progression. *ICMR.* 2016; 11-59. DOI 10.1186/s13027-016-0107-4
 25. Roura E, Travier N, Waterboer T, Sanjose S, Bosch FX, Pawlita M. The influence of hormonal factors on the risk of developing cervical cancer and precancer: results from the EPIC cohort. *PlosOne.* 2016; 1-17. DOI:10.1371/journal.pone.0147029.
 26. Gierisch JM, Coeytaux RR, Urrutia RP, Havrilesky, Moorman PG, Lowery WJ, *et al.* Oral contraceptive use and risk of breast, cervical, colorectal and endometrial cancers: A sytematic review. *AACR.* 2013; 1931-40 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0298.
 27. Gariglio P, Nava JO, Rios EA. Role of HR-HPVs E6 and E7 oncoproteins in cervical carcinogenesis. *JMGM.* 2016; 10: 1-11
 28. Door J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, *et al.* The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *J Vaccine.* 2012; 30: 55-70.