

## Karsinoma Sel Skuamosa Orofaring Terkait *Human Papillomavirus*

Vabiayu Putri  
Endah Zuraidah  
Yayi Dwina Billianti

Departemen Patologi Anatomi  
Fakultas Kedokteran  
Universitas Indonesia  
Jakarta

### ABSTRAK

Karsinoma sel skuamosa (KSS) orofaring merupakan tumor kepala dan leher yang insidensinya meningkat pada dekade terakhir ini. Hal ini berkaitan dengan infeksi human papillomavirus (HPV). Telah diketahui bahwa onkoprotein HPV E6 dan E7 menyebabkan degradasi p53 dan protein retinoblastoma (pRb) yang mengakibatkan menurunnya kecepatan apoptosis serta aktivasi siklus sel. Baru-baru ini diketahui adanya interaksi langsung antara onkoprotein HPV E6, tumor suppressor protein Scribble dan jalur Hippo yang mengakibatkan terjadinya gangguan polaritas sel. Gangguan ini menyebabkan terakumulasinya Yes Activated Protein (YAP) di dalam inti sel. Klasifikasi WHO Tumor Kepala dan Leher tahun 2017 membagi KSS orofaring menjadi KSS orofaring-HPV positif dan HPV-negatif, yang memiliki karakteristik molekuler, patologi dan klinis yang berbeda. Untuk dapat menentukan klasifikasi tersebut selain pemeriksaan histopatologi rutin juga diperlukan pemeriksaan tambahan untuk mendeteksi adanya HPV seperti imunohistokimia p16, in situ hybridization (ISH) dan polymerase chain reaction (PCR).

**Kata kunci :** KSS orofaring, HPV, jalur Hippo, YAP

### PENDAHULUAN

Karsinoma sel skuamosa (KSS) kepala dan leher, termasuk di dalamnya kanker rongga mulut, orofaring dan laring, merupakan kanker ke-6 terbanyak di dunia dengan estimasi insidens sebanyak 686.000 kasus dan 376.000 kematian. Secara global ditemukan 142.000 kasus KSS orofaring dan 97.000 kematian pada tahun 2012.<sup>1</sup> KSS orofaring telah lama diketahui berhubungan dengan penggunaan jangka panjang rokok dan alkohol. Namun pada dekade terakhir ini, terjadi pergeseran demografik pasien KSS orofaring yang mayoritas pada usia yang lebih muda, tidak merokok dan minum alkohol. Hal ini terjadi akibat peningkatan infeksi *human papillomavirus* (HPV).<sup>2</sup> HPV DNA terdeteksi pada 38,29% KSS orofaring.<sup>3</sup> Diperkirakan pada tahun 2020, insidens KSS orofaring-HPV positif akan melebihi kanker serviks dikarenakan lokasi anatomi orofaring yang tidak mudah diakses dan sulit mendapatkan sampel yang representatif untuk pemeriksaan skrining sitologi terhadap lesi premaligna.<sup>4</sup> Sejalan dengan hal tersebut, pada klasifikasi WHO Tumor Kepala dan Leher tahun 2017 disebutkan pula adanya tambahan klasifikasi baru yaitu tumor orofaring, dengan penekanan pada pengenalan KSS terkait HPV.<sup>5</sup>

KSS orofaring-HPV positif disebabkan oleh HPV risiko tinggi, dengan tipe 16 bertanggung jawab terhadap >90% kasus. Secara epidemiologi, KSS orofaring-HPV positif berbeda dengan HPV-negatif yang ditandai dengan onset pada usia yang lebih muda, laki-laki dan berkaitan erat dengan perilaku seksual. Seks oral merupakan faktor risiko terjadinya infeksi HPV oral.<sup>6</sup> KSS orofaring-HPV positif juga memiliki prognosis yang lebih baik (menurunkan 28-80% risiko kematian) dibandingkan HPV-negatif.<sup>7</sup>

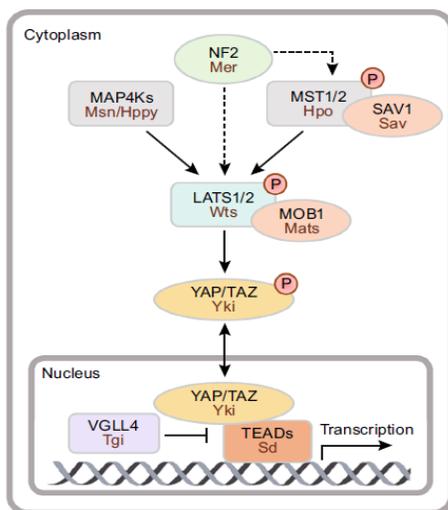
HPV adalah virus yang menyerang epitel skuamosa dan terdiri atas dua kelompok protein yaitu *early* (E1-7) dan *late* (L1-2). Onkoprotein HPV E6 menyebabkan degradasi p53 sehingga kecepatan apoptosis menurun. Belakangan ini ditemukan pula hubungan langsung antara onkoprotein HPV E6 dengan *tumor suppressor protein* Scribble dan jalur transduksi intraseluler Hippo. Melalui hubungan ini, didapatkan kadar *Yes-Associated Protein* (YAP) yang tinggi pada inti sel-sel ganas KSS orofaring HPV-positif yang mungkin dapat dijadikan suatu *biomarker* dan terapi target.<sup>2</sup>

Tujuan penulisan tinjauan pustaka ini adalah memberikan informasi mengenai KSS orofaring menurut klasifikasi WHO tumor kepala dan leher tahun 2017 terkait dengan HPV serta jalur molekuler karsinogenesis lain yang mendasarinya.

## I. Aspek Molekuler Karsinoma Sel Skuamosa Orofaring

### I.1 Struktur dan Fungsi Jalur Hippo dan YAP

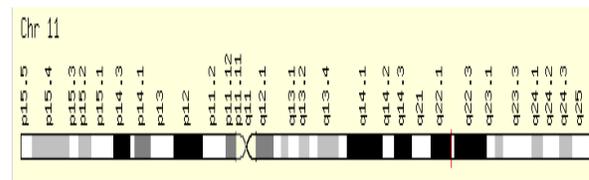
Jalur Hippo ini merupakan jalur penghantar sinyal yang relatif baru pada homeostasis, pengaturan ukuran organ dan tumorigenesis. Jalur ini mengatur proliferasi sel, apoptosis, dan jalur-jalur dalam merespon sinyal intraseluler dan ekstraseluler termasuk kontak antar sel, polaritas sel, sinyal-sinyal mekanik, ligan *G-protein coupled receptor* (GPCR) dan status energi seluler. Jalur ini terdiri atas kaskade kinase yang melibatkan *Mammalian STE20-Like Protein Kinase* (MST) dan *Large Tumor Suppressor Kinase* (LATS) sebagai regulator negatif aktivitas koaktivator transkripsi YAP/TAZ.<sup>8</sup>



Gambar 1. Jalur Hippo.<sup>9</sup>

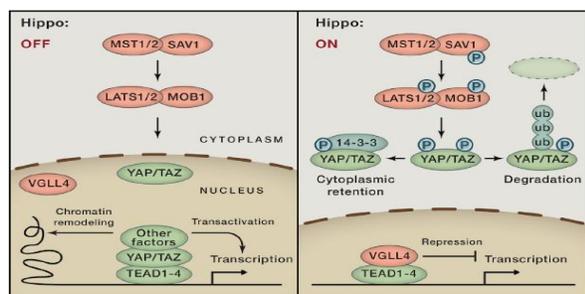
Inti jalur Hippo terletak pada kaskade kinase (Gambar 1). MST1/2 dan *Mitogen-Activated Protein 4 Kinase* (MAP4K) memfosforilasi LATS1/2, yang menyebabkan aktivasi LATS1/2. Kemudian LATS1/2 akan memfosforilasi YAP/TAZ yang menyebabkan inaktivasi YAP/TAZ serta penimbunannya pada sitoplasma. Sebagai efektor utama jalur Hippo, YAP/TAZ tidak terfosforilasi akan berpindah lokasi ke inti sel, menjadi aktif dan menginduksi transkripsi gen target dengan cara berinteraksi dengan faktor transkripsi *TEA Domain Transcription Factor* (TEAD) menyebabkan berlangsungnya proliferasi sel. Salvador (SAV1) dan *MOB Kinase Activator 1* (MOB1) merupakan *protein scaffold* untuk MST1/2 dan LATS1/2 serta regulator di hulu jalur seperti Neurofibromin 2 (NF2) dapat juga menginduksi aktivitas LATS1/2. Sedangkan interaksi antara YAP/TAZ dengan TEAD diantagonis oleh *Vestigial Like Family Member 4* (VGL4).<sup>9</sup>

YAP adalah suatu *protein coding gene* yang terletak pada kromosom 11q22.1 (Gambar 2). Gen ini berperan sebagai regulator transkripsi dengan mengaktifkan gen yang terlibat pada proliferasi sel dan menekan gen apoptosis. YAP merupakan suatu onkogen poten yang ditemukan pada berbagai kanker pada manusia.<sup>10</sup>



Gambar 2. Lokasi genomik gen YAP terletak pada kromosom 11q22.1<sup>10</sup>

Ketika jalur Hippo diaktifkan, YAP/TAZ difosforilasi dan disimpan dalam sitoplasma. Jalur Hippo yang menghambat YAP menyebabkan terkontrolnya ukuran organ dan supresi tumor. Ketika jalur Hippo tidak aktif, YAP/TAZ masuk ke inti sel dan mengatur ekspresi gen yang mengakibatkan terjadinya proliferasi sel (Gambar 3).<sup>8,10</sup>



Gambar 3. Penghambatan koaktivator transkripsi YAP/TAZ oleh LATS1/2<sup>8</sup>

### I.2. Peran Jalur Hippo dan YAP pada KSS Orofaring terkait HPV

HPV merupakan virus yang menginfeksi epitel skuamosa. *Early gen* E5, E6 dan E7 berperan sebagai onkoprotein sedangkan sisanya (E1-E4) berperan sebagai regulator dan protein struktur. Onkoprotein HPV E6 menyebabkan degradasi p53 dengan diperantarai oleh ubiquitin, hal ini menyebabkan menurunnya kecepatan apoptosis. Sedangkan ikatan onkoprotein HPV E7 dengan protein retinoblastoma (pRb) menyebabkan terdegradasinya protein tersebut. Hal ini menyebabkan deregulasi *G1/S cell cycle check point* dan aktivasi *S-phase re-entry* serta replikasi virus.<sup>11</sup> Selain memecah p53 dan pRb, studi terbaru menunjukkan adanya interaksi langsung antara onkoprotein HPV E6, *tumor suppressor protein* Scribble dan jalur transduksi intraseluler Hippo. Interaksi ini mengakibatkan transformasi seluler dan onkogenesis.<sup>2</sup>

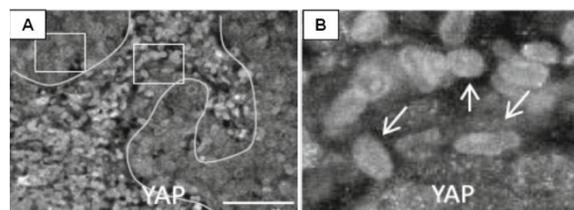
Scribble adalah suatu *tumor suppressor protein* yang terletak pada tepi basolateral sel epitel. Protein ini berperan penting dalam menjaga polaritas sel. Polaritas epitel adalah suatu proses penting pada pertumbuhan sel dan menjamin tetap terjaganya *contact inhibition*.<sup>2</sup> Hilangnya polaritas berkaitan dengan *epithelial-to-mesenchymal transition* (EMT)<sup>12</sup> yang berkontribusi terhadap progresi tumor.

Onkoprotein HPV E6 akan mendegradasi *protein suppressor* Scribble sehingga terjadi gangguan polaritas sel. Gangguan polarisasi ini akan mengakibatkan deregulasi jalur Hippo. YAP tidak terfosforilasi akan berpindah ke dalam inti sel dan menjadi aktif. Aktivasi YAP/TAZ yang tinggi dan terus menerus merangsang proliferasi sel yang berlebihan.<sup>2</sup>

### I.3 Deteksi YAP

Alzahrani *et al.*<sup>2</sup> berhasil menunjukkan bahwa Scribble mempresipitasikan YAP. Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan teknik imuno-

fluoresensi dari blok parafin dengan menggunakan antibodi anti-YAP serta label fluoresen. Mereka menemukan sejumlah besar YAP dalam inti sel pada KSS orofaring-HPV positif dan tidak menemukannya pada inti sel normal di sekitarnya (Gambar 4). Hal ini mungkin dapat dipakai sebagai suatu *biomarker* yang berguna pada KSS orofaring-HPV positif.<sup>2</sup>

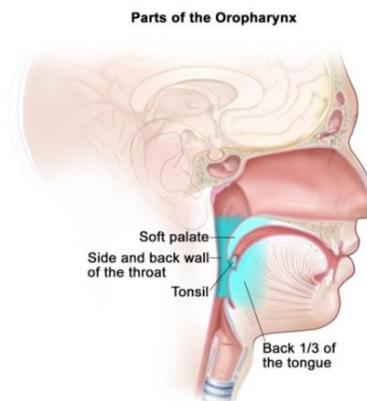


Gambar 4. YAP diaktifkan pada KSS orofaring terkait HPV.<sup>2</sup> A. KSS orofaring-HPV positif terwarnai oleh anti-YAP. Garis menunjukkan batas tumor. B. Pembedaran dari kotak sisi kanan pada gambar A menunjukkan YAP berada pada inti sel tumor.

## II. Aspek Klinis dan Histopatologi Karsinoma Sel Skuamosa Orofaring

### II.1 Gambaran Umum Karsinoma Sel Skuamosa Orofaring

Orofaring terletak di belakang rongga mulut, dikelilingi oleh palatum mole di superior, ujung epiglottis di inferior, isthmus tenggorok dan sepertiga posterior lidah di anterior, tonsila faringeal di posterior dan dinding lateralnya dibentuk oleh arkus palatofaringeal dan tonsila palatina. Orofaring terdiri atas dasar lidah (sepertiga posterior), valemula, tonsil dengan fossa tonsilar dan pilar, sulcus glossotonsilar, dinding posterior dan dinding superior yang tersusun atas permukaan inferior palatum mole dan uvula (Gambar 5).<sup>13</sup>



Gambar 5. Anatomi orofaring<sup>14</sup>

Lebih dari 90% neoplasma ganas pada orofaring adalah KSS pada lapisan mukosa, sedangkan neoplasma yang berasal dari kelenjar liur minor dan jaringan lunak relatif jarang.<sup>13</sup> Mukosa orofaring ditandai oleh adanya sel-sel limfoid dan ini menjadi target virus yang berkaitan dengan karsinoma.<sup>6</sup>

KSS orofaring merupakan suatu kanker agresif yang disebabkan terutama oleh penggunaan alkohol dan rokok. Pada dekade terakhir ini, infeksi HPV onkogenik terutama tipe 16 diketahui juga menjadi salah satu penyebab KSS orofaring. Hal ini menyebabkan kenaikan signifikan insiden KSS orofaring.<sup>13</sup>

KSS orofaring yang berukuran kecil umumnya asimtomatik atau menimbulkan keluhan yang samar dan temuan fisik yang minimal. Pada pemeriksaan fisik dapat ditemukan lesi berwarna merah, campuran merah dan putih atau plak putih pada mukosa dan sebagian ulseratif. Gejala-gejala yang dapat ditimbulkan antara lain nyeri, penyebaran nyeri ke telinga, bau mulut, sulit berbicara, membuka mulut, mengunyah, menelan, perdarahan, penurunan berat badan dan pembengkakan leher.<sup>13</sup>

Tampilan makroskopik lesi skuamosa bervariasi dari penebalan mukosa berwarna putih keabuan sampai ulserasi luas, rata atau massa menonjol dengan invasi struktur lokal.<sup>15</sup> Kanker pada palatum mole dan uvula sering muncul sebagai lesi ulseratif dengan tepi yang meninggi atau massa menonjol. Kanker pada tonsil tampak sebagai lesi eksofitik dan ulseratif. Terkadang manifestasi klinis tampak sebagai pembesaran kelenjar getah bening leher tanpa tanda-tanda dan gejala lain. Kanker pada dasar lidah muncul pada perjalanan penyakit yang lanjut sebagai ulserasi yang menyeluruh, nyeri dan pertumbuhan indurasi.<sup>13</sup>

## II.2 Karakteristik Klinikopatologik dan Histopatologik KSS Orofaring

KSS orofaring HPV-positif dan HPV-negatif memiliki karakteristik molekuler, patologi dan klinis yang berbeda (Tabel 1).<sup>16</sup> Umumnya KSS orofaring-HPV positif ini tidak menunjukkan mutasi TP53, hal ini berbeda dengan KSS orofaring HPV-negatif.<sup>13</sup>

Tabel 1. Karakteristik klinis dan histopatologi KSS orofaring.<sup>6</sup>

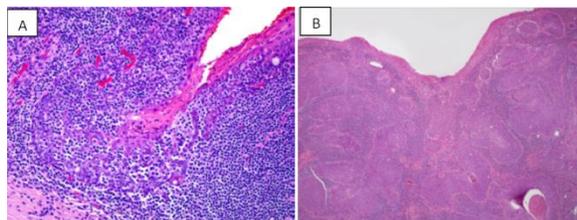
Karakteristik	HPV-positif	HPV-negatif
Usia rata-rata	50-56 tahun	60-70 tahun
Faktor risiko	Perilaku seksual	Merokok dan alkohol
Metastasis KGB Asal	Seringkali kistik Epitel retikulasi Dari kriptus	Jarang kistik Permukaan epitel
Displasia Morfologi	Jarang KSS non-keratinisasi	Sering KSS keratinisasi
Grading	Tidak dapat diterapkan	Dapat diterapkan
IHK p16 Kesintasan (3 tahun)	Positif 82%	Negatif 57%

### II.2.1. Gambaran Klinis KSS Orofaring

KSS orofaring-HPV positif dikenal juga sebagai KSS non keratinisasi. Kasus ini lebih sering ditemukan pada laki-laki, kulit putih dan status sosial ekonomi yang lebih tinggi. Usia rata-rata penderita 50-56 tahun.<sup>6</sup> Predileksi tersering adalah pada tonsila palatina dan dasar lidah.<sup>6,15</sup> KSS jenis ini biasanya timbul pada stadium klinis yang lanjut. Limfadenopati servikal paling sering ditemukan. Sebagian besar tumor primer berukuran kecil dan tidak tampak pada pemeriksaan makroskopik. Sedangkan nodul metastasis seringkali besar dan kistik. Sebaliknya, KSS orofaring-HPV negatif dikenal sebagai KSS dengan keratinisasi. Penderitanya umumnya berusia lebih tua dibandingkan KSS orofaring-HPV positif. KSS orofaring jenis ini lebih sering mengenai palatum mole.<sup>6</sup>

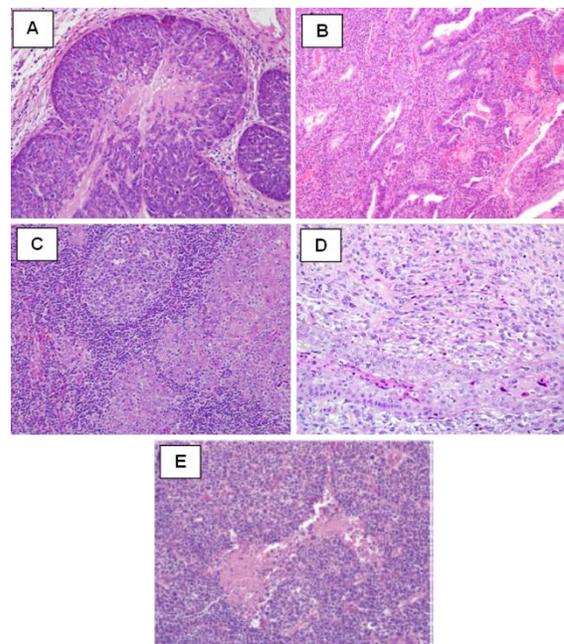
### II.2.2 Gambaran Histopatologik KSS Orofaring-HPV Positif

Ditinjau dari morfologinya, KSS orofaring-HPV positif menunjukkan gambaran non-keratinisasi yang jelas ditandai oleh sitoplasma yang sedikit dan inti sel yang hiperkromatik (*blue cell*). Berbeda dengan kasus HPV-negatif, isplasia epitel jarang diidentifikasi. KSS orofaring HPV-positif berasal dari epitel kriptus (Gambar 6A) dan tumbuh di bawah epitel permukaan membentuk sarang-sarang dan lobulus, kadang disertai nekrosis di tengahnya (Gambar 6B). Sarang tumor seringkali berada di antara stroma limfoid dan dapat ditemukan sel-sel limfoid di antara sel tumor. Sel tumor yang menunjukkan rasio nukleus: sitoplasma yang tinggi, serta indeks mitosis dan apoptosis yang tinggi dapat memberikan gambaran basaloid.<sup>6</sup>



Gambar 6. A. Kriptus tonsil dibatasi oleh sel epitel skuamosa khusus yang dikenal sebagai epitel retikulasi.<sup>17</sup> B. KSS orofaring-HPV positif berasal dari kriptus tonsil dan bukan dari permukaan epitel.<sup>18</sup>

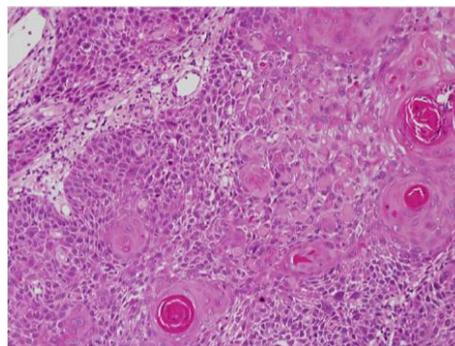
KSS orofaring-HPV positif memiliki beberapa varian antara lain papiler, adeno-skuamosa, *lymphoepithelioma-like*, sarkomatoid dan *small-cell* (Gambar 7).<sup>6</sup> Gambaran papiler ditandai dengan pertumbuhan papila yang eksofitik. Berbeda dengan papiloma skuamosa jinak, papila ini seluruhnya dilapisi oleh sel skuamosa yang ganas. Gambaran adenoskuamosa jarang ditemukan pada orofaring, ditandai oleh adanya komponen KSS bercampur dengan kelenjar berbentuk bulat yang hampir selalu memproduksi musin.<sup>15</sup> Beberapa KSS orofaring-HPV positif menunjukkan gambaran limfoepitelioma dengan sel tersusun sinsitial, inti sel vesikuler dan anak inti yang besar. Gambaran sarkomatoid atau spindel ditandai dengan adanya komponen sel spindel yang menonjol. Meskipun sel spindel menunjukkan gambaran mesenkimal tetapi sebenarnya berasal dari permukaan epitel skuamosa.<sup>18</sup> Karakteristik klinis dari berbagai varian (selain *small cell*) serupa dengan KSS orofaring-HPV positif dengan gambaran morfologi tipikal. Varian *small cell* memiliki perangai klinis yang agresif dan secara morfologik ditandai oleh sel anaplastik kecil dengan inti sel hiperkromatik, banyak mitosis dan nekrosis. Untuk mengenali varian ini perlu dilakukan pemeriksaan imunohistokimia termasuk ekspresi lemah penanda skuamosa seperti p63, p40 dan CK5/6 serta positività penanda neuroendokrin seperti synaptophysin, chromogranin dan CD56.<sup>6</sup>



Gambar 7. Varian morfologi KSS orofaring-HPV positif.<sup>18</sup> A. Gambaran basaloid. B. Gambaran adenoskuamosa. C. Gambaran limfoepitelioma. D. Gambaran sarkomatoid. E. Gambaran *small cell*.

### II.2.3. Gambaran Klinikopatologik KSS Orofaring-HPV Negatif

KSS orofaring-HPV negatif (Gambar 8) biasanya memperlihatkan gambaran diferensiasi skuamosa berupa keratinisasi, reaksi stroma desmoplastik dan displasia permukaan seperti KSS pada mukosa kepala dan leher lainnya.<sup>6</sup> Sel displasia terbatas pada permukaan epitel skuamosa dengan organisasi dan maturasi sel yang abnormal, meningkatnya mitosis dan pembesaran inti sel dengan pleomorfisme.<sup>15</sup>



Gambar 8. Gambaran KSS orofaring-HPV negatif<sup>19</sup>

Pleomorfisme yang terbatas pada sepertiga bawah epitel dikelompokkan sebagai displasia ringan, pleomorfisme terbatas pada dua pertiga bawah dikelompokkan sebagai displasia sedang dan pleomorfisme yang mengenai seluruh ketebalan dikelompokkan sebagai displasia berat/karsinoma *in situ*.<sup>15</sup>

#### II.2.4 Grading KSS Orofaring-HPV Positif

*Grading* secara histologi saat ini tidak dianjurkan untuk KSS orofaring-HPV positif. Keratinisasi tidak ditemukan atau tidak mencolok pada sebagian besar kasus meskipun pada beberapa kasus dapat menunjukkan pembentukan keratin.<sup>6</sup>

#### II.2.5. Grading KSS Orofaring-HPV Negatif

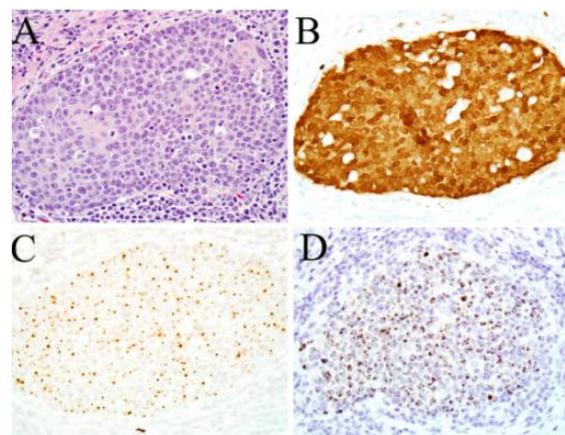
Pada KSS orofaring-HPV negatif, *grading* sama dengan KSS pada kepala dan leher lainnya. *Grading* terdiri atas KSS orofaring berdiferensiasi baik, sedang dan buruk. KSS orofaring berdiferensiasi baik ditandai adanya sarang atau pulau yang terdiri atas sel-sel besar dengan sitoplasma berwarna merah muda, jembatan interseluler yang tegas dan inti sel yang bulat. Sel diskeratotik dan mutiara keratin tampak menonjol. Pleomorfisme dan hiperkromasi inti sel serta gambaran mitosis meningkat (termasuk bentuk atipikal) seiring bertambahnya *grade* tumor. Pada KSS orofaring diferensiasi buruk, gambaran diferensiasi skuamosa ditemukan minimal atau bahkan tidak ditemukan. Untuk mengkonfirmasi dibutuhkan pemeriksaan imunohistokimia seperti AE1/AE3, CK5/6, p63 dan p40. Tumor berdiferensiasi baik akan menginvasi dalam bentuk pulau sedangkan pada diferensiasi buruk tampak bergerigi atau *finger-like projection* atau pulau-pulau kecil dan sel-sel yang menyebar pada daerah yang invasif.<sup>6</sup>

#### II.3 Deteksi HPV

Pemeriksaan yang ideal untuk mendeteksi HPV risiko tinggi ini harus memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, *cost effective* dan mudah dikerjakan sehingga bisa dimasukkan ke dalam pemeriksaan diagnostik rutin Patologi Anatomik. Pemeriksaan HPV risiko tinggi sebagai pemeriksaan rutin perlu dibatasi hanya pada KSS orofaring primer dan tumor KGB servikal yang mungkin berasal dari KSS orofaring primer. Saat ini pemeriksaan HPV sangat bervariasi dan tidak ada konsensus di antara para ahli mengenai metode ataupun kombinasi yang bisa digunakan.<sup>20</sup>

HPV dapat dideteksi melalui pemeriksaan molekuler yaitu *in situ hybridization* (ISH) dan *polymerase chain reaction* (PCR) baik secara individual maupun kombinasi serta melalui pemeriksaan imunohistokimia p16 (Gambar 9). Pemeriksaan HPV yang positif dapat pula menunjukkan orofaring sebagai lokasi utama yang paling sering untuk timbulnya metastasis kelenjar getah bening leher yang tidak diketahui tumor primernya.<sup>6</sup>

Teknik PCR memiliki kemampuan untuk mendeteksi HPV DNA bahkan dalam jumlah yang sangat kecil. Metode ini memiliki sensitivitas yang tinggi namun tidak dapat membedakan infeksi HPV yang memang menyebabkan KSS orofaring dari infeksi HPV yang secara klinis tidak signifikan (*passenger* HPV). Oleh karenanya, spesifisitas dari PCR HPV DNA ini relatif rendah. Deteksi *HPV E6/E7 mRNA transcript* melalui *quantitative reverse transcriptase* PCR dapat dipertimbangkan sebagai baku emas untuk mengenali tumor yang disebabkan oleh infeksi HPV. Kekurangannya, metode ini membutuhkan jaringan tumor segar, sehingga sulit digunakan sebagai sarana diagnosis rutin di Patologi Anatomik. Sekarang sedang dikembangkan metode yang dapat menggunakan blok parafin untuk pemeriksaan ini.<sup>20</sup>



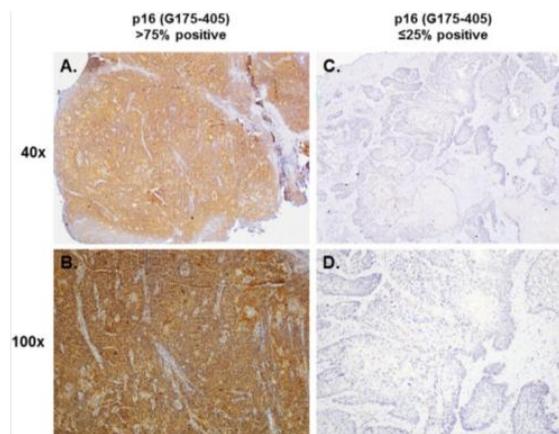
Gambar 9. Metode yang digunakan untuk mendeteksi KSS orofaring-HPV positif (20) A. Pada pulasan H&E menunjukkan KSS non-keratinisasi yang terdiri dari sel kohesif dengan sitoplasma padat. B. Imunoreaktivitas p16 positif menunjukkan pulasan difus pada sitoplasma dan inti sel. C. *In situ hybridization* untuk HPV DNA risiko tinggi menunjukkan sinyal inti sel yang setempat-setempat. D. *In situ hybridization* untuk E6/E7 mRNA dengan sinyal seperti titik dalam jumlah banyak pada sitoplasma.

DNA ISH merupakan suatu teknik yang memungkinkan visualisasi DNA dalam konteks histologi yang memastikan setiap sinyal HPV DNA yang terdeteksi berada di dalam sel tumor. Temuan berupa sinyal inti sel yang setempat-setempat pada populasi sel tumor sangat spesifik menunjukkan integrasi DNA virus ke dalam *host genome*. DNA ISH memiliki spesifisitas yang tinggi tetapi memiliki sensitivitas terbatas terutama pada tumor dengan jumlah salinan virus yang rendah. Dalam perkembangannya teknik ISH dapat digunakan untuk mendeteksi *HPV E6/E7 mRNA transcript* dalam jaringan tumor yang telah difiksasi dengan formalin dan *embedding* dalam parafin. Hal ini merupakan kemajuan pesat dalam pemeriksaan HPV risiko tinggi. RNA ISH ini memiliki spesifisitas tinggi seperti halnya DNA ISH dan memiliki kelebihan yaitu dapat mengidentifikasi HPV risiko tinggi dalam bentuk aktif bertranskripsi. Namun hingga saat ini pemeriksaan RNA ISH dinilai tidak praktis dalam hal teknik pemeriksaan dan belum disetujui untuk penggunaan di klinik.<sup>20</sup>

Imunoreaktivitas difus terhadap p16 merupakan penanda yang dapat diandalkan untuk mendeteksi HPV risiko tinggi pada KSS orofaring. Pemeriksaan ini merupakan pemeriksaan HPV yang paling sederhana dan paling murah. Ekspresi p16 timbul akibat inaktivasi fungsi protein retinoblastoma (pRb) oleh protein HPV E7.<sup>21</sup> KSS orofaring-HPV positif menunjukkan ekspresi berlebihan tumor *suppressor* protein p16 dalam merespon hilangnya kontrol siklus sel. p16 adalah tumor *suppressor* protein yang menghambat *CDK4- dan CDK6-dependent phosphorylation of the retinoblastoma protein* yang dibutuhkan untuk progresi siklus sel. Ikatan HPV E7 dengan protein retinoblastoma menyebabkan terdegradasinya protein tersebut. Pada kondisi ini, sel tumor bebas bereplikasi yang kemudian terakumulasi mengakibatkan ekspresi tinggi yang dengan mudah dideteksi melalui pemeriksaan imunohistokimia rutin. Pemeriksaan ini juga memiliki sensitivitas tinggi untuk mengidentifikasi mRNA HPV risiko tinggi, mendekati 100%. Pasien KSS orofaring p16 positif memiliki prognosis yang lebih baik dibandingkan dengan pasien KSS p16 negatif.<sup>20</sup>

Pemeriksaan ini diinterpretasikan positif bila ditemukan minimal 70% sel tumor terwarnai dengan p16 pada inti sel dan sitoplasmanya (Gambar 10).<sup>20,22</sup> Tumor dengan ekspresi 50-70%, dianjurkan untuk dilakukan pemeriksaan

PCR HPV DNA atau DNA ISH dan apabila hasilnya positif maka kemungkinan pasien menderita KSS HPV positif.<sup>20</sup>



Gambar 10. Pemeriksaan imunohistokimia p16.<sup>23</sup> A dan B. Contoh kasus yang dikategorikan sebagai p16 positif, menunjukkan >75% sel tumor p16 positif dengan inti sel dan sitoplasma mengekspresikan p16. C dan D. Contoh kasus yang dikategorikan sebagai p16 negatif, menunjukkan ≤25% sel tumor p16 positif.

Meskipun memiliki sensitivitas tinggi, pemeriksaan IHK p16 ini memiliki spesifisitas sekitar 85-95% dikarenakan mekanisme molekuler lain pada tumor non HPV dapat pula mengakibatkan ekspresi berlebihan p16. Perlu diingat juga bahwa pemeriksaan p16 ini hanya dapat digunakan sebagai *surrogate* HPV *marker* pada orofaring yang telah terbukti kuat berhubungan dengan HPV yang aktif bertranskripsi serta memiliki prognosis yang baik. Di luar lokasi anatomik ini, spesifisitas p16 ini rendah atau belum diketahui.<sup>20</sup>

Apabila tidak tersedia pemeriksaan p16 atau HPV lainnya, KSS orofaring dapat didiagnosa sebagai KSS dengan status HPV tidak diketahui atau bila tumornya menunjukkan morfologi non-keratinisasi dapat didiagnosis sebagai KSS dengan morfologi sangat sugestif berkaitan dengan HPV.<sup>6</sup> Oleh karena pada orofaring, gambaran fenotip KSS non keratinisasi ini sangat spesifik (98-99%) untuk KSS orofaring-HPV positif.<sup>20</sup>

Oleh karena adanya tendensi metastasis KSS orofaring-HPV positif ke KGB servikal, kadang dilakukan aspirasi jarum halus untuk penilaian awal dan diagnosis metastasis KSS orofaring-HPV positif. Metode standar pemeriksaan HPV risiko tinggi untuk spesimen yang berasal dari pembedahan dapat pula digunakan

untuk spesimen yang berasal dari aspirasi jarum halus yang kemudian dibuat blok sel. Tetapi hasilnya kurang berguna dikarenakan intensitasnya kurang kuat dan sangat sulit menentukan secara tepat persentase tumor yang diwarnai.<sup>20</sup>

Untuk mengatasi masalah tersebut ada bukti-bukti yang menyarankan penggunaan *liquid-base assays* untuk mengatasi permasalahan ini tetapi sampai saat ini belum dilakukan rutin di klinik.<sup>20</sup>

#### II.4 Terapi pada KSS Orofaring

Pilihan terapi untuk KSS orofaring ini sangat bervariasi dan tergantung pada beberapa faktor seperti ukuran tumor primer, penyebaran ke KGB regional atau metastasis jauh dan kemampuan toleransi pasien terhadap pengobatan. Seluruh pendekatan terapi yang ada dinilai efektif, antara lain radiasi primer, kemoradiasi primer dan pembedahan primer dengan atau tanpa kemoradiasi adjuvan. *Intensity-modulated radiation therapy* (IMRT) memberikan prognosis yang lebih baik pada KSS orofaring-HPV positif dibandingkan dengan KSS orofaring-HPV negatif.<sup>15</sup> Sekarang ini sedang dilakukan penelitian untuk mengevaluasi terapi de-eskalasi pada KSS orofaring-HPV positif untuk menurunkan morbiditas jangka panjang akibat pengobatan seperti *xerostomia*, disfagia, hipotiroidisme, gangguan pendengaran.<sup>11</sup>

#### II.5 Prognosis pada KSS Orofaring

KSS orofaring memiliki dua tipe prognosis yang berbeda. KSS orofaring-HPV positif memiliki kesintasan 3 tahun yang lebih baik yaitu 82% bila dibandingkan dengan KSS orofaring-HPV negatif yang memiliki nilai 57%.<sup>6,22</sup> Begitu juga dengan risiko rekurensi dan terbentuknya tumor primer kedua.<sup>6</sup> Hal ini kemungkinan disebabkan karena *tumour-infiltrating lymphocytes* (TILs) memberikan perlindungan melalui respon imun adaptif dalam melawan antigen virus. Paparan faktor risiko lain seperti rokok dan alkohol yang lebih rendah juga menyebabkan lebih rendahnya kemungkinan terbentuknya tumor primer kedua di sekitar lesi utama. Selain itu tidak ditemukannya HPV yang aktif bertranskripsi di mukosa sekitar KSS orofaring juga merupakan salah satu hal yang menyebabkan rendahnya pembentukan tumor primer kedua. Rerata usia penderita yang lebih muda dan lebih sensitif terhadap radioterapi juga menjadi salah satu faktor yang menyebabkan prognosis KSS

orofaring-HPV positif menjadi lebih baik bila dibandingkan dengan KSS orofaring-HPV negatif.<sup>11</sup> Tetapi tetap diperlukan suatu observasi ketat untuk mendeteksi rekurensi dan pemantauan seumur hidup untuk mengidentifikasi jika terdapat kelainan.<sup>22</sup>

#### II.6 Pencegahan pada KSS Orofaring

Tersedianya vaksin HPV profilaksis sebagai pencegahan primer KSS orofaring-HPV positif cukup menjanjikan. Tetapi belum tersedia data yang mengevaluasi efikasi vaksin HPV dalam mencegah infeksi HPV oral. Karena angka kejadian KSS orofaring-HPV positif lebih tinggi pada laki-laki dibandingkan perempuan, *US Center for Disease Control and Prevention* merekomendasikan vaksinasi rutin terhadap laki-laki usia 9-21 tahun.<sup>7</sup>

Berbeda dengan kanker serviks yang proses karsinogenesisnya melalui berbagai tahapan sitologi dan histologi lesi prekursor (*cervical intraepithelial neoplasia* [CIN] I, CIN II, CIN III, karsinoma in situ, karsinoma serviks invasif), lesi prekursor akibat infeksi HPV pada daerah orofaring belum bisa dikenali. Hal ini kemungkinan disebabkan karena sulitnya mendapatkan sampel yang representatif pada kriptus tonsil bagian dalam yang merupakan lokasi anatomi relevan KSS orofaring-HPV positif. Kesulitan mengidentifikasi lesi prekursor pada daerah orofaring, tidak tersedianya modalitas skrining dan tidak adanya data mengenai pengobatan potensial untuk lesi prekursor pada daerah orofaring mengakibatkan sulitnya melaksanakan pencegahan sekunder KSS orofaring-HPV positif saat ini.

#### RINGKASAN

KSS orofaring merupakan bagian dari tumor kepala dan leher yang insidensinya meningkat pada dekade terakhir ini. Kenaikan insidens ini berkaitan dengan infeksi HPV. HPV merupakan virus yang menginfeksi epitel skuamosa. Onkoprotein HPV E6 diketahui mendegradasi p53. Adanya interaksi langsung antara onkoprotein HPV E6, *tumor suppressor protein* Scribble dan jalur transduksi intraseluler Hippo akan menyebabkan degradasi protein Scribble sehingga terjadi gangguan polaritas sel. Gangguan polaritas ini akan mengakibatkan deregulasi jalur Hippo menyebabkan YAP tidak terfosforilasi berpindah lokasi ke dalam inti sel dan menjadi aktif. Aktivasi YAP/TAZ yang tinggi dan terus menerus merangsang proliferasi sel yang

berlebihan. Pada pemeriksaan imunofluoresensi didapatkan akumulasi YAP yang tinggi pada inti sel ganas.

Berdasarkan WHO Tumor Kepala dan Leher tahun 2017, KSS orofaring ini diklasifikasikan menjadi KSS orofaring-HPV positif dan KSS orofaring-HPV negatif, yang memiliki karakteristik molekuler, patologi dan klinis yang berbeda.

Untuk mendeteksi HPV ini, dapat dilakukan pemeriksaan imunohistokimia p16, DNA/RNA ISH dan PCR HPV DNA/RNA. Sampai saat ini seluruh pendekatan terapi yang ada dinilai efektif, antara lain radiasi primer, kemoradiasi primer dan pembedahan primer dengan atau tanpa kemoradiasi adjuvan. Upaya deteksi dini saat ini masih sulit dilakukan karena ada kesulitan dalam pengambilan sampel yang representatif. Tindakan vaksinasi sebagai pencegahan saat ini cukup menjanjikan namun belum ada data yang mengevaluasi efikasi vaksin HPV dalam mencegah infeksi HPV oral.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Puji Syukur saya panjatkan kepada Allah SWT karena atas rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan tinjauan pustaka ini. Selain itu, ucapan terima kasih juga saya tujukan kepada Ibu Endah Zuraidah, SSi, MEpid dan dr. Yayi Dwina Billianti, MBiomed, SpPA yang telah meluangkan waktu di sela-sela kesibukan beliau untuk membantu dan membimbing saya dalam membuat tinjauan pustaka ini. Terima kasih pula kepada teman-teman Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Anatomik yang telah ikut memberikan masukan, dukungan dan semangat selama proses pembuatan tinjauan pustaka ini. Semoga tinjauan pustaka ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, *et al.* Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136:E359-86.
2. Alzahrani F, Clattenburg L, Muruganandan S, Bullock M, MacIsaac K, Wigerius M, *et al.* The Hippo component YAP localizes in the nucleus of human papilloma virus positive oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2017;46:1-8.
3. Chaitanya NCSK, Allam NSJ, Gandhi Babu DB, Waghay S, Badam RK, Lavanya R.

Systematic meta-analysis on association of human papilloma virus and oral cancer. *J Cancer Res Ther*. 2016;12:969-74.

4. Lingen M. Head and neck. In: Kumar V, Abbas AK, Aster JC, editors. *Robbins and Cotran pathologic basis of disease*. 9th ed. Philadelphia: Elsevier; 2015. p. 727-46.
5. Seethala RR. Update from the 4th edition of the World Health Organization classification of head and neck tumours: Preface. *Head Neck Pathol*. 2017;11:1-2.
6. El-Naggar AK, Takata T. Tumours of the oropharynx (base of tongue, tonsils, adenoids). In: El-Naggar A, Chan J, Grandis J, Takata T, Slootweg P, editors. *WHO classification of head and neck tumours*. 4th ed. Lyon: IARC; 2017. p. 133-46.
7. Chaturvedi AK. Epidemiology and clinical aspects of HPV in head and neck cancers. *Head Neck Pathol*. 2012;6:16-24.
8. Yu FX, Zhao B, Guan KL. Hippo pathway in organ size control, tissue homeostasis, and cancer. *Cell*. 2015;163:811-28.
9. Wang Y, Yu A, Yu FX. The Hippo pathway in tissue homeostasis and regeneration. *Protein Cell*. 2017;8:349-59.
10. Zanconato F, Cordenonsi M, Piccolo S. YAP/TAZ at the roots of cancer. *Cancer Cell*. 2016;29:783-803.
11. Alemany L, Gillison ML, Mes R. Human papillomavirus-related oropharyngeal cancer. 2017;18:2386-98.
12. Clattenburg L, Wigerius M, Qi J, Rainey JK, Rourke JL, Muruganandan S, *et al.* NOS1AP functionally associates with YAP to regulate Hippo. 2015;35:2265-77.
13. Slootweg P, Eveson J. Tumours of the oral cavity and oropharynx. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, editors. *Pathology and genetics of head and neck tumours*. 3rd ed. Lyon: IARC;2005.p.163-75.
14. Oropharyngeal Cancer Treatment (PDQ®)-Patient Version [internet] 2017. [cited 2017 Sept 28] Available from: <https://www.cancer.gov/types/head-and-neck/patient/oropharyngeal-treatment-pdq>
15. Lewis JS. Malignant neoplasms of the oral cavity and oropharynx. In: Goldblum JR, editor. *Head and neck pathology*. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: Elsevier; 2012. p. 218-25.
16. Biron VL, Kostyuk M, Isaac A, Puttagunta L, O'Connell DA, Harris J, *et al.* Detection of human papillomavirus type 16 in oropharyngeal squamous cell carcinoma

- using droplet digital polymerase chain reaction. *Cancer*. 2016;122:1544-51.
17. Westra WH. The morphologic profile of HPV-related head and neck squamous carcinoma: Implications for diagnosis, prognosis and clinical management. *Head and Neck Pathol*. 2012;6:48-54.
  18. Westra WH. The pathology of HPV-related head and neck cancer : Implications for the diagnostic pathologist. *Semin Diagn Pathol*. 2015;32:42-53.
  19. El-mofty SK, Patil S, Louis S. Human papillomavirus (HPV)-related oropharyngeal nonkeratinizing squamous cell carcinoma : Characterization of a distinct phenotype. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101:339-45.
  20. Bishop JA, Lewis JS, Rocco JW, Faquin WC. HPV-related squamous cell carcinoma of the head and neck: An update on testing in routine pathology practice. *Semin Diagn Pathol*. 2015:1-8.
  21. Stephen JK, Divine G, Chen KM, Chitale D, Havard S, Worsham MJ. Significance of p16 in site-specific HPV positive and HPV negative head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Clin Oncol*.2013;2:51-61.
  22. Mehanna H, Evans M, Beasley M, Chatterjee S, Dilkes M, Homer J, *et al*. Oropharyngeal cancer: United Kingdom national multidisciplinary guidelines. *J Laryngol Otol*. 2016;130:S90-6.
  23. Barasch S, Mohindra P, Henrick K. Assessing p16 status of oropharyngeal squamous cell carcinoma by combined assessment of the number of cell stained and the confluence of p16 staining: a validation by clinical outcomes. *Am J Surg Pathol*. 2017;40:1261-9.