

Korelasi Ekspresi Protein Survivin dengan Derajat Histopatologi pada Neoplasma Skuamosa Serviks

Faradilla Anwar, Rina Masadah, Johanna M. Kandouw, Ni Ketut Sungowati

*Bagian Patologi Anatomik, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin
Makassar*

ABSTRAK

Latar belakang

Survivin adalah suatu protein anti-apoptosis yang unik karena hanya diekspresikan oleh sel matur yang bermutasi tapi tidak pada sel immatur normal. Kemampuan untuk menghambat apoptosis akan meningkatkan survival dan proliferasi sel-sel mutant yang pada akhirnya menyebabkan proses keganasan. Penelitian ini ingin mendapatkan korelasi antara ekspresi survivin dengan derajat histopatologi neoplasma skuamosa serviks dan diharapkan dapat digunakan sebagai faktor prediksi keganasan pada serviks.

Bahan dan Metode

Dilakukan pemeriksaan ekspresi survivin dengan teknik immunohistokimia pada 90 jaringan neoplasma skuamosa serviks yang terbagi menjadi Low Squamous Intra-epithelial Lesion (LSIL), High Squamous Intra-epithelial Lesion (HSIL) & Squamous Cell Carcinoma (SCC).

Hasil

Perbedaan derajat ekspresi immunohistokimia survivin pada kelompok lesi intraepitelial serviks (LSIL dan HSIL) dengan SCC, bermakna ($p < 0,05$) dan sesuai pula dengan peningkatan derajat histopatologinya. Semakin tinggi derajat keganasan ekspresi immunohistokimia survivin juga makin tinggi.

Kesimpulan

Ekspresi Survivin lebih tinggi dan bermakna pada karsinoma skuamosa dibandingkan dengan pada lesi intra-epitel serviks. Survivin kemungkinan terlibat pada perkembangan lesi-intra epitel menjadi karsinoma serviks, sehingga survivin dapat digunakan sebagai faktor prediksi keganasan neoplasma skuamosa serviks dan sebagai target molekular untuk terapi.

Kata kunci : Survivin, antiapoptosis, neoplasma skuamosa serviks, lesi intra-epitel serviks, prediksi keganasan.

ABSTRACT

Background

Survivin is an unique anti-apoptotic protein that is only expressed in mutated mature cell, but not in normal immature cell. The capability to prevent apoptosis enhances survival and proliferation of mutated cells that ultimately give rise to malignancy. This experiman was to know the corelation between survivin expression and the degree of servical squamous neoplasm and hoped can be used as predilaction factor for servical malignancy.

Material and method

We investigated immunohistochemical expression of Survivin in a series of 90 cervical squamous neoplasm specimens, that include Low Squamous Intra-epithelial Lesion (LSIL), High Squamous Intra-epithelial Lesion (HSIL) & Squamous Cell Carcinoma (SCC).

Result

There were significant associations between immunohistochemical expression of survivin with the grade of cervix intraepithelial lesion (LSIL & HSIL) and SCC ($p < 0.05$), and also consistent with upregulation of histopathological grading, of servical squamous cell neoplasm.

Conclusion

Higher expression of Survivin was more strongly detected in squamous carcinoma compared with intra-epithelial lesions of cervix. Survivin maybe involved in the development of squamous cell carcinoma from intra-epithelial lesions of cervix. Survivin could be used as predictive factor for degree of malignancy of cervical squamous cell neoplasm and as molecular target therapy.

Key word : Survivin, anti-apoptotic, cervical squamous neoplasm, intra-epithelial lesion of cervix, malignancy predictor.

PENDAHULUAN

Neoplasma skuamosa serviks adalah salah satu penyebab kematian wanita yang apabila didekteksi pada tahap awal lebih mudah diterapi. Insidens kanker serviks adalah sekitar 12% dari seluruh penyakit keganasan pada wanita dan menempati urutan kedua terbanyak pada keganasan ginekologi di dunia. Di Asia Tenggara, penyakit ini menempati urutan kelima terbanyak (7,5%), sedangkan di Indonesia merupakan keganasan nomor satu pada wanita.^{1,2,3} Kanker serviks terutama mengenai wanita berusia 35 tahun keatas, dan jenis histopatologik skuamosa adalah yang terbanyak, yaitu meliputi 75-80% kasus².

Survivin adalah suatu *Inhibitory Apoptosis Protein* (IAP) yang apabila terekspresi pada sel yang bermutasi, akan menghambat proses apoptosis sehingga sel tersebut dapat tetap hidup dan bereplikasi sehingga terbentuklah suatu neoplasma⁴. Survivin di ekspresikan pada banyak jenis keganasan tetapi jarang terdeteksi pada jaringan matur normal. Berat molekul protein ini adalah 14,7 kb dan letaknya pada kromosom 17q25.^{5,6} Selain menghambat apoptosis, survivin juga mempercepat proliferasi sel dan menginduksi angiogenesis.^{7,8,9,10} Survivin memberikan efeknya dengan mengikatkan diri pada caspases (*cystein-containing aspartate-specific protease*) terutama caspase 3 dan caspase 7, akibatnya proses apoptosis berhenti sehingga tidak terjadi kematian sel. Sel yang bertransformasi akan terus tumbuh. Sel yang kurang atau tidak mengalami apoptosis, ekspresi survivinnya tinggi dan cenderung resisten terhadap terapi kanker,^{4,11,12} sehingga menjadi pertanyaan apakah survivin berhubungan dengan sifat neoplasma skuamosa serviks.

Karena skrining yang belum rutin dan optimal bagi masyarakat, dan metode Pap smear yang menghasilkan kasus lesi prakanker negatif-palsu yang tinggi, maka penanda imunohistokimia survivin diharapkan dapat meningkatkan ketepatan diagnosa dan membantu pilihan terapi.

METODE PENELITIAN

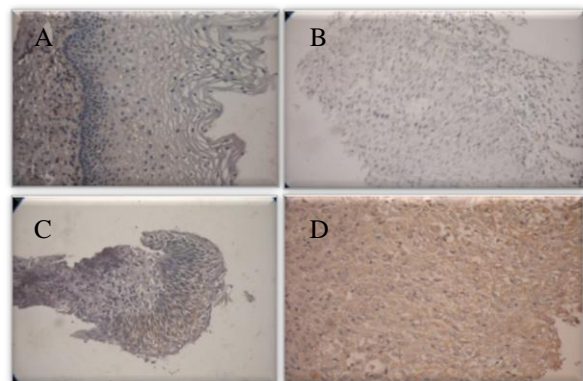
Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan RS. Wahidin Sudirohusodo, Makassar sejak Januari hingga Juli 2011. Penelitian ini menggunakan blok paraffin pasien yang telah didiagnosis sebagai *Squamous intra-*

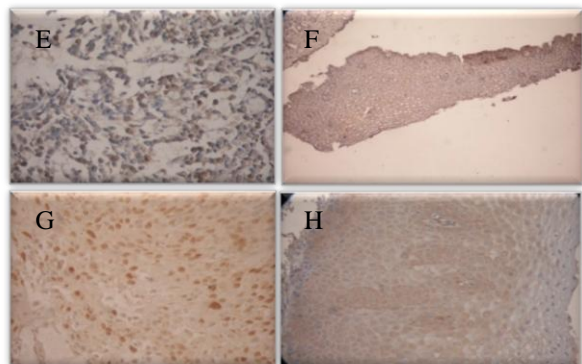
epithelial lesion (LSIL dan HSIL) dan SCC dari Bagian Patologi Anatomik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo. Sampel berjumlah 90 berasal dari jaringan biopsi maupun histerektomi total, dengan rincian 60 sampel dengan diagnosa SIL dan 30 sampel SCC, antara tahun 2009-2011. Analisis Immunohistokimia protein survivin menggunakan *Rabbit anti human Survivin antibody* (Biocare, Concord, CA, USA) dengan pengenceran 1:100. LSABTM2 kits universal (Dako, Carpinteria, CA, USA) termasuk di dalamnya antibodi sekunder *biotinylated secondary antibody for mouse primary antibodies* dan Diamino-benzidine (DAB) digunakan sebagai kromogen.

Ekspresi survivin dinilai dengan melihat akumulasi protein survivin pada permukaan sel yang dideteksi dengan metode imunohistokimia. Ekspresi survivin positif apabila terdapat granula coklat pada sitoplasma sel yang terlihat dengan mikroskop cahaya. Grade ekspresi survivin dihitung berdasarkan parameter intensitas warna sebagai berikut: grade 0 bila tidak terwarnai, grade I = terwarnai lemah, grade II = terwarnai sedang dan grade III terwarnai kuat. Proporsi sel yang positif 1= <20%, positif 2= 20-40%, 3= 40-60%, 4= 60-80%, 5= 80-100%. Analisa statistik menggunakan SPSS versi 15.0. Tes perbandingan derajat histopatologi dengan derajat imunohistokimia menggunakan tes Median, dengan kemaknaan, bila $p \leq 0,05$.

HASIL

Slide yang berasal dari neoplasma skuamosa serviks, ekspresi survivin secara imunohistokimia dinilai, hasilnya dapat dilihat pada gambar dibawah ini.





Gambar 1. Ekspresi survivin pada neoplasma skuamosa serviks

- A : Intensitas grade 1 dan prosentase proporsi 1
- B : Intensitas grade 1 dan prosentase proporsi 2
- C : Intensitas grade 2 dan prosentase proporsi 5
- D : Intensitas grade 3 dan prosentase proporsi 3
- E : Intensitas grade 3 dan prosentase proporsi 4
- F : Intensitas grade 3 dan prosentase proporsi 4
- G : Intensitas grade 3 dan prosentase proporsi 5
- H : Intensitas grade 3 dan prosentase proporsi 5

Pada gambar 1 juga terlihat bahwa intensitas warna survivin sejalan dengan derajat keganasan (A= CIN/LSIL dan G= SCC). Proporsi sel yang terwarnai tidak sejalan dengan derajat keganasan (C=CIN II dan D=SCC)

Tabel 1. Karakteristik sampel penelitian

KARAKTERISTIK	N	%
Umur (Tahun)		
< 35	10	11.1
35- 60	70	77.7
> 60	10	11.1
TOTAL	90	100%
Neoplasma squamosa serviks		
CIN I/LSIL	20	22.2
CIN II/HSIL	20	22.2
CIN III/HSIL	20	22.2
SCC	30	33.3
TOTAL	90	100%

Pada tabel 1 terlihat 10 kasus (11.1%) berusia kurang dari 35 tahun; 70 kasus (77.7%) berusia antara 35 hingga 60 tahun; dan 10 kasus (11.1%) berusia di atas 60 tahun. Tabel 1 juga menunjukkan prosentase berbagai derajat keganasan, 20 kasus (22.2%) termasuk jenis CIN I/LSIL; 20 kasus (22.2%) termasuk jenis CIN II/HSIL; 20 kasus (22.2%) termasuk dalam jenis CIN III/HSIL; dan 30 kasus (33.3%) tergolong ke dalam jenis SCC.

Pada tabel 2 terlihat ekspresi survivin berdasarkan intensitas warna dan prosentase

sel yang terwarnai skor 0 atau tidak terwarnai 29 kasus (48%) pada SIL, sedangkan SCC hanya 10 kasus (33,3%), skor 3 pada SIL 4 kasus (7%), dan SCC 12 kasus (40%). Persentase sel proporsi positif (0-20%) pada SIL 5 kasus (8,3%) dan SCC 2 kasus (6,6%), prosentase proporsi 4 (80-100%), pada SIL 2 kasus (3,3%) dan SCC 1 kasus (3,3%).

Tabel 2. Ekspresi survivin dikaitkan dengan intensitas dan prosentase sel positif

Karakteristik Ekspresi Survivin	N	
	SIL (%)	SCC (%)
A. Intensitas		
0	29 (48%)	10 (33.3%)
1	12 (20%)	2 (6.6%)
2	15 (20%)	6 (20%)
3	4 (7%)	12 (40%)
B. Persentase sel positif		
0	29 (48.3%)	10 (33.3%)
Proporsi 1	5 (8.3%)	2 (6.6%)
Proporsi 2	16 (26.5%)	3 (10%)
Proporsi 3	6 (10%)	10 (33.3%)
Proporsi 4	2 (3.3%)	4 (13.3%)
Proporsi 5	2 (3.3%)	1 (3.3%)

Tabel 3. Hubungan derajat histopatologik neoplasma skuamosa serviks dengan intensitas warna dan prosentase sel yang terwarnai.

Hubungan derajat histopatologi dengan intensitas warna survivin	Hubungan derajat histopatologi dengan prosentase sel positif survivin
Mean : 1,1556	Mean :1,4778
Median : 1	Median :1
SD : 1,16995	SD: 1,50824
Rentangan : 0-3	Rentangan: 0-5
P=0,007	P=0,135

DISKUSI

Pada penelitian kali ini dilakukan analisa derajat positivitas Survivin sebagai suatu protein yang terekspresi dalam karsinogenesis terutama dalam proses menghindari apoptosis terhadap grade histopatologi dan umur penderita neoplasma skuamosa serviks.

Penelitian ini menunjukkan adanya hubungan antara derajat histopatologi neoplasma skuamosa serviks dengan intensitas warna Survivin (p= 0,007) kemungkinan karena terjadi penghentian proses apoptosis yang ditandai dengan terekspresinya protein Survivin sesuai dengan semakin tinggi derajat histopatologinya.

Pada sediaan Karsinoma Skuamosa Serviks intensitas warnanya lebih tinggi daripada lesi intraepitel skuamous. Prosentase ekspresi Survivin tidak bermakna (p= 0,135)

dibandingkan dengan derajat histopatologi. Hal ini mungkin disebabkan oleh berbagai faktor, antara lain karena sediaan sebagian besar diambil dari biopsi sehingga tidak seluruh jaringan terwakili. Kemungkinan apabila sediaan cukup besar, ada tumpang tindih diagnosa derajat histopatologinya. Di satu lokasi kemungkinan derajat histopatologi lebih tinggi atau bahkan lebih rendah daripada tempat lain. Hal ini sesuai dengan penelitian yang di laporkan oleh Sui L dkk pada *epithelial ovarian tumor*, bahwa ekspresi survivin meningkat dari tumor benigna (21,2%), tumor *borderline* (47,8%) ke karsinoma ovari (51,1%)(15).

DAFTAR PUSTAKA

1. Frost M, Jarboe EA, Orlicky D, Gianani R, Thompson LC, Enomoto T, Shroyer KR. Immunohistochemical localization of survivin in benign cervical mucosa, cervical dysplasia and invasive squamous cell carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 2002;117:738-44.
2. Miller A. Cervical cancer : from etiology to prevention. In: TE R, KV S, editors. *The natural history of cervical cancer.* Netherlands: Kluwer; 2004. p. 61-77.
3. Rosai J. Female reproductive system-Uterus: cervix. *Rosai and Ackerman's: Surgical pathology 10th ed:* Elsevier; 2011. p. 1436-76.
4. Tan G, Norlatiffah S, Sharifah N, Razmin G, Shiran M, Hatta A, et al. Immunohistochemical study of P16 INK4A & survivin expressions in cervical squamous neoplasma. *Indian Journal of Pathology & Microbiology.* 2010;53.
5. Zaffaroni N, Pennati M, Daidone M. Survivin as a target for new anti cancer interventions. *Journal of Cellular Molecular Medicine.* 2005;9:360-72.
6. Li F. Survivin Study : What is the next wave? *Journal of Cellular Physiology.*2003;197:8-29.
7. Altieri D. Survivin, Cancer networks and pathway-directed drug discovery. *Nature reviews.* 2008;8:61-70.
8. Margulis V, Lotan Y, Shariat S. Survivin : a promising biomarker for detection and prognosis of bladder cancer. *World Journal of Urology.*2008;26:59-65.
9. Altieri D. Survivin, versatile modulation of cell division and apoptosis in cancer. *Oncogene.* 2003;22:8581-9.
10. Andersen M, Suare I, Becker J, Straten P. The universal character of the tumor associated antigen survivin. *Clin Cancer Res.* 2007;20:5991-4.
11. Capalbo G, Rodel C, Stauber R, Knauer S, Bache M, Kappler M, et al. The role of survivin for radiation therapy: prognostic and predictive factor and therapeutic target. *Strahlentherapeutic und Onkologie.* 2007;183: 539-9.
12. Borkley AA, Murvai M, Konya J, Beck Z, Gergely L, Li F, et al. Effect of human papillomavirus type oncoproteins on survivin gene expression. *Journal of General Virology.* 2005;87:287-94.
13. FK-UH BPA. Rekap kanker periode Januari-Desember 2009. In press 2010.
14. Goljan E. Female reproductive disorder and breast disorder. *Rapid review pathology.* 3rd ed: Mosby Elsevier; 2009. p. 436-75.
15. Yamamoto H, Ngan C, Monden M. Cancer cells survive with survivin. *Journal [serial on the Internet].* 2008 Date.
16. Stauber R, Mann W, Khauer S. Nuclear and cytoplasmic survivin : molecular mechanism, prognostic & therapeutic potential. 2007;67: 5999-6003.