

## The Risk Factors of Human Papilloma Virus 18 on the Recurrences of Pterygium

Josefien SM Saerang

Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine Sam Ratulangi University/Prof. Dr. R.D. Kandou General Hospital, Manado

### ABSTRACT

*This study which was done in nested case control study in prospective cohort design is aimed to analyze the risk factors of Human Papilloma Virus in the recurrence of pterygium. The samples were pterygium patients came at BLU RSUP Prof. R. D. Kandou Manado, Airmadidi Hospital, and Belang district primary health care provider who seek for medical help. The study was started on January 2010 until December 2010 with total samples were 99 patients and 104 eyes. 104 eyes was operated using Conjunctival Limbal Autograft (CLAG) technique with fibrin glue. PCR assessment of 104 eyes was 88 eyes positive with Human Papilloma Virus type 18 (HPV-18). 52 patients (56 eyes) came to follow up; of which 48 eyes were recurrence with 47 eyes positive with HPV-18. HPV 18 has a strong role in the recurrence of pterygium ( $p < 0.05$ ).*

**Key words:** pterygium, recurrence, HPV 18

Correspondence: Josefien Saerang, Department of Ophthalmology, Prof. R. D. Kandou General Hospital/Sam Ratulangi University, Manado, North Sulawesi. Telp/Fax. 62-431-821669. Email: josefien\_saerang@yahoo.com

### PENDAHULUAN

Pterygium adalah suatu *fleshy*, bentuk segi tiga atau sayap pada permukaan basement membrane dari pertumbuhan melalui epitel limbus masuk ke kornea diikuti oleh degenerasi dan hiperplasia dari epitel konjungtiva, proliferasi, gambaran inflamasi dan kaya pembuluh darah.<sup>1,2</sup>

Etiologi pterygium bersifat multifaktorial seperti paparan sinar matahari, debu, udara kering.<sup>3</sup> Faktor risiko untuk terjadinya pterygium adalah komponen genetik, mekanisme anti apoptotic, sitokin, *growth factor*, faktor angiogenik, ekstraseluler *matrix remodelling*, mekanisme imunologik, dan infeksi virus semua terlibat sebagai patogenesis.<sup>4,5</sup>

Studi epidemiologik menunjukkan paparan kronis sinar matahari, kemungkinan besar *Ultraviolet B* (UVB) iradiasi, sebagai faktor penting pada pertumbuhan pterygium. *Tumour suppressor gene p53* sebagai suatu mutasi gen yang tersering dari tumor manusia dan dijumpai lebih dari 50% kanker manusia.<sup>6</sup> Diperkirakan bahwa peningkatan 1% dari radiasi UV akan meningkatkan insiden dari pterygium 2,5–14% pada populasi Australia.

Distribusi pterygium tersebar di seluruh dunia, tapi lebih banyak di daerah iklim panas dan kering. “Sabuk pterygium” yaitu daerah lintang 37° utara dan selatan equator. Di Indonesia, hasil survei Departemen Kesehatan RI tahun 1982, pterygium menempati urutan ketiga terbesar (8,79%) dari penyakit mata. Bustani dan Mangindaan melaporkan 21,35% pterygium di 2 desa di Kabupaten Minahasa Utara, dengan hasil 12,92% pada pria dan 8,43% pada wanita, 9,55% berusia di atas 50 tahun, dengan pekerjaan petani sebesar 10,11% terbanyak adalah pterygium stadium 3 yaitu 42,11% yang tumbuh di bagian nasal sebesar 55,26%.<sup>7</sup>

Tumbuh ulang pterygium adalah gangguan atau perubahan pada permukaan okuler yang biasanya terjadi mengikuti operasi pterygium. Tumbuh ulang ditandai dengan adanya jaringan granularisasi dan neovaskularisasi pada daerah bekas bedah serta dijumpai jaringan yang menyerupai konjungtiva yang bertumbuh ke arah kornea. Tanda ini merupakan tanda khas yang menunjukkan adanya suatu tumbuh ulang pterygium, dan dapat terjadi setelah 2 minggu sampai 4 bulan pascabedah dengan gambaran patologi fibroblas dan fibrovaskular yang meningkat.<sup>8</sup>

Di Indonesia angka tumbuh ulang pascabedah pterygium bervariasi dan cukup besar. Angka tumbuh ulang pada kelompok yang mendapatkan plasebo setelah pengamatan selama 6 bulan sebesar 65,71%. Oka dan Liman mengemukakan bahwa di RS Dr. Soetomo Surabaya angka tumbuh ulang berkisar sekitar 52%, di RSCM Jakarta sekitar 61,1% untuk kelompok umur di bawah 40 tahun. Sedangkan untuk kelompok umur di atas 40 tahun berkisar 12,5%.

*Human Papilloma Virus* (HPV) terlibat dalam etiologi neoplasma jinak dan ganas dari kulit dan epitel mukosa, terdapat lebih dari 130 tipe HPV yang teridentifikasi. Di antara jumlah tersebut, terdapat lebih dari 40 tipe terlibat dalam kanker anogenital dan neoplasma epitel konjungtiva. *Human Papilloma Virus* khususnya tipe 16 dan 18 telah ditemukan pada pterygium dan tumor limbus, yang mengganggu jalur p53.<sup>9</sup>

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui peranan HPV 18 dalam kejadian dan tumbuh ulang pterygium.

## METODE

Penelitian ini merupakan *nested case control study* dengan rancangan *cohort* dan dilakukan di RSU Prof. Dr. RD Kandou, RS Airmadidi, Puskesmas Belang, Manado dan Laboratorium Biologi Molekular Fakultas Kedokteran Universitas Hassanuddin, Makassar. dan Laboratorium Biomolekuler dan Imunologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado. Waktu penelitian selama 12 bulan, dari tanggal 1 Mei 2010 sampai 31 Desember 2010.

Sampel adalah penderita pterygium yang memenuhi kriteria inklusi. Sampel diambil secara *purposif sampling* dari populasi. Kriteria inklusi adalah penderita pterygium yang kooperatif dan bersedia ikut dalam penelitian dan menandatangani *informed consent*. Sedangkan kriteria eksklusi adalah pseudopterygium, penyakit infeksi mata dan merupakan mata satu-satunya untuk melihat.

Besar sampel dihitung berdasarkan rumus penelitian korelasional sebagai berikut.

Dalam penelitian ini digunakan  $\alpha = 0,05$ ,  $\text{power} = 80\%$  dan dengan  $r = 0,35$  maka didapatkan besar sampel adalah minimal 50 sampel.

Sampel pterygium yang dioperasi ditempatkan dalam media transport dan disimpan dalam *ice box* dalam transport ke laboratorium dan sampel air mata yang dikumpulkan dari penderita tumbuh ulang pterygium yang ikut dalam penelitian disimpan dalam *ice box* dalam transport ke laboratorium. Spesimen kemudian dibawa ke laboratorium untuk disimpan dalam *freezer*  $-20^\circ \text{C}$ . Tumbuh ulang pterygium adalah suatu tumbuh kembali dari jaringan pterygium sesudah eksisi, yang melewati limbus lebih sama dengan 1 milimeter sesudah 6 bulan operasi.

Semua analisis data akan dilakukan dengan bantuan komputer menggunakan program komputer (SPSS). Adapun analisis data yang digunakan adalah analisis

deskriptif (tabel, grafik, rata-rata, standar deviasi, 95% interval kepercayaan) dan analisis alur (*path analysis*).

## HASIL

Pada penelitian ini didapatkan 99 pasien yang dioperasi dengan 104 mata pterygium untuk dianalisis. Dari 104 yang dioperasi dengan teknik *conjunctival limbal autograft* (CLAG) dan diambil terdiri dari 35 laki-laki dan 69 wanita (Gambar 1). Dari seluruh sampel 88 positif HPV 18 (Tabel 1).



**Gambar 1.** Distribusi jenis kelamin pasien dioperasi pterygium dengan teknik CLAG.

Dari distribusi jenis kelamin pasien yang dioperasi pterygium dengan teknik CLAG ini diperoleh 69 mata dari penderita perempuan (66%) dan 35 mata dari penderita laki-laki (34%).

**Tabel 1.** Jumlah yang terinfeksi HPV 18 dari total sampel

	Positif	Negatif	Total
HPV 18	88	16	104

Dari 104 sampel yang dioperasi hanya 56 sampel yang kembali kontrol didapatkan 14 (25%) laki-laki dan 42 (75%) wanita (Gambar 2).



**Gambar 2.** Distribusi jenis kelamin pasien dioperasi pterygium yang datang kontrol.

Dari distribusi jenis kelamin pasien dioperasi pterygium yang tumbuh ulang diperoleh 38 sampel perempuan (79%) dan 10 sampel laki-laki (21%) (Gambar 3).

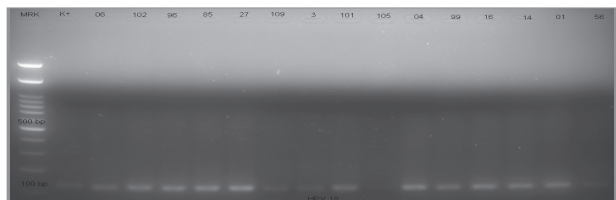


**Gambar 3.** Distribusi jenis kelamin pasien dioperasi pterygium yang tumbuh ulang.

Didapatkan 49 sampel dengan HPV 18 positif dari 56 pasien yang datang kontrol (Tabel 2, Gambar 4).

**Tabel 2.** Distribusi HPV 18 dari sampel yang datang kembali kontrol.

	Positif	Negatif	Total
HPV 18	49	7	56



**Gambar 4.** Elektroforesis hasil HPV 18: Positif (sumur 06, 102, 96, 85, 27,109, 3, 101, 04, 99,16,14, 01, 56), dan Negatif (sumur 105).

Didapatkan 14 sampel laki-laki di mana 10 di antaranya tumbuh ulang, dan 42 sampel perempuan di mana 38 di antaranya tumbuh ulang dari 56 sampel yang datang kontrol (Tabel 3). Perbedaan ini tidak bermakna secara statistik diuji dengan *Fisher's exact* ( $p = 0,097$ ).

**Tabel 3.** Hubungan jenis kelamin dengan tumbuh ulang

(L/P)	L	Jumlah	Tumbuh ulang		Total
			Tumbuh Ulang	Tidak	
	L	Jumlah	10	4	14
		%	71,4%	28,6%	100,0%
	P	Jumlah	38	4	42
		%	90,5%	9,5%	100,0%
Total		Jumlah	48	8	56
		%	85,7%	14,3%	100,0%

Dari 56 sampel didapatkan 49 positif HPV 18 dan dari jumlah ini 47 adalah tumbuh ulang. Dari 7 sampel yang negatif HPV 18 hanya didapatkan 1 yang tumbuh ulang (Tabel 5). Secara statistik dengan uji Fisher's exact didapatkan kemaknaan yang sangat berarti pada hubungan ini ( $p = 0.000$ ). *Odd's ratio* dari hubungan ini adalah 141.00.

**Tabel 4.** Hubungan HPV 18 dengan tumbuh ulang

HPV	Negatif	Jumlah	Tumbuh ulang		Total
			Tumbuh ulang	Tidak	
18	Negatif	Jumlah	1	6	7
		%	14,3%	85,7%	100,0%
	Positif	Jumlah	47	2	49
		%	95,9%	4,1%	100,0%
Total		Jumlah	48	8	56
		%	85,7%	14,3%	100,0%

**DISKUSI**

Pterygium adalah satu dari beberapa kondisi mayor yang mengancam penglihatan di negara berkembang. Kondisi ini menciptakan beberapa masalah, termasuk mata kering (*dry eye*), astigmatisme iregular, dan masalah kosmetik yang sulit diterima. Walaupun beberapa perubahan degeneratif dapat diamati, pterygium adalah dipertimbangkan sebagai penyakit proliferasi. Banyak hasil penelitian mendukung klasifikasi proliferasi ini. Berbagai macam *growth factor* dan sitokin diekspresikan pada pterygia. Ekspresi yang mirip juga didapatkan pada beberapa infeksi viral, termasuk yang disebabkan oleh human papilloma virus (HPV) dan herpes simplex virus.<sup>10</sup>

Neovaskularisasi merupakan sebuah reaksi terhadap kekurangan oksigen dan iskemia. Reaksi ini dipicu oleh beberapa faktor angiogenik dan inhibisi. Sebagai contoh, ekspresi dari *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dapat dipicu dengan kekurangan oksigen. Pada jaringan tidak bervaskularisasi seperti epitel stratifikasi, neovaskularisasi tersupresi. Epitel konjungtiva normal juga tidak ada neovaskularisasi.<sup>11</sup> Tumbuh ulang pterygium selain dipengaruhi faktor operator juga dipengaruhi oleh teknik operasi yang. Teknik operasi dengan menggunakan teknik *bare sclera* memberikan angka tumbuh ulang yang cukup tinggi yaitu 24%–89%. Terapi adjungtif ditujukan untuk menekan pertumbuhan kembali dari jaringan subkonjungtival seperti penggunaan  $\beta$ -irradiation, thiotepa, dan mitomycin C postoperasi, telah sukses menurunkan angka tumbuh ulang sekitar 0%–12%.<sup>12,13</sup>

Penggunaan *conjunctival autograft* untuk menangani masalah pterygium memberikan angka tumbuh ulang yang rendah yaitu 5,3%.<sup>12,13</sup> Berbagai laporan studi menunjukkan penggunaan *conjunctival limbal autograft* (CLAG) menunjukkan teknik tersebut mempunyai angka tumbuh ulang yang paling rendah. Penggunaan teknik CLAG pada operasi pterygium memperpendek waktu injury. Hal ini dikarenakan pada teknik ini area sklera yang terbuka ditutup oleh konjungtiva, sedangkan pembuluh darah yang memperdarahi graft ini akan tumbuh dari suatu feeder vessel tunggal yang berasal dari sirkulasi konjungtiva anterior yang merupakan cabang radial dari pembuluh darah dari pterygium. Reperfusi dari pembuluh darah ini dapat didemonstrasikan dalam waktu sekitar satu minggu yang mana sebelumnya graft ini hidup dari perfusi *episcleral bed*.<sup>14</sup> Dengan demikian teknik ini cukup aman dalam artian cepat menimbulkan reperfusi jaringan.

Dilakukan operasi dengan teknik CLAG untuk mengatasi penyebab terjadinya pterygium yang dianut sekarang yaitu oleh karena defisiensi stem cell limbal. Penggunaan *fibrin glue* saat ini pada *conjunctival graft* telah dikenal luas dan efektif.<sup>15</sup> Dengan menggunakan *fibrin glue* waktu untuk melakukan operasi dapat menjadi lebih pendek, mengurangi rasa tidak nyaman setelah operasi, penutupan luka yang cepat namun masih mempertahankan keuntungan dari teknik *conjunctival limbal autograft* (CLAG) pada operasi pterygium.<sup>16</sup>

Sudah dilakukan pemeriksaan dan operasi pterygium pada 99 penderita dengan 104 mata terdiri dari 35 laki-laki dan 69 perempuan dengan teknik *Conjunctival Limbal Autograft* (CLAG). Dari 99 penderita ini yang kembali kontrol hanya 53 penderita dengan 56 mata terdiri dari 14 (25%) laki-laki dan 42 (75%) perempuan sesuai dengan banyaknya penderita yang dioperasi yaitu perempuan lebih banyak daripada laki-laki. Didapatkan 14 sampel laki-laki di mana 10 di antaranya rekuren, dan 42 sampel perempuan di mana 38 diantaranya rekuren dari 56 sampel yang datang kontrol. Hal ini mungkin disebabkan penderita perempuan selain merasa terganggu dari segi penglihatan juga dari segi kosmetik. Dari data yang dilaporkan bahwa laki-laki memiliki risiko menderita pterygium yang lebih tinggi dibandingkan perempuan tetapi melalui penelitian di Indonesia, Barbados diperoleh data bahwa perempuan memiliki risiko yang sama tinggi dengan laki-laki.<sup>8</sup>

Dari 56 sampel didapatkan 49 positif HPV 18 dan dari jumlah ini 47 adalah rekuren. Dari 7 sampel yang negatif HPV 18 hanya didapatkan 1 yang tumbuh ulang. Secara statistik dengan uji Fisher's exact didapatkan kemaknaan yang sangat berarti pada hubungan ini ( $p = 0,000$ ). Odd's ratio dari hubungan ini adalah 141.00.

Dari penelitian yang kami lakukan didapatkan adanya faktor tumbuh ulang yang terkait kuat dengan HPV 18. Mungkin proses tumbuh ulang itu sendiri lebih terkait pada mekanisme replikasi dan ekspresi dari virus dalam siklus sel yang pada gilirannya karena dibutuhkan peningkatan *supply* dari pembuluh darah dari pertumbuhan yang abnormal dari sel-sel yang terinfeksi oleh HPV ini untuk berkembang dan tetap hidup maka dilepaskanlah VEGF agar pembuluh darah tumbuh ke dalam pterygium tersebut. Hal ini konsisten dengan gambaran pterygium tumbuh ulang yang kaya akan neovaskularisasi dibandingkan dengan jaringan konjungtiva normal di sekitarnya.

## KESIMPULAN

Jenis kelamin tidak terasosiasi dengan tumbuh ulang pterygium, Hubungan HPV 18 didapatkan kemaknaan yang sangat berarti dengan tumbuh ulang pterygium.

## DAFTAR PUSTAKA

- Rodrigues FW, Arruda JT, Silva RE et al. TP53 gene expression, codon 72 polymorphism and human papillomavirus DNA associated with pterygium. *Genetics and molecular research* 2008; 7(4): 1251–1258.
- Perra MT, Maxia C, Cobu A, et al. Oxidative stress in pterygium: relationship between p53 and 8-hydroxydeoxyguanosine. *Molecular vision* 12: 1136-42. 2006.
- Saw SM, Banerjee K, Tan DTH. Risk factors for the development of pterygium in singapore: a hospital based case control study. *Acta Ophthalmol Scand* 2000; 78: 216–220.
- Girolamo ND, Chui J, Coroneo MT, et al. Pathogenesis of pterygia: role of cytokines, growth factors, and matrix metalloproteinases. *Progress in retinal and eye research*. 2004. 23: 195–228.
- Detorakis ET, Spandidos DA. Pathogenetic mechanism and treatment options for ophthalmic pterygium: Trends and perspectives (Review). *International journal of molecular medicine*. 2009. 23: 439–447.
- Tsai YY, Cheng YW, Lee H, et al. P53 gene mutation spectrum and the relationship between gene mutation and protein levels in pterygium. *Molecular vision* 11: 50–5. 2005.
- Bustani NM, Mangindaan IAN. Insiden pterygium di desa baho di serei di pesisir minahasa utara. 2005.
- Gazzard G. Pterygium in indonesia: prevalence, severity dan risk factors. *Br J ophthalmol* 2002; 86(12): 1341–46.
- Gallagher MJ, Giannoudis A, Herrington CS, Hiscott P. Human papillomavirus in pterygium. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 782–784.
- Song YS, Ryu YH, Choi SR, Kim JC. The involvement of adult stem cells originated from bone marrow in the pathogenesis of pterygia. *Yonsei medical journal*. 2005. 46(5): 687–692.
- Seifert P, Sekundo W, capillaries in the epithelium of pterygium. *British journal of ophthalmology*. 1998. 82: 77–81.
- Al Favez MF. Limbal versus conjunctival autograft transplantation for advanced and recurrent pterygium. *Ophthalmology*. 2002. 109: 1752–1755.
- Alpay A, Ugurbas SH, Erdogan B. Comparing techniques for pterygium surgery. *Clinical Ophthalmology* 2009. 3: 69–74.
- Chan CML, Chew PTK, Alsagoff Z, Wong JS, Tan DTH. Vascular patterns in pterygium and conjunctival autografting: a pilot study using indocyanine green anterior segment angiography. *Br J Ophthalmol* 2001. 85: 350–353.
- Panda A, Kumar S, Kumar A, Bansal R, Bhartiya S. Fibrin glue in ophthalmology. *Indian J Ophthalmol* 2009. 57(5): 371–379.
- Midha A, Srivastava S, Sharma M, Jain P. Fibrin glue – a safe, effective, patient and surgeon friendly technique for attaching limbal conjunctival autograft in comparison to conventional suturing – a prospective study. External diseases session. *AIOC 2008 Proceeding*.