

Korelasi antara Usia dengan Ekspresi Epstein-Barr Virus pada Kanker Nasofaring Tipe *Undifferentiated Carcinoma*

Aditya Agung Pratama, Didit Yudhanto, Hamsu Kadriyan, Fathul Djannah

Abstrak

Latar belakang: Karsinoma nasofaring merupakan keganasan sel skuamosa epitel nasofaring yang paling sering terjadi di daerah fossa rosenmuller yang selanjutnya dapat meluas ke struktur anatomi di sekitarnya. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan terjadinya kanker nasofaring antara lain adalah genetik, infeksi Epstein-Barr virus dan lingkungan. Pemeriksaan imunohistokimia dilakukan untuk mendeteksi Epstein-Barr virus pada kanker nasofaring terutama LMP1. Kanker nasofaring paling banyak terjadi pada usia 40-49 tahun. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat korelasi antara usia dengan ekspresi Epstein-Barr virus pada pasien Kanker Nasofaring.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif analitik dengan pendekatan potong lintang (*cross-sectional*). Sampel penelitian ini adalah pasien kanker nasofaring yang berada di Rumah Sakit Umum Nusa Tenggara Barat, yang ditentukan dengan teknik *consecutive sampling*. Pada sampel penelitian ini dilakukan pemeriksaan ekspresi Epstein-Barr virus pada blok paraffin pasien kanker nasofaring menggunakan pemeriksaan imunohistokimia. Data dianalisis dengan uji korelasi koefisien kontingensi.

Hasil: Sampel pada penelitian ini berjumlah 44 sampel dengan rentang usia 22-70 tahun. Jumlah sampel terbanyak pada rentang usia 40-49 tahun yaitu sebanyak 13 orang. Jumlah sampel pasien yang berusia ≤ 45 tahun sebanyak 27 orang (61,36%) dan yang berusia > 45 tahun sebanyak 17 orang (38,64%) dengan rata-rata usia 43,29 tahun. Berdasarkan hasil pemeriksaan imunohistokimia, dari 44 sampel yang diteliti, 15 orang (34,09%) mengekspresikan LMP1 positif sedangkan yang negatif sebanyak 29 orang (65,90%). Sampel pasien yang berusia ≤ 45 tahun yang mengekspresikan LMP1 positif sebanyak 9 orang (33,33%) dan negatif 18 orang (66,66%). Sampel pasien yang berusia > 45 tahun yang mengekspresikan LMP1 positif sebanyak 6 orang (35,29%) dan negatif 11 orang (64,70%). Hasil uji korelasi koefisien kontingensi menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang sangat lemah ($r = 0,020$) antara usia dengan ekspresi Epstein-Barr virus pada pasien Kanker Nasofaring dan tidak bermakna secara signifikan ($p = 0,894$).

Kesimpulan: Tidak terdapat korelasi yang bermakna secara statistik pada hasil pemeriksaan ekspresi EBV pada sediaan blok paraffin pasien kanker nasofaring dengan usia pasien kanker nasofaring.

Katakunci

Imunohistokimia, EBV, LMP1, kanker nasofaring, usia

Fakultas Kedokteran Universitas Mataram

*e-mail: yudhanto.d@gmail.com

1. Pendahuluan

Karsinoma merupakan bentuk dominan dari kanker yang terjadi pada nasofaring. Nasofaring adalah bagian atas tenggorokan yang terletak di belakang hidung. Kejadian kanker nasofaring meningkat di daerah dan populasi tertentu seperti Cina Selatan dan Asia Tenggara.¹ Provinsi Guangdong di Cina Selatan memiliki prevalensi kanker nasofaring tertinggi di dunia, dengan sekitar 20 sampai 40 kasus per 100.000 penduduk. tingkat insiden menengah kanker nasofaring terlihat di Asia Tenggara, termasuk Singapura 15 kasus per 100.000 penduduk, Malaysia 9,7 kasus per 100.000 penduduk, Vietnam 7,5 kasus per 100.000 penduduk, Taiwan 7 kasus per

100.000 penduduk, dan Filipina 6,4 kasus per 100.000 penduduk. Kanker nasofaring di negara Amerika, Jepang, Korea, dan Eropa Karena sangat jarang terjadi. Indonesia adalah negara yang memiliki angka kejadian kanker nasofaring sekitar 6,2 kasus per 100.000 penduduk atau 12.000 kasus baru setiap tahunnya, dengan urutan keempat yang paling sering terjadi setelah kanker leher rahim, kanker payudara, dan kanker kulit.²

Pasien yang mengalami kanker nasofaring dari berbagai negara usianya berkisar antara 4 sampai 91 tahun, dengan kejadian puncak pada 50 sampai 60 tahun pada populasi Cina. Kanker nasofaring jarang terjadi pada individu di bawah usia 20 tahun (kurang dari 1%), sedangkan distribusi pasien kanker nasofaring dari rumah sakit Cipto Mangunkusumo puncaknya berada pada ki-

saran usia 40 sampai 49 tahun, dan lebih dari 80% dari pasien didiagnosis pada usia antara 30 dan 59 tahun.²

Dasar patogenesis dari kanker nasofaring masih belum jelas, telah dikemukakan bahwa ada beberapa faktor yang muncul seperti faktor infeksi Epstein-Barr virus (EBV), lingkungan dan genetik yang berperan utama dalam proses karsinogenesis tersebut. Selama perkembangan dan kemajuan keadaan, serangkaian kelainan genetik diakumulasi secara sinergis dengan infeksi EBV dan faktor lingkungan dimana ketiganya dapat berperan untuk mengubah fungsi sel normal dan jalur persinyalan.³

Epstein-Barr virus adalah *human herpes virus* yang dapat menyebabkan infeksi mononucleosis akut dan berhubungan dengan kanker dan penyakit autoimun. Epstein-Barr virus diteliti dengan cara pemeriksaan imunohistokimia dan *hibridisasi in situ* dimana telah diteliti dalam sepuluh kasus kanker nasofaring sembilan diantaranya ditemukan adanya EBV.^{3,4}

2. Metode

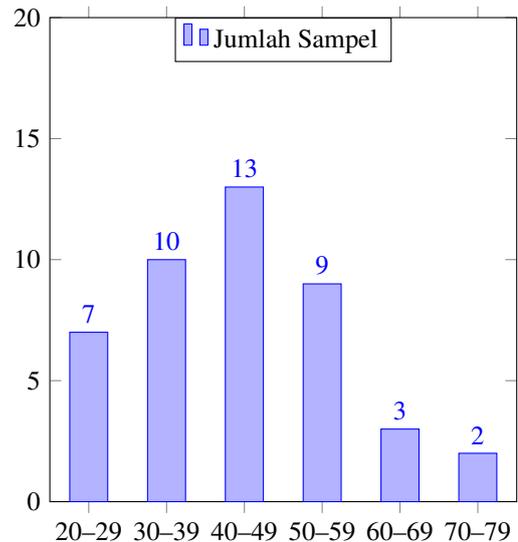
Penelitian ini menggunakan desain studi perbandingan dengan metode potong lintang (*cross-sectional*). Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif analitik yang bertujuan untuk mengetahui korelasi antara usia dengan ekspresi EBV (LMP1) pada blok parafin pasien kanker nasofaring dengan menggunakan pemeriksaan imunohistokimia. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUP NTB, pada bulan Januari 2017. Jumlah sampel pada penelitian ini sebanyak 44 orang ($n = 44$) yang di ambil dengan teknik *consecutive sampling*. Usia dalam penelitian ini dikategorikan menjadi <45 tahun dan ≥ 45 tahun.

Dalam penelitian ini dilakukan pemeriksaan pada sedian blok parafin pasien kanker nasofaring dengan imunohistokimia menggunakan antibodi primer LMP1, *monoclonal*; DAKO Jepang, dilusi 1:1000 untuk mendeteksi ekspresi LMP1 dari EBV, kemudian dilakukan penilaian dengan menggunakan mikroskop untuk menilai ekspresi dari LMP1 dan hasilnya dinilai oleh dokter spesialis Patologi Anatomi.

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer dan sekunder. Data primer adalah ekspresi EBV pada blok parafin pasien kanker nasofaring sedangkan data sekunder adalah usia pasien yang didapat berdasarkan data rekam medik yang didapat dari RSUP NTB. Data yang didapat akan diolah dengan menggunakan program komputer.

Uji korelasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji korelasi *Contingency Coefficient*.

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini meliputi variabel bebas yaitu penurunan kadar leukosit (leukopenia), serta variabel terikat yaitu perburukan trombositopenia. Data dianalisis secara bivariat dengan menggunakan program *software Statistic Package for Social Science* (SPSS) versi 16.0. Data menggunakan pengukuran skala kategorikal, sehingga analisis bivariat yang digunakan adalah uji komparatif kategorik tidak berpa-



Gambar 1. Distribusi Frekuensi Sampel Berdasarkan Rentang Usia

sangan, yakni uji *Chi-Square*.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Karakteristik Sampel

Dalam penelitian ini dilakukan pengambilan data yang meliputi karakteristik usia, jenis kelamin dan hasil pemeriksaan imunohistokimia LMP1 pasien kanker nasofaring dari RSUP NTB.

Berdasarkan 44 sampel pasien kanker nasofaring yang diperiksa imunohistokimianya, jumlah sampel pasien yang berusia ≤ 45 tahun sebanyak 27 orang (61,36%) dan sisanya adalah pasien yang berusia >45 tahun sebanyak 17 orang (38,64%). Rata-rata usia sampel adalah 43,29 tahun. Didapatkan bahwa dari 44 sampel pasien kanker nasofaring yang diteliti, jumlah pasien yang berjenis kelamin laki-laki lebih banyak, yaitu 29 orang (65,90%) sedangkan perempuan 15 orang (34,09%).

3.2 Pemeriksaan Imunohistokimia

Untuk menentukan ekspresi LMP1 pada blok parafin menggunakan kontrol positif dan kontrol negatif sebagai pembandingan untuk menentukan sel dalam blok parafin tersebut mengekspresikan LMP1 positif atau negatif. Terlihat adanya membran sel yang terpulas coklat menandakan bahwa sel tersebut positif mengekspresikan LMP1, sedangkan terlihat gambaran berwarna biru tanpa ada membran sel yang terpulas coklat yang menunjukkan bahwa sel tersebut tidak mengekspresikan LMP1 atau negatif. Ekspresi LMP1 pada penelitian ini dinilai pada seluruh lapang pandang preparat dengan menggunakan mikroskop pembesaran total 400 kali.

Berdasarkan hasil pemeriksaan imunohistokimia, jumlah sampel yang positif mengekspresikan LMP1 sebanyak 15 orang (34,09%) sedangkan yang negatif sebanyak 29 orang (65,90%). Sampel pasien yang berusia ≤ 45 tahun yang mengekspresikan LMP1 positif sebanyak 9 orang (33,33%) dan negatif 18 orang (66,66%).

Sampel pasien yang berusia >45 tahun yang mengekspresikan LMP1 positif sebanyak 6 orang (35,29%) dan negatif 11 orang (64,70%).

Tabel 1. Ekspresi LMP1 Berdasarkan Usia

Usia Pasien Kanker Nasofaring	Ekspresi LMP1	
	Positif n(%)	Negatif n(%)
≤5 tahun	9 (33,33)	18 (66,66)
>45 tahun	6 (35,29)	11 (64,70)
Total	15	29

3.3 Uji Korelasi Usia dengan Ekspresi EBV pada Pasien Kanker Nasofaring dengan *Contingency Coefficient*

Berdasarkan uji korelasi *Contingency Coefficient*, kekuatan korelasi antara usia pasien kanker nasofaring dengan ekspresi EBV sangat lemah ($r = 0,020$) serta tidak terdapat korelasi yang bermakna secara signifikan $p = 0,894$ ($p > 0,1$).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui korelasi antara usia dengan ekspresi EBV pada pasien kanker nasofaring. Untuk melihat adanya ekspresi EBV pada sediaan biopsi kanker nasofaring dalam penelitian ini digunakan pemeriksaan imunohistokimia. Pemeriksaan imunohistokimia merupakan metode yang digunakan untuk memperlihatkan keberadaan EBV dengan mendeteksi antigen virus laten dari EBV.⁵ Pemeriksaan imunohistokimia sangat bermanfaat dalam membantu diagnosis dan pemantauan penyakit yang berhubungan dengan EBV.⁶

Sampel pada penelitian ini dibagi menjadi 2 kategori yaitu pasien yang berusia ≤45 tahun dan pasien yang berusia >45 tahun. Jumlah sampel yang berusia ≤45 tahun jumlahnya lebih banyak yaitu sebanyak 27 orang (61,36%) dan yang berusia >45 tahun sebanyak 17 orang (38,64%). Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Guo *et al*, (2012) juga menggunakan kategori yang sama yaitu membagi sampel menjadi usia ≤45 tahun dan >45 tahun. Pasien pada penelitian ini jumlahnya terbanyak pada rentang usia 40-49 tahun yaitu sebanyak 13 orang. Sama seperti penelitian yang dilakukan di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo penelitian ini mendapatkan puncak pasien terbanyak berada pada kisaran usia 40 sampai 49 tahun, dan lebih dari 80% dari pasien didiagnosis kanker nasofaring pada usia antara 30 dan 59 tahun.^{1,7}

Jumlah pasien laki-laki pada penelitian ini lebih banyak dibandingkan perempuan yaitu sebanyak 29 pasien (65,90%) sedangkan perempuan sebanyak 15 pasien (34,09%). Beberapa penelitian juga menunjukkan pola yang sama yaitu lebih banyak pasien laki-laki. Guo *et al*, (2012) meneliti jumlah pasien laki-laki lebih banyak dibandingkan perempuan yaitu sekitar 58 orang dari 87 pasien. Penelitian lainnya juga menunjukkan jumlah pasien laki-laki lebih banyak dibandingkan perempuan yaitu 3:1 yaitu 73 laki-laki dari 100 pasien yang diteliti.⁸

Sampel yang mengekspresikan LMP1 pada penelitian ini lebih banyak yang negatif yaitu sebanyak 29 orang (65,90%) sedangkan sampel yang positif sebanyak 15

orang (34,09%). Ekspresi EBNA1 dan LMP1 EBV selalu ditemukan lebih tinggi secara signifikan pada sel kanker nasofaring dimana hal ini tidak ditemukan pada sel nasofaring yang normal. Epstein-Barr virus *encoded early RNAs* juga ditemukan dalam jumlah yang berlimpah.^{9,10}

Hasil analisis pada penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang sangat lemah dan tidak bermakna secara statistik antara usia dengan ekspresi EBV pada pasien kanker nasofaring ($r = 0,020$), ($p = 0,894$). Pada penelitian sebelumnya memperlihatkan bahwa pasien yang usia dibawah 45 tahun seluruhnya mengekspresikan EBV sedangkan pasien dengan usia di atas 45 tahun sekitar 86,6% yang mengekspresikan EBV.¹¹

Terdapat juga beberapa penelitian yang lainnya yaitu oleh Guo *et al*, (2012) yang meneliti mengenai hubungan usia dengan ekspresi EBV pada pasien kanker nasofaring dengan menggunakan uji *Chi-Square*, penelitian tersebut membandingkan ekspresi EBV pada usia ≤45 tahun dengan >45 tahun dengan menggunakan pemeriksaan PCR. Hasil penelitiannya menunjukkan tidak ada hubungan antara usia dengan ekspresi EBV dengan nilai signifikansinya $p = 0,662$. Saikia *et al*, (2016) melakukan penelitian mengenai korelasi antara usia dengan EBER menggunakan pemeriksaan *Chromogenic In-Situ Hybridization* (CISH) dengan hasil menunjukkan bahwa tidak terdapat korelasi yang signifikan antara usia dengan ekspresi EBER pada sampel pasien kanker nasofaring ($p = 0,4146$).¹²

Kurangnya ekspresi LMP1 dapat disebabkan karena perbedaan dalam prosedur pemeriksaan. Dilaporkan bahwa tingkat sensitivitas teknik imunohistokimia hanya dapat mendeteksi level protein LMP1 sekitar (65%) sedangkan dibandingkan dengan menggunakan tes *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dapat mendeteksi hampir semua kasus lebih sensitif (sekitar 100% dari ekspresi) untuk mendeteksi LMP1. Kualitas anti LMP1 *clone* juga dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan. Selain itu juga dapat disebabkan oleh terbatasnya teknik imunohistokimia pada *fixed tissue*, karena terdapat perbedaan respon ekspresi LMP1 pada jaringan kanker nasofaring yang dibekukan dengan jaringan *paraffin-embedded*.¹³

Mengidentifikasi status EBV pada pasien kanker nasofaring sangat bermanfaat dalam proses pengobatan serta mengetahui prognosis dari pasien. Penelitian yang dilakukan oleh Zhao *et al* (2015) menggunakan pemeriksaan kuantitatif PCR menghasilkan bahwa risiko untuk kekambuhan dan mortalitas lebih tinggi pada pasien kanker nasofaring dengan EBV-DNA plasma positif pasca pengobatan dibandingkan pada pasien dengan EBV-DNA plasma negatif pasca pengobatan. Risiko kekambuhan kanker nasofaring dan kematian pada pasien dengan tingkat EBV-DNA plasma sebelum pengobatan $\geq 1,500$ *copies/ml* lebih tinggi dibandingkan dengan orang-orang yang kadar EBV-DNA plasma sebelum pengobatan $< 1,500$ *copies/ml*.¹⁴

4. Kesimpulan

Tidak terdapat korelasi yang bermakna secara statistik pada hasil pemeriksaan ekspresi EBV pada sediaan blok parafin pasien kanker nasofaring dengan usia pasien kanker nasofaring.

Daftar Pustaka

- Zeng MS, Zeng YX. Pathogenesis and etiology of nasopharyngeal carcinoma. In: *Nasopharyngeal Cancer*. Springer; 2010. p. 9–25. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-92810-2_2.
- Adham M, Kurniawan AN, Muhtadi AI, Roezin A, Hermani B, Gondhowiardjo S, et al. Nasopharyngeal carcinoma in Indonesia: epidemiology, incidence, signs, and symptoms at presentation. *Chinese journal of cancer*. 2012;31(4):185. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22313595>.
- Osman I, Mercut R, Malin R, Osman G, Craitiu S, Comanescu V. Clinical, histological, immunohistochemical and statistical aspects in malignant nasopharyngeal tumors. *Current Health Sci J*. 2012;38(4):150–8.
- Dunmire SK, Grimm JM, Schmelting DO, Balfour Jr HH, Hogquist KA. The incubation period of primary Epstein-Barr virus infection: viral dynamics and immunologic events. *PLoS pathogens*. 2015;11(12):e1005286. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26624012>.
- Ismail A, Osman I, Husain NE. LMP1 Immunohistochemistry in Non-Hodgkin's Lymphoma of Sudanese Cases. *Open Journal of Pathology*. 2016;6(02):79. Available from: http://file.scirp.org/pdf/OJPathology_2016041816315473.pdf.
- Gulley ML. Molecular diagnosis of Epstein-Barr virus-related diseases. *The Journal of Molecular Diagnostics*. 2001;3(1):1–10. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1525157810606423>.
- Guo Q, Tham I, Lin S, Su Y, Chen Z, Lin J, et al. Prognostic significance of pre-treatment latent membrane protein 1 from nasopharyngeal swabs for stage III-IVA nasopharyngeal carcinoma. 2012; Available from: <http://www.oapublishinglondon.com/images/article/pdf/1355866360.pdf>.
- Umar B, Ahmed R. Nasopharyngeal carcinoma, an analysis of histological subtypes and their association with EBV, a study of 100 cases of Pakistani population. *Asian Journal of Medical Sciences*. 2014;5(4):16–20. Available from: <http://www.nepjol.info/index.php/AJMS/article/view/9592>.
- Flint PW, Haughey BH, Lund VJ. *Cummings Otolaryngology* 6th ed. Philadelphia: Saunders; 2015.
- Barnes L, Eveson J, Reichart P, Sidransky D. *Pathology and genetics of head and neck tumors (world health organization classification of tumors)*. Lyon: IARC. 2005;p. 135–9. Available from: <http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/pat-gen/bb9/index.php>.
- Borthakur P, Katakaki K, Keppen C, Khamo V, Medhi S, Deka M. Expression of Epstein Barr virus encoded EBNA1 and LMP1 oncoproteins in nasopharyngeal carcinomas from northeast India. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016;17:3411–6.
- Saikia A, Raphael V, Shunyu NB, Khonglah Y, Mishra J, Jitani AK, et al. Analysis of Epstein Barr Virus Encoded RNA Expression in Nasopharyngeal Carcinoma in North-Eastern India: A Chromogenic in Situ Hybridization Based Study. *Iranian journal of otorhinolaryngology*. 2016;28(87):267. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4994986/>.
- Tabyaoui I, Serhier Z, Sahraoui S, Sayd S, Cadi R, Bennani O, et al. Immunohistochemical expression of latent membrane protein 1 (LMP1) and p53 in nasopharyngeal carcinoma: Moroccan experience. *African health sciences*. 2013;13(3):710–717. Available from: <http://www.ajol.info/index.php/ahs/article/view/93697>.
- Zhao FP, Liu X, Chen XM, Lu J, Yu BL, Tian WD, et al. Levels of plasma Epstein-Barr virus DNA prior and subsequent to treatment predicts the prognosis of nasopharyngeal carcinoma. *Oncology letters*. 2015;10(5):2888–2894. Available from: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2015.3628>.