

Eksresi Immunoglobulin A pada Sel Plasma di Sekitar Sel Tumor Karsinoma Nasofaring Tidak Berkeratin, Tidak Berdiferensiasi yang Terinfeksi Virus Epstein-Barr

Ratna Handayani, Lisnawati, Budiana Tanurahardja

*Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia
 Jakarta*

ABSTRAK

Latar belakang

Karsinoma Nasofaring (KNF) merupakan salah satu keganasan yang sering ditemukan di Indonesia dengan insiden 6,2/100.000 penduduk. Pemeriksaan serologik immunoglobulin A (IgA) terhadap *viral capsid antigen* (IgA-VCA) merupakan petanda tumor yang digunakan sebagai standar serodiagnostik karena memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi terhadap KNF. Titer antibodi IgA terhadap Epstein-Barr Virus (EBV) meningkat lebih dulu sebelum tampak tumor, dan titer pada usia ≤ 30 tahun lebih rendah daripada usia > 30 tahun. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi ekspresi IgA pada jaringan biopsi KNF tidak berkeratin, tidak berdiferensiasi (WHO tipe 3) yang terinfeksi EBV pada kelompok usia ≤ 30 tahun dan usia > 30 tahun.

Metode

Studi potong lintang terhadap jaringan biopsi pasien KNF WHO tipe 3 yang terinfeksi EBV yang ditandai dengan positifitas EBER pada 13 pasien usia ≤ 30 tahun dan 20 pasien usia > 30 tahun, kemudian dilakukan pemeriksaan imunohistokimia terhadap IgA.

Hasil

Positivitas EBER ditemukan pada seluruh kasus KNF WHO tipe 3. IgA tereksresi pada epitel permukaan jaringan tumor dan terdapat positifitas ekspresi IgA sel plasma yang berbeda-beda di stroma sekitar jaringan tumor, dengan rerata pada kelompok usia ≤ 30 tahun lebih rendah dari kelompok usia > 30 tahun. Hasil uji t tidak berpasangan menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara ekspresi IgA sel plasma pada KNF WHO tipe 3 pada kelompok usia ≤ 30 tahun dan > 30 tahun dengan nilai $p=0,025$.

Kesimpulan

Eksresi IgA sel plasma disekitar jaringan tumor pada jaringan KNF WHO tipe 3 dipengaruhi oleh usia.

Kata kunci : Karsinoma nasofaring, virus Epstein-Barr, EBER, IgA.

ABSTRACT

Background

Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is one of the most frequent malignant tumors in Indonesia, with incidence rate 6.2/100.000. The IgA-VCA serologic examination is considered as a useful marker for early detection of NPC because its high sensitivity and specificity to NPC. IgA antibody titer to Epstein-Barr Virus (EBV) increased before the tumor arise, and it lower in ≤ 30 years old patients compare to > 30 years old patients. The aim of this study is to evaluated the expression of IgA in biopsy specimen of EBV infected undifferentiated NPC among both ≤ 30 and > 30 years old patients.

Methods

A cross-sectional retrospective study was performed in 13 young and 20 old groups of age of undifferentiated NPC. The EBER positive undifferentiated NPC was stained with IgA by immunohistochemistry, and then analyzed it between the two of age groups.

Results

EBER positivity was found in all undifferentiated NPC. IgA was expressed in the normal surface epithelial submucous plasma cells and stromal plasma cells surrounding the tumor mass in all cases of undifferentiated NPC with differentiated positivity. Statistical analysis with unpaired t test showed that IgA expression is significantly lower in ≤ 30 years old patients than > 30 years old patients with p value 0.025.

Conclusion

IgA is expressed in plasma cell cytoplasm in the stromal site of undifferentiated NPC and influenced by age.

Key words : Nasopharyngeal carcinoma, Epstein-Barr Virus, EBER, IgA.

PENDAHULUAN

Karsinoma nasofaring (KNF) ialah karsinoma yang berasal dari sel epitel mukosa nasofaring. Karsinoma ini memiliki distribusi yang sangat unik tergantung pada ras dan geografi.¹⁻³ KNF termasuk tumor yang sering ditemukan di Cina Selatan, Hongkong, Singapura, Taiwan, Afrika Utara dan Alaska.^{1,4} Insiden yang tinggi terjadi di Hongkong, terdapat 1 di antara 40 laki-laki mengidap KNF sebelum usia 75 tahun.¹ Puncak insiden KNF terjadi pada usia 40-60 tahun.¹ Di Tunisia terdapat 2 puncak insiden KNF, yaitu pada usia 10-20 tahun dan pada usia 40-50 tahun.⁵ Tumor ini sangat jarang di Amerika Utara dan Eropa yaitu kurang dari 1/100.000 penduduk.⁶

Berdasarkan data dari Badan Registrasi Kanker (BRK) Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia pada tahun 2008, KNF menempati urutan ke-6 diantara keganasan yang sering ditemukan di Indonesia. Penderita KNF tercatat 1031 kasus (5,11%) dari 20.176 kasus keganasan. Pada laki-laki, KNF menempati urutan pertama sedangkan pada perempuan menempati urutan kesembilan dengan puncak insiden pada usia 35-64 tahun.⁷ Insiden KNF di Indonesia sekitar 6.2/100.000 penduduk.⁸

KNF disebabkan oleh berbagai macam faktor yaitu genetik, *Epstein Barr Virus* (EBV), dan faktor lingkungan.^{9,10,11} KNF tipe 2 dan 3 berhubungan dengan virus Epstein Barr (EBV) yang pada umumnya tidak ditemukan pada tipe 1, khususnya di daerah non endemik.^{12,13} KNF tidak berdiferensiasi (WHO tipe 3) hampir 100% berkaitan dengan infeksi EBV.^{9,10,11} Pemeriksaan yang mudah untuk mengetahui adanya EBV adalah dengan pemeriksaan hibridisasi in situ EBV *encoded RNA* (EBER).^{1,13} EBER merupakan metode yang baik untuk mendeteksi EBV pada KNF dengan sensitivitas 96.67%.¹⁴ Metastatis KNF pada kelenjar getah bening leher menunjukkan EBER positif pada seluruh kasus KNF WHO tipe 3.¹⁵

Sirkulasi *EBV DNA* dan anti IgA terhadap *viral capsid antigen* (IgA-VCA) pada darah tepi dan pemeriksaan *indirect immunofluorescence* atau *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) sering digunakan untuk mendeteksi KNF.¹⁶ IgA merupakan antibodi yang berperan penting dalam imunitas mukosa yang disintesis oleh sel plasma.¹⁷ Titer IgA terhadap EBV seringkali meningkat terlebih dulu

sebelum tampak tumor sehingga pemeriksaan ini digunakan untuk mendeteksi KNF secara serologic, namun tetap harus dibuktikan dengan pemeriksaan histopatologik sebagai baku emas. Tingginya titer IgA-VCA pada pasien KNF pasca terapi dapat pula digunakan untuk menilai adanya relaps.^{13,16,18,19}

Karray dkk⁵ melaporkan terdapat perbedaan titer IgA VCA pada usia antara ≤ 30 tahun dan usia > 30 tahun. IgA-VCA dan EA pada KNF usia ≤ 30 tahun lebih rendah dibandingkan usia > 30 tahun. KNF pada usia ≤ 30 tahun juga menunjukkan *behaviour* yang lebih agresif dan lebih sering bermetastasis jauh dibandingkan pada kelompok usia > 30 tahun.⁵

Pemeriksaan IgA tanpa pemeriksaan VCA pada biopsi KNF menunjukkan ekspresi IgA di sekitar sel tumor.²⁰⁻²² Semakin tinggi titer IgA-VCA pada serum, semakin banyak IgA pada jaringan tumor. Diduga sel plasma pada jaringan tumor yang menghasilkan IgA turut berperan dalam produksi antibodi IgA-VCA.²² Pada KNF, IgA-VCA serum merupakan salah satu petanda yang digunakan untuk mendeteksi awal KNF terutama di wilayah endemis.^{18,23} Penelitian pada objek sehat dan karsinoma lain memiliki titer IgA-VCA: 0 atau negatif. Selain itu, titer IgA VCA juga meningkat sesuai dengan peningkatan stadium klinis, sehingga petanda IgA VCA digunakan sebagai deteksi dini KNF.¹⁹ Korelasi antara titer IgA-VCA terhadap angka kesintasan 5 tahun penderita KNF. Pada kasus dengan titer tinggi ($\geq 1:160$) angka kesintasan 5 tahun sebesar 43% sedangkan pada titer rendah ($< 1:160$) sebesar 65%.¹⁸ Peningkatan titer IgA berhubungan dengan prognosis yang buruk, sedangkan penurunan atau titer yang stabil menunjukkan prognosis baik.²⁴ Akumulasi sel plasma yang menghasilkan IgA bervariasi pada stroma di sekitar jaringan tumor menunjukkan bahwa sel plasma di stroma merupakan tempat produksi antibodi lokal.²² IgA-VCA dapat ditemukan pada saliva penderita KNF, namun tidak ditemukan pada keganasan lain ataupun orang sehat.²⁵

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi ekspresi IgA pada jaringan biopsi KNF tidak berkeratin, tidak berdiferensiasi (WHO tipe 3) yang terinfeksi EBV pada kelompok usia ≤ 30 tahun dan usia > 30 tahun.

METODE PENELITIAN

Disain penelitian adalah studi potong lintang. Bahan penelitian ialah data rekam medik, formulir permintaan dan jawaban histopatologik, serta sediaan mikroskopik dan blok parafin yang memenuhi kriteria inklusi. Kemudian dilakukan pengkajian ulang histopatologik dan dipilih sediaan yang representatif untuk pewarnaan EBER dan imunohistokimia IgA. Penelitian dilakukan di Departemen Patologi Anatomi FKUI-RSCM Jakarta pada bulan Agustus 2011 sampai Juli 2012.

Populasi penelitian adalah kasus yang didiagnosis sebagai KNF WHO tipe 3 dan menunjukkan gambaran histopatologik epitel permukaan hingga stroma selama periode 2005-2010. Pada penelitian ini didapatkan 33 kasus dengan perincian 13 kasus berusia ≤30 tahun dan 20 kasus berusia >30 tahun. Seluruh sampel dilakukan pemeriksaan hibridisasi in situ EBER kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan imunohistokimia IgA terhadap kasus yang positif pada pemeriksaan EBER.

Penilaian hasil pulasan EBER dinyatakan positif bila inti sel tumor berwarna biru gelap. Pada IgA hasil pulasan positif berupa tampilan warna coklat pada sitoplasma sel plasma. Penilaian ekspresi IgA pada sel plasma di stroma sel tumor yaitu berdasarkan jumlah sel yang terpulaskan positif dalam lima lapang pandang besar.

HASIL

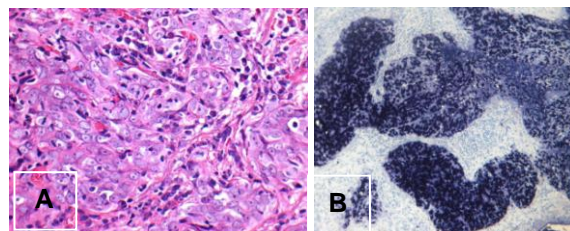
Dalam penelitian ini didapat 33 sampel kasus KNF WHO tipe 3 dalam periode 2005-2010. Karakteristik umum penelitian (tabel 1) menunjukkan bahwa populasi tersering adalah pada kelompok usia 41-50 tahun sebanyak 11 kasus (30,6%) diikuti kelompok usia 11-20 tahun sebanyak 10 kasus (30,3%). Usia termuda adalah 11 tahun dan tertua 77 tahun. Pada penelitian ini kasus lebih sering dijumpai pada laki-laki yaitu 25 kasus (75,8%), dibandingkan pada wanita yaitu 8 kasus (24,2%). Hasil pemeriksaan hibridisasi in situ EBER menunjukkan positif pada seluruh kasus (tabel 2).

Tabel 1 : Karakteristik umum kasus KNF WHO tipe 3 di Departemen Patologi Anatomi FKUI-RSCM tahun 2005-2010.

No	Variabel	n	%
1	Jenis kelamin		
	Laki-laki	25	75.8
	Perempuan	8	24.2
2	Kelompok usia		
	0-10 tahun	0	0
	11-20 tahun	10	30.3
	21-30 tahun	3	9.1
	31-40 tahun	6	18.2
	41-50 tahun	11	30.6
3	>50	3	9.1
	Kelompok usia		
	≤ 30 tahun	13	39.4
> 30 tahun	20	60.6	

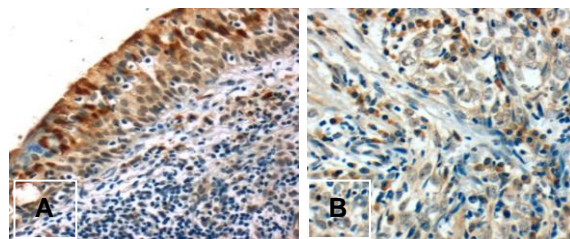
Tabel 2 : Positivitas EBER pada kasus KNF WHO tipe 3 di Departemen Patologi Anatomi FKUI-RSCM tahun 2005-2010.

Usia	n	%
≤ 30 tahun	13	100
> 30 tahun	20	100



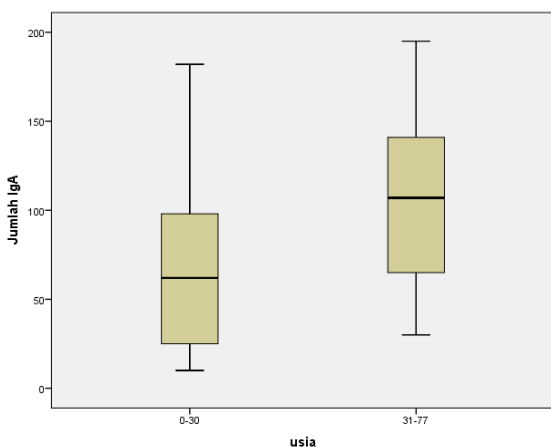
Gambar 1. A. KNF WHO tipe 3 (HE, 400X) B. Pemeriksaan hibridisasi in situ EBER positif, 200x.

Eksresi IgA positif di epitel permukaan pada seluruh kasus (gambar 2a), sedangkan ekspresi IgA sel plasma pada stroma di sekitar tumor berbeda-beda positifitasnya. Positivitas pulasan IgA ditandai dengan terpulaskannya sitoplasma sel plasma dengan warna coklat (gambar 2b).



Gambar 2. A. IgA terekspresi positif di epitel permukaan dan sel plasma di submukosa jaringan tumor, 400x; B. IgA sel plasma di stroma sekitar tumor terpulaskan positif di sitoplasma, 400x.

Pada kelompok usia ≤ 30 tahun jumlah IgA sel plasma yang tereksresi berjumlah 10 hingga 182 per lima lapang pandang besar dengan rerata sebesar 66 sedangkan pada kelompok usia >30 tahun, rerata 108 dengan jumlah antara 30 hingga 195 per lima lapang pandang besar (gambar 3, tabel 3).



Gambar 3 : Distribusi jumlah ekspresi IgA sel plasma pada kelompok usia ≤ 30 tahun dan usia >30 tahun.

Tabel 3 : Rerata ekspresi IgA berdasarkan kelompok usia ≤ 30 tahun dan >30 tahun.

Kelompok Usia	Rerata	Median	Simpang baku	Minimum	Maksimum
≤ 30 tahun	66	62	49,88	10	182
>30 tahun	108	107	50,62	30	195

Ekspresi IgA menurut kelompok usia ≤ 30 tahun dan >30 tahun berdasarkan uji t tidak berpasangan didapatkan nilai $p=0,025$ (terdapat hubungan bermakna).

Tabel 4 : Perbandingan nilai IgA pada sel plasma berdasarkan kelompok usia

Kelompok usia	n	Rerata \pm s.b	p
≤ 30 tahun	13	66 \pm 49,88	0,025
> 30 tahun	20	108 \pm 50,62	

uji t tidak berpasangan.

Penilaian ekspresi IgA pada sel plasma di sekitar tumor antar 2 pengamat berdasarkan hasil uji t tidak berpasangan menunjukkan nilai $p > 0.05$. Nilai tersebut menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna antara 2 pengamat dalam menilai ekspresi IgA sel plasma.

DISKUSI

Pada penelitian ini KNF ditemukan pada rentang usia 11 tahun hingga 70 tahun dengan puncak insiden pada kelompok usia 41-50 tahun. Hal ini sesuai dengan peneliti terdahulu yang menyatakan bahwa insiden KNF berkembang setelah usia 30 tahun dengan puncak insiden pada usia 40-60 tahun.¹ Penelitian lain menemukan puncak insiden KNF, pada usia 10-24 tahun dan 40-60 tahun.⁵ Pada penelitian ini tampak pula kecenderungan peningkatan insiden pada kelompok usia 11-20 tahun. Namun berdasarkan data BRK tahun 2008 puncak insiden KNF di Indonesia terjadi pada usia 35-64 tahun. Pada kelompok usia kurang dari 30 tahun keganasan ini lebih jarang ditemukan dengan insiden 1-2 per 100 000.²⁶ Pada penelitian ini kelompok usia >30 tahun lebih banyak ditemukan daripada kelompok usia ≤ 30 tahun.

Pada penelitian ini, kasus KNF WHO tipe 3 lebih sering dijumpai pada laki-laki yaitu 25 kasus (75,8%), dibandingkan dengan perempuan yaitu 8 kasus (24,2%) dengan perbandingan sekitar 3:1. Hal ini pun sesuai dengan peneliti terdahulu yang menyatakan perbandingan antara laki-laki dan perempuan, yaitu 3:1.^{1,7,13} Pada penelitian ini 100% kasus KNF WHO tipe 3 positif terhadap pemeriksaan EBER. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa KNF WHO tipe 3 berkaitan dengan infeksi EBV.^{1,12-14,27,28}

Pada penelitian ini seluruh kasus menunjukkan ekspresi IgA di epitel permukaan jaringan tumor KNF yang dilapisi oleh epitel torak bertingkat bersilia serta di sel plasma sub mukosa. Hal ini menunjukkan bahwa mekanisme pertahanan tubuh masih terus berlangsung walau sudah terjadi keganasan. Pada penelitian ini, IgA di sel plasma di sekitar sel tumor tereksresi dengan jumlah yang berbeda-beda pada setiap kasus. Pada kelompok usia >30 tahun rerata jumlah IgA yang terpulus positif dalam lima lapang pandang besar adalah 108, sedangkan pada kelompok usia ≤ 30 tahun adalah 66 dalam lima lapang pandang besar. Dari hasil uji t tidak berpasangan didapat perbedaan bermakna antara ekspresi IgA sel plasma di sekitar tumor pada kelompok usia ≤ 30 tahun dan >30 tahun, dengan nilai $p=0,025$. Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menemukan positivitas pada usia ≤ 30 tahun lebih rendah dibandingkan pada usia >30 tahun.⁵ Pada penelitian ini ditemukan pula beberapa sel

plasma yang tidak mengekspresikan IgA. Hal ini diduga karena sel plasma menghasilkan antibodi lain seperti IgM dan IgG sesuai kebutuhan individu.²³

KESIMPULAN

Ekspresi IgA sel plasma disekitar jaringan tumor pada jaringan KNF WHO tipe 3 dipengaruhi oleh usia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chan JKC, Bray F, McCarron P, Foo W, Lee AWM, Yip T, *et al.* Nasopharyngeal carcinoma. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sldransky D eds. Pathology and genetics head and neck tumours. Lyon: IARC Press; 2005.p.85-97.
2. Cho WC. Nasopharyngeal Carcinoma: Molecular biomarker discovery and progress. *Mol Cancer.* 2007;6:1-9.
3. Brennan B. Nasopharyngeal carcinoma. *Orphanet J rare Disease.* 2006;1:1-5.
4. Niedobitek G, Agathangelou, Nicholls JM. Epstein-Barr virus infection and the pathogenesis of nasopharyngeal carcinoma: viral gene expression, tumour cell phenotype, and the role of lymphoid stroma. *Seminars in Cancer Biology.* 1996;7:165-74.
5. Karray H, Ayadi W, Fki L, Hammami A, Daoud J, Drira MM, *et al.* Comparison of three different serological techniques for primary diagnosis and monitoring of nasopharyngeal carcinoma in two age groups from Tunisia. *J Med Virol.* 2005;75:593-602.
6. Pathmanathan R, Prasad U, Sadler R, Flynn K, Raab-Traub N. Clonal proliferations of cells infected with Epstein-Barr Virus in preinvasive lesions related to nasopharyngeal carcinoma. *N Engl J med.* 1995;333:693-8.
7. Kanker di Indonesia tahun 2008. Data histopatologik. Direktorat Jendral Pelayanan Medik Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia. Yayasan Kanker Indonesia. 2008.
8. Stevens SVJ, Verkuijlen SAWM, Hariwiyanto B, Harijadi, Paramita DK, Fachiroh J, *et al.* Noninvasive diagnosis of nasopharyngeal carcinoma: nasopharyngeal brushings reveal high Epstein-Barr virus DNA load and carcinoma-specific viral BARF1 Mrna. *Int J Cancer.* 2006;119:608-14.
9. Paramita DK, Fachiroh J, Haryana SM, Middeldorp JM. Two-step Epstein-Barr virus immunoglobulin A enzyme-linked immunosorbent assay system for serological screening and confirmation of nasopharyngeal carcinoma. *Clin Vaccine Immunol.* 2009;16:706-11.
10. Middeldorp JM, Brink AATP, Van den Brule AJC, Meijer CJLM. Pathogenic roles for Epstein-Barr Virus (EBV) gene products in EBV-associated proliferative disorders. *Oncol/Hematol.* 2003;45:1-36.
11. Chang ET, Adami HO. The enigmatic epidemiology of nasopharyngeal carcinoma. *Cancer epidemiology biomarkers Prev.* 2006;15:1765-77.
12. Chou J, Lin YC, Kim J, You L, Xu Z, He B, *et al.* Nasopharyngeal Carcinoma-review of the molecular mechanisms of tumorigenesis. Review of the molecular basis of nasopharyngeal carcinoma. 2008;35:946-63.
13. Liao LJ, Lai MS. Epstein-Barr Virus serology in detection and screening of nasopharyngeal carcinoma. In Chen SS ed. Carcinogenesis, diagnosis, and molecular targeted treatment for nasopharyngeal carcinoma. Croatia : InTech; 2012.p83-94.
14. Plaza G, Manzanal AI, Fogue L, Santon A, Montero JCM, Bellas C. Association of Epstein-Barr Virus and nasopharyngeal carcinoma in Caucasian patient. *Ann Otol Laryngol.* 2002;111:210-6.
15. Tsai ST, Jin YT, Su IJ. Expression of EBER1 in primary and metastatic nasopharyngeal carcinoma tissues using in situ hybridization. A correlation with WHO histologic subtypes. *Cancer.* 1996;77:231-6.
16. Leung S, Tam JS, Chan ATC, Zee B, Chan LYS, Huang DP, *et al.* Improved accuracy of detection of nasopharyngeal carcinoma by combined application of circulating Epstein-Barr virus DNA and anti-Epstein-Barr viral capsid antigen IgA antibody. *Clin Chem.* 2004;50:339-45.
17. Lamn ME. Interaction of antigens and antibodies at mucosal surfaces. *Annu Rev Microbiol.* 1997;51: 311-40.
18. Ling W, Cao SM, Huang QH, Li YH, Deng MQ. Prognostic implication of pretreatment titer of serum immunoglobulin A against Epstein-Barr virus capsid antigen in naso-

- pharyngeal carcinoma patients in Sihui, Guangdong. *Chinese J Cancer*. 2009;28:57-9.
19. Tiwawech D, Srivatanakul P, Karaluk A, Ishida T. Significance of plasma IgA and IgG antibodies to Epstein-Barr virus early and viral capsid antigens in Thai nasopharyngeal carcinoma. 2003. *Asian Pasific J of Cancer Prevention*. 2003;4:113-8.
 20. Traub NR. Epstein-Barr Virus in the pathogenesis of NPC. *Cancer Biol*. 2003;12:431-41.
 21. Munir D. Respons imun kanker. *Dexa media*. 2006;3:148-51.
 22. Ho HC, Kwan HC, NG M. Immunohistochemistry of local immunoglobulin production in nasopharyngeal carcinoma. *Br. J. Cancer*. 1978;37:514-9.
 23. Chan CK, Mueller N, Evans A, Harris NL, Comstock GW, Jellum E, et al. Epstein-Barr virus antibody patterns preceding the diagnosis of nasopharyngeal carcinoma. *Cancer causes and control*. 1991;2: 125-31.
 24. Cohen JL. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med*. 2000;343:481-92.
 25. Ho HC, NG MH, Kwan HC. IgA Antibodies to Epstein-Barr viral capsid antigens in saliva of nasopharyngeal carcinoma patients. *Br. J Cancer*. 1977;35:888-90.
 26. Cannon T, Zanation AM, Lai V, Weissler. Nasopharyngeal carcinoma in young patients: a systematic review of racial demographics. *Laryngoscope*. 2006;116: 1021-6.
 27. Kumar S. Epidemiological and etiological factors associated with nasopharyngeal carcinoma. *ICMR Bulletin*. 2003;33: 1-9.
 28. Tsai ST, Jin YT, Mann RB, Ambinder RF. Epstein-Barr virus detection in nasopharyngeal tissues of patients with suspected nasopharyngeal carcinoma. *Cancer*. 1998; 82:1449-53.