

Korelasi Ekspresi *Cyclooxygenase-2* dengan Subtipe Karsinoma Nasofaring

Novita Dewi, Mezfi Unita, Jusuf Fantoni, Irsan Saleh

Departemen Patologi Anatomik, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya
RSUP. Dr. Mohammad Hoesin
Palembang

ABSTRAK

Latar belakang

Karsinoma nasofaring (KNF) adalah tumor ganas yang cenderung di diagnosa pada stadium lanjut, sehingga angka survival rendah dan prognosis penderita buruk. Cyclooxygenase-2 merupakan suatu enzim yang diinduksi selama peradangan dan neoplastik dan terekspresi pada berbagai tumor. Penelitian ini dilakukan untuk melihat ekspresi *cyclooxygenase-2* pada karsinoma nasofaring serta menilai korelasi ekspresi *cyclooxygenase-2* dengan subtipe karsinoma nasofaring.

Bahan dan cara kerja

Penelitian ini merupakan studi observasional analisis korelatif dalam bentuk serial kasus dengan 30 sampel arsip preparat karsinoma nasofaring berdasarkan klasifikasi WHO tahun 2005 terdiri dari 21 kasus karsinoma nasofaring tidak berkeratin tidak berdiferensiasi dan 9 kasus karsinoma nasofaring tidak berkeratin berdiferensiasi di Patologi Anatomik RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang dalam periode waktu Juni 2010-Juni 2011. Semua preparat dilakukan pulasan imunohistokimia *cyclooxygenase-2* dan dihitung tingkat ekspresinya, dianalisis dengan uji korelasi non parametrik Spearman.

Hasil

Dari 30 kasus karsinoma nasofaring diperoleh positifitas *cyclooxygenase-2* adalah 63,3% dan positifitas ke-2 subtipe adalah 43,3% karsinoma nasofaring tidak berkeratin tidak berdiferensiasi dan 20% karsinoma nasofaring tidak berkeratin berdiferensiasi. Uji korelasi Spearman menunjukkan tidak ada hubungan yang bermakna antara ekspresi *cyclooxygenase-2* dan subtipe karsinoma nasofaring ($r = 0,026$ $p = 0,893$).

Kesimpulan

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tidak ada hubungan yang bermakna antara ekspresi *cyclooxygenase-2* dan subtipe karsinoma nasofaring.

Kata kunci: karsinoma, nasofaring, *cyclooxygenase-2*

ABSTRACT

Background

Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is a malignant tumor that tends to be diagnosed at an advanced stage, so they have low survival rate and poor prognosis. Cyclooxygenase-2 is an enzyme that is induced during inflammation and neoplastic and expressed in various tumors. The aim of this study is to evaluate the expression of cyclooxygenase-2 in nasopharyngeal carcinoma and to assess the correlation of expression of cyclooxygenase-2 with nasopharyngeal carcinoma subtype.

Material and method

This research an observational correlative analysis study in the form of serial cases with 30 samples of nasopharyngeal carcinoma preparations based on WHO histological classification of tumours of the nasopharynx, 2005 consisted of 21 cases of non keratinizing undifferentiated nasopharyngeal carcinoma and 9 cases of non keratinizing differentiated nasopharyngeal carcinoma at Anatomic Pathology of Dr. Mohammad Hoesin General Hospital in Palembang during June 2010-June 2011. Cyclooxygenase-2 immunohistochemical stains were performed and the correlation between expression of cyclooxygenase-2 were assessed and analyzed by non-parametric Spearman correlation test.

Result

Thirty cases of nasopharyngeal carcinoma obtained positivity cyclooxygenase-2 is 63.3% and positivity of both subtypes of nasopharyngeal carcinoma was 43.3% are non keratinizing undifferentiated nasopharyngeal carcinoma and 20% is differentiated. Spearman correlation test showed no significant correlation between expression of cyclooxygenase-2 and subtypes of nasopharyngeal carcinoma ($r = 0.026$ $p = 0.893$).

Conclusion

In this study we can conclude that there was no significant correlation between expression of cyclooxygenase-2 and subtypes of nasopharyngeal carcinoma

Key word: nasopharyngeal, carcinoma, cyclooxygenase-2

PENDAHULUAN

Karsinoma nasofaring merupakan tumor ganas regio kepala dan leher banyak ditemukan pada ras mongoloid di Asia dan China Selatan dengan insiden berkisar antara 15-50% per-tahun.^{1,2} Di Indonesia karsinoma nasofaring merupakan penyebab utama kematian. Insidennya relatif tinggi pada laki-laki sebanyak 5,7 dan 1,9 wanita per 100.000, meningkat setelah usia 30 tahun dan puncaknya pada 40-60 tahun.³ Pada tahun 2000 secara global dijumpai sekitar 65.000 kasus baru dan sebanyak 38.000 kasus kematian di seluruh dunia.^{3,4,5,6}

Penanganan karsinoma nasofaring sampai saat ini masih merupakan suatu problema. Sekitar 80% penderita datang pada stadium lanjut⁶ akibatnya 20%-50% penderita mengalami relaps atau metastasis dan sebagian besar penderita meninggal, sehingga angka survival rendah dan prognosis penderita buruk.⁷

Kemajuan dalam bidang ilmu biologi molekuler telah menghasilkan pemahaman yang lebih baik terhadap marker biologi yang mungkin mempunyai nilai prognostik dan prediktif untuk penderita karsinoma nasofaring. Beberapa target molekuler telah diidentifikasi dalam spesimen tumor penderita karsinoma nasofaring, seperti cyclooxygenase-2 (COX-2) yang menunjukkan ekspresi atau overekspresi pada tumor ini.

Cyclooxygenase-2 (COX-2) merupakan suatu enzim dengan berat molekul 68 kDA yang terlibat pada sintesa prostaglandin yang terinduksi selama proses peradangan dan neoplasma. ini terekspresi pada berbagai tumor dan terlibat dalam karsinogenesis.^{7,8,9} COX-2 tidak terdeteksi pada sebagian jaringan tapi diinduksi oleh onkogen, faktor pertumbuhan, sitokin dan karsinogen tembakau.^{8,10}

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa terdapat hubungan ekspresi *cyclooxygenase-2* dengan faktor prognosis buruk pada beberapa keganasan antara lain karsinoma paru, kolorektal, karsinoma servik dan karsinoma *head and neck* dan ini sesuai dengan penelitian Tan menyatakan terdapat hubungan ekspresi COX-2 dan prognosis buruk pada karsinoma nasofaring jenis tidak berdiferensiasi, namun beberapa peneliti menunjukkan bahwa hubungan antara subtipe histopatologik karsinoma nasofaring dan ekspresi *cyclooxygenase-2* tidak bermakna.^{11,12}

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi ekspresi COX-2 pada penderita karsinoma nasofaring dan seberapa besar korelasi ekspresinya dengan berbagai tipe karsinoma nasofaring, ditujukan sebagai target terapi untuk karsinoma nasofaring. Sejauh ini belum ada penelitian dan data tentang hal ini di Sentra Diagnostik Patologi Anatomik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP. dr. Mohammad Hoesin Palembang.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan studi observasional analisis korelatif dalam bentuk serial kasus retrospektif. Sampel penelitian adalah semua preparat Hemaktosilin-Eosin dan blok parafin penderita karsinoma nasofaring yang memenuhi kriteria penerimaan dan penolakan periode Juni 2010 sampai Juni 2011. Jumlah sampel adalah 30 kasus karsinoma nasofaring terdiri dari 21 kasus karsinoma nasofaring tidak berkeratin dan tidak berdiferensiasi dan 9 kasus karsinoma nasofaring tidak berkeratin dan berdiferensiasi, klasifikasi ini berdasarkan klasifikasi WHO tahun 2005. Kemudian dipulas menggunakan pulasan immunohistokimia antibodi monoclonal rabbit COX-2 protein clone SP21 (BioGenex) konsentrat dilusi 1:10. Semua preparat diperiksa oleh dua patologis secara independen, penilaian semikuantitatif pulasan *cyclooxygenase-2* dilakukan dengan menentukan ekspresi *cyclooxygenase-2* dengan cara menghitung sel yang mengekspresikan granula coklat pada membran dan sitoplasma pada perbesaran kuat dalam 100 sel pada 10 lapangan pandang dan nilai luas tampilan *cyclooxygenase-2* dengan nilai 0 tidak ada sel yang terpulas, 1 = <10% sel yang terpulas, 2 = 10-50% sel yang terpulas dan 3 = >50% sel yang terpulas kemudian nilai intensitas tampilan cyclooxygenase-2 (0,1,2,3). Nilai dari luas tampilan dan intensitas tampilan *cyclooxygenase-2* dikalikan maka didapatkan skor imunoreaktivitas 0-9 untuk setiap kasus (*cyclooxygenase-2* positif bila nilai skor ≥ 4 dan maksimal 9) kemudian data yang dihasilkan disajikan dalam bentuk tabulasi data, kemudian dilakukan uji korelasi non parametrik Spearman dengan nilai signifikan bila $p < 0,005$.

HASIL

Dari tabel 1 tampak rentang umur kasus karsinoma nasofaring adalah antara 16-71 tahun. Kelompok umur 40-49 tahun merupakan

kelompok umur yang paling banyak ditemukan (33,3%) dan rerata 44,5 tahun. Berdasarkan jenis kelamin penderita lebih banyak pada laki-laki (73,3%) dibandingkan perempuan (26,7%) dengan perbandingan 2:1.

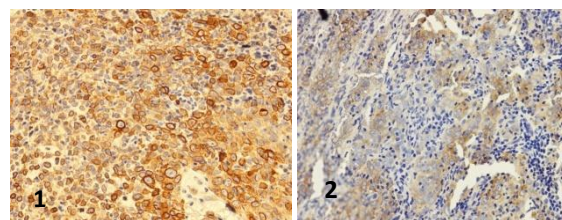
Secara histopatologis terbanyak adalah karsinoma nasofaring tidak berkeratin subtipe tidak berdiferensiasi yaitu 21 kasus (70%) sedangkan subtipe berdiferensiasi hanya 9 kasus (30%).

Tabel 1. Distribusi karakteristik karsinoma nasofaring

Karakteristik	n	%
Kelompok Umur (tahun)		
10-19	1	3,3
20-29	2	6,7
30-39	5	16,7
40-49	10	33,3
50-59	9	30,0
60-69	2	6,7
>70	1	3,3
Jenis Kelamin		
Laki-laki	22	73,3
Perempuan	8	26,7
Subtipe karsinoma nasofaring		
KNF tidak berkeratin berdiferensiasi	9	30
KNF tidak berkeratin tidak berdiferensiasi	21	70

Pada tabel 2 menunjukkan distribusi luas tampilan *cyclooxygenase-2* pada masing-masing subtipe. Pada karsinoma nasofaring tidak berkeratin yang tidak berdiferensiasi terbanyak pada skor 3* (>50%) sebesar 47,6%, dan subtipe berdiferensiasi pada skor 2* (10-50%) sebesar 44,4%.

Intensitas *cyclooxygenase-2* terbanyak pada kedua subtipe karsinoma nasofaring menunjukkan skor 3 (coklat tua bergranul) sebesar 47,6% pada KNF tidak berkeratin yang tidak berdiferensiasi dan 44,4% pada KNF tidak berkeratin yang berdiferensiasi.



Gambar 1. Ekspresi COX-2 kuat (skor 9) KNF tidak berkeratin tidak berdiferensiasi

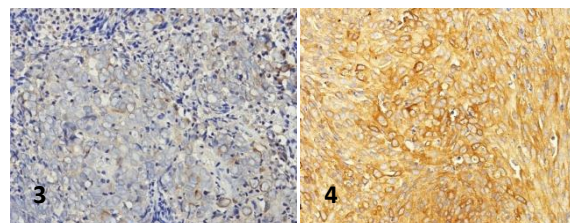
Gambar 2. Ekspresi COX-2 sedang (skor 6) KNF tidak berkeratin tidak berdiferensiasi

Tabel 2. Luas tampilan dan intensitas COX-2 pada subtipe karsinoma nasofaring

Subtipe karsinoma nasofaring	Luas tampilan COX-2(L)					Intensitas COX-2(I)		
	0*	1*	2*	3*	0	1	2	3
KNF tidak berkeratin berdiferensiasi (n=9)	-	2 22,2%	4 44,4%	3 33,3%	-	3 33,3%	2 22,2%	4 44,4%
KNF tidak berkeratin tidak berdiferensiasi (n=21)	-	2 9,5%	9 42,9%	10 47,6%	-	7 33,3%	4 19,1%	10 47,6%

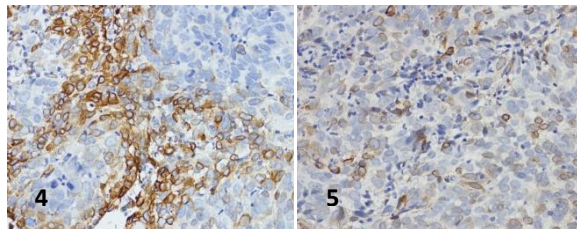
0*=0, 1*= <10%, 2*= 10%-50%, 3*= >50%

Tabel 3 menunjukkan skor imunoreaktivitas *cyclooxygenase-2* pada kedua subtipe KNF menunjukkan skor 9 sebesar 33,3%. Gambaran mikroskopik imunoreaktivitas pada kedua subtipe karsinoma nasofaring dapat dilihat pada gambar 1-3 menunjukkan pulasan *cyclooxygenase-2* pada subtipe tidak berdiferensiasi (skor 4,6,9). Sedangkan gambar 4-6 menunjukkan pulasan *cyclooxygenase-2* pada subtipe berdiferensiasi. (skor 4,6,9)



Gambar 3. Ekspresi COX-2 lemah (skor 4) KNF tidak berkeratin tidak berdiferensiasi

Gambar 4. Ekspresi COX-2 kuat (skor 9) KNF tidak berkeratin berdiferensiasi



Gambar 5. Ekspresi COX-2 sedang (skor 6) KNF tidak berkeratin berdiferensiasi

Gambar 6. Ekspresi COX-2 lemah (skor 4) KNF tidak berkeratin berdiferensiasi.

Tabel 3. Skor imunoreaktivitas *Cyclooxygenase-2* pada subtipe karsinoma nasofaring

Subtipe karsinoma nasofaring	Skor imunoreaktivitas (LxI)					
	1	2	3	4	6	9
KNF tidak berkeratin berdiferensiasi (n=9)	2 22,2%	1 11,1%	-	2 22,2%	1 11,1%	3 33,3%
KNF tidak berkeratin tidak berdiferensiasi (n=21)	2 9,5%	5 23,8%	1 4,8%	3 14,3%	3 14,3%	7 33,3%

Pada tabel 4 menunjukkan nilai positività dari *cyclooxygenase-2* (skor $\geq 4-9$) Positivitas karsinoma nasofaring adalah 63,3% (19/30) dan ekspresi negatif sebesar 36,7% (11/30) dan positività pada ke-2 subtipe adalah 43,3% (13/30) KNF tidak keratin tidak berdiferensiasi sedangkan KNF tidak berkeratin berdiferensiasi positif 20% (6/30).

Pada tabel 5 menunjukkan hasil uji korelasi non parametrik Spearman antara ekspresi COX-2 (nilai imunoreaktivitas) dan subtipe karsinoma nasofaring terdapat korelasi tidak bermakna, dengan arah korelasi positif dan kekuatan korelasi sangat lemah. ($r = 0,026$ dan $p = 0,893$) seperti yang terlihat dibawah ini:

Tabel 4. Positivitas *cyclooxygenase-2* pada subtipe karsinoma nasofaring

Subtipe karsinoma nasofaring	Negatif	Positif	Jumlah
KNF tidak berkeratin berdiferensiasi	3 10%	6 20%	9 30%
KNF tidak berkeratin tidak berdiferensiasi	8 26,7%	13 43,3%	21 70%
Jumlah	11 36,7%	19 63,3%	30 100%

Negatif = skor imunoreaktivitas 0-3, Positif = skor imunoreaktivitas 4-9.

Tabel 5. Analisa korelasi ekspresi COX-2 (nilai imunoreaktivitas) pada KNF tidak berkeratin berdiferensiasi dan KNF tidak berkeratin tidak berdiferensiasi.

Subtipe karsinoma nasofaring	Skor imunoreaktivitas (LxI)						Korelasi Spearman
	1	2	3	4	6	9	
KNF tidak berkeratin berdiferensiasi (n=9)	2 22,2%	1 11,1%	-	2 22,2%	1 11,1%	3 33,3%	*r = 0,026 p = 0,893
KNF tidak berkeratin tidak berdiferensiasi (n=21)	2 9,5%	5 23,8%	1 4,8%	3 14,3%	3 14,3%	7 33,3%	

*r = koefisien korelasi signifikan bila $p < 0,05$

PEMBAHASAN

Cyclooxygenase-2 (COX-2) merupakan penginduksi prostaglandin dan berpartisipasi pada proses inflamasi dan neoplastik. Beberapa studi telah menyatakan ekspresi *cyclooxygenase-2* diatur pada tumor manusia, termasuk kanker leher dan kepala serta kanker payudara, gaster dan kolorektal. Saat ini belum ditemukan standar baku dalam menentukan sistem penilaian imunoreaktivitas ekspresi *cyclooxygenase-2*, kecuali berdasarkan berbagai refe-

rensi yang sudah ada, menurut penelitian sebelumnya (Tan dan Putti) didapatkan skor imunoreaktivitas COX-2 dari perkalian antara luas tampilan dan intensitas *cyclooxygenase-2* dari subtipe karsinoma nasofaring.

Pada penelitian ini didapatkan ekspresi *cyclooxygenase-2* positif pada sebagian besar kasus karsinoma nasofaring sebesar 63,3% (19/30). Hasil ini sedikit berbeda dengan penelitian Tan dan Putii diperoleh positività *cyclooxygenase-2* adalah 71% (60/80)⁸ dan Bai

71,70%.¹³ Perbedaan ini dikarenakan jumlah sampel yang berbeda, pada penelitian ini diperoleh 30 kasus dibandingkan penelitian sebelumnya. Dan subtipe yang dijumpai hanya dua jenis yaitu KNF tidak berkeratin tidak berdiferensiasi dan KNF tidak berkeratin berdiferensiasi sementara penelitian sebelumnya ditemukan berbagai subtipe.

Pada kasus ini positifitas pada subtipe tidak berdiferensiasi lebih banyak diperoleh dibandingkan subtipe yang berdiferensiasi sebesar 43,3% dan 20% dan ini sesuai dengan penelitian Tan juga mendapatkan subtipe tidak berdiferensiasi yang terbanyak sebesar 69%.^{8,12}

Menurut literatur banyak faktor yang mempengaruhi ekspresi *cyclooxygenase-2* seperti proses inflamasi, pada karsinoma nasofaring sekitar 90% berkaitan dengan infeksi virus *Epstein barr*, virus ini terutama onkoprotein LMP1 yang menginduksi ekspresi *cyclooxygenase-2* dimediasi oleh NF- κ B dan didukung oleh penelitian Murono dkk serta Bai dan Tang adanya korelasi antara *cyclooxygenase-2* dan LMP1 ($p < 0,01$).^{13,14}

Hasil analisis uji korelasi non parametrik Spearman pada penelitian ini terdapat korelasi tidak bermakna antara ekspresi *cyclooxygenase-2* dan subtipe histopatologi karsinoma nasofaring dengan kekuatan korelasi sangat lemah ($r = 0,026$ $p = 0,893$). Pada penelitian ini didapatkan korelasi yang tidak bermakna kemungkinan disebabkan proporsi masing-masing kasus sangat jauh perbedaannya dimana kasus KNF tidak berkeratin tidak berdiferensiasi lebih banyak (70%) dibandingkan KNF tidak berkeratin berdiferensiasi (30%). Dan kedua subtipe tersebut sebagian besar mengekspresikan *cyclooxygenase-2* dan mempunyai intensitas (3) dan imunoreaktivitas (skor 9) yang kuat terhadap pulasan *cyclooxygenase-2* dilihat tabel 2 dan 3. Penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya Bai dan Tan menyatakan bahwa hubungan antara ekspresi *cyclooxygenase-2* dan subtipe histologi tidak jelas ($p > 0,05$).

KESIMPULAN

Berdasarkan analisis hasil imunoreaktivitas *cyclooxygenase-2* pada kasus kedua subtipe karsinoma nasofaring didapatkan intensitas dan imunoreaktivitas yang kuat dan positifitas yang tertinggi ditemukan pada karsinoma nasofaring tidak berkeratin tidak berdiferensiasi dibandingkan karsinoma nasofaring tidak berkeratin subtipe

berdiferensiasi dan ini dapat ditentukan tingkat ekspresi *cyclooxygenase-2* pada ke-2 subtipe. Penelitian ini didapatkan korelasi tidak bermakna antara ekspresi *cyclooxygenase-2* dan subtipe histopatologi karsinoma nasofaring. Kedua subtipe sama kuat mengekspresikan *cyclooxygenase-2* dan dapat digunakan sebagai data awal suatu manajemen terapi karsinoma nasofaring.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chan ATC, Teo PML, Jhonson PJ. Review nasopharyngeal carcinoma. *Annals of Oncology*. 2002;(13):1007-15
2. Zeng MS, Zeng YX. Pathogenesis and etiology of nasopharyngeal carcinoma. In: *Nasopharyngeal Cancer*. Medical Radiology; Springer; 2010:p9-25
3. Chan JKC, Bray F, McCarron P, Foo W, Lee AWM, Yip T, Kuo TT, *et al*. Nasopharyngeal carcinoma. In: Leon B, John WE, Peter R, David S, editors. *WHO classification of tumours pathology and genetics head and neck tumours*. Lyon, France: IARC Press; 2005:p83-97
4. Stewart BW, Kleihus P, Editors. *World cancer report*. Lyon: IARC Press. 2003
5. Armand JP, Bernier J, Bossi P. Cancer of nasopharynx. *START Oncology in Europe*. 2004. Available from: <file:///E:/Cancer%20of%20nasopharynx.htm#> (Accessed: Des 20,2010)
6. Renske F, Maarten AW, Beni S, Sofia MH, Bing T. Knowledge of general practitioners about nasopharyngeal cancer at the puskesmas in Yogyakarta, Indonesia. *BMC medical education* 2010 november; 10(81); 1-6. Availabel from <http://www.biomedcentral.com/> (Accessed: Jan 19,2011)
7. Huang TL, Li CF, Huang HY, Fang FM. Correlation between expression of epidermal growth factor receptor (EGFR), phosphorylated EGFR, cyclooxygenase-2 and clinicopathological variables and treatment outcomes in nasopharyngeal carcinomas. *Chang Gung Med J*: 2010; 33(6):619-26 (Accessed: March 2,2011)
8. Tan KB, Putti TC. Cyclooxygenase 2 expression in nasopharyngeal carcinoma: immunohistochemical finding and potential implication. *J Clin Pathol* 2005;58:535-8
9. Sobolewski C, Cerella C, Dicato M, Ghibelli L, Diederich M. Review article The role of

- cyclooxygenase-2 in proliferation and cell death in human malignancies. *International Journal of Cell Biology*: 2010:1-21
10. Kim K, Wu HG, Park SW, Kim SJ, Park CI. Expression of cyclooxygenase-2 (cox-2) as a prognostic factor in nasopharyngeal cancer. *Cancer Research and Treatment*: 2004;36(3):187-91
 11. Soo R, Putti T, Tao Q, Goh BC, Lee KH, et al. Overexpression of cyclooxygenase-2 in nasopharyngeal carcinoma and association with epidermal growth factor receptor expression. *Arch otolaryngol head neck surg* 2005;131:147-52
 12. Tan LKS, Loh WS, editors. Cyclooxygenase-2 over-expression found in nasopharyngeal carcinoma. *Proceeding of the 106th annual meeting of the American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery Foundation*; 2002 September; San Diego, CA; 2002
 13. Bai W, Tang J. The expression and relationship of cyclooxygenase-2 and latent membrane protein-1 in nasopharyngeal carcinoma. *Journal of clinical otorhinolaryngology head and neck surgery*: 2009 Feb;23:105-8
 14. Murono S, Inoue H, Tanabe T, Joab I, Yoshizaki T, Furukawa M, *et al*. Induction of cyclooxygenase-2 by epstein-barr virus latent membrane protein 1 is involved in vascular endothelial growth factor production in nasopharyngeal carcinoma cell. *PNAS* 2001 june;98(12):6905-10 (Accessed: Jan 11,2011).