

Laporan Penelitian**Hubungan antara kadar DNA EBV plasma dengan stadium klinis KNF WHO tipe 3****Putranti Dyahayu Roziaty, Soehartono, Hendradi Surjotomo**Departemen Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok-Bedah Kepala dan Leher
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/ Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar
Malang**ABSTRAK**

Latar belakang: Karsinoma nasofaring (KNF) merupakan keganasan yang tersering ditemukan, dan berdampak pada penurunan kualitas hidup serta memiliki mortalitas tinggi. Penanganan KNF selama ini terkendala oleh waktu tunggu yang cukup lama dalam menentukan *staging* KNF terutama untuk antrian pemeriksaan *computed tomography scan (CT scan)* dan *Ultrasonography (USG)*. Pemeriksaan kadar DNA EBV (*Deoxyribonucleic acid Epstein-Barr Virus*) pada pasien yang relatif lebih mudah dan terjangkau dapat digunakan untuk memprediksi stadium dan prognosis KNF. Dengan demikian, maka diharapkan penatalaksanaan terhadap KNF dapat segera dilakukan. **Tujuan:** Mengetahui apakah kadar DNA EBV dapat dipakai untuk memprediksi stadium dan prognosis KNF dengan cara mencari hubungan antara kadar DNA EBV dengan stadium KNF. **Metode:** Penelitian *cross sectional* melibatkan 15 subjek penelitian yang terdiagnosis KNF WHO tipe 3 kemudian dilakukan *staging* dengan *CT scan*, USG abdomen, foto toraks, serta diambil sampel darah untuk diukur kadar DNA EBV. **Hasil:** Seluruh subjek penelitian mengalami peningkatan kadar DNA EBV sesuai dengan peningkatan stadium KNF. Peningkatan stadium KNF berhubungan signifikan dengan peningkatan kadar DNA EBV ($p=0,001$). Ukuran tumor (T) berhubungan signifikan dengan kadar DNA EBV ($p=0,023$), ukuran nodul (N) berhubungan signifikan dengan kadar DNA EBV ($p=0,005$), ada tidaknya metastasis tidak berhubungan signifikan dengan kadar DNA EBV ($p=0,398$). Nilai *cut off* kadar DNA EBV sebesar 952 kopi/ml. **Kesimpulan:** Terdapat hubungan yang signifikan antara kadar DNA EBV dengan stadium klinis, dengan demikian kadar DNA EBV dapat dipertimbangkan untuk digunakan sebagai prediktor stadium dan prognosis KNF.

Kata kunci: karsinoma nasofaring, stadium karsinoma nasofaring, kadar DNA EBV**ABSTRACT**

Background: Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is the predominant tumor type arising in the nasopharynx, with a high mortality and affecting quality of life. NPC treatment management is hindered by long queues of Computed Tomography Scan (CT scan) and Ultrasonography (USG) examinations to ascertain the NPC staging. The examination of Epstein-Barr Virus (EBV) DNA level is relatively simpler and inexpensive to predict the NPC staging and prognosis, thus, it can speed up NPC treatment. **Objective:** To determine whether EBV DNA level can be used to predict the NPC stage and prognosis by finding a correlation between EBV DNA level and NPC stage. **Method:** This was a cross-sectional study involving 15 respondents who were diagnosed as WHO type 3 NPC, and examined by CT scan, abdominal ultrasound, chest X-ray, and blood test for measuring the levels of EBV DNA to determine the stage. **Results:** All respondents had elevated levels of EBV DNA in accordance with NPC stage elevation. Increased NPC stages were significantly correlated with elevated levels of EBV DNA ($p=0.001$). The size of tumor (T) was significantly correlated with EBV DNA ($p=0.023$), the size of nodule (N) was significantly correlated with EBV DNA ($p=0.005$). The presence or absence of metastasis did not significantly correlate with EBV DNA ($p=0.398$). The EBV DNA cut off value was 952 copies/ml. **Conclusions:** There was a significant correlation between EBV DNA levels and clinical stages, hence EBV DNA can be considered to be used as NPC staging and prognosis predictor.

Keywords: *nasopharyngeal carcinoma, stage of nasopharyngeal carcinoma, EBV DNA level*

Alamat korespondensi: dr. Putranti Dyahayu Roziaty. Departemen Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok-Bedah Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/ RSUD Dr. Saiful Anwar Malang. Email: v_netz@yahoo.com

PENDAHULUAN

Pasien dengan KNF di Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar Malang (RSSA) terkendala dengan lamanya menunggu antrian *computed tomography scan (CT scan)* dan *Ultrasonography (USG)*, sehingga penatalaksanaan kemoterapi atau radioterapi bisa tertunda yang mengakibatkan semakin buruknya perjalanan penyakit. Selain antrian lama dan biaya mahal, *expertise* pencitraan terutama CT scan tiap radiolog berbeda-beda, sehingga bisa menyebabkan interpretasi *staging* penyakit yang berbeda pula. Pemeriksaan DNA EBV yang lebih mudah dan singkat dalam pelaksanaannya, serta dengan harga relatif terjangkau dapat dipakai untuk memprediksi stadium dan prognosis KNF. Selain itu, kadar DNA EBV lebih objektif karena pengukurannya sudah terstandarisasi secara internasional, sehingga tidak menimbulkan *expertise* yang bervariasi. DNA EBV mulai terdeteksi saat infeksi primer EBV pada individu yang terkena KNF. Kadar ini menggambarkan kondisi nyata status tumor yang selama ini dikenal dengan sistem *staging* TNM.¹

Saat ini pemilihan terapi KNF selain didasarkan oleh stadium klinis dan status fungsional pasien juga mempertimbangkan pula prognosis penyakit. Kadar DNA EBV yang tinggi pre terapi menandakan prognosis buruk yang berhubungan dengan stadium lanjut, keterlibatan saraf kranialis dan metastasis.² Apabila prognosis pasien telah diketahui sejak awal maka dapat ditentukan arah pengobatan pasien. Pasien dengan prognosis yang baik maka tujuan terapi adalah tercapainya remisi penyakit dengan modalitas terapi dan penunjang yang optimal,

sedangkan pasien dengan prognosis buruk terapi ditujukan untuk tujuan paliatif serta meningkatkan kualitas hidup pasien.³ Untuk pasien dengan prognosis baik maka dapat dilakukan komunikasi dengan pihak radiologi untuk mendapatkan jadwal pemeriksaan lebih cepat.

Dengan mencari hubungan antara kadar DNA EBV dengan stadium klinis pasien KNF WHO tipe 3, maka dapat diketahui apakah kadar EBV dapat digunakan sebagai prediktor prognosis KNF WHO tipe 3, sehingga dapat dipakai sebagai dasar penentuan prognosis dan pertimbangan pemilihan terapi KNF.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional* untuk menelaah hubungan antara kadar DNA EBV dengan stadium klinis pasien KNF WHO tipe 3. Penelitian dilakukan setelah didapatkan *ethical clearance*. Berdasarkan perhitungan didapatkan besar subjek penelitian minimal sebanyak 15 orang.

Pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan teknik *consecutive sampling*. Kriteria inklusi kelompok kasus adalah pasien yang telah terdiagnosis KNF WHO tipe 3 yang datang berobat di klinik Telinga Hidung Tenggorok (THT) RSSA yang belum mendapat terapi. Pasien yang dieksklusikan bila didapatkan penyakit yang bisa menyebabkan imunodefisiensi seperti: penderita DM, HIV/AIDS, hepatitis, riwayat operasi pada organ limpa (*splenectomy*).

Subjek yang bersedia mengikuti penelitian dilakukan pemeriksaan CT Scan kepala leher, USG abdomen, dan foto toraks

untuk mengetahui stadium penyakit. Setelah itu dilakukan pemeriksaan kadar DNA EBV dengan menggunakan teknik *real time* PCR di laboratorium biologi molekuler RS Saiful Anwar Malang dengan alat dan *reagen kit* merk Bioner.

Kadar DNA EBV plasma adalah DNA dari virus Epstein-Barr yang ditemukan pada plasma dan dapat digunakan sebagai penanda terjadinya KNF, diukur dengan alat DNA EBV *real time PCR kit*, dengan satuan kopi/ml. Stadium KNF adalah derajat keparahan (*severity*) dari KNF, dibagi menjadi 4 stadium berdasarkan klasifikasi UICC edisi 7 tahun 2010.

Semua data yang diperoleh akan diolah menggunakan program *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) 23.0.0. Normalitas variabel dicek dengan tes Kolmogorov Smirnov. Hubungan antara kadar DNA EBV dengan stadium klinis pasien KNF WHO tipe 3 dianalisis dengan menggunakan *One Way Anova*.

HASIL

Penelitian dilakukan pada bulan September 2017–Februari 2018 dengan jumlah sampel 15 orang yang memenuhi kriteria penelitian. Karakteristik umum subjek penelitian meliputi jenis kelamin, usia, dan sosio-ekonomi tercantum dalam tabel 1.

Hubungan kadar DNA EBV dengan stadium klinis penderita KNF WHO tipe 3 diuji dengan *One Way Anova* dengan nilai $p=0,001$, artinya terdapat hubungan yang signifikan antara stadium klinis penderita KNF dengan kadar DNA EBV.

Selanjutnya dari uji *One Way Anova* dapat diketahui pula hubungan kadar DNA EBV dengan tiap stadium. Dari hasil tersebut didapatkan terdapat hubungan yang signifikan antara kadar DNA EBV stadium 2 dengan kadar DNA EBV stadium 4 serta terdapat hubungan yang signifikan antara

kadar DNA EBV stadium 3 dengan kadar DNA EBV stadium 4 ($p<0,05$). Sedangkan hubungan antara kadar DNA EBV stadium 2 dengan kadar DNA EBV stadium 3 didapatkan hubungan yang tidak signifikan ($p>0,05$).

Hubungan antara kadar DNA EBV dengan ukuran tumor yang dinyatakan dengan singkatan T dalam *staging* TNM dianalisis dengan *One Way Anova*, didapatkan hasil yang signifikan dengan $p=0,023$. Artinya terdapat hubungan yang signifikan antara kadar DNA EBV dengan peningkatan ukuran tumor (T). Hubungan antara kadar DNA EBV dengan ukuran nodul (N) dianalisis dengan *One Way Anova*, didapatkan hasil yang signifikan dengan $p=0,005$, artinya terdapat hubungan yang signifikan antara kadar DNA EBV dengan peningkatan ukuran nodul. Hubungan antara kadar DNA EBV dengan ada atau tidaknya metastasis jauh (M) dianalisis dengan *independent sample T test*, didapatkan hasil yang tidak signifikan ($p=0,398$), artinya tidak ada hubungan antara kadar DNA EBV dengan ada atau tidaknya metastasis jauh.

Tabel 1. Karakteristik umum

Karakteristik umum	N	%
Jenis kelamin		
Laki-laki	10	66,67
Perempuan	5	33,33
Kelompok usia		
36-45 tahun	5	33,33
46-55 tahun	4	26,67
56-65 tahun	6	40
Pendidikan		
Rendah	6	40
Tinggi	9	60
Pekerjaan		
Tidak bekerja	5	33,33
Bekerja	10	66,67
Status ekonomi		
Rendah	10	66,67
Tinggi	5	33,33

Tabel 2. Karakteristik klinis subjek penelitian

Karakteristik klinis	N	%
Keluhan		
Keluhan telinga: dengung / nyeri / kurang dengar	12	80
Keluhan hidung: mimisan	9	60
Pandangan ganda	5	33,33
Benjolan di leher	15	100
	10	100
Pemeriksaan fisik		
Telinga: retraksi / perforasi / <i>air bubble</i>	11	73,33
Massa nasofaring	15	100
Benjolan leher	15	100
Parese saraf kranial	5	33,33
Stadium		
I	0	0
II	4	26,67
III	4	26,67
IV A	1	6,67
IV B	3	20
IV C	3	20
Skor karnofsky		
50	1	6,67
60	4	26,67
70	5	33,33
80	4	26,67
90	1	6,67

Cut off value adalah nilai yang ditetapkan sebagai nilai batas antara normal dan abnormal atau nilai batas hasil uji positif dan hasil uji negatif. Dalam penelitian ini peneliti mencari nilai *cut off* kadar DNA EBV sebagai penanda pasien dengan prognosis baik atau prognosis buruk. Nilai *cut off* dicari dengan menggunakan program *Receiver Operator Curve* (ROC) untuk menentukan titik potong yang menggambarkan tawar-menawar antara sensitivitas dan spesifisitas. Dari kurva ROC didapatkan *cut off value* untuk kadar DNA EBV adalah 952 kopi/ml.

DISKUSI

Kadar DNA EBV banyak dipakai untuk memonitor progresivitas penyakit

Tabel 3. Rerata kadar EBV DNA tiap stadium

Stadium	Rerata EBV DNA (kopi/ml)
Stadium II	684± 211,41
Stadium III	1894 ±1282,37
Stadium IV	14063 ± 6841,21

dan keberhasilan terapi KNF. Menurut *Guideline NCCN 2015* direkomendasikan pemeriksaan DNA EBV setiap 6-12 bulan untuk mengetahui aktivasi virus EBV dalam serum pasien KNF pasca terapi.⁴ Kadar DNA EBV digunakan karena sensitif terhadap perubahan jumlah virus EBV yang akan turun kadarnya pasca dilakukan kemoterapi atau radiasi.⁵ DNA EBV sudah rutin dilakukan di luar negeri, namun di Indonesia belum merupakan suatu prosedur rutin karena terbatasnya sarana laboratorium yang dapat melakukan pemeriksaan molekuler DNA.

Pemilihan terapi KNF didasarkan atas stadium penyakit dan status fungsional pasien. Stadium penyakit diperoleh dari pemeriksaan fisik ditunjang dengan pemeriksaan CT scan, USG abdomen, dan foto toraks. Pada kenyataannya banyak pasien KNF yang terpaksa ditunda pengobatannya karena menunggu antrian pemeriksaan penunjang tersebut. Dengan pemeriksaan DNA EBV yang relatif tidak memakan waktu lama, maka dapat diketahui prognosis pasien. Apabila prognosis pasien telah diketahui sejak awal maka dapat ditentukan arah pengobatan pasien. Pada pasien dengan prognosis yang baik maka tujuan terapi adalah tercapainya remisi penyakit dengan modalitas terapi dan penunjang yang maksimal, sedangkan pasien dengan prognosis buruk terapi ditujukan untuk tujuan paliatif serta meningkatkan kualitas hidup pasien.

Perbandingan jumlah laki-laki dan perempuan adalah 2:1. Adham⁶ melaporkan KNF terjadi lebih sering pada pria dibandingkan pada wanita dengan rasio laki-laki perempuan sebesar 2,8:1 dengan gambaran histopatologi terbanyak adalah

undifferentiated carcinoma. Subjek penelitian terbanyak adalah kelompok usia lansia akhir (56-65 tahun). Menurut Saragih⁷ usia rata-rata penderita KNF adalah kelompok usia 45-55 tahun dengan kasus kejadian KNF paling banyak terjadi pada usia 40-60 tahun, dan pada usia dibawahnya terdapat peningkatan kasus pada usia 10-20 tahun.

Sosio-ekonomi yang rendah berhubungan dengan lingkungan dan kebiasaan hidup yang buruk. Kelompok masyarakat sosio-ekonomi rendah cenderung terlambat untuk didiagnosis karena keterbatasan akses ataupun biaya untuk deteksi dini. Oleh karena itu, diperlukan kepedulian terhadap peningkatan pengetahuan tentang kesehatan, sehingga tidak terjadi keterlambatan diagnosis maupun penatalaksanaan penyakit yang dapat mengakibatkan prognosis menjadi lebih buruk.⁸

Benjolan di leher merupakan salah satu tanda penyebaran kanker ke kelenjar getah bening sekitar, dan hal ini pada sebagian besar pasien KNF merupakan penyebab datang berobat ke pelayanan kesehatan. Subjek penelitian yang masuk dalam kategori stadium lanjut (stadium III, IV) adalah sebanyak 11 orang (73,33%). Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar penderita KNF datang berobat ke layanan kesehatan sudah dalam keadaan stadium lanjut dengan gejala penyebaran di luar nasofaring dikarenakan gejala dan tanda awal KNF sering tidak spesifik. Selain itu nasofaring merupakan daerah yang sulit diperiksa khususnya bagi dokter di layanan kesehatan primer, sehingga KNF sering didiagnosis pada tahap lanjut bila dibandingkan dengan keganasan kepala leher lainnya.^{9,10}

Setelah dilakukan analisis kadar DNA EBV pada 15 pasien, didapatkan kadar DNA EBV semakin meningkat sesuai dengan peningkatan stadium KNF. Hal ini sesuai dengan banyak penelitian yang menyatakan keterkaitan yang tinggi antara virus Epstein-Barr sebagai penyebab terbanyak KNF

WHO tipe 3. Rerata kadar DNA EBV pada tiap stadium mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan stadium, yang menandakan *viral load* EBV berperan penting dalam progresivitas KNF. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Shao¹³ pada populasi KNF di China yang menunjukkan peningkatan rerata nilai DNA EBV tiap kenaikan stadium.^{11,12-}

Pada penelitian ini rata-rata kadar DNA EBV pada stadium awal (stadium II) sebesar 684 kopi/ml, sedangkan rata-rata kadar DNA EBV pada stadium lanjut (stadium III-IV) sebesar 1450 kopi/ml. Jumlah *viral load* ini berbeda dengan *viral load* DNA EBV yang dilakukan pada pasien KNF di China yaitu rata-rata kadar DNA EBV pada stadium dini sebesar 6200 kopi/ml, sedangkan pada stadium lanjut 9280 kopi/ml. Perbedaan ini kemungkinan dipengaruhi oleh variasi geografi dan variasi genetik yang berbeda. Kadar DNA EBV lebih tinggi pada penderita KNF yang tinggal di daerah yang prevalensi kejadian KNF lebih tinggi.¹³

Dari uji *One Way Anova* dapat diketahui pula hubungan kadar DNA EBV dengan tiap stadium. Dari hasil tersebut didapatkan terdapat hubungan yang signifikan antara kadar DNA EBV stadium 2 dengan kadar DNA EBV stadium 4, serta terdapat hubungan yang signifikan antara kadar DNA EBV stadium 3 dengan kadar DNA EBV stadium 4 ($p < 0,05$). Rerata perbedaan kadar DNA EBV antara stadium 2 dengan stadium 4 serta rerata kadar DNA EBV antara stadium 3 dengan stadium 4 menunjukkan angka yang cukup jauh berbeda dan hal ini signifikan secara statistik, sedangkan antara kadar DNA EBV stadium 2 dengan kadar DNA EBV stadium 3 didapatkan hubungan yang tidak signifikan ($p > 0,05$). Rerata kadar DNA EBV antara stadium 2 dan stadium 3 tidak menunjukkan perbedaan yang cukup jauh. Berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Shao¹³ dimana terdapat perbedaan yang signifikan di antara tiap stadium. Hal ini kemungkinan

karena ukuran tumor pada stadium 2 masih berukuran kecil dan terlokalisir, sehingga tidak cukup banyak melepaskan DNA tumor ke dalam sirkulasi yang sensitif terdeteksi oleh PCR. Jumlah DNA tumor yang bersirkulasi ditentukan oleh stadium tumor, ukuran, lokasi, dan respon terhadap terapi. DNA tumor dapat dilepaskan dari tumor primer, sel tumor yang bersirkulasi, dan mikrometastasis.¹⁴

Kadar DNA EBV memiliki hubungan yang signifikan dengan T, N, dan M.¹⁵ DNA EBV berasal dari tumor primer di nasofaring yang menyebabkan infeksi litik dengan cara memicu ekspansi kapiler, mengubah lokasi protein DNA, aktivasi gen, respon kerusakan DNA, dan mutasi DNA selama replikasi virus.¹ Jumlah *viral load* paling tinggi didapat pada saat terjadi infeksi litik dimana protein fase litik menyebabkan *apoptosis resistance* dan *immune evasion*. Protein fase litik seperti BARF1 dan BHRF1 bersifat homolog dgn Bcl-2 yang bersifat anti apoptosis, sedangkan protein BNLF2a berperan dalam *immune evasion* dengan cara menghambat presentasi antigen tumor kepada sel T dan protein BILF1 yang membuat degradasi MHC kelas 1.¹⁶

Dalam pertumbuhannya sel tumor membutuhkan oksigen dan energi yang harus ditunjang dengan pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis). *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) adalah sinyal kunci yang digunakan oleh sel yang kekurangan oksigen (*oxygen-hungry cells*) untuk memicu pertumbuhan pembuluh darah, terutama dalam hal ini yaitu sel tumor. Keadaan hipoksia adalah salah satu mekanisme utama yang meregulasi VEGF. *Hypoxia inducible factor-1* (HIF-1 α) merupakan mediator utama terhadap respon hipoksia tersebut. *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) selain distimulasi oleh hipoksia juga diinduksi oleh onkogen (ras) dan inaktivasi gen supresor tumor (p53) serta berbagai sitokin.^{17,18}

Pembuluh darah yang baru terbentuk akan membuat sel kanker tumbuh dengan

cepat, dan semakin banyak mengeluarkan VEGF, sehingga semakin memicu tumbuhnya jaringan pembuluh darah baru. Ketika VEGF diekspresikan, sel tumor dapat terus tumbuh dan bermetastasis. *Tissue factor* (TF), berperan juga dalam kejadian metastasis, angiogenesis, dan juga pertumbuhan tumor. Mekanismenya melalui ikatan faktor VIIa dengan TF mengakibatkan proteolisis PAR-2 (*protease activated factor*) dan fosforilasi dominan sitoplasma TF, sehingga mengaktifasi jalur sinyal sel yang menyebabkan angiogenesis, kelangsungan hidup sel ganas, dan metastasis. Selain itu PTGS2 and NF- κ B berperan pula pada angiogenesis kanker.^{15,18}

Proses infeksi fase litik, selain terjadi angiogenesis terjadi pula replikasi viral genome sebesar 100–1000 kali lipat. Untuk mempertahankan konsentrasi *viral load* DNA EBV sebesar 5000 kopi/ml, yang merupakan jumlah rata-rata *viral load* pasien stadium dini KNF, sel tumor perlu untuk melepaskan 125 juta kopi DNA EBV ke dalam sirkulasi setiap hari.¹⁹

Dapat disimpulkan bahwa pada proses pembentukan tumor diikuti dengan proses replikasi virus, sehingga semakin bertambahnya ukuran tumor (T) melalui mekanisme angiogenesis akan semakin meningkatkan *viral load* DNA EBV melalui proses replikasi viral genome.

Pada penelitian ini kadar DNA EBV berpengaruh secara signifikan terhadap ukuran nodul (N). Hal ini sesuai dengan teori limfangiogenesis oleh Ma dan Sun yang menjelaskan penyebaran EBV ke kelenjar limfe sekitarnya dalam patogenesis metastasis regional EBV.^{15,18}

Limfangiogenesis diperlukan untuk metastasis sel karsinoma melalui pembuluh limfe dan selanjutnya ke kelenjar limfe. Metastasis limfogen cenderung terjadi pada karsinoma stadium lanjut dan derajat histologis buruk, karena pada karsinoma tersebut proliferasi sel berat, sehingga terjadi hipoksia. Keadaan hipoksia akan

memacu HIF-1 α yang bersifat stabil karena berdimerisasi dengan HIF-1 β . Selanjutnya kompleks tersebut berikatan dengan *hypoxia element response* (HER) dan mengaktifkan gen VEGF termasuk gen VEGF-C yang berperan penting untuk memproduksi protein VEGF-C. VEGF-C berikatan dengan reseptornya yaitu VEGFR-3, akan memacu proliferasi, maturasi, dan diferensiasi sel endotel limfatika, sehingga terbentuk vasa limfatika baru atau dikenal sebagai kepadatan limfovaskular. Kepadatan limfovaskular yang tinggi memacu sel tumor untuk invasi ke pembuluh limfe baru dan selanjutnya metastasis ke kelenjar limfe. Pembuluh limfe yang baru cenderung mempunyai dinding yang lebih tipis dan sedikit sel perisit, sehingga memudahkan sel karsinoma untuk metastasis. Proses tersebut juga dipengaruhi oleh sitokin yang dihasilkan oleh sel tumor, misalnya CXCR 12 dan CCL21, yang memudahkan sel kanker invasi ke pembuluh limfe.¹⁵

Pada penelitian ini DNA EBV tidak berhubungan secara signifikan dengan metastasis jauh, hal ini tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa terdapat hubungan signifikan antara kadar DNA EBV dengan metastasis. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya pasien dalam sampel penelitian dengan metastasis yang mempunyai kadar DNA EBV yang rendah. Dalam penelitian ini terdapat 3 orang pasien KNF stadium IV metastasis hepar dengan kadar DNA EBV terendah yaitu 8.700 kopi/ml, sedangkan rata-rata kadar DNA EBV pada stadium 4 sebesar 14063 kopi/ml. Hal ini bisa terjadi karena virus mengalami proses fragmentasi (terpecah-pecah) akibat proses apoptosis, sehingga ukuran DNA EBV sangat kecil dan tidak terdeteksi pada fotoforesis PCR. Kadar DNA EBV yang tidak terdeteksi sama sekali pada pasien KNF berkisar sekitar 5% dari populasi.⁶

Dari kurva ROC didapatkan *cut off value* untuk kadar DNA EBV adalah 952 kopi/ml. Hal ini mempunyai makna kadar DNA EBV <952 kopi/ml mempunyai prognosis yang baik, sedangkan kadar DNA EBV >952 kopi/ml. Berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Hui²⁰ yang menetapkan kadar DNA EBV 4000 kopi/ml sebagai *cut off* prognosis pada pasien di Cina Selatan. Hal ini karena kadar DNA EBV lebih tinggi pada pasien yang tinggal di daerah dengan prevalensi KNF yang tinggi, dan Cina Selatan merupakan daerah dengan prevalensi KNF yang paling tinggi di seluruh dunia.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat hubungan yang signifikan antara stadium KNF yang meliputi ukuran tumor (T) dan ukuran nodul (N) dengan kadar DNA EBV, serta terdapat hubungan yang tidak signifikan antara metastase jauh (M) dengan kadar DNA EBV. Kadar DNA EBV dapat digunakan sebagai prediktor prognosis pada KNF WHO tipe 3.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yao J, Lin L, Jin Y, Wang S, Zhang W, Zhang F, et al. Prognostic Value of Serum Epstein-Barr Virus Antibodies in Patients With Nasopharyngeal Carcinoma. *Cancer Sci*. 2017; 108:1640–7.
2. Tabuchi K, Nakayama M, Nishimura B, Hayashi K, Hara A. Early Detection of Nasopharyngeal Carcinoma. *International Journal of Otolaryngology*. 2014; 32(2):1–9.
3. Cartwright L, Dumenci L, Siminoff L, Matsuyama R. *Cancer Patients: Understanding of Prognostic Information J Cancer Educ*. 2014; 29(2):311–7.
4. NCCN. In: *Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines)*. 2015
5. Leung S, Zee B, Ma B, Hui E, Mo F, Lai M, et al. Plasma Epstein-Barr Viral Deoxyribonucleic Acid Quantitation Complements Tumor-Node-Metastasis Staging Prognostication in Nasopharyngeal Carcinoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2014; 24(34):5414–8.

6. Adham M. The Role of EBV Markers in Diagnosis, Treatment and Monitoring of Nasopharyngeal Carcinoma in Jakarta, Indonesia. 2014.
7. Saragih A. Selayang Pandang Karsinoma Nasofaring di Indonesia. In: Pertemuan Nasional I Penatalaksanaan Karsinoma Nasofaring di Indonesia. Malang: PP PERHATI-KL; 2013.
8. Christanti J, Prasetyo A. Tingkat Ketahanan Hidup Penderita Kanker Nasofaring pada Berbagai Modalitas Terapi. *M Med Indonesia*. 2014; 46(2):138–46.
9. Liao L, Lai M. Epstein Barr Virus Serology in The Detection and Screening of Nasopharyngeal Carcinoma. *Intech*. 2015:83–92.
10. Ouyang P, Su Z, Mao Y, Liang X, Liu Q, Xie F. Prognostic Impact of Family History in Southern Chinese Patients with Undifferentiated Nasopharyngeal Carcinoma. *Br J Cancer*. 2014; 109(3):788–94.
11. Wei W, Chua D. Nasopharyngeal Carcinoma. In: Johnson J, Rosen C, editors. *Bailey's Head and Neck Surgery Otolaryngology*. Fifth ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2014. p. 1875–97.
12. Chan J, Wong S. The Role of Plasma Epstein-Barr Virus DNA in Nasopharyngeal Carcinoma. *Molecular Biomarkers and Diagnosis*. 2015; 5(4):1–5.
13. Shao J, Li Y, Gae H, Wu Q, Cui N, Zhang L, et al. Comparison of Plasma Epstein-Barr Virus (EBV) DNA Levels and Serum EBV EBV Immunoglobulin A/Virus Capsid Antigen Antibody Titers in Patients with Nasopharyngeal Carcinoma. *Cancer*. 2014; 100:1162–70.
14. Allen K, Jhon K, King FA, Benny C, Jacky W, Chan S, et al. Analysis of Plasma Epstein-Barr Virus DNA to Screen for Nasopharyngeal Cancer. *The New England Journal of Medicine*. 2017; 377(6).
15. Sun R, Wang X, Li X. Correlation Analysis of Nasopharyngeal Carcinoma TNM Staging with Serum EA IgA and VCA IgA in EBV and VEGF-C and -D. *Medical Science Monitor*. 2015; 21:2105–9.
16. Cao S, Zhiawei L, Jia W, qQHong, Qing L. Fluctuation of Epstein-Barr Virus Serological Antibodies and Risk for Nasopharyngeal Carcinoma: A Prospective Screening Study with a 20-Year Follow Up *PLoS One*. 2014; 6(4):1–10.
17. Hendarsih E, Oehadian A, Sumantri R, Supandiman I, Hernowo B. Ekspresi Vascular Endothelial Growth Factor dan Ekspresi Tissue Factor berdasarkan Respon Terapi Kemoradiasi Cisplatin pada Penderita Karsinoma Nasofaring Stadium Lanjut. *Majalah Kedokteran Bandung*. 2014; 47(1):49–54.
18. Ma J, Huang K, Huang Z. Analysis of Angiogenesis and Lymphangiogenesis Signaling Pathway Based on Gene Expression Patterns of Nasopharyngeal Carcinoma. *Journal of Soutjern Medical University*. 2014; 32(11):1553–8.
19. Tiwawech D, Srivatanakul P, A AK, Ishida T. Significance of Plasma IgA and IgG Antibodies to Epstein-Barr Virus Early and Viral Capsid Antigens in Thai Nasopharyngeal Carcinoma. *Asian Pasific Journal Cancer Prevention*. 2014; 4:113–7.
20. Hui E, Chan A, Thule Q. Treatment for Early and Locoregionally Nasopharynx Carcinoma. *Clinical Cancer Research*. 2016; 10:321–30.