

## Laporan Penelitian

## Pengaruh kemoterapi neoadjuvant terhadap ekspresi NFκB dan c-myc pada karsinoma nasofaring jenis *undifferentiated*

Farida Nurhayati \*, Muhardjo \*, Made Setiamika \*, Dyah Ratna Budiani\*\*

\* SMF IK THT-KL Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

Rumah Sakit Dr. Moewardi Surakarta

\*\* SMF Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

### ABSTRAK

**Latar belakang:** Patogenesis Karsinoma Nasofaring (KNF) banyak dikaitkan dengan infeksi virus Epstein Barr. Virus ini menyebabkan jaringan mengekspresikan *Nuclear Factor Kappa Beta* (NFκB). NFκB dan c-myc merupakan faktor transkripsi, yang menyebabkan proliferasi jaringan. Adanya ekspresi NFκB dan c-myc merupakan dua faktor penting sebagai penanda terjadinya keganasan. Pemberian kemoterapi *neoadjuvant* diharapkan dapat menghambat proses proliferasi dan menyebabkan terjadinya apoptosis.

**Tujuan:** Mengetahui pengaruh kemoterapi *neoadjuvant* terhadap ekspresi NFκB dan c-myc pada KNF jenis *undifferentiated* dan hubungan antara ekspresi NFκB dan c-myc. **Metode dan bahan penelitian:** Penelitian eksperimen kuasi dengan rancangan *one group before and after intervention*. Sebanyak 10 sampel dari jaringan biopsi KNF jenis *undifferentiated*, masing-masing dilakukan pemeriksaan ekspresi NFκB dan c-myc sebelum dan sesudah pengobatan. Analisa dengan *Uji statistik Wilcoxon signed Ranks test* dan *Spearman's* menggunakan SPSS 15.0 program *underwindow*. **Hasil penelitian:** Setelah kemoterapi *neoadjuvant* terjadi peningkatan signifikan ( $p=0,005$ ) ekspresi NFκB ( $1,11 \pm 1,14$  dibanding  $4,92 \pm 2,79$ ) dan terjadi peningkatan signifikan ( $p=0,025$ ) ekspresi c-myc ( $1,15 \pm 0,78$  dibanding  $3,04 \pm 1,91$ ). Analisis hubungan antara ekspresi NFκB dengan c-myc pada KNF jenis *undifferentiated* memenuhi garis linier dan signifikan ( $p=0,001$ ). **Kesimpulan:** Terdapat peningkatan ekspresi NFκB dan c-myc sesudah kemoterapi *neoadjuvant* yang signifikan pada KNF jenis *undifferentiated*. Terdapat hubungan signifikan antara ekspresi NFκB dengan c-myc pada KNF jenis *undifferentiated*.

**Kata kunci:** karsinoma nasofaring, kemoterapi neoadjuvant, NFκB dan c-myc

### ABSTRACT

**Background:** Epstein Barr, virus (EBV) infection has been frequently related with Nasopharyngeal Carcinoma (NPC), this virus makes the tissue of nasopharyng express Nuclear Factor Kappa Beta (NFκB). NFκB and c-myc are two transcriptional factor for proliferation. NFκB and c-myc are two sign system for malignancy. The administration of neoadjuvant chemotherapy may prevent the apoptosis and inhibit the proliferation. **Purpose:** To evaluate the effect of neoadjuvant chemotherapy upon the expression level of NFκB and c-myc in undifferentiated NPC. **Method:** Quasi Experimental research by one group before and after intervention design. Ten sampels were collected from nasopharyngeal biopsy tissue which had been diagnosed as undifferentiated NPC. Wilcoxon signed Ranks test and Spearman's were used to analized data, utilizing SPSS 15.0 underwindows program. **Result:** After neoadjuvant chemotherapy, there were significant increase ( $p=0.005$ ) for expression of NFκB ( $1.11 \pm 1.14 / 4.92 \pm 2.79$ ) and significant increase for expression of c-myc ( $1.15 \pm 0,78 / 3.04 \pm 1.91$ ). There were significant corelation between expresion of NFκB and c-myc in undifferentiated NPC ( $p=0.001$ ). **Conclusion:** There were significant increase in expression of NFκB and c-myc after neoadjuvant chemotherapy in undifferentiated NPC, and significant corelation between expresion of NFκB and c-myc in undifferentiated NPC.

**Keywords:** *nasopharyngeal carcinoma, neoadjuvant chemotherapy, NFκB and c-myc*

**Alamat korespondensi:** Farida Nurhayati. Email: [dr.faridha@yahoo.co.id](mailto:dr.faridha@yahoo.co.id)

**HP 08127911223**

## PENDAHULUAN

Di Indonesia prevalensi karsinoma nasofaring (KNF) berada di peringkat kelima dari semua keganasan pada tubuh manusia, angkanya mencapai 6 diantara 100.000 penduduk pertahun.<sup>1,2</sup>

Berbagai penelitian akhir-akhir ini telah membuktikan Epstein Barr Virus (EBV) selalu ditemukan pada biopsi KNF.<sup>3-5</sup> Gambaran histopatologi terbanyak adalah jenis *undifferentiated*, sebesar 86% dan karsinoma sel skuamosa berkeratin 14%.<sup>1-5</sup>

Insidens KNF *undifferentiated* di Amerika Utara sebesar 63% dan di Cina Selatan 95%,<sup>1,5</sup> sedangkan di RSUD Moewardi selama tahun 2008-2009 insidens KNF *undifferentiated* sebesar 89,1%.<sup>6</sup>

Faktor transkripsi yang mempunyai peran penting dalam immortalitas sel adalah Nuclear Factor kappa Beta ( NFκB ) dan c-myc. Ekspresi NFκB berperan dalam regulasi ekspresi gen yang terkait dengan fungsi respons imun dan inflamasi, pertumbuhan dan proliferasi sel, serta pertahanan sel terhadap *stress*.<sup>7-9</sup>

Ketidak-beresan NFκB telah dikaitkan dengan proses keganasan, inflamasi, penyakit autoimun, syok septik, dan infeksi virus, sehingga menyebabkan immortalisasi sel dan proliferasi sel. Peningkatan ekspresi NFκB akan menyebabkan peningkatan ekspresi c-myc.<sup>9</sup>

NFκB merupakan salah satu faktor transkripsi yang menginduksi ekspresi c-myc. Adanya peningkatan ekspresi NFκB yang diikuti dengan peningkatan c-myc, IL1, TNF, IL 6 dan Cyclic D1 menandakan terjadinya proses malignansi.<sup>7,9</sup>

Target transkripsi dari EBV yang lain adalah c-myc. Melalui proses dimerisasi dengan Maz, c-myc merupakan faktor transkripsional induk yang meregulasi mekanisme siklus sel. Epstein Barr Nuclear Antigen-2 (EBNA-2) bekerja sebagai suatu regulator positif dari ekspresi

c-myc dalam konteks promotor P1-P2 asli setelah infeksi pada sel B yang istirahat. Aktivasi NFκB oleh Latent Membrane Protein-1 (LMP-1) juga dapat meningkatkan ekspresi c-myc.<sup>10</sup>

Salah satu modalitas terapi yang digunakan untuk karsinoma nasofaring adalah kemoterapi *neoadjuvant*, yaitu pemberian kemoterapi yang mendahului modalitas terapi lain. Salah satu regimen kemoterapi *neoadjuvant* yang bisa digunakan adalah Cisplatin dan 5-Fluorouracil (5 FU) yang diikuti dengan radioterapi Cobalt 60.<sup>1,2,4,11</sup>

Cisplatin memiliki mekanisme *cross-linking* terhadap DNA sehingga mencegah replikasi dengan bekerja pada fase G1 dan G2. Sedangkan 5 FU merupakan anti metabolit yang bekerja dengan cara menghambat sintesa DNA pada fase S.<sup>12</sup>

Radioterapi dengan menggunakan Cobalt 60 dapat menyebabkan kerusakan jaringan akibat terjadinya nekrosis sel.<sup>4,12-14</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kemoterapi *neoadjuvant* dengan Cisplatin, 5 FU dan diikuti radiasi Cobalt 60 terhadap ekspresi NFκB dan c-myc dan hubungan antara ekspresi NFκB dan c-myc pada pasien KNF *undifferentiated*.

## METODOLOGI

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2009 sampai dengan Maret 2011. Tempat penelitian adalah Laboratorium Patologi Anatomi FK UNS Surakarta, Poliklinik THT, Laboratorium Patologi, Ruang Radioterapi dan Bangsal Rawat Inap Anggrek 2 di RSUD Dr Moewardi Surakarta.

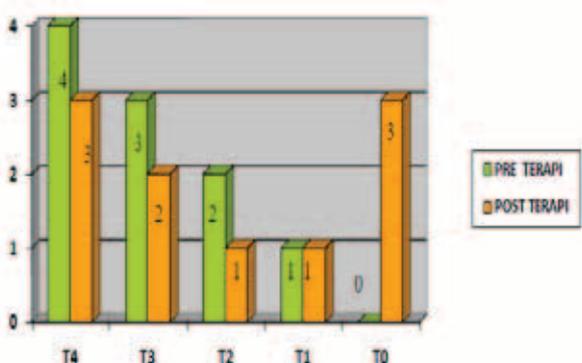
Didapatkan data sekunder dari 10 pasien KNF jenis *undifferentiated* yang dipilih dengan cara yang telah ditentukan dan memenuhi kriteria inklusi.

Sampel berupa biopsi nasofaring pasien KNF jenis *ndifferentiated*. Pemeriksaan ekspresi

NFκB dan c-myc menggunakan pemeriksaan imunohistokimia dengan sistem *Avidin Biotin Complex (ABC)*. Antibodi yang digunakan *mouse anti NFκB (Santa Cruz)* dan *mouse anti c-myc (Santa Cruz)*. Substrat enzim yang digunakan adalah *Diaminobenzidin tetrahydrochloride (DAB)*.

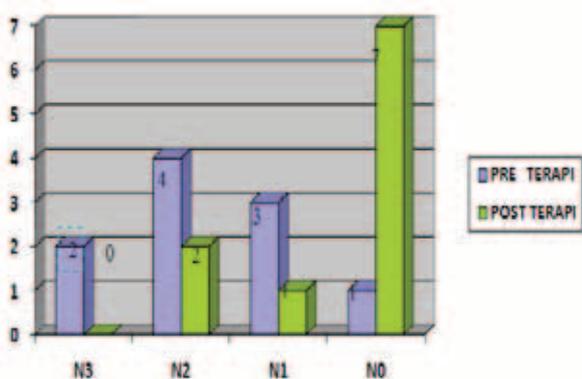
Rancangan penelitian ini adalah *One group before and after intervention* yang merupakan penelitian eksperimental semu atau kuasi.<sup>15</sup>

### HASIL



**Gambar 1.** Diagram batang distribusi sampel berdasarkan *Staging tumor primer (T)* sebelum dan sesudah kemoterapi *neoadjuvant*.

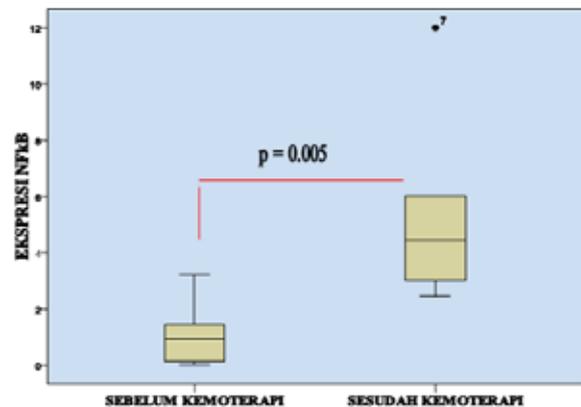
Dari gambar-1 terlihat adanya perbaikan *staging* tumor primer setelah pemberian kemoterapi *neoadjuvant*.



**Gambar 2.** Diagram Batang distribusi sampel berdasarkan *staging nodul (N)* sebelum dan sesudah kemoterapi *neoadjuvant*.

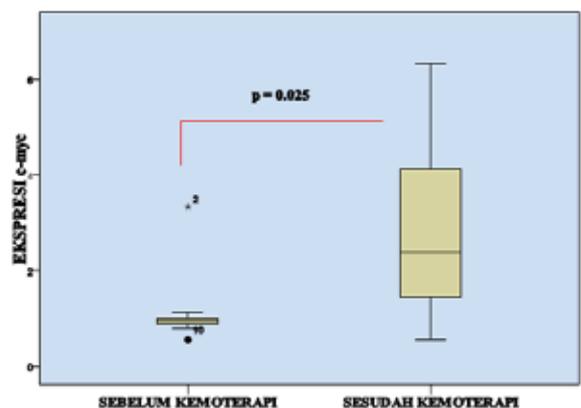
Dari gambar-2 terlihat adanya perbaikan *staging* nodul setelah pemberian kemoterapi *neoadjuvant*.

Setelah dilakukan pemeriksaan terhadap seluruh sampel dengan menggunakan mikroskop Olympus seri BX 41, didapatkan 10 data skor histologi NFκB dan 10 data skor histologi c-myc sebelum kemoterapi *neoadjuvant*; serta 10 data skor histologi NFκB dan 10 data skor histologi c-myc sesudah kemoterapi *neoadjuvant*.



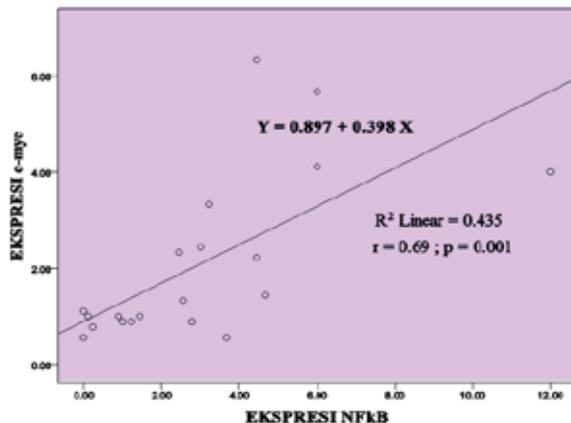
**Gambar 3.** Boxplot hasil ekspresi NFκB sebelum dan sesudah kemoterapi *neoadjuvant* pada jaringan KNF *undifferentiated* ( $p = 0.005$ ).

Dari gambar-3 terlihat adanya peningkatan ekspresi NFκB ( $1.11 \pm 1.14$  dibanding  $4.92 \pm 2.79$ ) setelah pemberian kemoterapi *neoadjuvant*. Peningkatan ini signifikan dengan nilai  $p = 0.005$ .



**Gambar 4.** Boxplot hasil ekspresi c-myc sebelum dan sesudah kemoterapi *neoadjuvant* pada jaringan KNF *Undifferentiated* ( $p = 0.025$ ).

Dari gambar-4 terlihat adanya peningkatan ekspresi c-myc ( $1.15 \pm 0.78$  dibanding  $3.04 \pm 1.91$ ) setelah pemberian kemoterapi *neoadjuvant*. Peningkatan ini signifikan dengan nilai  $p = 0.025$ .



**Gambar 5.** Hubungan antara ekspresi NFκB dengan c-myc pada KNF jenis *Undifferentiated* ( $p=0.001$ ).

Dari gambar-5 dapat dilihat bahwa Ekspresi c-myc akan mengalami peningkatan dengan bertambahnya ekspresi NFκB.

Peningkatan ekspresi c-myc ini signifikan ( $p=0.001$ ) dan hubungan ini mampu dijelaskan sebesar 43,5%, selebihnya sebesar 56,5 % peningkatan ekspresi c-myc akibat faktor lain.

## DISKUSI

Adanya perubahan perbaikan *staging* tumor lokal (T) (gambar 1) dan *staging* nodul (N) (gambar 2) pada penelitian ini membuktikan bahwa pada KNF jenis *undifferentiated* dengan pemberian radioterapi dan kemoterapi kombinasi Cisplatin dengan 5 FU mampu menghambat pertumbuhan sel sel tumor lokal maupun lokoregional.

Hal ini sesuai dengan Wei<sup>4</sup> yang menyatakan bahwa pemberian kemoterapi dan radioterapi adalah pengobatan yang sesuai untuk KNF stadium II – IV.

Sedangkan menurut Brockstein and Vokes,<sup>11</sup> pada kasus dengan metastasis, karsinoma berdiferensiasi buruk (*undifferentiated*), atau limfo epiteloma pada nasofaring sangat sensitif terhadap kemoterapi.

Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan ekspresi NFκB dan c-myc pada KNF. Ini sesuai dengan Faumont et al<sup>9</sup> dan Thompson<sup>16</sup> yang menyatakan bahwa adanya ekspresi NFκB yang positif ini disebabkan oleh EBV pada KNF

yang akan menyebabkan terjadinya ekspresi dari LMP1. Selanjutnya LMP 1 melalui mekanisme TNF (*Tumor Necrosis Factor*) bertanggung jawab atas terjadinya aktivasi dari NF-κB secara kontinyu. Hal ini menggambarkan bahwa pada KNF *undifferentiated* sangat berasosiasi kuat dengan infeksi EBV.

Murdani<sup>17</sup> pada tahun 2009 juga melakukan penelitian mengenai peran NFκB dan COX-2 pada karsinoma kolorektal. Didapatkan adanya ekspresi positif NFκB sebesar 73,5% dan ekspresi COX-2 sebesar 49,0%. Hal ini menunjukkan bahwa pada malignansi akan terdapat peningkatan ekspresi dari NF-κB.

Adanya peningkatan ekspresi c-myc dalam proses malignansi, juga dikemukakan pada penelitian Prayitno dkk.<sup>18</sup> Adanya ekspresi c-myc yang tinggi menunjukkan bahwa siklus sel sedang berlangsung, karena fungsi c-myc adalah sebagai protein pemicu terjadinya transkripsi sel.

Rahayu<sup>19</sup> pada tahun 2008 di RS Dr Soetomo Surabaya juga meneliti mengenai ekspresi c-myc dan Bcl2 pada KNF jenis *undifferentiated* dan hubungannya dengan *T-stage* dan *N-stage*. Meskipun tidak didapatkan adanya hubungan antara ekspresi c-myc dan Bcl2 dengan *T-stage* dan *N-stage*, tetapi didapatkan adanya ekspresi c-myc 38.5% dengan tingkat ekspresi +1 dan +3. Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan NF-κB dan c-myc sebelum dan sesudah kemoterapi *neoadjuvant*. Diharapkan dengan pemberian terapi ini dapat menghambat proses keganasan yang terjadi, sehingga tingkat ekspresi NF-κB dan c-myc akan menurun.

Adanya peningkatan tingkat ekspresi NF-κB dan c-myc ini dimungkinkan karena adanya beberapa hal, yaitu respons terapi yang komplisit tidak didapatkan, sehingga secara nyata proses malignansi masih berlangsung. Hal ini sesuai dengan penelitian Sari,<sup>6</sup> bahwa hasil evaluasi pasca kemoradioterapi pada 101 pasien KNF di Rumah Sakit Dr Moewardi Surakarta pada tahun 2009 yang mempunyai respons komplisit hanya sebesar 4,95%.

Respons komplisit yang gagal didapatkan, bisa disebabkan radioterapi yang digunakan adalah

radioterapi konvensional, bukan radioterapi hiperfraksinasi. Menurut Penelitian Dana dkk seperti yang dikutip dari Hariwiyanto,<sup>20</sup> KNF yang diterapi dengan radioterapi konvensional yang mengalami respons komplit hanya 46%, sedangkan dengan radioterapi hiperfraksinasi 73,3% akan didapatkan respons komplit. Selain itu bisa juga karena angka kekambuhan pasca radioterapi yang masih cukup tinggi, yaitu antara 18% - 45%.

Adanya faktor resistensi terhadap obat kemoterapi juga bisa berperan dalam proses malignansi yang masih berlangsung.<sup>4,11</sup>

Selain itu, 80 % pasien dalam penelitian ini sudah pada stadium III dan IV dengan kemungkinan lebih besar sudah terjadi metastase, sehingga angka keberhasilan terapinya memang rendah.<sup>1,2,4</sup> Menurut Lee seperti yang dikutip dari Hariwiyanto,<sup>20</sup> apabila sudah terdapat metastase jauh, 85% pasien KNF akan meninggal dalam tahun pertama. *Five year survival rate* karsinoma nasofaring stadium IV adalah sebesar 16,4%.<sup>1</sup>

Kegagalan terapi KNF yang terbanyak menurut penelitian Fandi et al pada tahun 2000 dan Farias et al pada tahun 2003 seperti yang dikutip dari Hariwiyanto,<sup>20</sup> adalah terjadinya kekambuhan baik pada tumor primer maupun pada kelenjar limfe regional pasca radioterapi.

Selain itu ekspresi NF-κB dan c-myc yang masih tinggi pasca kemoterapi *neoadjuvant* berhubungan dengan pertahanan sel agar tetap dapat bertahan hidup sebagai respons dari stres yang dalam hal ini utamanya adalah kerusakan DNA karena radioterapi.<sup>12,14</sup>

Peningkatan ekspresi NFκB dan c-myc pasca kemoterapi *neoadjuvant* juga dapat disebabkan karena proses inflamasi dan proses proliferasi sel yang masih berlangsung setelah radioterapi.<sup>14</sup>

Pengambilan biopsi yang dilakukan 2 bulan sesudah radioterapi, ini sesuai dengan fase *intermediate* pasca radioterapi yang berlangsung antara 3 minggu sampai 6 bulan, fase saat terjadi proses inflamasi dan proliferasi jaringan akibat efek radioterapi.<sup>14</sup>

Pada radioterapi akan terjadi reaksi tidak langsung yang merupakan proses interaksi radiasi dengan sel tumor maligna dan timbulnya radikal bebas yang meningkatkan ekspresi NFκB sebagai pertahanan sel terhadap stres.<sup>9,14</sup> Adanya radikal bebas dan proses inflamasi akibat pemberian radioterapi bisa merupakan faktor perancu yang bisa meningkatkan ekspresi NFκB yang pada akhirnya juga akan meningkatkan ekspresi c-myc.<sup>9,13,14</sup>

Hasil analisis adanya hubungan antara ekspresi NFκB dengan ekspresi c-myc pada penelitian ini signifikan ( $p=0.001$ ). Hubungan ini cukup kuat, karena mampu dijelaskan sebesar 43,5%, selebihnya sebesar 56,5% peningkatan ekspresi c-myc akibat faktor lain.

Ini sesuai dengan penelitian Faumont et al<sup>9</sup> yang menyatakan bahwa pada proses malignansi, adanya peningkatan ekspresi c-myc disebabkan oleh peningkatan ekspresi NFκB.

Faktor lain yang tidak diperhitungkan dalam penelitian ini termasuk adanya ekspresi NFκB yang disebabkan adanya proses inflamasi dan reaksi jaringan akibat stres pada DNA, sebagai reaksi sesudah pemberian radioterapi. Ekspresi c-myc yang masih ada bisa disebabkan adanya proliferasi sesudah pemberian radioterapi. Hal ini sesuai dengan penelitian Gourin dan Terris.<sup>14</sup>

Pada penelitian ini didapati ekspresi NFκB dan c-myc sebelum dan sesudah kemoterapi *neoadjuvant* pada KNF jenis *undifferentiated*. Juga terdapat peningkatan ekspresi NFκB dan c-myc sesudah pemberian kemoterapi *neoadjuvant*, yang bisa disebabkan karena progresivitas KNF, proses inflamasi maupun karena reaksi jaringan akibat stres pada DNA sebagai reaksi sesudah pemberian radioterapi. Didapatkan hubungan yang signifikan dan kuat antara ekspresi NFκB dan c-myc pada karsinoma nasofaring jenis *undifferentiated*. Kami menganggap perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan pemeriksaan biomolekuler lain seperti COX2, iNOS, MMP-9 sebagai penanda biomolekuler untuk *tumor promotion*, sehingga dapat diketahui apakah peningkatan ekspresi NFκB dan c-myc setelah kemoterapi *neoadjuvant*

pada penelitian ini disebabkan adanya proses inflamasi atau karena progresifitas dari karsinoma nasofaring.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Roezin A, Syafril A. Karsinoma naso faring. Dalam Soepardi EA, Iskandar N, Bashirudin J, Restuti RD (Eds). Buku ajar ilmu kesehatan telinga hidung tenggorok kepala dan leher. ed. ke 5. Jakarta : Balai Penerbit FKUI; 2003. hal.146 - 50.
2. Tan IB. Treatment of nasopharyngeal carcinoma in Indonesia; Looking into the mirror. Makalah Kongres Nasional PERHATI-KL XV, Makasar; 2010.
3. Huang DP, Wailo. Aetiology factor and pathogenesis. In: Gibb VH, editor. Nasopharyngeal carcinoma. 2<sup>nd</sup> ed. Hongkong: The Chinese University Press; 1999 p.31-51.
4. Wei IW. Nasopharyngeal cancer. In Calhoun KH, Healy GB, Jhonson JT, Jackler RK, Pilbury H, Trady ME editors. Bailey BJ Head and Neck Surgery - Otolaryngology, 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincot Wiliam & Walkins; 2006 p.1650 – 72.
5. Chan TC, Teo PM. Nasopharyngeal carcinoma: review. *Ann Oncol* 2002; 13:1007–15.
6. Sari AK. Gambaran kejadian karsinoma nasofaring tahun 2007–2009 di RSUD Dr Moewardi Surakarta. Presentasi Karya Ilmiah Nasional, Surakarta: IK THT Fakultas Kedokteran UNS; 2010.
7. Nishikori M. Classical and alternative NF-κB activation pathways and their roles in lymphoid malignancies. *J Clin.Exp. Hematopathol* 2005; 45.
8. Bonizzi G, Bebién M, Otero DC, Johnson-Vroom KE, Cao Y, and Vu D. *et al.* Activation of IKKα target genes depends on recognition of specific κB binding sites by RelB:p52 dimers. *J EMBO* 2004; 23 (21):4202–10.
9. Faumont N, Panteix SD, Schlee M, Gromminger S, Schuhmacher M, and Holz M. *et al.* c-Myc and Rel/NF-κB are two master transcriptional systems activated in latency III program of Epstein-Barr Virus-immortalized B cells. *J Virol* 2009; 83:5014-27.
10. You Z, Madrid VL, Saims D, Sedivy J, Wang CY. c-myc sensitizes cell to tumor necrosis factor-mediated apoptosis by inhibiting nuclear factor κB transactivation. *J Biol Chemistry* 2002; 277: 36671 – 7.
11. Brockstein EB, Vokes EE. Principles of chemotherapy in the management of head and neck cancer. In Calhoun KH, Healy GB, Jhonson JT, Jackler RK, Pilbury H, Trady ME, editors. Bailey BJ head and neck surgery – otolaryngology, 4<sup>th</sup>ed. Philadelphia: Lippincot Wiliam & Wilkins; 2006 p.1428-41.
12. Lica L, Rebecca F. Radiation therapy in Gale Encyclopedia of Medicine, 3<sup>rd</sup> ed. Gale Research; 2006.
13. Tjokronagoro M. Biologi sel tumor maligna, Yogyakarta: Fakultas Kedokteran UGM; 2001.
14. Gourin, GC, Terris JD. Dynamic of wound healing. In Calhoun KH, Healy GB, Jhonson JT, Jackler RK, Pilbury H, Trady ME, editors. Bailey BJ head and neck surgery – otolaryngology, 4<sup>th</sup>ed. Philadelphia: Lippincot Wiliam & Wilkins; 2006 p. 1650 – 72.
15. Arief M. Pengantar Metodologi Penelitian untuk ilmu Kesehatan, ed 2, Klaten: CSGF the Community of Self Help Group Forum; 2004. hal.121- 33.
16. Thompson JE, Phillips RJ, Erdjument-Bromage H, Tempst, P and Ghosh S. IκB-β regulates the persistent response in a biphasic activation of NFκB. *J Cell* 1995; 80:573-82.
17. Murdani A. Peran NFκB dan COX-2 serta hubungan dengan Karakteristik klinikopatologis, Jakarta: Pusdalin IDI; 2009.
18. Prayitno A, Darmawan R, Yuliadi I, Mudigdo A. Ekspresi protein *p53*, *Rb*, dan *c-myc* pada kanker serviks uteri dengan pengecatan immuno histokimia. *Biodiversitas* 2005; 6:157- 9.
19. Rahaju AN. Ekspresi c-myc dan Bcl 2 pada karsinoma nasofaring jenis *undifferentiated*, Surabaya: Departemen Patologi Anatomi FK Universitas Airlangga; 2009.
20. Hariwiyanto B. Peran EBNA-1, EBNA2, LMP-1 dan LMP-2 virus Epstein-Barr sebagai faktor prognosis dalam pengobatan karsinoma nasofaring. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada; 2009