



HUBUNGAN ANTARA EKSPRESI *LATENT MEMBRANE PROTEIN 1 (LMP1)* DAN APOPTOSIS PADA PASIEN *DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA*

Cantika Dentisa Putri

Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan

Universitas Gadjah Mada

2021 - 2022

Abstract

Introduction : Limfoma merupakan suatu keganasan limfosit yang dapat dibagi menjadi *Hodgkins Lymphoma* dan *Non-Hodgkins Lymphoma* (NHL). Sekitar 80% dari seluruh limfoma berjenis NHL. Dari beberapa subtype NHL yang telah diidentifikasi, yang paling sering ditemukan adalah *Diffuse Large B-Cell Lymphoma* (DLBCL) dan *Follicular Lymphoma* (FL). DLBCL adalah limfoma yang paling umum terjadi sekitar 25%-30% dari seluruh NHL. Abnormalitas yang paling umum terjadi pada kasus ini melibatkan perubahan gen BCL-6 pada lokus 3q27, yang berperan dalam pembentukan *germinal center*. EBV telah terlibat dalam sejumlah keganasan manusia baik yang berasal dari epitel atau limfoid, termasuk *Nasopharyngeal Carcinoma*, limfoma, dan *Gastric Cancer*. Salah satu cara untuk mendeteksi adanya EBV ialah dengan pewarnaan imunohistokimia menggunakan antibodi terhadap *Latent Membrane Protein-1* (LMP-1). Ekspresi LMP-1 pada kanker terkait EBV dikaitkan dengan regulasi proliferasi dan angiogenesis sel tumor.

Methods : Penelitian ini merupakan penelitian observational analitik yang dilakukan dengan pendekatan secara potong-lintang (*cross-sectional design*) untuk mendeteksi adanya kejadian apoptosis sel dengan metode imunohistokimia menggunakan pewarnaan *Latent Membrane Protein 1 (LMP1)* dan *TUNEL*, serta menganalisis ekspresi *LMP1* terhadap jumlah sel yang terwarnai oleh pewarnaan *TUNEL*. Subjek penelitian ini adalah seluruh pasien limfoma non hodgkin dengan tipe *diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL)* pada tahun 2012 hingga 2018 dari Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Sardjito yang terdiagnosis dengan pemeriksaan histopatologi dan telah dikonfirmasi dengan pemeriksaan imunohistokimia *CD20* sebagai sel B lineage. Seluruh slide direview kembali dan diklasifikasikan sebagai *DLBCL* oleh ahli patologi. Pemeriksaan

imunohistokimia dengan pewarnaan *LMP1* dan *TUNEL* dilakukan pada seluruh sampel yang berjumlah 70 preparat. Berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi, diperoleh 62 preparat pasien *DLBCL* yang dimasukkan pada penelitian ini. Hal tersebut dikarenakan 8 preparat lainnya tidak terdapat informasi mengenai usia dan jenis kelamin pada data pasien. Ekspresi *LMP1* positif dihitung dari jumlah sel yang memiliki membran dan sitoplasma terpulas warna coklat, sementara ekspresi *TUNEL* positif dihitung dari jumlah sel yang memiliki inti terpulas coklat. Indeks apoptosis dihitung dengan metode *morphometric cell count* dengan membagi jumlah sel yang mengalami apoptosis dengan jumlah total sel limfoma dan dikalikan dengan 100. Ekspresi *LMP1* dianggap positif ketika $\geq 10\%$ sel neoplastik menunjukkan pola pewarnaan membrane. Persentase sel kanker yang terwarnai positif dihitung dengan metode semi-kuantitatif, dan didefinisikan sebagai 0 atau $< 10\%$ pewarnaan sel tumor, 1+ dan/atau 10-25%, 2+ dan/atau 26-50%; 3+ dan/atau $> 50\%$ pewarnaan sel tumor. Hasil penelitian ini akan dianalisa dengan *Chi-square test*.

Results : Preparat pasien *DLBCL* dengan jenis kelamin laki-laki berjumlah sebanyak 34 preparat (54,8%) dan 28 preparat (45,2%) pasien *DLBCL* dengan jenis kelamin perempuan. Usia pasien berkisar antara 2-83 tahun. Usia rata-rata pasien adalah $51,8 \pm 4,3$ tahun (Mean \pm SD). Kategori usia pada pasien dengan usia < 50 tahun berjumlah sebanyak 25 (40,3%) pasien dan 37 (59,7%) pasien dengan usia ≥ 50 tahun. Dari 62 preparat, terdapat 19 preparat yang menunjukkan ekspresi positif terhadap pewarnaan *LMP1*, 3 preparat yang menunjukkan ekspresi positif terhadap pewarnaan *TUNEL*, dan 36 preparat yang menunjukkan ekspresi positif terhadap pewarnaan *LMP1* dan *TUNEL*.

Conclusion : Pada penelitian ini terdapat hasil ekspresi *LMP1* positif pada kasus *DLBCL* sejumlah 88,7% preparat, kejadian apoptosis sel pada kasus *DLBCL* dideteksi oleh ekspresi *TUNEL* positif sejumlah 62,9% preparat, dan tidak terdapat hubungan antara *LMP1* dan kejadian apoptosis sel pada *DLBCL*.

Keywords : *Diffuse Large B-Cell Lymphoma, DLBCL, imunohistokimia, Latent Membrane Protein 1, LMP1, TUNEL.*



RELATIONSHIP BETWEEN EXPRESSION OF LATENT MEMBRANE PROTEIN 1 (LMP1) AND APOPTOSIS IN DIFFUSED LARGE B-CELL LYMPHOMA PATIENTS

Cantika Dentisa Putri

Medical Education Study Program, Faculty of Medicine, Public Health, and Nursing

University of Gadjah Mada

2021 - 2022

Abstract

Introduction : Lymphoma is a lymphocyte malignancy that can be divided into Hodgkins Lymphoma and Non-Hodgkins Lymphoma (NHL). About 80% of all lymphomas are of the NHL type. Of the several subtypes of NHL that have been identified, the most common are Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL) and Follicular Lymphoma (FL). DLBCL is the most common lymphoma, accounting for 25%-30% of all NHL. The most common abnormality in these cases involves changes in the BCL-6 gene at the 3q27 locus, which plays a role in germinal center formation. EBV has been implicated in a number of human malignancies of either epithelial or lymphoid origin, including Nasopharyngeal Carcinoma, lymphoma, and Gastric Cancer. One way to detect the presence of EBV is by immunohistochemical staining using antibodies against Latent Membrane Protein-1 (LMP-1). LMP-1 expression in EBV-associated cancers is associated with the regulation of tumor cell proliferation and angiogenesis.

Methods : This research is an observational analytic study carried out using a cross-sectional design to detect the presence of cell apoptosis by immunohistochemical methods using Latent Membrane Protein 1 (LMP1) and TUNEL staining, as well as analyzing LMP1 expression on the number of stained cells. by TUNEL staining. The subjects of this study were all patients with non-Hodgkin's lymphoma with the type of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) from 2012 to 2018 from Dr. Sardjito was diagnosed by histopathological examination and confirmed by CD20 immunohistochemical examination as lineage B cells. All slides were reviewed and classified as DLBCL by the pathologist. Immunohistochemical examination with LMP1 and TUNEL staining was performed on all 70 samples. Based on the inclusion and exclusion criteria, 62 DLBCL patient preparations were included in this study. This was because the other 8 preparations did not contain

information regarding age and gender in the patient data. Positive LMP1 expression was calculated from the number of cells with brown stained membranes and cytoplasm, while positive TUNEL expression was calculated from the number of cells with brown stained nuclei. The apoptotic index was calculated using the morphometric cell count method by dividing the number of cells that underwent apoptosis by the total number of lymphoma cells and multiplied by 100. LMP1 expression was considered positive when $\geq 10\%$ of neoplastic cells showed a membrane staining pattern. The percentage of cancer cells that stained positively was calculated by a semi-quantitative method, and defined as 0 or $< 10\%$ tumor cell stain, 1+ and/or 10-25%, 2+ and/or 26-50%; 3+ and/or $> 50\%$ tumor cell staining. The results of this study will be analyzed by Chi-square test.

Results : There were 34 preparations (54.8%) of male DLBCL patients and 28 preparations (45.2%) of female DLBCL patients. The age of the patients ranged from 2-83 years. The mean age of the patients was 51.8 ± 4.3 years (Mean \pm SD). The age category for patients aged < 50 years was 25 (40.3%) patients and 37 (59.7%) patients aged ≥ 50 years. Of the 62 preparations, there were 19 preparations showing positive expression for LMP1 staining, 3 preparations showing positive expression for TUNEL staining, and 36 preparations showing positive expression for LMP1 and TUNEL staining.

Conclusion : In this study, there were positive LMP1 expression results in 88.7% of the preparations for DLBCL cases, cell apoptosis in DLBCL cases was detected by positive TUNEL expression for 62.9% of the preparations, and there was no relationship between LMP1 and cell apoptosis events in DLBCL.

Keywords : *Diffuse Large B-Cell Lymphoma, DLBCL, immunohistochemistry, Latent Membrane Protein 1, LMP1, TUNEL.*