

ABSTRAK

DNA LMP2 SERTA EKSPRESI LMP2A DAN INTEGRIN ALFA-6 SEBAGAI PETANDA PROGRESIVITAS KANKER NASOFARING

Latar belakang : Pada sebagian besar (56%) pasien kanker nasofaring (KNF) ditemukan sudah terjadi metastasis jauh terutama stadium IV. Angka kejadian ini berdasarkan angka kejadian data tahun 2000 sampai 2005 di R.S. Kanker Dharmais. Karena itu, dalam pelayanan kasus KNF diperlukan petanda untuk memantau progresivitas KNF yang sensitif dan spesifik dengan DNA LMP2, RNA LMP2A dan protein ITG α 6

Tujuan : Mengkaji DNA LMP2, RNA LMP2A dan protein ITG α 6 dalam sirkulasi sebagai petanda progresivitas KNF.

Metode : Penelitian dilakukan dengan metode observasional secara *cross sectional*. Pasien dipilih adalah pasien baru yang didiagnosis kanker nasofaring secara klinis, imaging dan histopatologi. Penentuan stadium menggunakan klasifikasi TNM UICC 2002. Diperoleh 46 sampel pasien kanker nasofaring (KNF) yang datang berobat ke Poliklinik THT R.S. Kanker Dharmais dalam sejak Mei tahun 2008 sampai Juni tahun 2014. Sampel dikelompokkan menjadi kelompok KNF stadium dini (Kelompok I \leq stadium II) dan kelompok pasien KNF dengan stadium lanjut (Kelompok II $>$ stadium II). Sampel darah EDTA dikumpulkan untuk pemeriksaan DNA LMP2, RNA LMP2A dan protein ITG α 6 sel epitelial dalam sirkulasi. Pemeriksaan DNA LMP2, dan RNA LMP2A menggunakan *Real Time PCR* dan protein ITG α 6 sel epitelial dalam sirkulasi diukur dengan *flowcytometry*. Uji statistik dilakukan untuk melihat hubungan antara variabel bebas (*independent variable* : KNF stadium dini dan stadium lanjut) dan variabel tergantung (*dependent variable* : DNA LMP2, RNA LMP2A dan protein ITG α 6 sel epitelial). Uji distribusi data menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji kemaknaan menggunakan Mann-Whitney.

Hasil : Sebanyak 46 pasien diperoleh dimana jumlah laki-laki (72%) lebih banyak dari perempuan (28%) dengan rentang usia antara 21 sampai 69 tahun. Usia rerata pada laki-laki 47 tahun (median : 48 tahun) dan perempuan 44 tahun (median : 45 tahun). Pada analisis histopatologi ditemukan 46 sampel pasien menunjukkan *Non keratinizing nasopharyngeal Ca undifferentiated subtype*. Sesuai dengan tingkat stadium maka pada penelitian ini terdapat 17 (37%) pasien dengan stadium II, sebanyak 14 (30%) pasien stadium III, sebanyak 15 (33%) pasien stadium IV. Pada masing-masing stadium, pasien laki-laki lebih banyak dari perempuan. Kadar DNA LMP2 kelompok I dan kelompok II menunjukkan perbedaan bermakna dengan $p = 0.045$ dengan nilai *cut off* 56.40, sensitivitas 72,41 %, spesifisitas 64,71%, NPP (nilai prediktif positif) 77,78%, NPN (nilai prediktif negatif) 57,89 %, Uji Chi Square 0,014 dan OR (Odd Ratio) 1,85. Kadar RNA LMP2A dalam kelompok I dan kelompok II tidak

menunjukkan perbedaan bermakna dengan $p = 0.380$ dengan nilai *cut off* 56,55, sensitivitas 64,30%, spesifisitas 52,94%, NPP 70,37%, NPN 47,37%, uji Chi Square 0,220 dan OR 1,34. Protein ITG α 6 sel epitelial dalam kelompok I dan kelompok II tidak menunjukkan perbedaan bermakna dengan $p = 0,625$ dan diperoleh nilai *cut off* 0,27, sensitivitas 72,40 %, spesifisitas 41,20%, NPP 67,72%, NPN 46,67%, uji Chi Square 0,343 dan OR 1,27

Kesimpulan : Parameter DNA LMP2 menunjukkan uji kemaknaan (Chi-Square) berbeda bermakna ($p = 0,014$) antara stadium awal dan stadium lanjut dengan nilai *cut off* 56,40, serta sensitivitas, spesifisitas dan NPP cukup baik. Hasil kadar DNA LMP2 diatas *cut off* menentukan progresivitas dan diperoleh kadar DNA LMP2 pada stadium lanjut adalah 1,85 kali (OR) lebih tinggi dari stadium awal. Parameter RNA LMP2A menunjukkan uji kemaknaan tidak berbeda bermakna ($p = 0,220$). Pada penelitian ini menunjukkan ekspresi RNA LMP2A meskipun secara statistik tidak berbeda bermakna antara stadium awal dan stadium lanjut dengan nilai *cut off* 56,55 dan menunjukkan sensitivitas, spesifisitas serta NPP cukup baik. Hasil kadar RNA LMP2A diatas *cut off* menentukan progresivitas dan diperoleh kadar RNA LMP2A pada stadium lanjut adalah 1,34 kali (OR) lebih tinggi dari stadium awal. Kadar protein ITG α 6 sel epitelial secara statistik tidak berbeda antara stadium awal dan lanjut. Namun pada penelitian ini ditemukan ekspresi protein ITG α 6 sel epitelial dengan nilai *cut off* 0,27 serta sensitivitas, spesifisitas dan NPP cukup baik. Hasil kadar protein ITG α 6 sel epitelial diatas *cut off* menentukan progresivitas dan diperoleh kadar protein ITG α 6 sel epitelial pada stadium lanjut adalah 1,27 kali (OR) lebih tinggi dari stadium awal.

Kata kunci : KNF, LMP2, LMP2A, ITG α 6

ABSTRACT

DNA LMP2, THE EXPRESSION OF LMP2A AND INTEGRIN ALFA-6 AS MARKERS OF PROGRESSIVITY IN NASOPHARYNGEAL CARCINOMA

Background: Cancer registry data from 2000 to 2005 in Dharmais Cancer Hospital (DCH) showed that most patients (56%) with nasopharyngeal cancer (NPC) already presented with distant metastases, especially in stadium IV. Thus, markers that are sensitive and specific to monitor the progression of NPC are necessary in the management of NPC cases. LMP2-DNA, LMP2A-RNA and ITG α 6 protein are promising markers, which needed validation.

Aim: To evaluate circulating LMP2-DNA, LMP2A-RNA and ITG α 6 protein as markers of progression in NPC.

Method: This was a cross sectional observational study. Subjects were patients newly diagnosed with NPC based on clinical, imaging and histopathologic findings. Staging was based on UICC 2002 TNM classification. Forty-six NPC patients who came to the DCH ENT Polyclinic were included in this study, and were divided into 2 groups: early stage (Stage I and stage II) and advanced stage (Stage III and IV). We collected whole blood anticoagulated with EDTA for determination of circulating LMP2-DNA, LMP2A-RNA and epithelial cell ITG α 6 protein. Circulating LMP2-DNA and LMP2A-RNA assay was performed using real-time PCR and epithelial cell ITG α 6 protein was measured by flowcytometry.

Statistical analysis was performed to determine the correlation between independent (i.e. early stage vs advanced stage NPC) and dependent variable (i.e. LMP2-DNA, LMP2A-RNA and epithelial cell ITG α 6 protein). Normality of data distribution was tested with Shapiro-Wilk test and statistical difference by Mann-Whitney test.

Result: Of the 46 subjects, most were male (72%). Age of subjects ranged between 21 and 69 years. Age mean for male is 47 years (median : 48 years) and for women 44 years (median : 45 years). Histopathologic analysis of all subjects showed nonkeratinizing nasopharyngeal Ca undifferentiated subtype. Based on clinical staging, there were 17 (37%) patients in stage II, 14 (30%) in stage III, and 15 (33%) in stage IV. In each stage, the number of male subjects were more than female.

LMP2-DNA level in early stage was significantly different from advanced stage ($p=0.045$). With a cut-off value of 56.40, sensitivity of the test was 72.41%, specificity 64.71%, PPV 77.78 % and NPV 57.89% ($\chi^2=0.014$; OR=1.85).

LMP2A-RNA level showed no significant difference between early stage and advanced stage ($p=0.380$). With a cut-off value of 56.55, sensitivity of the test was 64.30%, specificity 52.94%, PPV 70.37% and NPV 47.37% ($\chi^2= 0.220$; OR= 1.34).

Epithelial cell ITG α 6 protein between the 2 groups did not show significant difference ($p=0.625$). With a cut-off value of 0.27, sensitivity was 72.40%, specificity 41.20%, PPV 67.72%, NPV 46.67% ($\chi^2= 0.343$; OR= 1.27).

Conclusion: LMP2-DNA may be used to predict progression. With a cut-off value of 56,40, LMP2-DNA showed good sensitivity, specificity and PPV. LMP2A-RNA may be used to predict progression though statistically showed no significant difference between early and advance stage. LMP2A RNA showed expression with a cut-off value of 56,55, and showed good sensitivity, specificity and PPV. Epithelial cell ITG α 6 protein may be used to predict progression though statistically showed no significant difference between early and advance stage. In this study, epithelial cell ITG α 6 protein showed expression with a cut-off value of 0,27% and showed good sensitivity, specificity and PPV.

Keywords: NPC, LMP2, LMP2A, ITG α 6