

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Karsinoma nasofaring (KNF) merupakan suatu karsinoma yang berasal dari mukosa nasofaring. Penyakit ini endemik di Cina Selatan dan Asia Tenggara dengan kejadian invasi lokal dan metastasis yang tinggi ke kelenjar limfe lokoregional (Tsao *et al.*, 2014; Petersson *et al.*, 2017). Pasien KNF yang datang dengan keluhan metastase pada kelenjar getah bening servikal lebih dari 70% (Petersson *et al.*, 2017). Metastasis regional dan metastasis jauh merupakan indikator prognosis buruk bagi pasien kanker (Książkiewicz *et al.*, 2012).

Pada tahun 2018 diperkirakan terdapat 129.079 kasus baru KNF di dunia dengan 72.987 kematian (Bray *et al.*, 2018). Distribusi global insiden dan mortalitas memperlihatkan perbedaan yang unik. Insiden KNF yang tinggi terdapat di Cina Selatan, Hong Kong, Taiwan, dan daerah lain di Asia Tenggara serta Afrika Utara yang merupakan daerah endemik. Di daerah non-endemik seperti negara barat, Amerika Latin, dan Jepang, KNF merupakan keganasan dengan insiden yang lebih rendah dari 1/100.000 (Carioli *et al.*, 2017). Indonesia termasuk dalam lima negara dengan jumlah kasus tertinggi (Salehiniya *et al.*, 2018).

World Health Organization (WHO) mengklasifikasikan KNF atas tipe karsinoma sel skuamosa (KSS) berkeratin, tipe KSS tidak berkeratin yang selanjutnya dibagi atas subtipe berdiferensiasi dan tidak berdiferensiasi, serta tipe KSS basaloid (Petersson *et al.*, 2017; Stelow and Wenig, 2017). Karsinoma sel skuamosa tidak berkeratin merupakan tipe KNF yang dominan di daerah endemik

dan hampir 100% berhubungan dengan infeksi virus Epstein-Barr (EBV) (Petersson *et al.*, 2017; Stelow and Wenig, 2017; Huang *et al.*, 2018). Berbeda dengan KSS berkeratin, KSS tidak berkeratin dengan subtype tidak berdiferensiasi mempunyai ciri khas yaitu adanya infiltrat limfosit yang sangat banyak pada lingkungan mikro tumornya (LMT) (Petersson *et al.*, 2017; Lu *et al.*, 2018, Luo *et al.*, 2019).

The tumor-node-metastasis (TNM) cancer staging system merupakan standar yang dipakai untuk strategi pengobatan dan memperkirakan prognosis pasien. Perkembangan teknik pengobatan utama KNF yaitu radioterapi dan kemoterapi membuat prognosis KNF secara signifikan meningkat akhir-akhir ini, akan tetapi, masih terdapat variasi yang besar pada prognosis pasien yang mendapatkan terapi yang sama dengan stadium yang sama. Sebagian pasien masih mengalami rekurensi lokoregional dan metastasis jauh. Oleh karena itu, sistem TNM tidak cukup untuk mengevaluasi keseluruhan status KNF dan memandu pengobatan (Luo *et al.*, 2019; Zou *et al.*, 2020).

Penelitian-penelitian tentang mekanisme molekuler dan seluler terkait metastasis masih diselidiki secara ekstensif untuk lebih memprediksi, mengidentifikasi, dan mencegah metastasis. Penelitian lain juga menyatakan bahwa, kejadian metastasis tidak semata-mata terjadi akibat sifat bawaan sel tumor (Oh *et al.*, 2019). Lingkungan mikro tumor (LMT) berperan penting dalam mengatur tumorigenesis, transisi epitel-mesenkim (TEM), invasi tumor, dan metastasis (Shi *et al.*, 2019). Lingkungan mikro tumor terdiri atas sel-sel imun, sel-sel endotel, sel-sel mesenkim, mediator inflamasi, dan molekul matriks ekstraseluler (MES). Fenotipe ganas dari kanker juga ditentukan oleh sel-sel imun

yang teraktivasi pada LMT. Pada LMT, sel-sel imun merupakan salah satu tipe komponen non tumor yang utama dan telah divalidasi untuk penilaian diagnostik dan prognostik tumor, namun peran sel-sel imun dalam LMT KNF masih kurang dipahami (Zou *et al.*, 2020).

Tumor infiltrating lymphocytes (TILs) yang juga berperan penting pada LMT dan pada KNF mayoritas merupakan limfosit reaktif dan terutama terdiri atas sel T (Zhang *et al.*, 2010; Ooft *et al.*, 2017; Luo *et al.*, 2019; Zou *et al.*, 2020). Subset limfosit T pada TILs KNF diantaranya adalah *Cytotoxic T lymphocytes* (CTL) dan sel *T regulator* (Treg) (Zhang *et al.*, 2010). Sel Treg ditandai dengan ekspresi faktor transkripsi regulasi utama, *Forkhead box Protein P3* (FoxP3) (Saleh and Elkord, 2020). Sebagai komponen utama TILs, Treg memainkan peran yang menentukan dalam progresi tumor melalui ekspresi sitokin, kemokin, faktor pertumbuhan, dan matriks metalloproteinase (MMP) (Shi *et al.*, 2019). Sel-sel seperti imfosit B, sel plasma, eosinofil, makrofag, sel dendritik, dan sel mast juga menyertai TILs pada KNF disamping sel T. (Zhang *et al.*, 2010; Ooft *et al.*, 2017; Luo *et al.*, 2019; Zou *et al.*, 2020).

Sel Treg berperan penting dalam mengontrol respons imun terhadap antigen *self* dan *non-self*. Telah dilaporkan bahwa sel Treg yang menginfiltrasi tumor berhubungan dengan prognosis yang lebih buruk pada beberapa kanker. Sel Treg menekan proliferasi CTL untuk menghalangi respons imun spesifik tumor yang adekuat, dengan demikian memungkinkan pertumbuhan tumor. Sebaliknya, peneliti lain melaporkan bahwa sel Treg yang menginfiltrasi tumor dikaitkan pada prognosis yang lebih baik atau tidak memengaruhi prognosis pada beberapa

keganasan seperti *follicular lymphoma* dan KSS. Sulit untuk menentukan fungsi umum Treg pada semua tipe kanker, sehingga perlu dianalisis secara khusus fungsi Treg pada LMT pada keganasan yang berbeda termasuk pada KNF (Zhang *et al.*, 2010).

Penelitian yang dilakukan oleh Wang *et al.* (2020) melaporkan bahwa infiltrasi Treg yang banyak, berhubungan dengan stadium klinik yang buruk dan metastasis ke kelenjar limfe. Penelitian yang mengkaji hubungan EBV dengan Treg pada KNF tersebut melaporkan bahwa Epstein-Barr *nuclear antigen 1* (EBNA1) meningkatkan infiltrasi Treg pada LMT. Peningkatan infiltrasi Treg pada LMT tersebut salah satunya disebabkan oleh konversi sel T naif menjadi Treg melalui *upregulate Transforming Growth Factor- Beta1* (TGF- β 1) (Wang *et al.*, 2020).

Transforming Growth Factor-Beta diketahui sebagai inisiator untuk memulai proses TEM. Sinyal ini menghasilkan perangsangan faktor transkripsi yang menginduksi TEM seperti Snail, Slug, dan Twist. Snail dan Slug terlibat dalam menekan E-cadherin dan berhubungan dengan metastasis (Jiang *et al.*, 2015). Pada karsinoma manusia, diantara faktor transkripsi yang terlibat dalam TEM, Snail berperan sebagai penginduksi utama (Ribatti *et al.*, 2020).

Transforming Growth Factor- Beta1 merupakan salah satu anggota keluarga TGF- β yang paling penting. Faktor pertumbuhan ini merupakan penginduksi TEM yang poten pada kanker. Banyak penelitian telah memperlihatkan bahwa TGF- β 1 dapat menginduksi TEM pada berbagai sel kanker (Shi *et al.*, 2019). Sel Treg menghasilkan TGF- β 1 (Fuxe and Karlsson, 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Shi *et al.* (2019) menemukan bahwa Treg

meningkatkan invasi karsinoma hepatoseluler melalui TEM yang diinduksi oleh TGF- β 1 (Shi *et al.*, 2019).

Transisi epitel-mesenkim merupakan suatu proses kunci untuk penyebaran dan metastasis sel-sel kanker. Sel-sel kanker yang mengalami TEM berperilaku seperti sel punca kanker. Hilangnya E-cadherin epitel dan memperoleh vimentin mesenkim merupakan tanda utama TEM (Shi *et al.*, 2019). Aktivasi program TEM sering diobservasi pada kanker manusia. Aktivasi ini berkaitan erat dengan progresi tumor dan resistensi terhadap obat-obat kemoterapi standar dan agen target (Vergara *et al.*, 2016).

Adanya variasi yang besar pada prognosis pasien KNF yang mendapatkan terapi yang sama dengan stadium yang sama dimana pasien masih mengalami rekurensi lokoregional dan metastasis jauh mungkin disebabkan oleh adanya sel-sel KNF yang mengalami TEM. Transisi epitel-mesenkim pada sel KNF ini mungkin juga diinduksi oleh TGF- β 1 yang dihasilkan oleh Treg pada LMT, sehingga sel-sel tersebut bersifat seperti sel punca kanker yang resisten terhadap kemoterapi. Oleh karena itu perlu diteliti secara khusus peran Treg terhadap kejadian TEM pada KNF. Apabila terbukti Treg berperan terhadap kejadian TEM pada KNF, maka Treg juga dapat dijadikan sebagai prediktor untuk terjadinya metastasis.

Sejauh penelusuran literatur yang dilakukan, sampai saat ini belum ada penelitian yang mengkaji peran Treg terhadap kejadian TEM pada KNF. Penelitian-penelitian terdahulu hanya mengkaji hubungan Treg dengan prognosis pada beberapa keganasan dan menunjukkan hubungan yang tidak konsisten. Oleh karena

itu, kebaruan dari penelitian ini adalah menemukan peran Treg terhadap kejadian TEM melalui jalur pensinyalan TGF- β 1 pada KNF.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas, dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimanakah karakteristik klinikopatologik pasien KNF?
2. Apakah terdapat hubungan antara ekspresi Treg FoxP3⁺ dengan ekspresi TGF- β 1 pada KNF?.
3. Apakah terdapat hubungan antara ekspresi Treg FoxP3⁺ dengan ekspresi Snail pada KNF?.
4. Apakah terdapat hubungan antara ekspresi TGF- β 1 dengan ekspresi Snail pada KNF?.
5. Apakah terdapat hubungan antara ekspresi Snail dengan ekspresi E-cadherin pada KNF?
6. Apakah terdapat hubungan antara ekspresi Snail dengan ekspresi vimentin pada KNF?

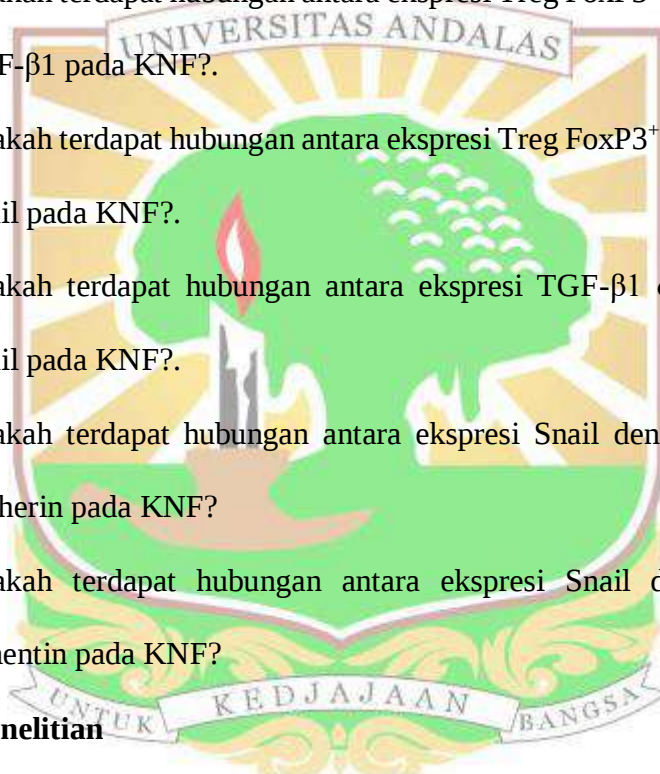
1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis hubungan ekspresi *tumor infiltrating* Treg FoxP3⁺ dengan TEM melalui jalur pensinyalan TGF- β 1 pada KNF.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui karakteristik klinikopatologik pasien KNF.



2. Menganalisis hubungan antara ekspresi Treg FoxP3⁺ dengan ekspresi TGF- β 1 pada KNF.
3. Menganalisis hubungan antara ekspresi Treg FoxP3⁺ dengan ekspresi Snail pada KNF.
4. Menganalisis hubungan antara ekspresi TGF- β 1 dengan ekspresi Snail pada KNF.
5. Menganalisis hubungan antara ekspresi Snail dengan ekspresi E-cadherin pada KNF.
6. Menganalisis hubungan antara ekspresi Snail dengan ekspresi vimentin pada KNF.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat bagi Ilmu Pengetahuan

Apabila terbukti Treg FoxP3⁺ berperan penting terhadap kejadian TEM pada KNF maka Treg FoxP3⁺ berpotensi menjadi biomarka untuk memprediksi terjadinya metastasis dan resistensi terapi. Dengan demikian, hasil penelitian ini dapat memberikan sumbangan pengetahuan tentang peran Treg FoxP3⁺ pada KNF sehingga dapat memperkirakan prognosis pasien.

2. Manfaat bagi Praktisi

Hasil penelitian ini berpeluang menjadi dasar untuk pemilihan terapi bagi pasien KNF berdasarkan hasil pemeriksaan Treg FoxP3⁺.