

Laporan Penelitian**Uji serologi IgA karakter KNF EBNA1+VCA p-18
pada penderita keluhan kronis kepala leher**

Camelia Herdini*, **Susanna Hutajulu****, **Sagung Rai Indrasari***, **Bambang Hariwiyanto***,
Jajah Fachiro**, **Sofia Mubarika*****, **Jaap Middeldorp******

*Bagian Telinga Hidung Tenggorok Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada

**Bagian Penyakit Dalam dan Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada

***Bagian Histologi dan Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada

****Bagian Patologi, Vrije Universiteit Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

ABSTRAK

Latar belakang: Karsinoma nasofaring (KNF) terutama tipe WHO III berkorelasi hampir 100% dengan infeksi *Epstein Barr Virus* (EBV). Hal ini ditunjukkan dengan tingginya respons antibodi IgG dan IgA terhadap *viral capsid antigen* (VCA), *early antigen* (EA) EBV serta antibodi *Epstein Barr Nuclear Antigen* (EBNA). Kenaikan antibodi IgA dengan karakter KNF dapat terjadi 2-10 tahun sebelum terjadinya tumor. Hal ini terjadi sebagai akibat adanya reaktivasi infeksi EBV. **Tujuan:** Mengetahui kadar IgA karakter KNF (EBNA1+VCA p-18) pada penderita dengan gejala kronis di daerah kepala dan leher dan mengetahui apakah kadar IgA dapat digunakan sebagai tanda awal terjadinya KNF. **Metode:** Suatu kajian analitik observasional terhadap 218 penderita dengan gejala kronis di daerah kepala dan leher. Penelitian ini dilakukan Juli 2006 sampai dengan September 2010. Pemeriksaan serologi IgA (EBNA-1+VCA-p18) dilakukan dengan teknik ELISA. **Hasil:** Terdapat 90 penderita laki-laki dan 128 penderita perempuan. Hasil tes serologi IgA ELISA dengan kadar tinggi ditemukan pada 28 laki-laki (31,1%) dan 45 perempuan (35,2%). Kadar IgA cenderung meningkat pada peningkatan usia. Gejala kronis yang terbanyak dikeluhkan penderita adalah rinitis kronis, yaitu sebanyak 34 penderita (15,6%), diikuti dengan obstruksi hidung sebanyak 17 penderita (7,8%). Pemeriksaan klinis lebih lanjut dari penderita yang mempunyai kadar IgA tinggi menunjukkan bahwa 3 penderita (4,1%) positif terkena kanker nasofaring stadium awal. **Kesimpulan:** Lebih dari 33% penderita dengan gejala kronis di daerah kepala dan leher memiliki kadar IgA karakter KNF yang tinggi. Kadar IgA karakter KNF yang tinggi dapat digunakan sebagai penanda awal kejadian KNF.

Kata kunci: uji serologi KNF, EBNA1, VCA p-18, gejala KNF

ABSTRACT

Background: *Nasopharyngeal carcinoma (NPC)*, especially the WHO type III, is correlated almost 100% with *Epstein Barr Virus (EBV)* infection. This is indicated by high IgG and IgA antibody responses against *viral capsid antigen (VCA)*, *early antigen (EA)* and *Epstein Barr Nuclear antigen (EBNA)*. Increased IgA NPC character antibodies may be detected 2-10 years before the presence of the tumor. This occurs as a result of reactivation of EBV infection. **Purpose:** To find out the level of IgA NPC character antibodies (EBNA1+VCA p-18) in patients with chronic symptoms in the head and neck and to determine whether the level of IgA can be used as an early sign of NPC. **Methods:** Observational analytic study on 218 patients with chronic symptoms in the head and neck. The research was conducted from July 2006 to September 2010. ELISA technique was used as serology test for IgA (EBNA1+VCA p-18). **Result:** Samples were 90 males and 128 females. High level of IgA by ELISA was found in 28 males (31.1%) and

45 females (35.2%). The IgA level tended to increase with age. The most common chronic symptoms in the head and neck were chronic rhinitis (15.6%) and nasal obstruction (7.8%). From all patients who had high level of IgA, 3 patients (4.1%) were found positive of early stage NPC. **Conclusion:** More than 33% of patients with chronic symptoms of head and neck had high level of IgA NPC character. This method can be used as an early detection of NPC.

Keywords: serology test in NPC, EBNA1, VCA p-18, NPC symptoms in head and neck

Alamat korespondensi: Camelia Herdini, Bagian Ilmu Kesehatan THT, RSUP Dr Sardjito/Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta. E-mail: camelia_herdini@yahoo.com

PENDAHULUAN

Epstein-Barr virus (EBV) merupakan virus herpes yang umum menginfeksi sebagian besar populasi dunia (90%). Di negara berkembang, EBV sering dihubungkan dengan rendahnya kondisi sosial ekonomi dan infeksi primernya terjadi pada masa kanak-kanak tanpa diikuti gejala klinis yang berarti. Di negara maju, infeksi terjadi pada usia remaja dan biasanya diikuti manifestasi mononukleosis infeksiosa dengan gejala-gejala menyerupai flu (*flu-like syndrome*).

Infeksi primer EBV terjadi pada sel limfosit B, dan secara *in vitro* mengakibatkan sel-sel tersebut mampu berproliferasi tidak terbatas. Setelah infeksi primer, EBV memasuki fase laten dan menetap di dalam tubuh inang. Fase ini ditandai dengan terbentuknya antibodi IgG terhadap antigen-antigen EBV yang dapat dideteksi pada konsentrasi rendah. Berbagai situasi seperti induksi bahan kimia, paparan sinar UV dan hormon dapat memicu fase litik EBV. Pada fase litik, EBV mengalami replikasi dan membentuk virion yang mampu menginfeksi lebih banyak sel limfosit B. EBV terbukti memiliki hubungan etiologi dengan beberapa jenis keganasan, seperti limfoma Burkitt, limfoma sel B dan T, keganasan pasca-transplantasi, *oral hairy leukoplakia* pada penderita AIDS, penyakit Hodgkin, keganasan lambung serta karsinoma nasofaring (KNF).¹

Pada penderita KNF, dijumpai kadar antibodi IgG dan IgA yang tinggi terhadap protein-protein EBV. Tingginya respons IgA terhadap protein EBV merupakan ciri khas KNF, karena keganasan ini terjadi di sel epitel (mukosa) nasofaring.¹ Beberapa studi di Cina dan Taiwan menunjukkan bahwa subjek normal dengan titer antibodi relatif

serupa penderita KNF memiliki risiko tinggi untuk berkembang menjadi KNF.^{2,3} Oleh penelitian-penelitian tersebut serologi dipergunakan sebagai metode penegakan diagnosis KNF yang bersifat tidak invasif.

Metode standar serodiagnosis EBV pada KNF adalah *immunofluorescence assay* (IFA), tetapi metode ini tidak praktis, subjektif dan relatif mahal. Pemeriksaan ELISA IgA (EBNA 1+VCAp-18) merupakan metode yang sudah dikembangkan,^{4,5,6} tetapi aplikasi ELISA hanya dapat dilakukan di laboratorium menengah, memerlukan kecakapan teknis yang memadai dan memerlukan waktu beberapa jam untuk mengetahui hasilnya.

Diagnosis dini KNF sangat sulit oleh karena secara anatomi letak nasofaring tersembunyi sehingga tidak menimbulkan gejala yang khas, maka penderita sering datang berobat dalam stadium lanjut (*advance stage*). Oleh karena itu, skrining KNF dapat dilakukan pada populasi berisiko tinggi, salah satunya pada individu dengan gejala-gejala kronis di daerah kepala dan leher.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar IgA dengan karakter KNF pada individu dengan gejala kronis di daerah kepala dan leher, serta mengetahui apakah kadar IgA dapat digunakan sebagai tanda awal terjadinya KNF. Diharapkan individu dengan gejala kronis di daerah kepala dan leher dapat diobservasi secara ketat untuk mengetahui potensi perkembangan KNF berdasarkan kadar IgA dengan karakter KNF, dengan demikian kasus KNF dapat diantisipasi dan ditangani pada stadium lebih dini.

METODE

Penelitian ini merupakan kajian analitik observasional yang dilakukan di poliklinik THT RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta sejak bulan Juli 2006 sampai bulan September 2010. Subjek penelitian adalah penderita yang berobat ke poliklinik THT RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta dengan gejala kronis di daerah kepala dan leher yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi: 1) penderita dengan gejala kronis di kepala dan leher, antara lain rinitis kronis, hidung tersumbat, epistaksis, tinitus, gangguan pendengaran, telinga rasa penuh, nyeri kepala kronis, nyeri wajah dan vertigo; 2) tidak menderita penyakit sistemik berat; 3) bersedia mengikuti penelitian. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah apabila data penderita tidak lengkap. Selanjutnya pemeriksaan kadar IgA karakter KNF dengan menggunakan teknik ELISA dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Darah penderita diambil sebanyak 5 ml untuk pemeriksaan IgA (EBNA1+VCA p-18) dengan teknik ELISA seperti yang dijelaskan pada publikasi sebelumnya.⁷ Pemeriksaan ELISA ini bertujuan untuk mengetahui sero-reaktivitas IgA (EBNA1+VCAp18), dengan nilai (OD₄₅₀) 0,3536 dimasukkan dalam kategori rendah dan di atas nilai tersebut dimasukkan dalam kategori tinggi.

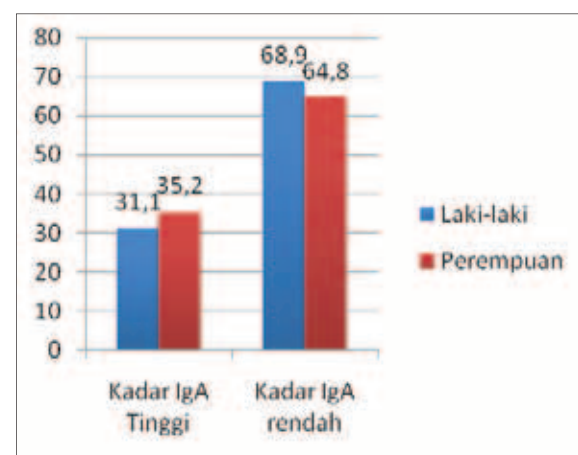
HASIL

Sebanyak 218 penderita dengan gejala kronis di daerah kepala dan leher, masuk dalam kriteria inklusi. Karakteristik sampel secara lengkap adalah sebagai berikut: 1) berdasarkan jenis kelamin, terdapat 90 penderita laki-laki (41,3%) dan 128 penderita perempuan (58,7%) dengan perbandingan 1:1,4; 2) berdasarkan kelompok usia, subjek penelitian didominasi oleh kelompok umur 21-30 tahun (28,4%); 3) berdasarkan gejala utama, gejala rinitis kronis merupakan gejala terbanyak, yaitu mencapai 106 penderita (48,6%) diikuti dengan gejala obstruksi hidung sebanyak

50 penderita (22,9%). Karakteristik sampel penelitian dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik sampel yang digunakan dalam penelitian

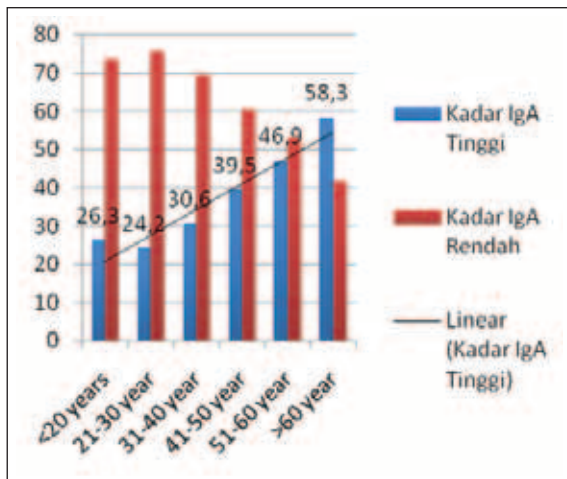
Karakter	N	%
Jenis kelamin		
Laki-laki	90	41,3
Perempuan	128	58,7
Usia		
<20 tahun	38	17,5
21-30 tahun	62	28,4
31-40 tahun	36	16,5
41-50 tahun	38	17,4
51-60 tahun	32	14,7
>60 tahun	12	5,6
Keluhan utama		
Rinitis kronis	106	48,6
Obstruksi hidung	50	22,9
Epistaksis	11	5,0
Tinnitus	7	3,2
Gangguan pendengaran	1	0,5
Telinga penuh	6	2,8
Sakit kepala kronis	11	5,0
Nyeri wajah	10	4,6
Vertigo	5	2,3
Lain-lain	11	5,0



Gambar 1. Kadar IgA karakter KNF berdasarkan jenis kelamin

Uji serologi IgA dengan karakter KNF (EBNA1+VCA p-18) dapat dilihat pada gambar 1. Dari gambar tersebut terlihat bahwa terdapat 73 (33,5%) penderita dengan kadar IgA yang

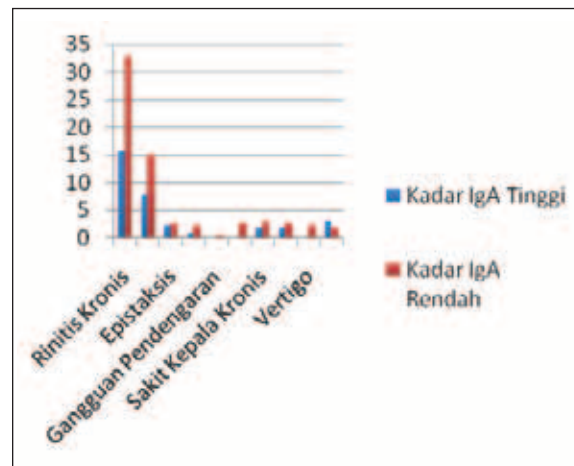
tinggi, dengan jumlah penderita perempuan lebih tinggi dibanding penderita laki-laki meskipun perbedaannya tidak terlalu besar. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara jenis kelamin dengan hasil serologi IgA (EBNA1+VCA P-18) dengan $p=0,317$.



Gambar 2. Kadar IgA karakter KNF berdasarkan kelompok usia

Berdasarkan kelompok usia, terdapat hasil yang menarik (gambar 2). Dari gambar tersebut terlihat bahwa ada kecenderungan terjadi peningkatan persentase penderita dengan IgA dengan kadar tinggi seiring dengan peningkatan usia. Kelompok usia 51-60 hampir mencapai 50%, meskipun analisis statistik tidak terdapat hubungan yang bermakna antara kelompok usia dengan hasil serologi IgA ELISA ($p=0,077$).

Gejala di daerah kepala dan leher didominasi oleh rinitis kronis dan obstruksi hidung, sedangkan gejala lainnya hampir merata (gambar 3). Secara umum dari dua gejala yang dominan tersebut, penderita yang mempunyai kadar IgA tinggi berkisar antara 32-34%. Analisis data menggunakan *Chi square* menunjukkan tidak terdapat hubungan yang bermakna antara gejala utama dengan hasil serologi IgA ELISA ($p=0,234$). Observasi klinis lebih lanjut pada 73 penderita dengan kadar IgA tinggi, menunjukkan 3 penderita KNF setelah dilakukan pemeriksaan tomografi komputer dan biopsi nasofaring.



Gambar 3. Kadar IgA karakter KNF berdasarkan gejala di daerah kepala dan leher

DISKUSI

Diagnosis dini KNF masih sulit dilakukan mengingat lokasi nasofaring yang tersembunyi dan gejala awal yang tidak khas. Gejala-gejala yang timbul menyerupai flu (*flu-like syndrome*) seperti pilek kronis, hidung tersumbat dan sakit kepala atau gejala-gejala pada telinga dan mata yang disebabkan oleh karena kedua organ tersebut berada dekat nasofaring. Penelitian intensif di daerah endemik seperti Cina dan Taiwan,^{2,8} telah berhasil mengidentifikasi populasi berisiko tinggi terkena KNF, yaitu individu dengan: 1) keluarga pengidap KNF; 2) dengan gejala-gejala tertentu di daerah kepala dan leher (yang juga sering dikaitkan dengan gejala klinis umum); dan 3) kadar IgA terhadap komponen EBV yang tinggi. Hasil tersebut mendukung hasil yang didapatkan pada penelitian ini. Oleh karena itu, uji serologi IgA dengan karakter KNF perlu dilakukan pada penderita dengan keluhan dan atau gejala di daerah kepala dan leher, sebagai salah satu metode untuk deteksi dini terjadinya KNF. Dengan uji IgA secara dini, penderita KNF akan terdeteksi pada stadium awal sehingga prognosinya akan jauh lebih baik.

Sejumlah penelitian yang menggunakan serologi IgA sebagai uji diagnostik maupun prognostik terhadap keganasan membuktikan reaktivasi dan fase litik replikasi virus. Studi di Cina dan Taiwan, mengindikasikan bahwa

individu yang terdeteksi dengan tingkat IgA VCA dan DNase EBV yang tinggi berisiko lebih besar untuk menjadi KNF pada tahun-tahun berikutnya.^{9,10} Disebutkan pula bahwa individu dengan peningkatan titer salah satu dari uji serologi tersebut memiliki risiko relatif (RR) 4 kali lebih tinggi dibanding individu seronegatif. Individu dengan nilai positif untuk kedua uji serologi tersebut memiliki risiko relatif (RR) sebesar 33 kali dalam *follow-up* 16 tahun.¹⁰

Fachiroh et al.⁴ membandingkan beberapa uji serologi pada penderita KNF dengan populasi sehat sebagai kontrol. Hasilnya menunjukkan bahwa uji serologi antibodi IgA EBNA1 memiliki sensitivitas 88,5% dan spesifisitas 80,1%, sementara serologi antibodi IgA VCA p-18 memiliki sensitivitas sebesar 79,8% dan spesifisitas 70,9%. Kombinasi serologi antibodi IgA (EBNA1+VCA p-18) memiliki sensitivitas 90,1% dan spesifisitas 85,4%.⁷ Dengan nilai sensitivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi, maka IgA (EBNA1+VCA p-18) dengan karakter KNF dapat digunakan sebagai alat skrining KNF yang lebih peka terutama pada penderita dengan gejala-gejala kronis di daerah kepala dan leher.

Pada kasus KNF, perbandingan berdasarkan jenis kelamin antara laki-laki dan perempuan adalah 2-3:1.^{11,12,13} Hasil serologi IgA pada subjek penelitian ini menunjukkan persentase yang lebih besar pada wanita, walaupun tidak memberikan kemaknaan secara statistik. Beberapa peneliti membuktikan adanya hubungan respons imun terhadap EBV dengan status hormonal.^{14,15} Sangat mungkin status hormon juga mempengaruhi hasil studi ini. Kemungkinan penyebab lainnya adalah bahwa tingkat kesadaran terhadap suatu gejala penyakit dan kesegeraan untuk mencari pengobatan lebih tinggi pada kaum perempuan.

Frekuensi kadar IgA yang tinggi meningkat secara linier terhadap peningkatan usia, hal ini menunjukkan bahwa populasi berisiko tinggi meningkat sesuai peningkatan usia. Tidak berbeda dengan beberapa penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa rentang umur terbanyak pada kasus KNF adalah pada rentang 40-51 tahun.¹⁶ Hal ini juga membuktikan bahwa potensi reaktivasi

EBV meningkat sesuai dengan peningkatan usia.

Rinitis kronis merupakan keluhan terbanyak pada populasi sampel yang digunakan, diikuti dengan hidung tersumbat. Infeksi yang disebabkan virus Epstein-Barr seringkali memberikan gejala-gejala yang menyerupai flu (*flu-like syndrome*). Infeksi EBV dapat pula mempengaruhi transformasi sel menjadi maligna pada sel limfoid dan sel epitel.¹⁷ Penelitian di Taiwan yang dilakukan Chien et al.¹⁰ menyebutkan bahwa riwayat sinusitis merupakan salah satu faktor risiko pada populasi laki-laki dengan titer IgA VCA dan DNase anti-EBV yang tinggi.

Pada penelitian ini didapatkan 4,1% penderita dengan gejala kronis di kepala dan leher dengan kadar IgA karakter KNF yang tinggi yang berkembang menjadi KNF. Ketiga kasus tersebut timbul dalam kurun waktu dua tahun *follow-up*. Hal ini mengindikasikan bahwa penderita dengan keluhan dan atau gejala di kepala leher yang mempunyai kadar IgA karakter KNF tinggi memiliki risiko yang lebih tinggi untuk terkena KNF.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa lebih dari 33% penderita dengan gejala kronis di daerah kepala dan leher memiliki kadar IgA karakter KNF yang tinggi, dan ada kecenderungan meningkat dengan peningkatan usia penderita. Kadar IgA karakter KNF yang tinggi dapat digunakan sebagai tanda awal kejadian KNF.

Ucapan Terima Kasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada dr. Arina Prihestri dan Sri Wahyuni yang telah membantu dalam mengumpulkan data.

DAFTAR PUSTAKA

1. Henle G, Henle W. Epstein-Barr virus specific IgA serum antibodies as an outstanding feature of nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer* 1976; 17:1-7.
2. Ji MF, Wang DK, Yu YL, Guo YQ, Liang JS, Cheng WM, et al. Sustained elevation of Epstein Barr virus antibody level preceding clinical onset of nasopharyngeal carcinoma. *Br J Cancer* 2007; 96(4):623-30.
3. Cheng J, Cai Y, Zheng Y, Li J, Mo Y. Analysis of serum

- levels of IgA antibodies to Epstein Barr virus capsid antigens in the spouses and the children of patients with nasopharyngeal carcinoma. *Clin Oncol Cancer Res* 2009; 6(4):267-70.
4. Fachiroh J, Schouten T, Hariwiyanto B, Paramita DK, Harijadi A, Haryana SM, et al. Molecular diversity of Epstein-Barr virus IgG and IgA antibody responses in nasopharyngeal carcinoma: a comparison of Indonesian, Chinese, and European subjects. *J Infect Dis* 2004; 190:53-62.
 5. Dardari R, Hinderer W, Lang D, Benider A, El Gueddari B, Joab I, et al. Antibody responses to recombinant Epstein-Barr virus antigens in nasopharyngeal carcinoma patients: complementary test of ZEBRA protein and early antigens p54 and p138. *J Clin Microbiol* 2001; 39:3164-70.
 6. Karray H, Ayadi W, Fki L, Hammami A, Daoud J, Drira M, et al. Comparison of three different serological techniques for primary diagnosis and monitoring of nasopharyngeal carcinoma in two age groups from Tunisia. *J Med Virol* 2005; 75:593-602.
 7. Fachiroh J, Paramita DK, Hariwiyanto B, Harijadi A, Dahlia HL, Indrasari SR, et al. Single-assay combination of Epstein Barr virus (EBV) EBNA1 and viral capsid antigen-p-18-derived synthetic peptides for measuring anti-EBV immunoglobulin G (IgG) and IgA antibody level in sera from nasopharyngeal carcinoma patients: options for field screening. *J Clin Microbiol* 2006; 44:1459-67.
 8. Lee SS, Jang JJ, Cho KJ, Khang SK, Kim CW. Epstein-Barr virus-associated primary gastrointestinal lymphoma in non-immunocompromised patients in Korea. *Histopathology* 1997; 30:234-42.
 9. Zeng Y, Zhang LG, Wu YC, Huang YS, Huang NQ, Li JY, et al. Prospective studies on nasopharyngeal carcinoma in Epstein-Barr virus IgA/VCA antibody-positive persons in Wuzhou City, China. *Int J Cancer* 1985; 36:545-7.
 10. Chien YC, Chen JY, Liu MY, Yang HI, Hsu MM, Chen CJ, et al. Serologic markers of Epstein Barr virus infection and nasopharyngeal carcinoma in Taiwanese men. *N Engl J Med* 2001; 345(26):1877-82.
 11. Roland NJ, McRae RDR, McCombe AW. Nasopharyngeal tumour. In: Jones AS, editor. *Otolaryngology and head neck surgery*. 1st ed. United Kingdom: Bios Scientific Publishers; 1995. p. 179-81.
 12. Sastrowiyoto S, Losin L, Setiamika M. Tinjauan retrospektif KNF di RSUP Dr. Sardjito selama 3 tahun. *Kumpulan Naskah PIT PERHATI*. Batu Malang; 1995. p. 925-53.
 13. Jia WH, Shao JY, Feng BJ, Zeng YX. Genetic component involved in nasopharyngeal carcinoma development. In: Bishop J, Huang P, Johnson JST, Soo KC, editors. *Cancer Reviews Asia Pacific*. New Jersey London, Singapore, Hongkong, Bangalore: World Scientific; 2003. p. 31-49.
 14. Matalka KZ, Sidki A, Abdul-Malik SM, Abdul-Jalil T. Academic stress-influence on Epstein Barr virus and Cytomegalovirus reactivation, cortisol and prolactin. *Lab Med* 2000; 31(3):163-8.
 15. Stowe RP, Pierson DL, Barrett DT. Elevated stress hormone levels relate to Epstein-Barr virus reactivation. *Psychosomatic Med* 2001; 63:891-5.
 16. Gu AD, Lu LX, Xie YB, Chen LZ, Feng QS, Kang T, et al. Clinical value of multiple Epstein Barr virus serological biomarkers detected by xMAP technology. *J Transl Med* 2009; 7:73.
 17. Cohen JI, Lekstrom K. Epstein-Barr virus BARF1 protein is dispensable for B-cell transformation and inhibits alpha interferon secretion from mononuclear cells. *J Virol* 1999; 73:7627-32.