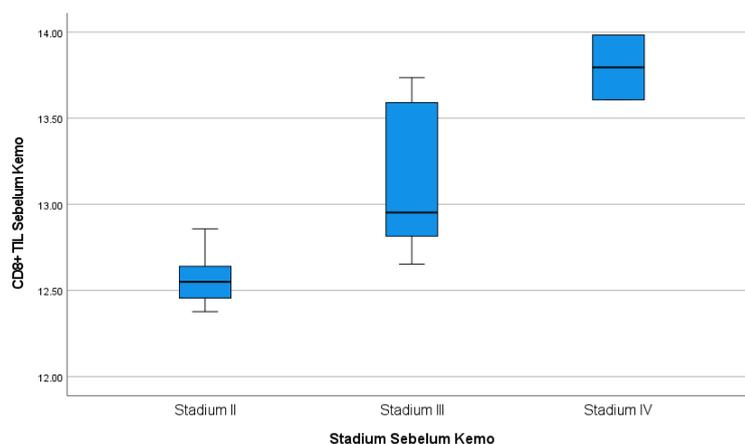


Hasil analisis One-Way ANOVA pada Tabel 4.7 menunjukkan bahwa secara umum terdapat perbedaan yang signifikan antara stadium KNF dalam ekspresi mRNA gen CD8+ TIL untuk pasien yang belum menjalani kemoradioterapi ( $p < 0,05$ ). Dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengevaluasi perbedaan di antara masing-masing pasangan stadium KNF. Hasil analisis menunjukkan perbedaan yang signifikan antara stadium II dan III ( $p < 0,05$ ), yang sesuai dengan pola yang sama pada perbandingan antara stadium II dan IV, serta stadium III dan IV. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa ekspresi mRNA gen CD8+ TIL berbeda secara signifikan antara ekspresi mRNA gen pasien yang belum menjalani kemoradioterapi dengan stadium II dan III, III dan IV, serta II dan IV.

Lebih lanjut, terdapat kecenderungan bahwa rerata ekspresi mRNA gen CD8+ TIL pada pasien yang belum menjalani kemoradioterapi meningkat seiring dengan peningkatan stadium KNF. Hasil uji korelasi Spearman pada Tabel 4.11 menunjukkan koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,845 dengan nilai  $p$  yang signifikan ( $p < 0,05$ ).



**Box Plot ekspresi mRNA gen CD8+ TIL pada penderita Karsinoma berdasarkan Stadium KNF yang belum menjalani kemoradioterapi**

Berdasarkan visualisasi data pada Grafik 4.6, terlihat adanya tren peningkatan ekspresi mRNA gen CD8+ TIL seiring dengan meningkatnya stadium kanker. Lebih lanjut, ditemukan bahwa terdapat jarak yang besar antara batas atas dan batas bawah pada *box plot* untuk Stadium III. Hal ini menunjukkan adanya variasi yang signifikan dalam ekspresi mRNA gen CD8+ TIL di antara pasien pada stadium III, dengan beberapa pasien menunjukkan ekspresi yang lebih tinggi maupun beberapa pasien lainnya menunjukkan ekspresi lebih rendah.

**Tabel 4.8. Ekspresi mRNA gen PD-L1 berdasarkan stadium KNF pada pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi**

Stadium KNF	Ekspresi mRNA gen PD-L1			Nilai p*
	Min/Max	Mean/Median	95% IK	
Std I (n=3)	9,09/9,24	9,15/9,13	8,96 - 9,34	<0,001
Std III (n=8)	11,10/11,56	11,36/11,37	11,22 - 11,49	
Std IV (n=7)	11,25/11,84	11,52/11,52	11,30 - 11,73	

\*One Way Anova test; LSD

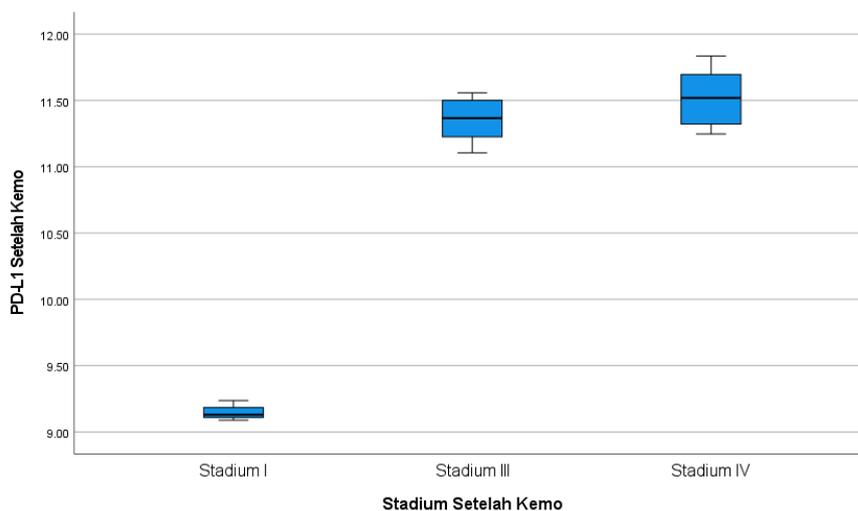
Hasil analisis One-Way ANOVA pada Tabel 4.8 menunjukkan bahwa secara umum terdapat perbedaan yang signifikan antara ekspresi mRNA gen PD-L1 pada stadium KNF untuk pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi ( $p < 0,05$ ). Kemudian dilakukan uji LSD untuk melihat hubungan mRNA gen PD-L1 pada masing-masing Stadium KNF. Berdasarkan hasil analisis, ditemukan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan dalam ekspresi mRNA gen PD-L1 antara stadium III dan IV ( $p > 0,05$ ). Ini menegaskan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dalam ekspresi mRNA gen PD-L1 antara pasien yang berada pada



sebut. Namun, temuan ini tidak sejalan dengan hasil analisis untuk stadium terdapat perbedaan yang signifikan antara ekspresi mRNA gen pasien dengan serta stadium I dan IV, dengan nilai  $p < 0,05$ . Oleh karena itu, dari hasil ini,

dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dalam ekspresi mRNA gen PD-L1 antara pasien dengan stadium I dan III, serta antara stadium I dan IV.

Lebih lanjut, terdapat kecenderungan bahwa rerata ekspresi mRNA gen PD-L1 pada pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi meningkat seiring dengan peningkatan stadium KNF. Hasil uji korelasi Spearman pada Tabel 4.11 menunjukkan koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,621 dengan nilai  $p$  sebesar 0,003.



**Grafik 4.7. Box Plot ekspresi mRNA gen PD-L1 pada penderita Karsinoma Nasofaring berdasarkan Stadium KNF yang sudah menjalani kemoradioterapi**

Berdasarkan visualisasi grafik 4.7, terlihat bahwa terdapat kecenderungan peningkatan rerata ekspresi mRNA gen PD-L1 seiring dengan peningkatan stadium KNF untuk pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi. Lebih lanjut terdapat peningkatan yang cukup menonjol pada rerata ekspresi mRNA gen PD-L1 dengan stadium III, jika dibandingkan dengan stadium

sebelumnya.



**Tabel 4.9. Ekspresi mRNA gen CTLA-4 berdasarkan stadium KNF pada pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi**

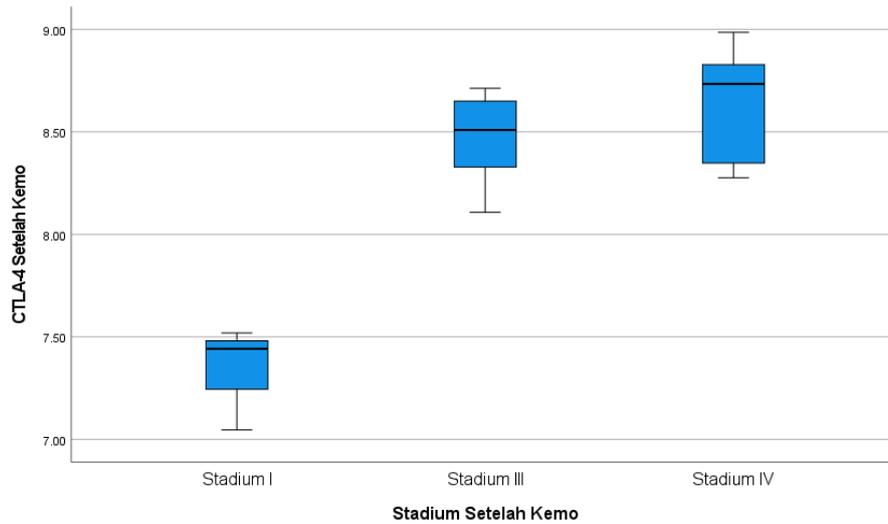
Stadium KNF	Ekspresi mRNA gen CTLA - 4			Nilai p*
	Min/Max	Mean/Median	95% IK	
Std I (n=3)	7,05/7,52	7,34/7,44	6,71 - 7,97	<0,001
Std III (n=8)	8,11/8,71	8,47/8,51	8,3 - 8,65	
Std IV (n=7)	8,28/8,99	8,62/8,73	8,35 - 8,89	

\*One Way Anova test; LSD

Hasil analisis One-Way ANOVA pada Tabel 4.9 menunjukkan bahwa secara umum terdapat perbedaan yang signifikan antara ekspresi mRNA gen CTLA-4 pada stadium KNF untuk pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi ( $p < 0,05$ ). Kemudian dilakukan uji LSD untuk melihat hubungan mRNA gen CTLA-4 pada masing-masing Stadium KNF. Berdasarkan hasil analisis, ditemukan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan dalam ekspresi mRNA gen CTLA-4 antara stadium III dan IV ( $p > 0,05$ ). Ini menegaskan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dalam ekspresi mRNA gen CTLA-4 antara pasien yang berada pada kedua stadium tersebut. Namun, temuan ini tidak sejalan dengan hasil analisis untuk stadium lainnya, karena terdapat perbedaan yang signifikan antara ekspresi mRNA gen pasien dengan stadium I dan III, serta stadium I dan IV, dengan nilai  $p < 0,05$ . Oleh karena itu, dari hasil ini, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dalam ekspresi mRNA gen CTLA-4 antara pasien dengan stadium I dan III, serta antara stadium I dan IV.

Lebih lanjut, terdapat kecenderungan bahwa rerata ekspresi mRNA gen CTLA-4 pada pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi meningkat seiring dengan peningkatan stadium relasi Spearman pada Tabel 4.11 menunjukkan koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar  $r = 0,99$  dan nilai  $p$  sebesar 0,004.





**Grafik 4.8. Box Plot** ekspresi m RNA gen CTLA-4 pada penderita Karsinoma Nasofaring berdasarkan Stadium KNF yang sudah menjalani kemoradioterapi

Berdasarkan visualisasi pada Grafik 4.8, terlihat adanya kecenderungan peningkatan rerata ekspresi mRNA gen CTLA-4 seiring dengan peningkatan stadium KNF untuk pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi. Selain itu, terdapat peningkatan yang cukup signifikan pada rerata ekspresi mRNA gen CTLA-4 pada stadium III, dibandingkan dengan stadium I sebagai stadium sebelumnya.

**Tabel 4.10. Ekspresi m RNA gen CD8+ TIL** berdasarkan stadium KNF pada pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi

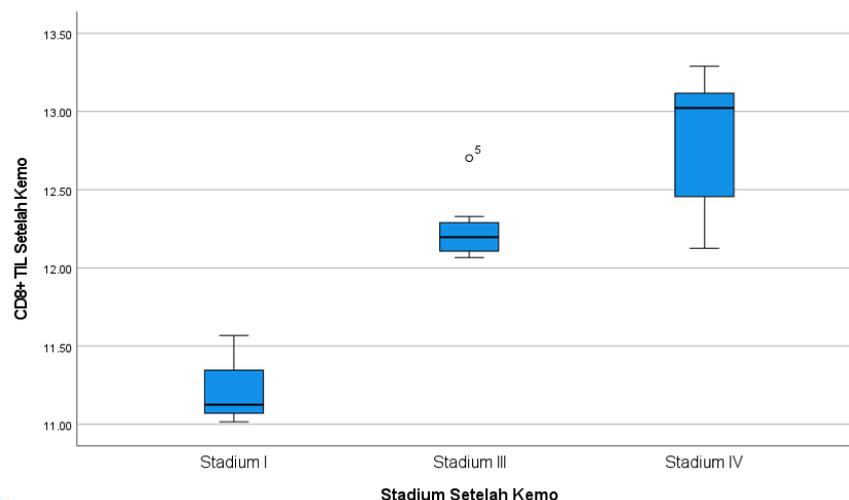
Stadium KNF	Ekspresi mRNA gen CD 8+ TIL			Nilai p*
	Min/Max	Mean/Median	95% IK	
Std I (n=3)	11,02/11,57	11,24/11,12	10.51 - 11.96	<0,001
	12,07/12,7	12,24/12,2	12.07 - 12.42	
	12,13/13,29	12,80/13,02	12.39 - 13.21	

Anova test; LSD



Hasil analisis One-Way ANOVA pada Tabel 4.10, menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara stadium KNF pada ekspresi mRNA gen CD8+ TIL secara umum untuk pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi ( $p < 0,05$ ). Dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengevaluasi perbedaan di antara masing-masing pasangan stadium KNF. Ditemukan perbedaan yang signifikan antara ekspresi mRNA gen pada stadium I dan III ( $p < 0,05$ ), yang mengikuti pola yang sama pada perbandingan antara stadium I dan IV, serta stadium III dan IV. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa ekspresi mRNA gen CD8+ TIL berbeda secara signifikan antara pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi dengan stadium I dan III, III dan IV, serta I dan IV.

Hasil uji korelasi Spearman pada Tabel 4.11 menunjukkan koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,788 dengan nilai  $p$  yang signifikan ( $p < 0,05$ ). Hal ini mengindikasikan adanya hubungan positif yang kuat dan signifikan antara ekspresi mRNA gen CD8+ TIL dan stadium KNF pada pasien yang telah menjalani kemoradioterapi.



**Box Plot** ekspresi mRNA gen CD8+ TIL pada penderita Karsinoma berdasarkan Stadium KNF yang sudah menjalani kemoradioterapi

Berdasarkan visualisasi data pada grafik 4.9, ditemukan bahwa pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi memiliki tren peningkatan ekspresi mRNA gen CD8+ TIL seiring dengan meningkatnya stadium kanker.

## IV.2 Analisis Bivariat

**Tabel 4.11. Korelasi stadium dengan biomarker prognostik KNF pada kelompok yang belum dan sudah kemoradioterapi**

Korelasi	Belum KRT (n=17)		Sudah KRT (n=18)		Total (n=35)	
	Koefisien	P	Koefisien	p	Koefisien	p
Stadium x PDL-1	r=0,465	0,030	r=0,621	0,003	r=0,756	<0,001
Stadium x CTLA-4	r=0,344	0,088	r=0,604	0,004	r=0,368	0,015
Stadium x CD8+TIL	r=0,845	<0,001	r=0,788	<0,001	r=0,451	0,003

*KRT=Kemoradioterapi; Korelasi Spearman*

Hasil uji korelasi Spearman pada tabel 4.11, dapat dilihat bahwa pada pasien KNF yang belum kemoradioterapi untuk ketiga biomarker (ekspresi mRNA PD-L1, CTLA-4 dan CD8+TIL) berkorelasi positif (seiring) dengan stadium KNF, semakin tinggi ekspresi biomarker, semakin tinggi stadium KNF. Ekspresi mRNA CD8+TIL yang paling kuat, *disuse*; ekspresi PD-L1, dan CTLA-4 (0,845 vs 0,465 vs 0,344). Pada pasien KNF yang sudah kemoradioterapi korelasi ini tetap seperti dengan yang belum kemoradioterapi tetapi koefisien korelasi (kekuatan) lebih tinggi sesudah kemoradioterapi pada ekspresi mRNA PD-L1 (dari 0,465 menjadi 0,621) dan ekspresi CTLA-4 (dari 0,344 menjadi 0,604). Sedangkan ekspresi mRNA CD8+TIL sedikit menurun (dari 0,845 menjadi 0,788).



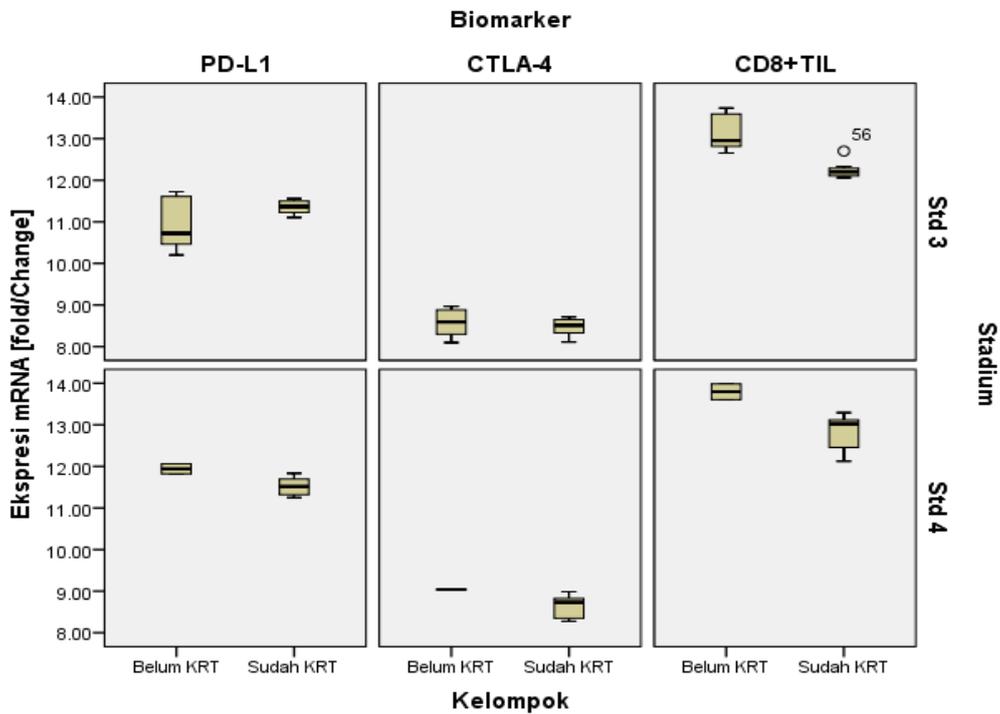
**Tabel 4.12. Perbandingan biomarker prognostik KNF antara yang belum dan sudah kemoradioterapi berdasarkan stadium**

Biomarker	Stadium	Belum KRT	Sudah KRT	Nilai p
PDL-1 Median (Min/Max)	3 (n=15)	10,72(10,2/11,7)	11,37(11,1/11,6)	0,536
	4 (n=9)	11,94(11,8/12,1)	11,52(11,3/11,8)	0,111
	Total(n=24)	11,53(10,2/12,1)	11,38(11,1/11,8)	0,907
CTLA-4 Median (Min/Max)	3 (n=15)	8,59(8,1/9,0)	8,51(8,1/8,7)	0,613
	4 (n=9)	9,04(9,03/9,05)	8,73(8,3/9,0)	0,056
	Total(n=24)	8,66(8,1/9,1)	8,43(7,1/9,0)	0,089
CD8+TIL Median (Min/Max)	3 (n=9)	12,95(12,7/13,7)	12,20(12,1/12,7)	0,001
	4 (n=15)	13,80(13,6/14,0)	13,02(12,1/13,3)	0,056
	Total (n=24)	13,32(12,7/14,0)	12,68(12,1/13,3)	0,002

*KRT=Kemoradioterapi; Mann Whitney U test*

Hasil analisis *Mann Whitney U Test* pada tabel 4.12, dapat dilihat bahwa tidak ditemukan perbedaan bermakna ( $p > 0,05$ ) antara pasien belum kemoradioterapi dan sudah kemoradioterapi pada ekspresi mRNA PD-L1 dan CTLA-4, walaupun sedikit lebih rendah pada sesudah kemoradioterapi dibandingkan belum kemoradioterapi baik pada stadium 3 maupun stadium 4. Akan tetapi pada ekspresi mRNA CD8+TIL terjadi perbedaan bermakna pada KNF stadium 3 (12,95 vs 12,20) dan pada KNF stadium 4 (13,80 vs 13,02). Ini setidaknya berarti setidaknya tidak terjadi peningkatan ekspresi mRNA PD-L1 dan CTLA-4 pada pasien yang sudah kemoradioterapi, dan mRNA CD8+TIL justru lebih rendah pada pasien sudah kemoradioterapi daripada yang belum kemoradioterapi.





**Grafik 4.10. *Box plot* perbandingan ekspresi mRNA PD-L1, CTLA-4 dan CD8+TIL antara belum kemoradioterapi dan sudah kemoradioterapi pada KNF stadium 3 dan 4**

Berdasarkan Grafik 4.10, terlihat bahwa ekspresi mRNA dari PD-L1, CTLA-4 dan CD8+TIL lebih rendah pada pasien KNF yang sudah kemoradioterapi, terutama pada ekspresi mRNA CD8+TIL baik pada KNF stadium 3 maupun 4.



## **BAB V**

### **PEMBAHASAN**

Kanker merupakan penyakit akibat pertumbuhan tidak normal dari sel-sel pada jaringan tubuh yang mengalami mutasi dan perubahan struktur biokimia (Wijaya and Muchtaridi, 2017). Dimana kanker terjadi akibat kerusakan atau mutasi dari protoonkogen yang dikode untuk protein yang terlibat dalam induksi proliferasi dan diferensiasi sel, dan tumor supresor gen yang dikode untuk protein yang menghasilkan sinyal penghambatan sel dan merangsang apoptosis (Jemal *et al.*, 2011). Banyak pasien KNF pada umumnya datang setelah stadium 2 ke atas untuk berobat ke fasilitas kesehatan.

Kemoradioterapi pada pasien KNF merupakan penanganan utama, dimana pemberian terapi tersebut dapat mengontrol sel kanker secara lokoregional dan meningkatkan survival rate pasien dengan cara mengatasi sel kanker secara sistemik lewat mikrosirkular (Munir, 2011). Kemoradioterapi dapat merusak DNA sel tumor, menyebabkan kematian sel dan pelepasan antigen tumor sehingga dapat meningkatkan mRNA gen PD-L1 pada sel tumor, serta mRNA gen CTLA-4 pada sel T (sel Treg) dan gen CD8+ TIL ke dalam mikroenvironmen tumor. (Huang *et al.*, 2015; Buchbinder and Desai, 2016; Walunas, Bakker and Bluestone, 1996; Toker and Ohashi, 2019; Barnes and Amir, 2017; Giraldo *et al.*, 2015).



Meskipun waktu terbaik untuk pengambilan sampel jaringan tumor untuk melihat ekspresi biomarker adalah sebelum atau pada awal pengobatan, terkadang pengambilan jaringan setelah kemoradioterapi juga penting. Waktu terbaik untuk pengambilan jaringan sesudah kemoradioterapi berkisar minimal beberapa hari hingga beberapa minggu, hal ini disebabkan sel imun tubuh butuh waktu untuk pemulihan setelah kemoradioterapi. Secara umum, beberapa sel imun bisa pulih dalam beberapa hari hingga beberapa minggu setelah selesai radioterapi (Abbas et al., 2018). Dalam penelitian ini, pada kelompok sudah kemoradioterapi sampel jaringan penderita KNF diambil setelah 3 bulan, sehingga dimungkin ekspresi biomarker telah stabil.

Berdasarkan karakteristik responden, dapat dilihat bahwa usia rata-rata responden yang diteliti adalah 48 tahun, dengan responden termuda berusia 27 tahun dan tertua berusia 67 tahun. Lebih lanjut dari total 35 responden yang diteliti, 21 di antaranya adalah laki-laki, sementara 14 lainnya adalah perempuan. Habibasari *et al.* pada tahun 2022 melaporkan usia rata-rata responden pada stadium awal KNF (I dan II) adalah 43 tahun dengan umur antara 26 sampai dengan 58 tahun, serta pada stadium lanjut KNF (III dan IV) adalah 44 tahun dengan umur antara 24 sampai dengan 61 tahun (Habibasari et al., 2022). Hal sama juga didapatkan pada penelitian Zhou et al. pada tahun 2016, melaporkan usia rata-rata pasien KNF adalah 47 tahun dengan umur antara 20 hingga 78 tahun (Zhou et al., 2016).



Selanjutnya, berdasarkan distribusi pasien dalam sampel, mayoritas pasien merupakan pasien dengan Stadium III KNF, yang mencakup 15 pasien atau sekitar 42,9% dari total sampel. Diikuti oleh pasien dengan Stadium IV, yang jumlahnya mencapai 9 pasien atau sekitar 25,7% dari total sampel. Berdasarkan data penelitian yang dilakukan Haleshappa *et al.*, sebagian besar kanker nasofaring ditemukan pada stadium lanjut III dan IV (Haleshappa *et al.*, 2017).

Berdasarkan tabel 4.2, perubahan rerata ekspresi mRNA gen PD-L1 dari uji Mann-Whitney tidak terdapat perbedaan yang signifikan berdasarkan status kemoradioterapi ( $p > 0,05$ ). Lebih lanjut, nilai mean dan median menunjukkan bahwa, secara keseluruhan tidak terdapat perbedaan yang besar antara nilai rata-rata dan nilai tengah ekspresi mRNA gen PD-L1 antara kelompok yang sudah menjalani kemoradioterapi dengan yang belum. Ini menunjukkan bahwa tidak ada tendensi yang signifikan ke arah tertentu dalam distribusi data. Walaupun demikian, ekspresi mRNA gen PD-L1 lebih rendah pada pasien yang belum menjalani kemoradioterapi dibandingkan dengan ekspresi mRNA gen PD-L1 pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi (grafik 4.1).

Berdasarkan analisis One-Way ANOVA pada tabel 4.5 dan tabel 4.8 menunjukkan bahwa secara umum terdapat perbedaan yang signifikan antara ekspresi mRNA gen PD-L1 pada stadium KNF untuk pasien yang belum dan sudah menjalani kemoradioterapi ( $p < 0,05$ ). Terdapat kecenderungan peningkatan rerata ekspresi mRNA gen PD-L1 seiring dengan peningkatan stadium KNF untuk pasien belum dan sesudah menjalani kemoradioterapi (grafik 4.4 dan grafik 4.7).



Habibasari *et al.*, pada penelitiannya terhadap 25 pasien dengan KNF dilakukan pemeriksaan ekspresi PD-L1 dengan tehnik pemeriksaan immunohistochemical (IHC), didapatkan hasil bahwa peningkatan ekspresi PD-L1 dapat memperburuk prognosis KNF. Dimana peningkatan ekspresi PD-L1 sebanding dengan KNF pada stadium lanjut (Habibasari *et al.*, 2022). Zhu Q mengukur kadar ekspresi PD-L1 dengan pemeriksaan IHC pada pasien KNF dan menemukan bahwa tingkat ekspresi PD-L1 berhubungan dengan stadium klinis KNF (Zhu Q., 2017). Shi *et al.*, melaporkan bahwa ekspresi PD-L1 yang tinggi pada karsinoma kolorektal dikaitkan dengan stadium tumor dan prognosa (Shi *et al.*, 2013). Frigola *et al.*, menunjukkan bahwa ekspresi PD-L1 dikaitkan dengan stadium tumor dan prognosis pada pasien dengan karsinoma sel ginjal (Frigola *et al.*, 2011).

Hasil sebaliknya dilaporkan oleh Liu X, mengevaluasi ekspresi PD-L1 hubungannya dengan Tumour Associated Macrophage (TAM) pada 212 pasien KNF dimana ekspresi PD-L1 ditemukan tanpa dipengaruhi stadium tumor. Serta sebuah penelitian yang dilakukan oleh Chan OS, menemukan tidak adanya hubungan korelasi antara stadium KNF dan ekspresi PD-L1 (Liu X., 2019; Chan O.S., 2017)

Kemoradioterapi dapat meningkatkan ekspresi PD-L1 pada sel kanker dan sel-sel dilingkungan mikro tumor. Ini terjadi sebagai mekanisme pertahanan sel kanker terhadap kerusakan yang diinduksi oleh terapi. Dengan meningkatkan

PD-L1, sel kanker mencoba menghindari serangan dari sistem imun



dengan menekan aktivitas sel T. Peningkatan ekspresi PD-L1 sebelum kemoradioterapi juga dapat terjadi disaat sel kanker juga berusaha untuk menghindari dari sistem imun tubuh (Dunn *et al.*, 2002; Teng *et al.*, 2008).

Berdasarkan tabel 4.3, perubahan rerata ekspresi mRNA gen CTLA-4 dari uji Mann-Whitney tidak terdapat perbedaan yang signifikan berdasarkan status kemoradioterapi ( $p > 0,05$ ). Selain itu, nilai mean dan median ekspresi mRNA gen CTLA-4 relatif serupa pada status kemoradioterapi, menunjukkan bahwa tidak ada kecenderungan yang signifikan dalam perbedaan ekspresi gen CTLA-4 antara sebelum dan sesudah kemoradioterapi. Meskipun nilai p yang dihasilkan ( $p=0,086$ ) pada status kemoradioterapi mendekati nilai alpha yang umumnya digunakan (0,05). Walaupun demikian, ekspresi mRNA gen CTLA-4 lebih tinggi pada pasien yang belum menjalani kemoradioterapi dibandingkan dengan ekspresi mRNA gen CTLA-4 pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi (grafik 4.2).

Berdasarkan analisis One-Way ANOVA pada Tabel 4.6, ditemukan bahwa secara umum tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $p > 0,05$ ) dalam ekspresi mRNA gen CTLA-4 pada pasien yang belum menjalani kemoradioterapi antara semua stadium kanker yang diteliti. Hal tersebut berbanding terbalik (tabel 4.9), dimana pada pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi menunjukkan bahwa secara umum terdapat perbedaan yang signifikan antara ekspresi mRNA gen CTLA-4 pada stadium KNF ( $p < 0,05$ ). Lebih lanjut, rerata ekspresi mRNA gen CTLA-4 pada pasien yang belum menjalani kemoradioterapi menunjukkan naik dan turun, yang tidak dipengaruhi oleh stadium KNF (grafik 4.5). Hal



tersebut berbanding terbalik (grafik 4.8), adanya kecenderungan peningkatan rerata ekspresi mRNA gen CTLA-4 seiring dengan peningkatan stadium KNF untuk pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi.

CTLA-4 adalah reseptor protein yang berfungsi sebagai pos pemeriksaan imun dan menurunkan regulasi respon imun. CTLA-4 secara konstitutif diekspresikan dalam sel T regulator tetapi hanya diregulasi dalam sel T konvensional setelah aktivasi sebuah fenomena yang sangat menonjol pada sel kanker. CTLA-4 merupakan reseptor inhibitor pada sel T yang berperan dalam mengatur dan mempertahankan toleransi imun, serta mencegah aktivasi berlebihan dari sel T yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan (Farhangnia and Akbarpour, 2022). Hal tersebutlah yang mengakibatkan ekspresi mRNA gen CTLA-4 pada pasien yang belum menjalani kemoradioterapi menunjukkan fluktuasi naik dan turun, karena sel imun tubuh masih berusaha melakukan mekanisme pertahanan diri terhadap sel kanker. Lain hal setelah dilakukan kemoradioterapi, dimana sel kanker berusaha untuk beradaptasi terhadap sistem imun tubuh dan tubuh sendiri berupaya meningkatkan ekspresi sistem imunnya dengan cara meningkatkan aktivitas sel T melalui reseptor sel T yang menyebabkan peningkatan ekspresi mRNA gen CTLA-4 (Walunas et al., 1996; Toker and Ohashi, 2019; Santoso, 2009).

Huang PY et al., melakukan penelitian terhadap 191 pasien KNF didapatkan bahwa pasien KNF ekspresi CTLA-4 tinggi pada stadium lanjut (Huang PY. et al., 2016). Santoni G et al., terhadap 68 pasien timoma didapatkan bahwa ekspresi CTLA-4 pada stadium lanjut (Santoni G. et al., 2018).



Berdasarkan tabel 4.4, terkait dengan status kemoradioterapi, nilai p yang dihasilkan (0,002) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dalam ekspresi mRNA gen CD8+ TIL antara kelompok yang belum menjalani kemoradioterapi dengan yang sudah. Hal tersebut dapat ditunjukkan pada Box Plot (grafik 4.3), dapat dilihat bahwa ekspresi mRNA gen CD8+ TIL lebih tinggi pada pasien yang belum menjalani kemoradioterapi dibandingkan dengan ekspresi mRNA gen CD8+ TIL pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi.

Keberhasilan dalam mengidentifikasi sel kanker akan memunculkan respon antitumor melalui infiltrasi sel-sel radang, terutama TIL jenis sel T sitotoksik (CD8+) yang akan mengidentifikasi dan melisis sel kanker. Walaupun demikian, pada banyak kasus, sel kanker dari lingkungan mikro kanker mampu menghindari ataupun menekan respon imunitas dengan cara mencegah proliferasi sel T sitotoksik. Pada akhirnya, sebagian kasus justru menunjukkan kemampuan sel ganas untuk memilih aktivitas sistem imunitas yang diperlukan untuk membantu sel ganas berkembang dan bermetastase (Santoso, 2009). Selaras dengan hasil yang didapat, dimana ekspresi mRNA gen CD8+ TIL lebih tinggi pada pasien yang belum menjalani kemoradioterapi dan lebih rendah pada pasien yang sudah menjalani kemoradioterapi karena kemampuan sel kanker menekan respon imunitas dan beradaptasi terhadap lingkungan mikro imun.

Berdasarkan analisis One-Way ANOVA (tabel 4.7 dan tabel 4.10), menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara stadium KFN pada ekspresi mRNA gen CD8+ TIL secara umum untuk pasien yang belum dan sudah menjalani



kemoradioterapi ( $p < 0,05$ ). Terdapat kecenderungan bahwa rerata ekspresi mRNA gen CD8+ TIL pada pasien yang sebelum dan sesudah menjalani kemoradioterapi meningkat seiring dengan peningkatan stadium KNF (grafik 4.6 dan grafik 4.9).

Kemoradioterapi dapat meningkatkan infiltrasi sel T CD8+ ke dalam lingkungan mikro kanker. Radioterapi merusak DNA sel kanker, menyebabkan kematian sel dan pelepasan antigen tumor, yang dapat meningkatkan presentasi antigen dan aktivasi sel T CD8+. Ekspresi CD8+ membatasi pertumbuhan sel kanker, menekan infiltrasi sel kanker, dan memediasi penghapusan tumor secara langsung (Apetoh *et al.*, 2015; Munir, 2011).

Berdasarkan hasil uji korelasi Spearman pada tabel 4.11, terlihat bahwa pada pasien KNF yang belum kemoradioterapi untuk ekspresi mRNA PD-L1, CTLA-4, dan CD8+ TIL berkorelasi positif (seiring) dengan stadium KNF, dimana semakin tinggi ekspresi biomarker tersebut maka semakin tinggi pula stadium KNF. Pada pasien KNF yang sudah kemoradioterapi korelasi ini tetap seperti dengan yang belum kemoradioterapi, tetapi koefisien korelasi (kekuatan) lebih tinggi sesudah kemoradioterapi pada ekspresi mRNA PD-L1 (dari 0,465 menjadi 0,621) dan ekspresi CTLA-4 (dari 0,344 menjadi 0,604). Sedangkan ekspresi mRNA CD8+ TIL sedikit menurun (dari 0,845 menjadi 0,788).

Kemoradioterapi dapat merangsang respon imun anti-tumor yang lebih kuat, yang dapat meningkatkan ekspresi mRNA PD-L1 sebagai mekanisme pelarian tumor. Sel tumor dapat meningkatkan ekspresi mRNA PD-L1 sebagai  
erhadap aktivasi sistem kekebalan tubuh untuk menghindari pengenalan



dan penghancuran oleh sel-sel imun (Dunn et al., 2002; Teng et al., 2008). Hal ini sesuai dengan hasil dari penelitian ini bahwa ekspresi mRNA PD-L1 menjadi lebih tinggi sesudah kemoradioterapi (dari 0,465 menjadi 0,621).

Kemoradioterapi dapat mengubah lingkungan mikro tumor, termasuk meningkatkan presentasi antigen dari sel tumor yang rusak atau mati. Hal ini dapat merangsang aktivasi sistem kekebalan tubuh dan ekspresi CTLA-4 sebagai upaya untuk mengontrol respons imun yang berlebihan terhadap tumor (Walunas et al., 1996; Toker and Ohashi, 2019; Santoso, 2009). Hal ini sesuai dengan hasil dari penelitian ini bahwa ekspresi mRNA CTLA-4 menjadi lebih tinggi sesudah kemoradioterapi (dari 0,344 menjadi 0,604).

Kemoradioterapi dapat menyebabkan kerusakan pada sel tumor, yang pada gilirannya dapat mengurangi jumlah antigen yang dipresentasikan kepada limfosit T. Jika sel tumor menjadi kurang efektif dalam menarik limfosit T ke lingkungan tumor, ini dapat menyebabkan penurunan ekspresi CD8+ TIL setelah kemoradioterapi. Radiasi itu sendiri dapat langsung mempengaruhi limfosit T, mengakibatkan kerusakan DNA dan kematian sel. Jika radioterapi merusak limfosit T, ini dapat mengurangi jumlah dan aktivitas CD8+ TIL di dalam tumor (Spanos et al., 2009; Barker et al., 2015). Hal ini sesuai dengan hasil dari penelitian ini bahwa ekspresi mRNA CD8+ TIL sedikit menurun sesudah kemoradioterapi (dari 0,845 menjadi 0,788).

Berdasarkan hasil analisis *Mann Whitney U Test* pada tabel 4.12, dapat

hwa tidak ditemukan perbedaan bermakna ( $p > 0,05$ ) antara pasien belum



kemoradioterapi dan sudah kemoradioterapi pada ekspresi mRNA PD-L1 dan CTLA-4, walaupun sedikit lebih rendah pada sesudah kemoradioterapi dibandingkan belum kemoradioterapi baik pada stadium 3 maupun stadium 4. Akan tetapi pada ekspresi mRNA CD8+TIL terjadi perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) pada KNF stadium 3 (12,95 vs 12,20) dan pada KNF stadium 4 (13,80 vs 13,02). Ini setidaknya berarti tidak terjadi peningkatan ekspresi mRNA PD-L1 dan CTLA-4 pada pasien yang sudah kemoradioterapi, dan mRNA CD8+TIL justru lebih rendah pada pasien sudah kemoradioterapi daripada yang belum kemoradioterapi. Berdasarkan Grafik 4.10, terlihat bahwa ekspresi mRNA dari PD-L1, CTLA-4 dan CD8+TIL lebih rendah pada pasien KNF yang sudah kemoradioterapi, terutama pada ekspresi mRNA CD8+TIL baik pada KNF stadium 3 maupun 4.

Stadium yang dipakai sebagai korelasi antara pasien yang belum dan sudah kemoradioterapi adalah stadium 3 dan 4. Dimana stadium 1 dan 2 pada masing-masing kelompok tidak dapat dibandingkan. Berdasarkan teori yang ada, KNF stadium 1 dan 2 dapat diterapi dengan menggunakan radioterapi saja, sedangkan stadium 3 dan 4 dapat diberikan kemoterapi dan radioterapi (Li *et al.*, 2012). Oleh karenanya pada penelitian ini korelasi yang digunakan hanya stadium 3 dan 4.

Pada beberapa pasien dengan kanker stadium lanjut (stadium 3 dan 4), ekspresi PD-L1 pada tumor mungkin rendah atau tidak signifikan sebelum kemoradioterapi. Tumor stadium lanjut mungkin memiliki kemampuan regenerasi yang tinggi setelah kemoradioterapi. Meskipun kemoradioterapi dapat merusak sel

kemampuan regenerasi tumor yang kuat dapat mengimbangi efek



radioterapi terhadap ekspresi PD-L1 (Zeng *et al.*, 2021; Jiang *et al.*, 2021). Dalam kasus ini, kemoradioterapi mungkin tidak memiliki dampak yang signifikan pada ekspresi PD-L1 karena tidak ada peningkatan yang signifikan yang bisa diamati.

CTLA-4 adalah reseptor protein yang berfungsi sebagai pos pemeriksaan imun dan menurunkan regulasi respon imun. CTLA-4 secara konstitutif diekspresikan dalam sel T regulator tetapi hanya diregulasi dalam sel T konvensional setelah aktivasi sebuah fenomena yang sangat menonjol pada sel kanker. CTLA-4 merupakan reseptor inhibitor pada sel T yang berperan dalam mengatur dan mempertahankan toleransi imun, serta mencegah aktivasi berlebihan dari sel T yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan (Farhangnia and Akbarpour, 2022). Lingkungan mikro tumor pada kanker stadium lanjut seringkali lebih immunosupresif, yang dapat mempengaruhi ekspresi CTLA-4. Lingkungan yang immunosupresif ini dapat menghambat respons imun terhadap tumor, termasuk peningkatan ekspresi CTLA-4 setelah kemoradioterapi (Whiteside *et al.*, 2008; Binnewies *et al.*, 2018). Dalam kasus ini, kemoradioterapi mungkin tidak memiliki dampak yang signifikan pada ekspresi CTLA-4 karena tidak ada peningkatan yang signifikan yang bisa diamati.

Beberapa pasien mungkin mengalami penurunan ekspresi CD8+ TIL setelah kemoradioterapi karena respons imun terhadap pengobatan. Meskipun kemoradioterapi dapat merangsang respons imun awal terhadap sel-sel tumor, respons ini mungkin tidak cukup kuat untuk mempertahankan tingkat infiltrasi

TIL setelah pengobatan. Kemoradioterapi dapat mengubah lingkungan



mikro dalam tumor, termasuk komposisi sel dan profil sitokin. Perubahan ini dapat mempengaruhi kemampuan CD8+ TIL untuk bertahan hidup dan berfungsi dalam tumor, menghasilkan penurunan ekspresi setelah kemoradioterapi (Demaria *et al.*, 2015; Filatenkov *et al.*, 2015). Dalam kasus ini, kemoradioterapi mungkin memiliki dampak yang signifikan ( $p < 0,05$ ) pada ekspresi CD8+ TIL karena terjadi penurunan yang signifikan yang bisa diamati.

Respons imun terhadap tumor sangat kompleks, sel imun dapat menghambat pertumbuhan tumor (*immunoediting*), tapi dapat juga meningkatkan pertumbuhan sel tumor dan angiogenesis. *Immunoediting*, yang terdiri dari 3 fase, yaitu fase eliminasi, fase *equilibrium*, dan yang terakhir fase *escape*. Kehadiran TIL pada tumor diketahui dapat memberikan prognosis yang lebih baik. Infiltrasi limfosit disini termasuk sel T, Tregulatory (Treg), Natural Killer (NK) sel (Dushyanten *et al.*, 2015; Dunn *et al.*, 2002; Teng *et al.*, 2008; Widiasih, 2019).

Berdasarkan penelitian Zhao dan kawan-kawan (Zhao *et al.*, 2019), pada KNF PD-L1 terekspresi tinggi pada membran dari sel tumor, dan terekspresi rendah pada sel imun, dengan menggunakan antibodi SP263 (Ventana), dan dengan nilai potong baku (*cut-off value*) 50% seperti pada beberapa data dari penelitian sebelumnya yang mempublikasikan KNF yang sesuai pada NSCLC.

Ekspresi PD-L1 pada sel tumor dapat berfungsi sebagai mekanisme untuk menghindari deteksi dan pembunuhan oleh sistem imun. Zheng L. *et al.*, pada 139 pasien dengan diagnosa KNF menunjukkan bahwa meningkatnya ekspresi PD-L1 umor berhubungan dengan prognostik yang buruk (Zheng L. *et al.*, 2017).



Begitupula penelitian yang dilakukan oleh Zhou Y. et al., dan Green et al., menunjukkan prognostik yang buruk pada peningkatan ekspresi PD-L1 dengan angka kelangsungan hidup pasien yang lebih pendek (Zhou Y. et al., 2017; Green et al., 2012).

Penelitian telah menunjukkan bahwa pasien dengan ekspresi PD-L1 yang tinggi pada sel kanker lebih mungkin untuk merespon terapi inhibitor checkpoint imun. Oleh karena itu, pengukuran ekspresi PD-L1 sebelum memulai kemoradioterapi dapat membantu dalam memilih strategi pengobatan yang paling tepat untuk pasien tertentu, khususnya dalam konteks terapi kombinasi atau sebagai prognosis respon terhadap terapi.

Dalam konteks pengobatan kanker, ekspresi PD-L1 bisa diukur untuk mengevaluasi kemungkinan manfaat dari terapi yang menargetkan jalur PD-1/PD-L1, seperti pembrolizumab atau nivolumab, yang merupakan bagian dari kelas obat yang dikenal sebagai *inhibitor checkpoint imun*. Terapi ini bekerja dengan memblokir interaksi antara PD-1 pada sel T dan PD-L1 pada sel kanker, yang memungkinkan sistem imun lebih efektif menyerang sel kanker.

Ekspresi PD-L1 setelah kemoradioterapi adalah area penelitian aktif yang memiliki potensi untuk meningkatkan personalisasi pengobatan kanker. Dengan tujuan akhir meningkatkan hasil klinis untuk semua pasien.

Sama seperti PD-L1, CTLA-4 juga berperan dalam regulasi negatif respon imun. Namun peranannya lebih berfokus pada tahap awal aktivasi sel T di kelenjar



getah bening. Penghambatan CTLA-4 dapat meningkatkan aktivasi sel T, yang dapat berkontribusi pada respon imun yang lebih kuat terhadap tumor.

Reseptor yang berperan penting terhadap penyakit kanker dan autoimun adalah reseptor CTLA-4 yang bersifat inhibitor. Kanker memanfaatkan reseptor CTLA-4 untuk berkembang. CTLA-4 akan berikatan dengan CD80 dan CD86 pada APC. Ikatan tersebut lebih kuat dibandingkan dengan CD28 (yang merupakan kostimulator) pada APC, ikatan tersebut menyebabkan terjadinya immunosupresi dan menghambat kerja limfosit T (Sobhani et al., 2021).

Huang PY et al., melakukan penelitian terhadap 191 pasien KNF didapatkan bahwa pasien KNF dengan ekspresi CTLA-4 pada tumor yang tinggi akan memberikan prognosis yang lebih buruk dibandingkan dengan ekspresi yang rendah (Huang PY. et al., 2016). Santoni G et al., terhadap 68 pasien timoma didapatkan bahwa ekspresi berlebih CTLA-4 berkorelasi dengan penurunan kelangsungan hidup pasien timoma dan menunjukkan hasil prognosis yang tidak baik (Santoni G. et al., 2018).

Kemoradioterapi dapat meningkatkan ekspresi antigen tumor dan memodifikasi mikroenvironmen tumor, membuat sel kanker lebih rentan terhadap pengenalan dan serangan oleh sistem imun. Dan juga dapat meningkatkan ekspresi CTLA-4 pada sel T, sebagai bagian dari mekanisme feedback negatif yang bertujuan untuk mencegah kerusakan jaringan oleh respon imun yang berlebihan.

Peningkatan ini bisa menjadi mekanisme resistensi terhadap terapi, karena CTLA-

aktifkan menekan aktivitas sel T.



Peningkatan ekspresi CTLA-4 setelah kemoradioterapi menyoroti potensi untuk penggunaan terapi kombinasi yang mencakup penghambat checkpoint imun seperti anti-CTLA-4 (misalnya, ipilimumab). Terapi kombinasi ini bertujuan untuk memblokir sinyal inhibitory dan memperkuat respon imun terhadap sel kanker.

Ekspresi dan aktivasi sel CD8+ setelah kemoradioterapi dapat mengalami perubahan yang signifikan, serta memiliki dampak penting terhadap efikasi pengobatan dan prognosis kanker. Selain efek langsung kemoradioterapi terhadap sel kanker, terapi ini juga dapat mempengaruhi sistem imun, khususnya CD8+, yang berperan penting dalam respon imun antitumor.

Treg berperan dalam pencegahan penyakit autoimun, tetapi juga dapat menghambat imunitas antitumor dan mempromosikan pertumbuhan tumor. Treg juga berperan dalam menghambat sel limfosit T sitotoksik dengan menghambat pelepasan *granule* dari CD8+, dimana CD8+ mempunyai peran penting dalam membunuh sel tumor.

Sel T CD8+ adalah komponen penting dari respon imun anti-tumor. Kehadiran infiltrasi sel T CD8+ yang tinggi dalam mikroenvironmen tumor umumnya dianggap sebagai indikator prognosis yang baik pada KNF. Hal ini menunjukkan bahwa sistem imun aktif melawan tumor. Ono et al. melakukan penelitian terhadap pasien KNF berdasarkan status Epstein-Barr Virus (EBV) positif, didapatkan bahwa ekspresi CD8+ yang tinggi pada pasien KNF menghasilkan status prognosis yang paling baik (Ono et al., 2018). Serupa pada

NF, De Rose S. et al. dan Yun S. et al. melakukan penelitian kanker



lambung yang berhubungan dengan status EBV didapatkan bahwa ekspresi CD8+ *intratumoral density* yang tinggi dikaitkan dengan peningkatan kesembuhan pasien (De Rose S. *et al.*, 2018; Yun S. *et al.*, 2021).

Tingkat ekspresi yang tinggi pada PD-L1, CTLA-4 dan CD8+ TIL sejalan dengan pengaruh sistem imun tubuh terhadap progresifitas karsinoma nasofaring, dimana sistem imun tubuh akan mendeteksi dan menghancurkan sel yang mengalami perubahan kearah keganasan dengan cara meningkatkan sistem imun tubuh. Selain itu sel kanker juga berusaha untuk menghindar dari sistem imun tubuh dengan masking seolah-olah sel kanker adalah bagian dari sel tubuh sehingga sistem imun tubuh tidak dapat mengenalinya (Widiasih, 2019; Dunn *et al.*, 2002; Teng *et al.*, 2008).

Saat ini sedang banyak penelitian berlangsung untuk lebih memahami dinamika ekspresi PD-L1, CTLA-4 dan CD8+ TIL serta jalur imun lainnya sebelum maupun setelah kemoradioterapi. Menargetkan jalur seperti PD-L1, CTLA-4 dan CD8+ TIL dalam konteks kemoradioterapi menawarkan peluang untuk meningkatkan efikasi terapi kanker dengan merangsang respons imun terhadap kanker. Studi klinis yang merancang strategi terapi kombinasi, yang menggabungkan kemoradioterapi dengan penghambat checkpoint imun, sedang dieksplorasi untuk meningkatkan outcomes pasien dalam pengobatan kanker.

Dalam hasil penelitian ini didapatkan hasil bahwa biomarker yang paling erat kaitannya dengan stadium KNF adalah mRNA CD8+ TIL. Hal ini dapat terjadi

dan tingkat infiltrasi CD8+ TIL dalam KNF mencerminkan aktivitas



sistem kekebalan tubuh, dengan tumor pada stadium awal cenderung memiliki lebih banyak infiltrasi sel imun, termasuk ekspresi mRNA CD8+ TIL, sebagai respons terhadap pertumbuhan tumor yang pada gilirannya berkorelasi dengan stadium tumor. Dengan meningkatnya stadium tumor, meningkat pula ekspresi mRNA CD8+ TIL.

Biomarker yang paling peka digunakan untuk memantau efek kemoradioterapi ternyata pada penelitian ini adalah mRNA CD8+ TIL. Hal tersebut dimungkinkan bahwa kemoradioterapi dapat mempengaruhi interaksi antara sistem kekebalan tubuh dan tumor. Memang sebenarnya CD8+ TIL mempunyai peran menghancurkan sel tumor. Oleh karena itu, perubahan dalam ekspresi mRNA CD8+ TIL dapat mencerminkan aktivitas sistem kekebalan tubuh dalam menghancurkan sel tumor yang selamat atau mengurangi potensi kekambuhan sesudah kemoradioterapi.

Penulis sadar masih ada kekurangan dan keterbatasan dalam penelitian ini, yangmana akibat keterbatasan waktu serta sulitnya sampel penderita KNF yang didapatkan saat itu. Sehingga penulis tidak dapat mengikuti pada penderita KNF yang sama untuk hasil sebelum dan sesudah kemoradioterapi. Kemudian banyaknya sampel penderita KNF yang baru terdiagnosa tidak kembali kontrol untuk melakukan terapi lanjut (kemoradioterapi) dan hilang komunikasi. Penulis sadar dari sampel yang diteliti tidak terdapat faktor homogenitas, dikarenakan penulis mengambil sampel dari beberapa pusat pengobatan yang menangani

KNF. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan jumlah sampel yang sesuai



dengan penghitungan dari jumlah statistik yang didapatkan. Dalam hal penanganan terhadap terapi yang diberikan pada penderita KNF, didapatkan bahwa tindakan radioterapi yang diberikan harus menunggu dalam waktu relatif lama. Waktu tunggu untuk tindakan radioterapi hingga memakan waktu sampai dengan 1 tahun lamanya. Hal inilah yang menyebabkan peneliti tidak dapat mengumpulkan sampel sesuai yang dibutuhkan dikarenakan keterbatasan waktu.

Semoga dari hasil penelitian ini, penulis dapat memberikan wawasan baru dalam dunia kedokteran khususnya di Indonesia tentang manfaat penggunaan ekspresi mRNA gen PD-L1, CTLA-4 dan CD8+ TIL sebagai indikator dalam keberhasilan terapi penderita KNF. Dimana dari hasil penelitian didapatkan hasil yang signifikan peningkatan ( $p < 0,05$ ) ekspresi mRNA gen PD-L1, CTLA-4 dan CD8+ TIL berbanding lurus dengan stadium serta prognosis terhadap penderita KNF.



## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### VI.1 Kesimpulan

Ketiga biomarker (ekspresi mRNA PD-L1, CTLA-4 dan CD8+TIL), yang sering digunakan sebagai prognostik pada penyakit keganasan, juga dapat digunakan sebagai prognostik pada pasien KNF. Selain itu, ketiga biomarker ini dapat juga digunakan untuk memantau perbaikan imun host, setelah menjalani pengobatan kemoradioterapi. Adapun bukti-bukti yang ditemukan, adalah sebagai berikut:

1. Ekspresi mRNA PD-L1 berkorelasi positif (seiring) dengan stadium KNF pada kelompok pasien yang belum maupun sudah kemoradioterapi. Semakin tinggi ekspresi mRNA PD-L1 semakin tinggi stadium KNF.
2. Ekspresi mRNA CTLA-4 berkorelasi positif (seiring) dengan stadium KNF pada kelompok pasien yang belum maupun sudah kemoradioterapi. Semakin tinggi ekspresi mRNA CTLA-4, semakin tinggi stadium KNF.
3. Ekspresi mRNA CD8+TIL berkorelasi positif (seiring) dengan stadium KNF pada kelompok pasien yang belum maupun sudah kemoradioterapi. Semakin tinggi ekspresi mRNA CD8+TIL, semakin tinggi stadium KNF.
4. Biomarker yang paling erat kaitannya dengan stadium KNF adalah mRNA CD8+TIL.



5. mRNA PD-L1, CTLA-4 dan CD8+TIL lebih rendah pada pasien yang sudah kemoradioterapi pada masing-masing stadium (stadium 3 dan 4), terutama untuk mRNA CD8+TIL.
6. Biomarker yang paling peka digunakan untuk memantau efek kemoradioterapi adalah mRNA CD8+TIL.

## VI.2 Saran

1. Perlu melibatkan pemeriksaan ketiga biomarker reseptor imun host ini dalam setiap penatalaksanaan KNF, khususnya pada prediksi progresivitas KNF dan pemantauan setiap tindakan yang diberikan pada pasien KNF termasuk pemberian kemoradioterapi. Terutama biomarker mRNA CD8+TIL.
2. Perlu penelitian lanjut dengan desain penelitian yang lebih valid (eksperimental atau Case-control atau Cohort Study), dengan mempertimbangkan hal-hal yang dapat merancu penelitian, misalnya jenis kelamin dan usia.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas A.K., Lichtman A.H., Pillai S. (2018) 'Cellular and molecular immunology'. Ninth edition. Elsevier. Philadelphia. <http://www.elsevier.com>
- Adham, M. *et al.* (2012) 'Nasopharyngeal carcinoma in Indonesia: epidemiology, incidence, signs, and symptoms at presentation', *Chinese journal of cancer*. 2012/02/07, 31(4), pp. 185–196. doi: 10.5732/cjc.011.10328.
- AJCC. (2018) 8th AJCC Cancer Staging Form Supplement 6-2018 update, AJCC Cancer Staging Manual, 8th Ed. doi: 10.1016/j.aquaeng.2010.03.002.
- Anvari, K. *et al.* (2016) 'Treatment Outcomes and Prognostic Factors in Adult Astrocytoma: In North East of Iran', *Iranian journal of cancer prevention*, 9(4), pp. e4099–e4099. doi: 10.17795/ijcp-4099.
- Apetoh, L. *et al.* (2015) 'Combining immunotherapy and anticancer agents: the right path to achieve cancer cure?', *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, 26(9), pp. 1813–1823. doi: 10.1093/annonc/mdv209.
- Ariani, S. (2015) *Stop! Kanker*. 1st edn. Edited by S. Ariani. Yogyakarta: Istana Media.
- Arribas, R. *et al.* (1997) 'Arbitrarily Primed PCR and RAPDs', in Micheli, M. R. and Bova, R. (eds) *Fingerprinting Methods Based on Arbitrarily Primed PCR*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp. 47–53. doi: 10.1007/978-3-642-60441-6\_8.
- Ascierto, P. A. *et al.* (2013) 'Biomarkers for immunostimulatory monoclonal antibodies in combination strategies for melanoma and other tumor types.', *Clinical cancer research : an official journal of the American Association of Cancer Research*, 19(5), pp. 1009–1020. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-



12-2982.

Banjarnahor, P.R.S., Rahardjo, S.P., Savitri, E., Hatta, M., Suhadi, F.X.B., Bukhari, A. (2021) 'The correlation between TNM and YY1 and P53 mRNA expression in nasopharyngeal cancer', *Biomedical and Pharmacology Journal*, 14(1): 105-111, DOI: <https://dx.doi.org/10.13005/bpj/2104>.

Barker H.E., Paget J.T., Khan A.A., Harrington K.J., (2015) 'The tumour microenvironment after radiotherapy: mechanisms of resistance and recurrence'. *Nat Rev Cancer*, 15(7):409-425.

Barnes, T. A., and Amir, E. (2017) 'HYPER or HOPE : The prognostic value of infiltrating immune cells in cancer. *British Journal of Cancer*, 117(4), 451-460. <http://doi.org/10.1038/bjc.2017.220>.

Bellmunt, J. *et al.* (2015) 'Association of PD-L1 expression on tumor-infiltrating mononuclear cells and overall survival in patients with urothelial carcinoma.', *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, 26(4), pp. 812–817. doi: 10.1093/annonc/mdv009.

Binnewies M., Robert E.W., Kersten K., Chan V., Fearon D.F., Merad M., et al. (2018) 'Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy'. *Nat Med*, 24(5):541-550. DOI:10.1038/s41591-018-0014-x.

Buchbinder, E. I. and Desai, A. (2016) 'CTLA-4 and PD-1 Pathways: Similarities, Differences, and Implications of Their Inhibition.', *American journal of clinical oncology*, 39(1), pp. 98–106. doi: 10.1097/COC.0000000000000239.

Cardoso, F. *et al.* (2009) 'International guidelines for management of metastatic breast cancer: combination vs sequential single-agent chemotherapy.', *Journal of the National Cancer Institute*, 101(17), pp. 1174–1181. doi:



10.1093/jnci/djp235.

Chan, A. T. C. and Felip, E. (2009) 'Nasopharyngeal cancer: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up.', *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, 20 Suppl 4, pp. 123–125. doi: 10.1093/annonc/mdp150.

Chan, O.S.H., Kowanetz, M., et al. (2017) 'Characterization of PD-L1 expression and immune cell infiltration in nasopharyngeal cancer'. *Oral Oncology*, 67(2017)52-60 57.

Chemnitz, J. M. *et al.* (2004) 'SHP-1 and SHP-2 associate with immunoreceptor tyrosine-based switch motif of programmed death 1 upon primary human T cell stimulation, but only receptor ligation prevents T cell activation.', *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 173(2), pp. 945–954. doi: 10.4049/jimmunol.173.2.945.

Cheung, M. *et al.* (2000) 'Cognitive function of patients with nasopharyngeal carcinoma with and without temporal lobe radionecrosis.', *Archives of neurology*, 57(9), pp. 1347–1352. doi: 10.1001/archneur.57.9.1347.

Cooper, G. M. (2000) *The Cell: A Molecular Approach. 2nd edition.* 2nd edn. Edited by G. M. Cooper. Sunderland (MA): Sinauer Associates Inc.

Dalimartha, S. and Rohmawati, T. (2005) *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia.* 3rd edn. Jakarta: Puspa Swara.

De Rose, S., Sahnane, N., Tibiletti, M.G., Magnoli, F., Vanoli, A., Sessa F., et al. (2018) 'EBV+ and MSI gastric cancer harbor high PD-L1/PD-1 expression and high CD8+ intratumoral lymphocytes. *Cancers*, 10:102.

Demaria S., Golden E.B., Formenti S.C. (2015) 'Role of local radiation therapy in cancer immunotherapy'. *JAMA Oncol*, 1(9):1325-1332. doi:10.1001/jamaoncol.2015.2756.

