



Monograf

# **MODULASI RESPON TERAPI KEMO RADIOTERAPI MELALUI miRNA: MEKANISME DAN IMPLIKASI TERAPEUTIK**

**TIRTA WARDANA**

**MODULASI RESPON TERAPI KEMO  
RADIOTERAPI MELALUI miRNA:  
MEKANISME DAN IMPLIKASI  
TERAPEUTIK**

**TIRTA WARDANA**



Penerbit  
Universitas Jenderal Soedirman  
2023

MONOGRAF

**Modulasi Respon Kemo Radioterapi Melalui miRNA:  
Mekanisme dan Implikasi Terapeutik**

© 2023 Universitas Jenderal Soedirman

**Cetakan Kesatu, Mei 2023**

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang  
*All Right Reserved*

**Penulis:**

Tirta Wardana, S.Si, M. Biotech

**Editor Isi:**

Fuad Gandhi Torizal, D.D.S., F.A.C.S., M.Biotech., Ph.D.

**Editor Bahasa:**

Farida Nuryantiningsih, S.S., M.Hum.

**Diterbitkan oleh:**

UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN  
Gd. BPU Percetakan dan Penerbitan  
Telp. (0281) 626070  
Email: [unsoedpresspwt@gmail.com](mailto:unsoedpresspwt@gmail.com)



Anggota

**Afiliasi Penerbit Perguruan Tinggi Indonesia**

Nomor : 003.082.1.02.2019

ix + 164 hal, 15,5 x 23 cm

**ISBN: 978-623-465-112-6**

*Dilarang mengutip dan memperbanyak tanpa izin tertulis dari penerbit,  
sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apapun, baik cetak,  
photoprint, microfilm dan sebagainya.*

# PRAKATA

Penulis mengucapkan puji dan syukur atas kehadiran Allah Subhana Wata'ala atas karunia dan rahmatNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan buku yang berjudul “Modulasi Respon Kemo Radioterapi Melalui miRNA: Mekanisme dan Implikasi Terapeutik”. Buku ini membahas bagaimana perubahan ekspresi sirkulasi serta mekanisme yang terjadi pada miRNA setelah mendapatkan kemo terapi pada karsinoma nasofaring.

Buku monograf ini ditulis berdasarkan beberapa penelitian yang telah dipublikasikan sebelumnya pada jurnal nasional dan internasional di bidang miRNA dan karsinoma nasofaring, terutama publikasi

1. Circulation microRNA expression profiles in patients with complete responses to chemoradiotherapy in nasopharyngeal carcinoma;
2. The Expression of miR-21 and miR-29c in Blood Plasma of Nasopharyngeal Carcinoma Patient Post-Chemoradiotherapy;
3. Over- and down-expression mir-29c and mir-21 after chemotherapy and radio-therapy in nasopharyngeal carcinomas and the down-regulating proteins encoding Epstein Barr virus and c-Myc;
4. MicroRNA Gene Signature for Predicting Mechanisms in Nasopharyngeal Carcinoma: A Case Study on the Potential Application of Circulating Biomarkers;
5. Circulation EBV Mir-Bart-7 relating to clinical manifestation in nasopharyngeal carcinoma.

Dalam buku ini, penulis akan menjelaskan secara detail bagaimana miRNA dapat mempengaruhi respon terhadap kemo terapi pada pasien dengan karsinoma nasofaring. Lebih rinci, pembahasan hasil penelitian dapat menunjukkan peran miRNA dalam memprediksi respon terhadap kemo terapi pada pasien dengan karsinoma nasofaring. Semua informasi dan data yang dihadirkan dalam buku ini diharapkan dapat membantu para pembaca untuk memahami lebih dalam mengenai peran miRNA dalam terapi karsinoma nasofaring.

Harapan penulis, buku ini dapat menjadi salah satu bahan rujukan bagi para ahli dan peneliti di bidang onkologi, terutama pada penanganan karsinoma nasofaring. Harapannya buku ini dapat memberikan pandangan baru dan pemahaman yang lebih dalam mengenai peran miRNA dalam terapi karsinoma nasofaring. Selain itu, buku ini diharapkan dapat memberikan kontribusi positif bagi pengembangan penelitian dan terapi karsinoma nasofaring di masa depan.

Penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua anggota GenomiR yang terlibat dalam penelitian ini, yaitu Prof. dr. Sofia Mubarika, M.Med.Sc., Ph.D, Dr. dr. Cita Herawati Murjantyo, Sp.THT-KL (K), Risky Oktriani, S.Si, M. Biotech., M.Sc, Dr. Sumadi Lukman Anwar, M.Sc., PhD, SpB (Onk), yang telah memberikan dukungan dan kontribusi yang sangat berharga dalam penelitian ini.

Akhir kata, semoga buku ini dapat memberikan manfaat dan inspirasi bagi para pembaca dan memberikan kontribusi positif dalam bidang kesehatan terutama pada penanganan karsinoma nasofaring. Semoga buku ini dapat bermanfaat bagi mahasiswa, praktisi, klinisi, peneliti serta yang terait dalam upaya update ilmu pengetahuan terutama mengenai peran dari miRNA terhadap respon kemo radioterapi pada pasien karsinoma nasofaring. Buku ini sebagai salah satu kontribusi yang dapat diberikan penulis untuk pemecahan permasalahan kesehatan, terutama karsinoma nasofaring di Indonesia.

Purwokerto, Februari 2023

Penulis

# DAFTAR ISI

PRAKATA.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan.....	4
1.4. Metode Pemecahan Masalah.....	5
1.4. Temuan Keterbaruan.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. Karsinoma Nasofaring.....	8
2.2. Penatalaksanaan Kasus Karsinoma Nasofaring.....	10
2.3. Kelainan Genetik pada Kejadian KNF.....	12
2.4. Biogenesis miRNA.....	15
2.5. Sirkulasi miRNA.....	18
2.6. Metode deteksi miRNA menggunakan qPCR..	20
2.7. Kegagalan protein p53 pada kejadian KNF.....	23
BAB III. METODE Kuantifikasi dan Analisis Ekspresi.....	25
3.1. Rekrutmen Subjek Penelitian.....	25
3.2. Pemeriksaan Serologis IgA anti-VCA, EA, dan EBNA-1.....	26
3.3. Kemo dan Radioterapi.....	28
3.4. Isolasi Plasma.....	28
3.5. Isolasi RNA.....	29
3.6. Sintesis cDNA.....	30
3.7. Profiling miRNA menggunakan Cancer Plate 169 target.....	30
3.8. Kuantifikasi real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR).....	32

	3.9. Analisis Data .....	32
	3.10. Analisis Bioinformatika .....	33
BAB IV.	HUBUNGAN EBV TERHADAP KEJADIAN KANKER .....	35
	4.1. Karakteristik Virus Epstein-Barr.....	35
	4.2. Mekanisme Infeksi Virus Epstein-Barr.....	40
	4.3. Hubungan Virus Epstein-Barr dan Karsinoma Nasofaring .....	43
	4.4. Epidemiologi Virus Epstein-Barr.....	45
	4.5. Peran miRNA pada Karsinoma Nasofaring yang Berkaitan dengan EBV .....	50
	4.6. Mekanisme Karsinogenesis EBV pada Karsinoma Nasofaring .....	60
	4.7. Hubungan antara miRNA dan Karsinoma Nasofaring .....	63
	4.8. miRNA sebagai Target Terapi pada Karsinoma Nasofaring yang Berkaitan dengan EBV.....	70
BAB V.	PROFIL EKSPRESI SIRKULASI miRNA POST KEMORADIOTERAPI.....	84
	5.1. Kemoradioterapi KNF.....	84
	5.2. Pengaruh terapi terhadap perubahan ekspresi miRNA .....	86
	5.3. Sensitivitas dan Spesifisitas miRNA.....	87
	5.4. Mekanisme signaling pathways .....	100
BAB VI.	PERBEDAAN EKSPRESI miR-21 DAN 29c HUBUNGAN DENGAN RESPON PARSIAL DAN RESPON PENUH PADA PENDERITA KNF .....	108
	6.1. Kemoradioterapi pada Karsinoma Nasofaring.	108
	6.2. Peran miRNA terhadap Kemoradioterapi .....	109
	6.3. Perbandingan Ekspresi miR-21 dan miR-29 Pasien Parsial dan Complete Respon .....	111
	DAFTAR PUSTAKA .....	117
	GLOSSARIUM.....	143
	INDEX .....	159
	TABEL KREDIT GAMBAR .....	164

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Biogenesis mikroRNA, degradasi dan mekanisme penghambatan.....	16
Gambar 2.	Salah satu mekanisme mikroRNA sirkulasi melalui proses kematian sel DNA sekresi sel.....	18
Gambar 3.	Alur dari pemeriksaan darah pasien dengan infeksi EBV .....	26
Gambar 4.	Alur pemeriksaan profiling miRNA .....	31
Gambar 5.	Peta dari profil miRNA dengan menggunakan qPCR .....	33
Gambar 6.	Struktur virion dari virus epstein barr yang dihubungkan pada banyak kejadian penyakit termasuk kanker .....	36
Gambar 7.	Skematik overview dari gene yang diekspresikan oleh EBV pada fase latent dan lytic .....	37
Gambar 8.	Map genomik dari EBV yang terdiri dari BAMH I, BHRF1, EBNA dan BART .....	51
Gambar 9.	Mekanisme sistem penghindaran imunitas dari virus EBV yang bersifat latent .....	52
Gambar 10.	Perbedaan cycle quantifikasi (cq) ekspresi BART-7 antara KNF dan kontrol (HC).....	57
Gambar 11.	Perubahan ekspresi miR-BART-7 yang dikode oleh virus EBV yang dihubungkan dengan status TNM pasien KNF.....	58
Gambar 12.	Landscape dari EBV Genomic dan mutasi pada kejadian Keganasaan .....	62
Gambar 13.	Heat map profil ekspresi miRNA sirkulasi setelah mendapatkan chemoradiotherapy pada sirkulasi pasien KNF.....	86
Gambar 14.	Ekspresi profil dengan nilai-p signifikansi tinggi (p 0,0001) menggunakan panel mikroRNA fokus kanker dari pretreatment sirkulasi (non-kemo-radioterapi) dan kemo-radioterapi pada KNF.....	89

Gambar 15. Sensitivitas analisis dan tentukan setelah melalui analisis ROC melalui AUC (Area Under Curve) dengan interval kepercayaan (CI) 99% nilai p 0,0001; A. miR-483-5p; B. miR-584-5p; C. miR-122-5p; D. miR-7-5p; e. miR-150-5p; F. miR-421; G. miR-133a-3p; H. miR-18a-5p; i.miR-106b-3p; J. miR-339-5p .....	91
Gambar 16. miRNA yang mengalami kegagalan fungsi dengan signifikan pada kejadian plasma karsinoma nasofaring .....	93
Gambar 17. Perbedaan ekspresi miR-21 dan miR 29c pada pasien plasma karsinoma nasofaring dibandingkan kontrol a. Kuantifikasi siklus data qPCR p <0,1, b. Kuantifikasi siklus pengukuran qPCR, c. Overekspresi miR-21 pada plasma KNF pasien (p <0,05, d. Turunkan ekspr miR-29c pada plasma KNF (p<0,01) .....	114
Gambar 18. Hilangnya fungsi miR-21 dan miR-29c pada plasma KNF, level ekspresi miRNA diukur dengan qPCR dan ekspresi level kuantifikasi dilakukan Metode Livak. Level ekspresi miRNA memiliki pola ekspresi masing-masing kelompok sampel, a. Ekspresi miR-29c mengalami respon positif pada pasien post terapi (CR) dan memberikan pola respon negatif pada pasien Post terapi (PR). B. Ekspresi miR-21 telah turun diatur setelah perawatan dengan respons lengkap, c-d, Delta cq telah menggambarkan ekspresi miR-21 dan miR-29c setelah normalisasi oleh gen Referensi .....	115

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Relatif ekspresi miR-BART-7 pada kejadian karsinoma nasofaring berdasarkan status klinis penderita .....	59
Tabel 2. Demografi pasien KNF yang terlibat dalam proses profiling kuantifikasi miRNA pada sikulasi .....	85
Tabel 3. Profil ekspresi miRNA pada plasma pasien yang mengalami perubahan ekspresi pada sampel yang telah mendapatkan perlakuan terapi. ....	94
Tabel 4. Mekanisme seluler yang terjadi pada miRNA yang mengalami dysregulasi setelah mendapatkan kemo radioterapi pada kejadian karsinoma nasofaring .....	102
Tabel 5. Relatif ekspresi miR-21 dan 29c pada kejadian karsinoma nasofaring setelah mendapatkan terapi dengan status complete respons dan partial respons.....	113



# BAB I.

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Karsinoma nasofaring (KNF) merupakan salah satu keganasan leher dan kepala yang pada saat ini belum diketahui secara jelas penyebab utamanya, tetapi dikaitkan dengan beberapa faktor lingkungan dan genetik, seperti infeksi virus Epstein-Barr (EBV) (Wardana et al. 2020). Kejadian KNF merupakan salah satu jenis keganasan dengan tingkatan insidensi dan mortalitas, serta tingkat kelangsungan hidup yang sangat rendah (<5 tahun) di Asia Tenggara, termasuk Indonesia (Mahdavifar et al. 2016; Dwijayanti et al. 2020; Bossi et al. 2021).

KNF biasanya terdeteksi pada tahap akhir karena sulitnya mengenali penyakit hingga manifestasinya di kelenjar getah bening leher (Marcus and Tishler 2010; Tang et al. 2021; Wardana, Oktriani, et al. 2022). Menariknya, kejadian KNF dikaitkan erat dengan etnis tertentu sehingga tergolong unik. Ditambah lagi, kejadian KNF lebih banyak ditemukan pada laki-laki dibandingkan dengan perempuan meskipun hubungan tingkat insidensinya dengan jenis kelamin tertentu belum banyak dipelajari secara mendalam.

Permasalahan utama dari kejadian KNF yaitu sulitnya deteksi dini karena penyakit tersebut seringkali tidak menunjukkan adanya kanker. Jaringan KNF seringkali timbul dengan yang sangat kecil dan tanpa klinis spesifik. Kondisi ini berimplikasi terhadap sulitnya untuk dilakukan pengobatan lanjutan dengan kondisi pasien yang datang dengan stadium lanjut bahkan telah mengalami metastasis.

Pengobatan utama yang didapatkan oleh pasien pada saat ini pada penderita KNF berupa radioterapi dan kemoterapi pada stadium awal. Terapi kombinasi berupa kemoradiasi biasanya dilakukan pada saat penderita sudah mencapai stadium lanjut, ditambah dengan bentuk

kemoterapi sistemik pada kondisi pasien yang telah mengalami metastasis. Namun, permasalahan utama yang terjadi pada penderita kanker terutama KNF erat kaitannya dengan keterbatasan perawatan standar sehingga penderita lebih banyak ditemukan dengan kondisi kekambuhan dan perkembangan penyakit dan kekambuhan (Hutajulu et al. 2014; Hutajulu et al. 2021).

Pada pasien dengan stadium lanjut, penderita KNF yang telah diberikan terapi berupa kemoradioterapi relatif tinggi dengan kejadian kekambuhan penyakit (*relaps*). Biomarker klinis untuk memprediksi perkembangan penyakit pada KNF masih sangat sedikit teridentifikasi pada saat ini. Biomarker kanker merupakan sebuah tanda atau indikator yang dapat diukur dalam tubuh manusia yang dapat digunakan untuk mendeteksi adanya kanker atau memantau perkembangan kanker. Biomarker dapat berupa protein, asam nukleat, atau molekul kecil lainnya yang terkait dengan proses biologis yang terjadi pada kanker, seperti pertumbuhan sel, metastasis, atau resistensi terhadap terapi. Biomarker kanker juga dapat digunakan untuk memprediksi respons pasien terhadap terapi dan membantu dokter dalam membuat keputusan pengobatan yang tepat. Biomarker kanker bukanlah diagnosis kanker dan harus digunakan bersama dengan tes medis lainnya untuk membuat diagnosis yang akurat. Biomarker kanker sangat penting untuk memandu pengobatan, menghitung risiko perkembangan penyakit, dan merancang surveilans (Wardana, Oktriani, et al. 2022).

MikroRNA (miRNA) merupakan *non-coding* RNA pendek yang memiliki panjang kurang lebih 20-25bp, dan diketahui terlibat dalam modulasi ekspresi gen melalui mekanisme pasca-translasi sehingga menyebabkan terjadinya penghambatan translasi protein (Krol et al. 2010; Schwarzenbach et al. 2011; Anwar et al. 2019; Wardana et al. 2020). Perbedaan profil ekspresi miRNA pada sampel jaringan primer telah banyak dipelajari hubungannya digunakan dalam membedakan faktor risiko patofisiologi (Taft et al. 2010; Li et al. 2017; Foessel et al. 2019), respon terapi (Berindan-Neagoe et al. 2014; Kahraman et al. 2018), dan prognosis KNF (S. Zhang et al. 2015; Savitri et al. 2019; Tian et al. 2020). MiRNA merupakan salah satu molekul yang diketahui berperan dan dapat memberikan gambaran terkait dengan kejadian kanker, sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai salah satu strategi

baru yang berfungsi sebagai regulator dan berperan dalam berbagai macam mekanisme seluler seperti proliferasi, diferensiasi, apoptosis, dan kelangsungan hidup (Herawati 2019).

Pengembangan biomarker berbasis miRNA menjadi salah satu kesempatan untuk pencegahan hingga terapi pada kejadian KNF. Kemajuan teknologi saat ini, memberikan pemahaman yang lebih baik dan rinci mengenai patogenesis kanker, Analisa prediktif kanker, diagnosis, dan prognosis pada kanker termasuk KNF. Perkembangan dari penelitian miRNA pada saat ini diharapkan dapat memberikan sebuah pendekatan baru untuk mengevaluasi pengobatan kanker.

Pengobatan kemoradioterapi pada kanker menyebabkan sel kanker mengalami apoptosis, sehingga dapat mempengaruhi perubahan ekspresi miRNA pada KNF. Beberapa jenis miRNA telah diketahui terlibat dalam respons kemoterapi setelah menerima 5-fluorourasil + cisplatin dari KNF dan sensitivitas 5-fluorourasil pada kanker payudara (Salter et al. 2008; Hummel et al. 2014; Yu et al. 2015; Karimi Dermani and Najafi 2018; Cao et al. 2020; Ghafouri-Fard et al. 2021). Peneliti juga menyelidiki hubungan antara ekspresi respon kemoterapi KNF pada kanker payudara menggunakan sel lini dan sampel jaringan primer biopsi (Anwar et al. 2019; Anwar et al. 2020). Kemoradioterapi juga dapat mempengaruhi sirkulasi sel tumor, protein, DNA bebas dalam sirkulasi, dan RNA.

Beberapa jenis miRNA telah banyak dilaporkan terkait dengan beberapa mekanisme apoptosis atau antiapoptosis, serta berperan dalam kejadian resistensi kanker. miR-21 dan miR-29c yang diketahui sangat berperan dan telah banyak dilaporkan terlibat pada banyak progresivitas kanker. Pada kejadian KNF, miR-29c diketahui berperan penting pada mekanisme angiogenesis, metastasis dan invasi, sedangkan miR-21 diketahui terlibat pada proses proliferasi sel kanker. miR-29 merupakan salah satu miRNA yang berperan sebagai penghambat tumor (*tumor suppressor*) yang berkaitan erat dalam proses angiogenesis miR-29 menargetkan beberapa mRNA pengkode beberapa gen yang terlibat didalamnya seperti VEGF, COL4A1, COL1A1, sedangkan miR-21 merupakan miRNA yang diketahui diinduksi oleh hipoksia dan mengalami peningkatan regulasi pada kanker yang mempunyai

mekanisme antiapoptosis (Wang et al. 2009; Li et al. 2017; Derakhshani et al. 2020). Selain itu, miR-21 memiliki kemampuan sebagai onkogen melalui mekanisme menghambat gen *tumor suppressor* serta menginduksi pertumbuhan tumor, invasi, serta metastasis. Namun, belum banyak yang mempelajari bagaimana respon dari ekspresi miRNA pada sirkulasi KNF dan memberikan gambaran lengkap terhadap respon pengobatan secara lebih komprehensif terutama miR-29c. Buku ini akan membahas lebih rinci mengenai perubahan ekspresi miRNA dalam plasma pada pasien KNF dengan respons lengkap setelah kemoradioterapi.

## **1.2. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan sebelumnya, permasalahan yang diangkat pada penyusunan buku monograf ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana profil ekspresi miRNA yang telah mendapatkan kemoterapi pada sirkulasi kejadian karsinoma nasofaring?
2. Bagaimana peran dan mekanisme miRNA pada perkembangan karsinoma nasofaring setelah mendapatkan kemoradioterapi?
3. Apa kandidat biomarker prediktor terapi kemoradioterapi pada karsinoma nasofaring sebagai tindakan terapi non invasif?

## **1.3. Tujuan**

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan dari penyusunan buku monograf ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk menggambarkan profil ekspresi miRNA yang telah mendapatkan kemoradioterapi pada kejadian karsinoma nasofaring.
2. Untuk mengidentifikasi peran dan regulasi miRNA pada perkembangan karsinoma nasofaring yang telah mendapatkan kemoradioterapi.
3. Untuk mendapatkan kandidat biomarker yang dapat memprediksi respon kemoradioterapi sebagai terapi non invasif pada karsinoma nasofaring.

## 1.4. Metode Pemecahan Masalah

Buku monograf ini disusun berdasarkan langkah-langkah untuk mengetahui bagaimana respon dari sirkulasi miRNA setelah mendapatkan kemoradioterapi pada pasien KNF. Studi mengenai perubahan mekanisme fisiopatologis melalui ekspresi miRNA dapat memberikan sebuah pemahaman baru terkait respon sel terhadap pemberian kemoterapi dan radioterapi. Studi analisis ini diharapkan pula dapat menunjukkan potensi biomarker prediktor terapi dalam menganalisis respon positif, negatif ataupun non-respon yang didapatkan pasien setelah mendapatkan pengobatan. Oleh karena itu, hal ini diharapkan memberikan sebuah alternatif metode baru untuk menilai keberhasilan dari pengobatan, sehingga dapat meningkatkan jumlah persentase kesembuhan dan mengurangi potensi kekambuhan dari pasien KNF.

Pendekatan yang dilakukan untuk pemecahan masalah dimulai dari metode yang dijelaskan secara rinci mengenai deteksi miRNA pada sirkulasi dengan menggunakan qPCR pada Bab II. Bab III menjelaskan mengenai metode kuantifikasi yang digunakan untuk pemeriksaan pasien KNF setelah mendapatkan kemoradioterapi. Hubungan EBV terhadap kejadian keganasan terutama KNF dipaparkan dalam Bab IV. Bab V mengungkap bagaimana profil ekspresi miRNA yang mengalami kegagalan fungsi pasca kemoradioterapi, termasuk didalamnya mekanisme yang dipengaruhi akibat perubahan ekspresi miRNA. Bab VI membahas lebih detail mengenai 2 miRNA yang diketahui berperan terhadap mekanisme seluler pada KNF yaitu miR-21 dan miR-29c. Seluruh isi dari monograf ini diharapkan dapat memberikan pemahaman mengenai peran dan mekanisme miRNA sebagai prediktor kemoradioterapi melalui pendekatan dan penelitian laboratorium dengan melakukan kuantifikasi profil ekspresi miRNA antara plasma pasien KNF dan sampel kontrol.

## 1.4. Temuan Keterbaruan

Perkembangan teknologi telah mengungkap banyak hal terkait dengan kondisi patologi dari pasien. Hal tersebut tentunya dapat memberikan dorongan dalam mendukung era *precision medicine* untuk meningkatkan keberhasilan pengobatan kanker. Keterbatasan metode

yang spesifik untuk dapat digunakan sebagai prediktor terapi yang spesifik dan sensitif terutama untuk populasi masyarakat Indonesia menjadi salah satu tantangan untuk menilai keberhasilan pengobatan pasca pemberian kemoterapi.

Penelitian yang dilaporkan melalui penulisan buku ini terkait dengan profil ekspresi miRNA pada pasien karsinoma nasofaring (KNF) setelah mendapatkan kemoradioterapi. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *platform Cancer Plate* yang terdiri dari 116 miRNA sehingga dapat memberikan gambaran yang lebih jelas terkait dengan perubahan ekspresi miRNA pada pasien KNF. Peneliti telah mengidentifikasi sepuluh miRNA sirkulasi yang mengalami perubahan ekspresi setelah kemoradioterapi secara signifikan. Hasil analisis menunjukkan bahwa miR-483-5p, miR-584-5p, miR-122-5p, miR-7-5p, dan miR-150-5p mengalami peningkatan ekspresi, sementara miR-421, miR-133a-3p, miR-18a-5p, miR-106b-3p, dan miR-339-5p mengalami penurunan ekspresi secara signifikan ( $p < 0,0001$ ).

Verifikasi hasil yang diperoleh dari penelitian ini dengan menggunakan teknik qRT-PCR menunjukkan kesesuaian dengan hasil awal dari *platform Cancer Plate*. Analisis ROC (*Receiver Operating Characteristic*) menggunakan AUC (*Area Under Curve*) dengan 99% *confidence interval* (CI) juga menunjukkan hasil yang signifikan ( $p < 0,0001$ ).

Selanjutnya, *gene enrichment analysis* pada miRNA dan protein yang ditargetkan menunjukkan bahwa *pathway*/ mekanisme yang terlibat dalam kemoradioterapi KNF adalah jalur sinyal apoptosis dan kelangsungan hidup. Hasil dari penelitian ini memiliki potensi aplikatif sebagai biomarker prediktif respons kemoradioterapi pada pasien KNF serta memberikan wawasan tambahan mengenai peran miRNA selama pengobatan kanker nasofaring.

Penelitian ini menunjukkan bahwa miRNA mengalami perubahan ekspresi setelah kemoradioterapi pada pasien KNF. Hasil ini dapat digunakan sebagai biomarker untuk memprediksi respons terhadap pengobatan. Temuan ini dapat memberikan manfaat yang besar dalam memberikan pengobatan individual serta spesifik (*personalized medicine*) bagi pasien KNF serta membuka peluang untuk pengembangan terapi yang lebih efektif dan tepat sasaran. Penulis sangat berharap pemanfaatan

prediktor terapi berbasis miRNA dapat memberikan suatu pemahaman baru bagi mahasiswa, klinisi, peneliti yang terkait, sehingga dapat terus mengembangkan penelitian ini sehingga dapat dimanfaatkan untuk aplikasi klinis guna memahami peran dan mekanisme miRNA pada karsinoma nasofaring. Hasil dari temuan ini dapat bermanfaat dalam menyelesaikan kasus KNF terutama menilai keberhasilan pengobatan serta menurunkan angka mortalitas pasien.

## **BAB II.**

# **TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1. Karsinoma Nasofaring**

Karsinoma merupakan suatu keganasan yang disebabkan akibat tumbuhnya jaringan baru akibat proliferasi yang tidak terkendali. Abnormalitas proliferasi dapat diakibatkan karena kelainan genetik, karsinogenik, infeksi virus serta lingkungan (Lo et al. 2006; Adham et al. 2012; Wu et al. 2018). Penyakit ini merupakan penyebab kematian kedua terbesar di negara maju dan penyebab utama kematian di negara berkembang, termasuk Indonesia. Tingkat mortalitas dari penderita penyakit ini mencapai hingga 70 % di seluruh negara berkembang dan tingkat sosial-ekonomi rendah dengan insidensi mencapai 12.000 kasus per tahun (Ferlay et al. 2019). Salah satu jenis karsinoma dengan tingkat insidensi cukup tinggi dan menjadi perhatian khusus terutama di wilayah Asia yaitu China, Singapura, Malaysia, Vietnam, Taiwan dan Indonesia yaitu karsinoma nasofaring (Wu et al. 2018). Penderita KNF di Indonesia ditemukan banyak terjadi di Sumatera, Jawa, Kalimantan dan Sulawesi, sehingga menjadi salah satu dari 10 jenis karsinoma yang paling sering terjadi pada laki-laki dan lebih sedikit terjadi pada wanita. KNF di Indonesia menduduki peringkat ke 4 setelah karsinoma leher rahim, payudara, dan kulit (Adham et al. 2012; Setiasari et al. 2020).

Pada kejadian KNF, tingginya tingkatan mortalitas dan insidensi diduga karena perubahan gaya hidup serta sulitnya deteksi dini dikarenakan letak anatomi yang sulit diakses serta gejala yang kurang spesifik (Hutajulu et al. 2011; Wu et al. 2018). Keterlambatan diagnosis mengindikasikan kegagalan pengobatan, kemoterapi dan radioterapi, sehingga mempengaruhi tingkat kesembuhan dengan persentase yang rendah. Beberapa peneliti menyatakan bahwa KNF merupakan tipe karsinoma yang dapat ditangani dengan persentase kesembuhan tinggi apabila dapat didiagnosis sedini mungkin (Chan et al. 2002; Lee et al. 2012; Adham et al. 2013; Xu et al. 2013). Sebaliknya, resiko peningkatan

potensi kekambuhan setelah mendapatkan penangan biopsi bahkan kemoterapi dapat terjadi apabila terlambat dalam mendapatkan penanganan. Oleh karena itu, pentingnya untuk mendapatkan sebuah biomarker spesifik dan sensitif bersifat minimal invasif untuk mengurangi kesakitan terhadap pasien menjadi hal yang penting, sehingga diharapkan dapat memberikan peringatan dini bagi penderita pada tahapan awal perkembangan tumor, sehingga dapat meningkatkan persentase kesembuhan dari pasien.

Pada saat ini, pengobatan standar KNF terdiri dari radioterapi dengan atau tanpa kemoterapi untuk tahap awal, dan kemoterapi sistemik paliatif pada kasus yang mengalami metastasis. Namun, perawatan standar ini memiliki keterbatasan, sehingga kekambuhan dan perkembangan penyakit pada proporsi tertentu dari kasus. Radioterapi biasanya digunakan sebagai pengobatan utama pada KNF tahap awal atau sedang. Radioterapi dapat membunuh sel kanker dengan menggunakan sinar radiasi tinggi. Namun, radioterapi pada KNF juga dapat menyebabkan efek samping yang serius, seperti sakit tenggorokan, gangguan pada saluran napas, dan kerusakan pada jaringan normal di sekitar nasofaring. Kemoterapi juga digunakan sebagai pengobatan utama pada KNF yang lebih lanjut atau pada kasus yang kambuh. Kemoterapi dapat membunuh sel kanker mampu menyebar dengan cepat di seluruh tubuh, termasuk di daerah yang sulit dijangkau oleh radioterapi. Namun, kemoterapi juga memiliki efek samping yang serius, seperti kerontokan rambut, mual dan muntah, serta penurunan jumlah sel darah putih yang dapat menyebabkan risiko infeksi.

Di Indonesia, kendala utama yang ditemukan dalam pengobatan KNF adalah masalah terkait dengan aksesibilitas dan ketersediaan fasilitas pengobatan yang memadai, serta biaya pengobatan yang tinggi. Banyak laporan yang telah membahas hal ini umumnya menunjukkan bahwa pengobatan KNF di Indonesia masih sangat terbatas, terutama di daerah pedesaan dan terpencil. Beberapa solusi yang diusulkan untuk mengatasi kendala ini antara lain meningkatkan aksesibilitas dan ketersediaan fasilitas pengobatan yang memadai di seluruh Indonesia, serta menyediakan program-program pengobatan yang terjangkau untuk masyarakat yang kurang mampu secara finansial.

Secara molekuler, kelainan yang diakibatkan oleh faktor genetik dan lingkungan akan mempengaruhi kemampuan sel untuk menginduksi pertumbuhan tidak terkontrol yang mengakibatkan hilangnya regulasi normal dari sel tersebut. Massa atau jaringan baru karsinoma memiliki sifat dan bentuk yang berbeda dengan sel normal. Pada kejadian KNF, kelainan genetik, karsinogenik, lingkungan dan gaya hidup, serta infeksi virus seperti Epstein-Barr paling banyak ditemukan sebagai salah satu faktor risiko (Tao and Chan 2007; Lee et al. 2012; Herawati 2019).

## **2.2. Penatalaksanaan Kasus Karsinoma Nasofaring**

KNF merupakan jenis kanker yang berasal dari sel-sel epitel di daerah nasofaring, yaitu rongga di belakang hidung dan di atas tenggorokan. KNF biasanya berkembang perlahan-lahan dan gejalanya sering tidak terlihat pada tahap awal, sehingga seringkali didiagnosis pada tahap yang lebih lanjut. Penatalaksanaan penderita KNF harus disesuaikan dengan stadium dan karakteristik kanker yang dialami oleh penderita. Berbagai strategi pengobatan yang tersedia, termasuk terapi radiasi, kemoterapi, pembedahan, atau kombinasi dari beberapa modalitas pengobatan. Namun, pengobatan KNF dapat menyebabkan efek samping yang serius, seperti kerusakan organ dan gangguan fungsi, seperti gangguan pendengaran dan kesulitan menelan. Oleh karena itu, penanganan KNF harus dilakukan oleh tim medis yang terlatih dan terampil dalam pengobatan kanker, dan penderita harus mendapatkan dukungan yang memadai untuk memperbaiki kualitas hidup selama dan setelah pengobatan.

Beberapa penatalaksanaan dalam kejadian KNF dapat dilakukan untuk memberikan pengobatan terhadap pasien. Pada kasus KNF terdapat 2 pengobatan yang dilakukan yaitu kemoterapi dan radioterapi. Beberapa peneliti telah menyatakan bahwa kasus KNF merupakan tipe kanker yang memiliki tingkat keberhasilan pengobatan yang cukup efektif ketika dapat ditangani pada kondisi stadium awal (Paiar et al. 2012; Yoshizaki et al. 2015).

Kemoterapi (kemo) merupakan penggunaan obat anti kanker yang paling sering diberikan melalui injeksi intravena (IV) atau per oral (PO) melalui mulut. Jalur pemberian pengobatan kemoterapi

dimaksudkan untuk memasuki aliran darah dan mencapai seluruh tubuh, membuat pengobatan ini berguna untuk kanker yang telah menyebar di luar kepala dan leher. Salah satu tipe kemoterapi yang paling umum digunakan yaitu berbasis cisplatin (Foo et al. 2002; Makowska et al. 2021). Pada kasus KNF pengobatan kemoterapi dengan berbasis Cisplatin dapat dikombinasikan dengan obat lain, seperti *5-fluorouracil (5-FU)*, *Carbolpatin*, *doxorubicine*. *Epirubicin*, *paclitaxel*, *docetaxel*, *gemcitabine*, *bleomycin*, *methotrexate* jika diberikan setelah kemoradiasi atau radiasi (Al-Sarraf 2002; Gao et al. 2014; Lee et al. 2017).

Kombinasi radioterapi dan kemoterapi (kemoradiasi) secara umum dilakukan untuk penanganan pasien dengan kasus pada stadium lanjut. Akan tetapi, pada beberapa tipe KNF, terdapat permasalahan terkait dengan sensitivitas terapi. Sensitivitas radioterapi (RT) yang relatif lebih rendah dari keratinisasi dibandingkan dengan sub tipe nonkeratin, KNF hampir secara eksklusif bergantung pada radioterapi (kemo-) untuk mencapai pengendalian penyakit di sebagian besar presentasi, terutama dalam pengobatan definitif stadium II hingga penyakit stadium IVA (Chen et al. 2021). Ketepatan dalam penggambaran kontur RT, perencanaan dan pengiriman, dan koordinasi antara kemoterapi dan RT sangat penting untuk mencapai hasil yang optimal untuk populasi pasien ini.

Pemberian kemoterapi memiliki beberapa dampak negatif seperti kehilangan rambut, sariawan, kehilangan selera makan, mual dan muntah, diare, peningkatan kemungkinan infeksi, mudah memar dan berdarah, dan kelelahan (Olver et al. 2018; Saini et al. 2020). Perubahan dampak dari pemberian kemoterapi yang merujuk pada perlakuan stress seluler untuk dapat menginduksi proses kerusakan sel kanker dapat direpresentasikan dengan perubahan mekanisme seluler. Hal tersebut memberikan informasi yang jelas mengenai keberhasilan ataupun respon negatif terhadap pemberian terapi.

Di samping itu, Pengobatan standar KNF terdiri atas radioterapi dengan atau tanpa kemoterapi untuk tahap awal, dan kemoterapi sistemik paliatif pada kasus yang mengalami metastasis (Herawati 2019). Namun, perawatan standar ini memiliki keterbatasan, sehingga kekambuhan dan perkembangan penyakit pada proporsi tertentu dari kasus. Nasofaring

dikategorikan ke dalam karsinoma yang sensitif terhadap radioterapi dan kemoterapi, tetapi merupakan jenis yang agresif (Lee et al. 2012; Paier et al. 2012). Di Indonesia, ditemukan banyak pasien pada stadium lanjut, keterlambatan diagnosis dokter umum serta pengetahuan dokter yang kurang untuk menganalisis dini dari karsinoma ini, biasanya menyebabkan pasien hanya dapat bertahan selama 5 tahun setelah diagnosis (Wildeman et al. 2013; Dwijayanti et al. 2020).

Kurangnya metode diagnosis, prognosis, dan biomarker spesifik, murah dan dapat mendeteksi dini merupakan salah satu tantangan yang harus dihadapi pada saat ini. Kesulitan diagnosis dini, karena letak dan tidak adanya ciri khusus dari karsinoma ini mendorong banyak peneliti mulai mengembangkan metode diagnosis, prognosis dan prediktor terapi yang mudah berbasis molekuler sehingga diharapkan dapat mengurangi beban dari pasien. Sampel plasma dapat digunakan untuk menggantikan sampel jaringan yang sudah didapat sebagai biomarker berharga untuk mendeteksi dini karsinoma serta prognosis pasca terapi. Pengembangan metode deteksi dini karsinoma pada plasma merupakan salah satu alternatif yang dapat digunakan sebagai biomarker karena memiliki sensitivitas, spesifitas dan berperan pada banyak penyakit serta mengurangi kesakitan pada pasien.

### **2.3. Kelainan Genetik pada Kejadian KNF**

KNF merupakan salah satu tipe keganasan yang sangat erat kaitannya dengan kelainan genetik, sehingga dapat memengaruhi perkembangan dan penanganan kanker tersebut. Memahami kelainan genetik pada pasien KNF dapat membantu dalam diagnosis dan penanganan kanker tersebut. Tes genetik dapat dilakukan untuk mengidentifikasi kelainan genetik yang mungkin ada pada pasien dan membantu dokter dalam menentukan strategi pengobatan yang tepat. Selain itu, penelitian tentang kelainan genetik pada KNF juga dapat membuka pintu bagi pengembangan terapi target yang lebih efektif dan lebih tepat sasaran.

Karsinoma nasofaring merupakan jenis karsinoma unik yang dikaitkan dengan pengaruh lingkungan dan faktor genetik, tetapi secara jelasnya belum diketahui penyebabnya. Namun, banyak dikaitkan dengan

infeksi Epstein-Barr virus (EBV) (Tan et al. 2019), dan beberapa jenis kelainan genetik lainnya, termasuk kelainan pada gen tumor suppressor, gen EBV, dan gen metabolisme asam folat. Keterkaitan akan infeksi EBV menjadi salah satu perhatian dunia saat ini, diduga sebagian besar populasi dunia telah terinfeksi dan bersifat patogenesis terhadap manusia, banyak ditemukan di daerah Eropa dan Amerika, China, Asia tenggara, Alaska, Eskimos dan Mediteranian (Adham et al. 2012; Tulalamba and Janvilisri 2012).

Nasofaring dikelompokkan dalam beberapa tipe menurut klasifikasi dari WHO (Wang et al. 2020), *keratinizing* karsinoma sel skuamosa (Tipe 1), *non-keratinizing* karsinoma sel skuamosa (Tipe 2), *lymphoepiteloma & varian anaplasif* (Tipe 3). Sebagian besar kasus KNF di Indonesia termasuk ke dalam tipe III yang dikaitkan dengan onkogenesis, tidak hanya konsekuensi dari virus EBV yang menyerang daerah di atas faring (tenggorokan) dibelakang hidung (Adham et al. 2012). Beberapa studi juga telah banyak menunjukkan bahwa infeksi EBV, mutasi pada gen TP53 dan RB1, yang merupakan gen tumor suppressor, dapat mempengaruhi perkembangan dan penanganan KNF.

Salah satu kelainan genetik yang dikaitkan dengan EBV adalah gen LMP1, yang diketahui memainkan peran dalam pertumbuhan sel kanker. Molekul protein EBV dapat dijadikan sebagai penanda EBV yaitu Viral Capsid Antigen (VCA), Early Antigen (EA) dan Epstein Barr Virus Nuclear 1 Antigen (EBNA-1) (Xia et al. 2015; Barukcic 2019; Tan et al. 2019).

Protein P53 sebagai regulator stabilitas genom diketahui mengalami kegagalan fungsi pada kejadian kanker. Pada kejadian KNF, inaktivasi TP53 mengakibatkan sel berproliferasi secara berlebihan (Wan et al. 2015). Hilangnya fungsi inhibitor cyclin-cdk diharapkan menyebabkan berakibat proliferasi tidak terkendali. Pada kejadian KNF, mekanisme cyclin-cdk berperan pada mekanisme siklus sel, negatif. Selain itu, dapat menyebabkan resistensi terhadap terapi kanker dengan mempengaruhi cyclin D-CDK4/6 kompleks terhadap resistensi sel kanker pada pemberian kemoterapi dan terapi target, seperti inhibitor CDK4/6. Modifikasi faktor transkripsi oleh EBV memperburuk kondisi TP53 dalam mengontrol proses perkembangan dari sel kanker.

Kebanyakan karsinoma sangat dipengaruhi oleh ekspresi gen p53 yang rendah karena terjadinya mutasi, tetapi tidak berlaku pada karsinoma nasofaring yang jumlah ekspresinya meningkat karena disebabkan oleh EBV (Wan et al. 2015). Gen p53 jarang bermutasi di nasofaring, tetapi gagal menginduksi apoptosis, karena hilangnya mekanisme p14 untuk menjaga kerja p53 dalam menghambat proteolysis (Baba et al. 2008). Akibatnya, Peran p53 pada karsinoma ini gagal dalam menginduksi apoptosis. Nasofaring juga dikaitkan dengan adanya mutasi pada lengan pendek kromosom 3 dan 9, sehingga hasilnya menyebabkan inaktivasi beberapa *tumor suppressor gene* seperti p14, p15 dan p16 (S. Zhang et al. 2015).

Selain itu, studi terbaru menunjukkan bahwa kelainan pada gen metabolisme asam folat, seperti gen MTHFR (*methylenetetrahydrofolate reductase*), juga dapat berkontribusi terhadap risiko dan perkembangan KNF. Gen MTHFR bertanggung jawab untuk mengatur metabolisme asam folat, yang merupakan nutrisi penting yang dibutuhkan tubuh untuk pertumbuhan dan perbaikan sel. MTHFR adalah enzim yang terlibat dalam metabolisme asam folat, yang merupakan nutrisi penting yang dibutuhkan tubuh untuk pembelahan sel dan sintesis DNA. Kelainan pada gen MTHFR dapat mengganggu fungsi enzim dan menghasilkan gangguan metabolisme asam folat, yang telah dikaitkan dengan peningkatan risiko kanker, termasuk KNF.

Studi lain menunjukkan bahwa kelainan pada gen MTHFR dapat mempengaruhi risiko dan perkembangan KNF. Pada kasus KNF, mutasi pada gen MTHFR dapat menyebabkan peningkatan risiko kanker dan mempengaruhi respons pasien terhadap pengobatan. Selain itu, beberapa penelitian menunjukkan bahwa pengobatan yang ditargetkan pada kelainan genetik MTHFR pada pasien KNF dapat meningkatkan efektivitas pengobatan dan hasil klinis. Dalam studi yang dilakukan pada populasi Cina, ditemukan bahwa polimorfisme gen MTHFR C677T dapat meningkatkan risiko KNF, terutama pada populasi yang terpapar virus Epstein-Barr. Penelitian lain menemukan bahwa pasien KNF dengan polimorfisme gen MTHFR C677T dan A1298C lebih beresiko mengalami efek samping dari kemoterapi dan memiliki prognosis yang lebih buruk. Namun, meskipun terdapat hubungan antara kelainan genetik pada MTHFR dan risiko KNF, studi lebih lanjut masih diperlukan untuk

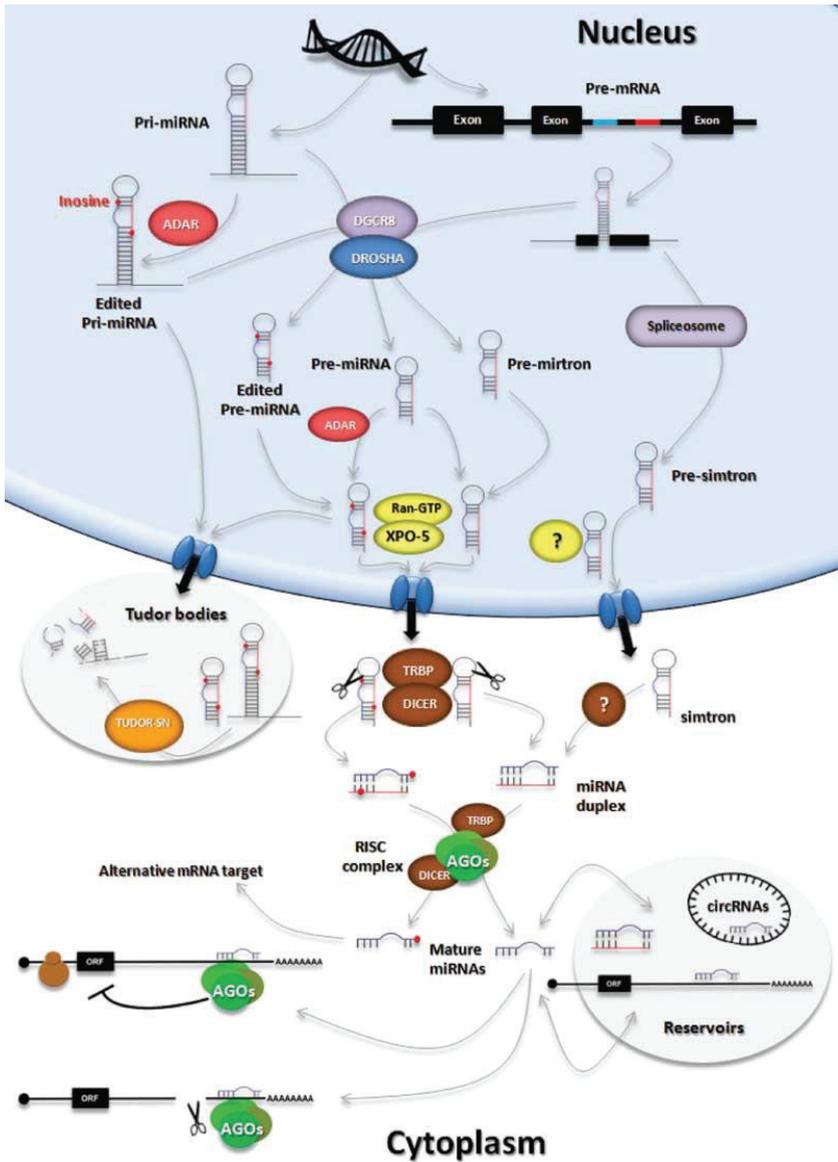
memahami peran MTHFR dalam perkembangan kanker ini. Karena itu, tes genetik yang mengidentifikasi kelainan genetik pada MTHFR dapat membantu dalam diagnosis dan penanganan KNF, terutama dalam menentukan strategi pengobatan yang tepat dan mengurangi risiko efek samping.

## 2.4. Biogenesis miRNA

miRNA merupakan *untranslated region non-coding* (sekuense yang tidak dikode untuk menghasilkan produk protein) nukleotida RNA pendek 18-24 yang berfungsi dalam mengatur ekspresi gen pada mRNA dengan cara mengikat pada urutan basa tertentu, yang dapat mengakibatkan degradasi mRNA atau penghambatan translasi. Ekspresi miRNA memiliki peran penting dalam mengatur proliferasi sel, apoptosis, dan differensiasi (Esteller 2008). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa terdapat perbedaan profil miRNA antara jaringan normal dan tumor dalam karsinoma (Dong et al. 2013). Selain berperan dalam karsinoma, miRNA juga terlibat dalam penyakit lainnya. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa miRNA berperan sebagai target ganda yang terlibat dalam beberapa penyakit yang melibatkan banyak proses seluler, termasuk tumorigenesis dan perkembangan karsinoma (Barukcic 2019; Daaboul et al. 2019; Herawati 2019).

Mekanisme regulasi dari miRNA untuk menargetkan mRNA yang akan diekspresikan dapat dilihat pada gambar 1. miRNA ditemukan di semua kromosom pada manusia, kecuali pada kromosom Y, yang disintesis oleh RNA Polymerase II kedalam struktur Hairpin yang disebut Pri-miRNAs yang ditranskripsi pada daerah intron (Wardana et al. 2020). Pri-miRNA kemudian dipotong oleh RNase III, seperti Drosha dan kompleks protein lainnya (Drosha kompleks), di dalam nukleus membentuk Pre-miRNA. Pre-miRNA kemudian diangkut dari nukleus ke sitoplasma menggunakan Exportin-5 dan RanGTP. Di sitoplasma, Pre-miRNA akan dipotong lagi oleh RNase III endonuklease, seperti Dicer, menjadi single strand miRNA yang matang. Single strand miRNA matang ini akan berikatan dengan mRNA target. Interaksi antara miRNA dan mRNA target ini akan mempengaruhi jalur translasi, sehingga mRNA dapat diterjemahkan atau didegradasi, yang pada gilirannya

mempengaruhi banyak jalur signaling dalam aktivitas sel dan berdampak pada perkembangan karsinoma (Gilad et al. 2008; Schwarzenbach et al. 2011; Foessel et al. 2019).



Gambar 1. Biogenesis mikroRNA, degradasi dan mekanisme penghambatan (García-López et al. 2013)

MiRNA yang bersirkulasi dalam darah maupun cairan tubuh lainnya merupakan biomarker akurat yang dapat didapat dengan metode non invasif. Penelitian sebelumnya menyatakan adanya perbedaan tingkatan ekspresi miR-629 dan miR-660 pada darah dengan tingkat sensitivitas dan spesifitas 100% (Cortez et al. 2011). Beberapa penelitian lainya juga telah melaporkan beberapa miRNA yang dapat diketahui mengalami peningkatan ekspresi, seperti miR-141 pada sampel serum pasien kanker prostat dibandingkan sampel kontrol.

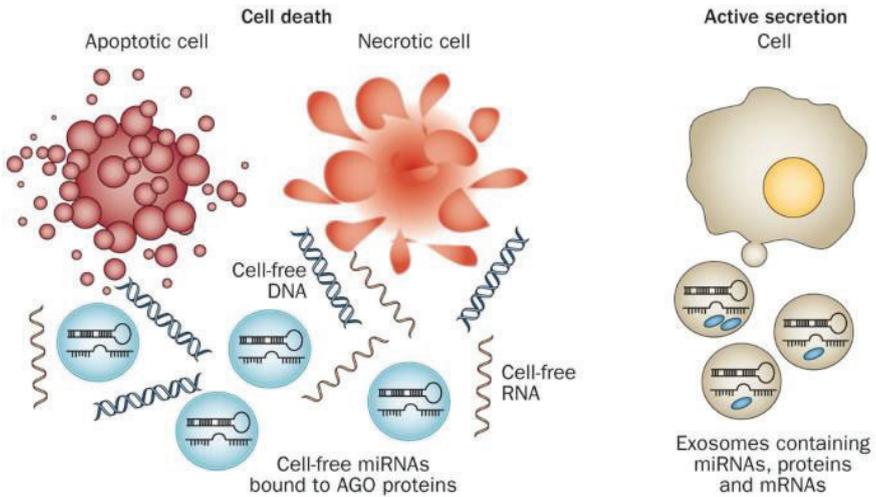
Secara umum penelitian mengenai miRNA berbasis sampling non invasif menggunakan sampel plasma dan serum banyak dilakukan, tetapi baru-baru ini banyak penelitian yang menyatakan bahwa perubahan ekspresi miRNA dapat dideteksi dengan menggunakan sampel cairan tubuh lainya seperti air mata, air susu, cairan bronchial, kolostrum, dan seminal, amniotik, pleural, peritoneal, dan cairan cerebro spinal. miRNA yang dieksresikan kedalam sirkulasi bersifat sangat stabil. Kestabilan miRNA pada cairan tubuh karena dipengaruhi pembungkusan oleh lipoprotein kompleks termasuk membran vesikel ekstraseluler yang disebut *exosome* (Schwarzenbach et al. 2014; Nedaeinia et al. 2017). Kestabilan miRNA termasuk dalam keadaan yang tidak normal seperti pengaruh suhu, pH, penyimpanan dan siklus beku-cair (Cortez et al. 2011). Keberadaan miRNA dalam sirkulasi darah dapat terjadi akibat dari mekanisme respon adaptif sel terhadap lingkungan, proses apoptosis dan nekrosis. Sel yang mengalami nekrosis maupun apoptosis akan melepaskan material genetiknya yang selanjutnya miRNA akan berikatan dengan AGO2 dengan endosomal sistem *exosome*.

MiRNA dapat mengatur ekspresi gen pada urutan basa tertentu pada mRNA, hasilnya mRNA didegradasi atau terjadi penghambatan translasi. Ekspresi miRNA berperan penting dalam mengatur proliferasi sel, apoptosis, dan differensiasi (Esteller 2008). Gen akan kehilangan aktivitasnya sebagai akibat dari pengikatan miRNA pada mRNA target. Beberapa penelitian yang telah dilakukan untuk mengetahui regulasi miRNA terhadap karsinoma menunjukkan adanya perbedaan profil miRNA antara jaringan normal dan jaringan tumor yang berbeda. miRNA tidak hanya berperan terhadap terjadinya karsinoma tetapi terhadap penyakit lainya. Beberapa penelitian telah mempelajari bahwa miRNA merupakan multiple target yang terlibat pada beberapa penyakit yang

berhubungan dengan multiple proses seluler, dan berperan pada tumorigenesis dan perkembangan karsinoma (Barukcic 2019; Daaboul et al. 2019; Herawati 2019).

## 2.5. Sirkulasi miRNA

Sirkulasi miRNA merujuk pada keberadaan miRNA yang ditemukan dalam cairan tubuh seperti darah, urine, dan saliva. miRNA dalam sirkulasi dapat berasal dari berbagai jenis sel, termasuk sel-sel yang terlibat dalam respons imun, sel-sel endotelial, dan sel-sel tumor. Salah satu mekanisme utama yang terlibat dalam pelepasan miRNA ke dalam sirkulasi adalah melalui pelepasan vesikel ekstraseluler, seperti eksosom dan mikrovesikel. Eksosom dan mikrovesikel adalah vesikel kecil yang dihasilkan oleh sel dan memungkinkan untuk pelepasan berbagai jenis bahan biologis, termasuk miRNA, ke lingkungan ekstraseluler.



Gambar 2. Salah satu mekanisme mikroRNA sirkulasi melalui proses kematian sel DNA sekresi sel (Schwarzenbach et al. 2014)

Selain itu, miRNA juga dapat dilepaskan dari sel yang mengalami kematian atau nekrosis, seperti sel yang terlibat dalam peradangan atau sel tumor yang terkikis. miRNA yang dilepaskan ke

dalam sirkulasi kemudian dapat menyebar ke sel-sel yang lebih jauh dan memengaruhi regulasi gen pada sel-sel tersebut. Setelah masuk ke dalam sirkulasi, miRNA dapat terikat dengan protein transportasi seperti lipoprotein dan argonaute untuk melindungi dari degradasi dan membawa miRNA ke sel target yang sesuai. Pada sel target, miRNA akan berikatan dengan mRNA target dan mempengaruhi ekspresi gen melalui regulasi translasi atau degradasi mRNA.

miRNA dalam sirkulasi telah menjadi fokus penelitian dalam beberapa tahun terakhir karena kemampuannya untuk berfungsi sebagai biomarker untuk berbagai kondisi patologis. Peningkatan atau penurunan ekspresi miRNA tertentu dalam sirkulasi telah dilaporkan dalam berbagai jenis kanker, penyakit jantung, diabetes, dan penyakit neurologis.

Saat ini, miRNA pada sirkulasi juga diteliti sebagai alat potensial untuk diagnosis, prognostik, dan pengobatan penyakit. Beberapa studi telah menunjukkan bahwa miRNA sintetik atau modifikasi oligonukleotida miRNA dapat digunakan untuk mengatur regulasi gen dan menghambat pertumbuhan tumor dalam percobaan *in vitro* dan *in vivo*. Dalam metode ini, biomarker yang terkandung dalam darah dapat memberikan wawasan yang berguna tentang sifat kanker dan memungkinkan untuk pembuatan diagnosis dan pengobatan yang lebih tepat. Secara historis, biomarker yang bersirkulasi telah diamati dan dipelajari sejak akhir 1800-an dalam bentuk sirkulasi yang disekresikan oleh sel tumor (Brooks 2012). Namun, penelitian ekstensif tentang sirkulasi tidak terjadi sampai pertengahan abad ke-20 ketika penelitian tentang sel tumor yang bersirkulasi menunjukkan bahwa kehadiran sirkulasi tumor sel pada pasien kanker berkorelasi dengan prognosis yang lebih buruk atau bebas perkembangan dan kelangsungan hidup secara keseluruhan. Perubahan ekspresi miRNA mutan spesifik tumor yang bersirkulasi bebas sel terutama pada miRNA memberikan peningkatan pemahaman terbaru dalam cakupan sensitivitas dan analisis yang berdampak pada potensi pendekatan secara signifikan.

Biomarker prediktif berbasis gen dapat membantu dalam pengambilan keputusan dalam pengobatan kanker dengan mengidentifikasi pasien yang akan menanggapi dengan baik pada terapi tertentu atau mendapatkan keuntungan dari pengobatan alternatif. Dengan

begitu, biomarker prediktif dapat membantu dalam mengidentifikasi subkumpulan pasien yang akan mendapatkan manfaat maksimal dari pengobatan kanker. Beberapa peneliti yang telah mengembangkan berbasis sirkulasi sel tumor melalui pendekatan pengukuran metilasi promotor O6-metil-guanin-metil-transferase (MGMT) dari ctDNA pada pasien glioblastoma multiforme (GBM) (Feldheim et al. 2019). Hal tersebut menentukan manfaat potensial dari kemoterapi alkilasi adjuvan seperti temozolomide atau dacarbazine, selain radiasi adjuvan standar pasca operasi. Identifikasi mRNA plasma dengan metilasi MGMT menggunakan teknik methyl-BEAMing dan bisulfite-pyrosequencing pada kanker kolorektal metastatik menunjukkan 86% persetujuan status metilasi MGMT analisis tumor dan ctDNA dengan alel termetilasi paling banyak dalam jaringan yang disajikan dalam sirkulasi. Selain itu, status metilasi MGMT di ctDNA dikaitkan dengan peningkatan PFS median (2,1 vs 1,8 bulan; nilai p: 0,08).

Analisis ekspresi miRNA penyebab tumor (onkogen) dapat memfasilitasi deteksi munculnya mutasi resisten terhadap terapi target molekuler, dan dapat membantu menyesuaikan pengobatan yang tepat berdasarkan perubahan ekspresi yang terdeteksi di tumor atau dalam sirkulasi. miRNA juga dapat dimasukkan ke dalam studi klinis prospektif untuk mengidentifikasi penanda prediktif respons terhadap terapi kanker dengan stratifikasi berdasarkan mutasi somatik yang mendasari yang akan membuat subjek rentan terhadap terapi target tertentu. Pada perubahan ekspresi BRAF L597 pada melanoma kulit dengan penghambat MEK, atau mutasi PIK3CA pada tumor padat dengan penghambat PIK3CA atau mengindikasikan subklon resisten yang muncul (Menzies and Long 2014).

## **2.6. Metode deteksi miRNA menggunakan qPCR**

Salah satu metode yang paling potensial pada saat ini di Indonesia untuk mempelajari ekspresi gene baik *non-coding* RNA (ncRNAs) maupun gene pengkode (mRNA) secara kuantitatif yaitu quantitative real-time PCR (qRT-PCR) atau quantitative PCR (qPCR). qRT-PCR atau qPCR diperlukan untuk konfirmasi atas akurasi analisis deteksi mRNA dengan sensitivitas dan spesifitas yang tinggi. Analisis ini

diawali dengan transkripsi balik RNA menjadi cDNA. Sekuens miRNA ditranskripsi balik menggunakan Primer *stem-loop-specific reverse transkripsi*.

Primer didesain dengan mensintesis daerah pendek *single-stranded* yang komplementer dengan sekuens yang dikenali pada ujung 3' target, bagian *double-stranded*, dan pada bagian loop yang memiliki sekuens universal untuk penempelan Primer (*universal Primer-binding sequence*). Selanjutnya cDNA digunakan sebagai template untuk qPCR menggunakan 1 Primer spesifik target dan 1 Primer universal. Dapat pula dilakukan cara lain dengan menempelkan sekuens pada ujung target dan kemudian target ditranskripsi terbalik menggunakan Primer universal. Spesifisitas dan sensitivitas beberapa metode untuk mentranskripsi balik mRNA pada analisis real-time sangat bergantung pada desain Primer spesifik mRNA.

Afinitas penempelan primer ditentukan oleh sekuens dan jumlah pasangan basa GC (GC content) mRNA yang mempengaruhi melting temperatures ( $T_m$ ) terhadap sekuens komplementer primer spesifik mRNA. Walaupun Primer didesain untuk mRNA tertentu secara spesifik, namun karena tingkat homologi yang tinggi di antara mRNA, sehingga dalam *assay* ini dapat terjadi *cross-reactivity* di antara anggota keluarga mRNA yang berbeda.

Berikut merupakan beberapa kelebihan dari metode profiling panel:

1. Dapat mengkuantifikasi target dalam jumlah banyak (profiling panel), pada saat telah banyak pengembangan kit deteksi panel-panel dengan spesifik untuk mengkuantifikasi gene target yang telah dipelajari pada berbagai kondisi patofisiologi tertentu misalnya kanker, diabetes, kardiovaskuler dan lain-lain.
2. Dapat menganalisis jumlah sampel yang banyak sehingga sangat dimungkinkan dalam pemeriksaannya dapat digunakan untuk mempelajari ekspresi mRNA dalam berbagai perbedaan status seperti umur, jenis kelamin, stadium, infeksi dan lain-lain.
3. Sangat memungkinkan untuk digunakan dalam aplikasi klinis. Hal tersebut dikarenakan untuk pekerjaannya tidak perlu menggunakan tenaga teknis tertentu dan juga mudah untuk

melakukan penarikan kesimpulan dari hasil yang didapatkan, berbeda dengan NGS yang harus membutuhkan tenisi khusus.

4. Memiliki tingkat sensitivitas dan spesifitas yang cukup tinggi, bahkan dengan jumlah konsentrasi sampel yang sangat kecil dan dapat membedakan perbedaan target walaupun hanya berbeda 1nt dengan pemanfaatan beberapa teknologi primer target misalnya LNA dan taqman.

Meskipun memiliki banyak kelebihan, namun masih terdapat kekurangan dalam metode ini yaitu membutuhkan biaya yang cukup besar untuk analisis per gen target dengan menggunakan komersial primer/kit. Ada beberapa metode yang dikembangkan berbasis qRT-PCR dalam mendeteksi miRNA. Beberapa metode yang memiliki prinsip kerja berbeda namun merupakan pengembangan terbaru dalam membantu peneliti dalam mempermudah deteksi miRNA

miRNA merepresentasikan kegagalan mekanisme yang menjanjikan sebagai biomarker untuk diagnostik kanker. Metode yang dapat diandalkan sebagai metoda analisis ekspresi miRNA adalah dengan menggunakan qPCR. Penggunaan *reference gene* sebagai kontrol internal merupakan metode paling umum untuk normalisasi data. Namun, tidak ada konsensus saat ini miRNA referensi untuk analisis qPCR pada sampel plasma miRNA. Beberapa kandidat *reference gen* yang sudah dilaporkan dapat digunakan pada beberapa penyakit yaitu RNA RNU6B, 18S dan Let-7 yang telah digunakan untuk menormalisasi ekspresi miRNA target data ekspresi pada plasma (Paolacci et al. 2009; Zheng et al. 2013). Strategi alternatif normalisasi volume serum, kuantitas RNA atau molekul miRNA sintesis yang digunakan sebagai kontrol *spike-in* telah banyak dilakukan.

Peran *reference gene* sebagai strategi normalisasi harus divalidasi secara eksperimental untuk plasma pada penyakit tertentu. Masalah ini telah dibahas selama beberapa sistem eksperimental dalam konteks qPCR (Livak and Schmittgen 2001) untuk mRNA dan miRNA. Sejauh yang kami sadari, masalah ini belum ditangani terkait dengan kuantifikasi relatif miRNA yang bersirkulasi di karsinoma nasofaring. Untuk menghasilkan data qPCR relatif yang baik, perlunya untuk melakukan identifikasi dan validasi satu set gen referensi yang sesuai untuk ekspresi

miRNA plasma pasien KNF, untuk memungkinkan kemajuan lebih lanjut dalam penelitian tentang topik ini

## **2.7. Kegagalan protein p53 pada kejadian KNF**

Awalnya, diduga bahwa p53 adalah suatu onkogen karena ditemukan dalam jumlah yang berlebihan dalam sel-sel yang mengalami transformasi. Dugaan ini muncul karena penelitian sebelumnya mengisolasi beberapa klon p53 yang terbukti mampu membuat sel menjadi abadi (immortal) dalam kultur hidup, dan bekerja sama dengan onkogen ras untuk meningkatkan transformasi sel dalam kultur (Hartwig et al. 2020). Namun, kemudian diketahui bahwa p53 yang terdapat dalam sel-sel yang mengalami transformasi adalah bentuk mutan dari p53. Penelitian selanjutnya menunjukkan bahwa p53 normal (*wild type*) sebenarnya menekan transformasi sel yang disebabkan oleh onkogen dalam kultur, dan dapat menghambat pembentukan sel tumor pada binatang percobaan, sehingga p53 kemudian diklasifikasikan sebagai gen supresor (Shi et al. 2021).

Gen p53 mengkodekan protein dengan berat molekul 53 kDa. Protein ini berikatan secara spesifik dengan berbagai gen, termasuk *human papilloma virus* (HPV) dan virus pada sekuen tertentu (Saleh and Perets 2021). Ikatan ini mengaktifkan transkripsi berbagai gen, yang mengakibatkan penghentian siklus sel pada fase akhir G1 (checkpoint p53), sehingga siklus sel terhenti pada fase ini (Matthews et al. 2021). Dalam keadaan normal, aktivasi gen p53 terjadi ketika terjadi kerusakan DNA. Dengan terhentinya siklus sel, ada kesempatan untuk memperbaiki/merapikan DNA yang rusak sebelum siklus sel masuk ke fase S atau fase replikasi DNA. Dengan menghentikan replikasi DNA yang rusak, kerusakan DNA dapat diperbaiki dan secara tidak langsung mencegah terjadinya keganasan (De Re et al. 2020). p53 memiliki peran aktif dalam mendeteksi kerusakan DNA dan menginduksi perbaikan/reparasi DNA, dan dalam kondisi tertentu dapat menginduksi apoptosis. Mutasi gen p53, baik berupa delesi besar atau mutasi titik, akan mengubah sifat onkoprotein yang dihasilkannya, sehingga menghilangkan kemampuan protein p53 sebagai agen anti-proliferasi. Gen p53 bekerja dalam posisi yang berlawanan dengan onkogen c-myc, ketika c-myc berikatan dengan DNA nukleus, sel akan merangsang

masuk ke dalam siklus pembelahan. Kombinasi peningkatan ekspresi c-Myc atau inaktivasi p53 mengakibatkan proliferasi sel secara berlebihan (Shi et al. 2021).

Gen p53 mengkodekan protein p53 yang berfungsi sebagai aktivator transkripsi gen yang menghasilkan protein p21 dengan berat molekul 21 kDa. Protein p21 berinteraksi dengan berbagai kompleks cyclin-cdk, termasuk kompleks yang mengandung cdk2 dan cdk4, yang bertanggung jawab atas fosforilasi dan inaktivasi RB. Dengan demikian, salah satu mekanisme kerja p53 dalam menghentikan siklus sel pada fase G1 adalah dengan mempertahankan RB dalam bentuk "under phosphorylated" atau tidak terfosforilasi. Ketika terjadi kerusakan DNA, ekspresi gen p53 dalam sel meningkat, sehingga mengakibatkan peningkatan transkripsi p21 dan menghambat kompleks cyclin-cdk.

Selain itu, gen p53 juga mengatur keseimbangan antara penggunaan respirasi dan jalur glikolisis melalui protein sitokrom c oksidase 2 (SCO2), yang berpengaruh pada sel kanker tikus dan manusia. Keberadaan SCO2 sangat penting untuk mengatur penggunaan oksigen oleh sel eukariotik. Gangguan pada gen SCO2 pada sel kanker manusia melalui p53 tipe liar (wild type) akan mengganggu jalur glikolisis. Hal ini menjelaskan peran p53 dalam proses penuaan (Mishra et al. 2020).

# BAB III.

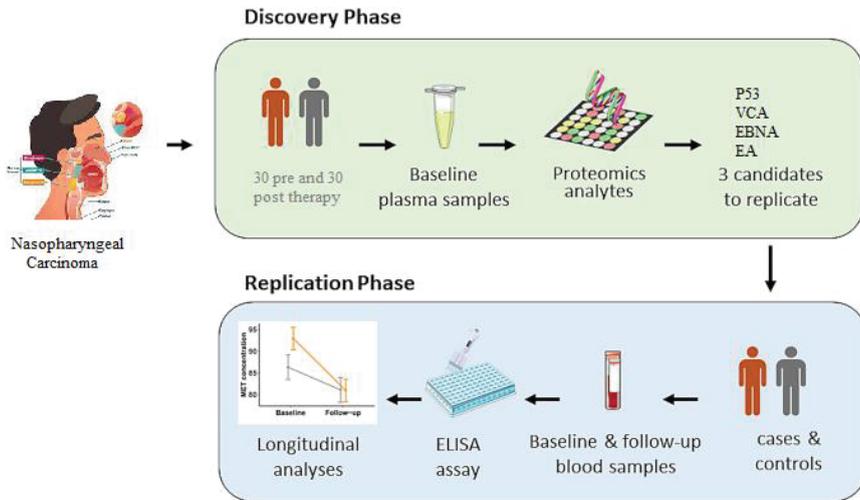
## METODE KUANTIFIKASI DAN ANALISIS EKSPRESI

### 3.1. Rekrutmen Subjek Penelitian

Penelitian yang telah dilakukan merupakan penelitian kuantitatif observasional yang dilakukan melalui beberapa tahapan yang meliputi pengambilan sampel, pelaksanaan eksperimen, dan analisis data serta bioinformatika untuk menganalisis ekspresi. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik penelitian (*ethical clearance*) dari beberapa komisi etik, termasuk FKMK UGM dengan nomor (nomor 898/EC/2016), sebelum dilakukan penelitian.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari pasien karsinoma nasofaring yang telah didiagnosis dengan kriteria klinikopatologi. Pengambilan sampel dilakukan berdasarkan umur, jenis kelamin, serta riwayat dari pasien. Total terdapat 80 sampel plasma yang digunakan dalam penelitian ini, dengan 40 sampel berasal dari pasien penderita karsinoma nasofaring yang sudah diperiksa menggunakan pemeriksaan patologi anatomi (PA) untuk mendeteksi EBNA, EA, dan VCA, serta 30 sampel kontrol yang disimpan pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}$ . Sampel-sampel ini diperoleh dari Rumah Sakit Dharmais Jakarta.

Adapun beberapa kriteria inklusi pasien yang mengikuti kegiatan ini yaitu berupa pasien yang telah didiagnosis klinik menderita karsinoma nasofaring yang didiagnosis dengan metode biopsi, dan pemeriksaan PA, belum dan telah mendapatkan kemoterapi serta penderita berumur 21-60 tahun. Sebaliknya, kriteria inklusi kontrol yaitu berupa partisipasi yang secara sehat secara jasmani yang tidak memiliki riwayat ataupun sedang menderita karsinoma nasofaring ataupun menderita keganasan lainnya, dan berusia 21-60 tahun.



Gambar 3. Alur dari pemeriksaan darah pasien dengan infeksi EBV

### 3.2. Pemeriksaan Serologis IgA anti-VCA, EA, dan EBNA-1

Pemeriksaan serologis IgA anti-VCA, EA dan EBNA-1 dari virus EBV akan dilakukan pemeriksaan di Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman. Pemeriksaan serologis ini merupakan pemeriksaan secara semikuantitatif dengan menggunakan metode Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Pemeriksaan ini menggunakan bahan utama berupa serum atau plasma (EDTA, heparin atau sitrat). Berikut langkah-langkah pemeriksaan serologis IgA anti-VCA, EA dan EBNA-1 EBV:

#### 1. Inkubasi sampel.

Serum atau plasma diencerkan 1:100 dengan sampel buffer lalu dihomogenkan dengan menggunakan vorteks. Masukkan 100  $\mu\text{L}$  kalibrator, kontrol negatif dan positif atau sampel pasien yang telah diencerkan ke dalam wells microplate sesuai dengan petunjuk pipet. Inkubasi selama 30 menit pada suhu ruang (18-25  $^{\circ}\text{C}$ ).

#### 2. Pencucian.

wells dikeringkan dan dicuci sebanyak 3 kali menggunakan 300  $\mu\text{L}$  buffer pencuci. Selanjutnya wells dicuci 3 kali dengan 450  $\mu\text{L}$  buffer pencuci. Buffer pencuci didiamkan di

tiap wells selama 30 – 60 detik tiap sekali siklus pencucian, kemudian keringkan wells. Setelah pencucian (manual atau otomatis), buang semua cairan dalam microplate dengan menghentakkan di atas kertas tisu untuk menghilangkan sisa buffer pencuci.

Catatan: Cairan sisa (>10  $\mu\text{L}$ ) dalam wells reagen setelah pencucian dapat berpengaruh terhadap substrate sehingga dapat menyebabkan terjadinya nilai rendah palsu. Pencucian yang kurang (kurang dari 3 siklus pencucian, terlalu kecil volume buffer pencucian, atau terlalu pendek waktu reaksi) dapat menyebabkan terjadinya nilai absorban tinggi palsu. Posisi kosong dalam strip microplate harus diisi dengan blanko menggunakan format plate yang sama dengan parameter yang akan diuji.

3. Inkubasi konjugat.

Pipet 100  $\mu\text{L}$  konjugat enzim (anti human IgG berlabel peroksidase) ke dalam tiap wells microplate. Inkubasi selama 30 menit dalam suhu ruang (18 – 25°C). Kemudian dilakukan pencucian dilakukan seperti pada tahap 1.

4. Inkubasi substrat.

Pipet 100  $\mu\text{L}$  larutan substrat/kromogen ke tiap wells microplate. Inkubasi selama 15 menit pada suhu ruang (18-25 °C), hindari sinar matahari langsung. Proses stop reaksi dilakukan dengan menggunakan pipet 100  $\mu\text{L}$  stop solution ke dalam tiap wells dengan urutan yang sama dan dengan kecepatan yang sama saat larutan substrat/kromogen tadidimasukkan.

5. Pengukuran.

Intensitas warna diukur secara fotometri pada panjang gelombang 450 nm tidak boleh dari 15 menit setelah penambahan stop solution. Sebelum pengukuran goyang microplate untuk memastikan pemerataan larutan secara homogen. *Cut off Value* = *average negatif kontrol value* + 0,15 (Jika nilai rata-rata OD negatif < 0,05, hitung sebagai 0,05). Dikatakan negatif, bila OD sampel < *Cut off value* dan positif jika OD sampel  $\geq$  *Cut off value*.

### **3.3. Kemo dan Radioterapi**

Analisis dilakukan terhadap sampel yang berasal dari 17 pasien KNF yang menerima kemoterapi berdasarkan cisplatin dan radioterapi. Pasien datang ke fasilitas kesehatan dengan keluhan hidung tersumbat, gangguan telinga, mimisan, sakit kepala, dan benjolan di leher. Empat pasien awalnya didiagnosis pada stadium II B, dan 4 dan 9 pasien didiagnosis pada stadium III dan IV. Sampel plasma dikumpulkan sebelum pengobatan 3-17 bulan setelah kemoradioterapi. Kriteria kelayakan lain untuk penelitian ini adalah Early Antigen (EA) 1, Viral Capsid Antigen (VCA) 2, dan EBNA 1.6. Respon terhadap pengobatan dievaluasi 12 minggu setelah menggunakan endoskopi nasofaring dan CT scan. Respon lengkap (CR) didefinisikan sebagai tidak ada sisa penyakit pada mukosa nasofaring halus, tidak ada massa, dan tidak ada kelenjar getah bening dengan konfirmasi biopsi. Penelitian ini dilakukan setelah mendapat persetujuan dari Komite Etik Universitas Jenderal Soedirman (nomor 898/EC/2016). Selain itu, semua peserta berusia lebih dari 18 tahun dan dapat memberikan formulir persetujuan saat direkrut, yang memerlukan penggunaan sampel, akuisisi, dan data klinis.

### **3.4. Isolasi Plasma**

Sampel darah yang digunakan dalam penelitian diambil dari pasien yang baru saja didiagnosis dengan karsinoma nasofaring (KNF). Pengambilan darah dilakukan dengan mengambil sekitar  $\pm 5$ cc darah. Isolasi plasma dilakukan beberapa saat setelah pengambilan darah untuk memastikan kualitas miRNA yang akan diperiksa di dalamnya. Proses isolasi dilakukan dengan memasukkan darah ke dalam tabung vacutainer yang sudah berisi EDTA, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk kemudian diambil menggunakan pipet filter dan dipindahkan ke dalam tabung berukuran 1,5 ml. Plasma yang telah diperoleh kemudian disimpan pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}$  untuk menjaga kestabilannya.

### 3.5. Isolasi RNA

Untuk isolasi miRNA, digunakan MiRCURY RNA Isolation Kit-Biofluid (Cat No. 300112, Exiqon). Sampel plasma dicairkan dan kemudian disentrifugasi pada 3000 g selama 5 menit. Supernatan yang dihasilkan (200  $\mu$ L) dipindahkan ke dalam tabung baru. Lysis Solution BF (60  $\mu$ L) ditambahkan ke dalam sampel dan di-vortex selama 5 detik. Selanjutnya, Protein Precipitation Solution BF (20  $\mu$ L) ditambahkan ke dalam sampel dan di-vortex selama 5 detik. Sampel diinkubasi pada suhu ruang selama 1 menit, lalu disentrifugasi pada 11.000 g selama 3 menit. Supernatan bening dipindahkan ke dalam tabung koleksi baru (2 mL dengan tutup). Isopropanol (270  $\mu$ L) ditambahkan ke dalam supernatan, di-vortex selama 5 detik, dan miRNA Mini Spin Column BF dipasang pada tabung koleksi. Sampel (300  $\mu$ L) dimasukkan ke dalam kolom dan diinkubasi pada suhu ruang selama 2 menit, lalu disentrifugasi pada 11.000 g selama 30 detik. Cairan yang masuk ke dalam tabung koleksi dibuang, tabung koleksi dipasang kembali, dan sisa sampel dimasukkan ke dalam kolom. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 2 menit, lalu disentrifugasi pada 11.000 g selama 30 detik. Cairan yang masuk ke dalam tabung koleksi dibuang, tabung koleksi dipasang kembali, dan Wash Solution 2 BF (700  $\mu$ L) ditambahkan ke dalam kolom. Selanjutnya, disentrifugasi pada 11.000 g selama 30 detik. Cairan yang masuk ke dalam tabung koleksi dibuang, tabung koleksi dipasang kembali, dan Wash Solution 2 BF (250  $\mu$ L) ditambahkan ke dalam kolom. Selanjutnya, disentrifugasi pada 11.000 g selama 2 menit. Tabung koleksi diganti dengan tabung 1,5 mL untuk menampung RNA. RNase free water (25  $\mu$ L) ditambahkan ke dalam tabung koleksi, diinkubasi pada suhu ruang selama 1 menit, lalu disentrifugasi pada 11.000 g selama 1 menit. RNA terlarut dalam RNase free water di dalam tabung koleksi 1,5 mL. Kolom dibuang, tabung koleksi ditutup, dan RNA disimpan dalam lemari pendingin pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  untuk penyimpanan beberapa hari. Namun, jika akan disimpan dalam waktu lama, RNA harus disimpan di lemari pendingin pada suhu  $-70^{\circ}\text{C}$ .

### **3.6. Sintesis cDNA**

Pembuatan cDNA dilakukan dengan kit Universal cDNA Synthesis kit II, 8-64 rxns (Cat No.203301, Exiqon). Keluarkan RNA yang telah diisolasi dari lemari pendingin -20oC. Letakkan pada wadah tabung yang telah dialasi dengan ice pack. Biarkan mencair secara perlahan kemudian homogenisasi dengan vortex dan spin down. Ambil 5x reaction buffer, nuclease free water, dan spike in (sp6) dari lemari pendingin -20°C. Cairkan 5x reaction buffer, nuclease free water, dan spike in (sp6) dalam suhu ruang. Homogenisasi dengan vortex kemudian spin down. Simpan dalam wadah tabung yang telah dialasi dengan ice pack. Ambil enzyme mix dari dalam lemari pendingin -20°C. Homogenisasi dengan mengetuk tabung secara pelan kemudian spin down.

Pembuatan dan pembagian master mix dilakukan dengan mencampur bahan-bahan dengan metode pipeting berupa 5x reacton buffer dengan volum 4 µL, Nuclease Free water 9 µL, Enzyme mix 2 µL, dan spike in (sp6) 1 µL sehingga total dari master mix tersebut berjumlah 16 µL. Kemudian Homogenisasi dengan vortex kemudian spin down. Bagi ke dalam masing-masing tabung sebanyak 16 µL per reaksi. Masukkan 4 µL sampel RNA ke dalam tabung, kemudian spin down.

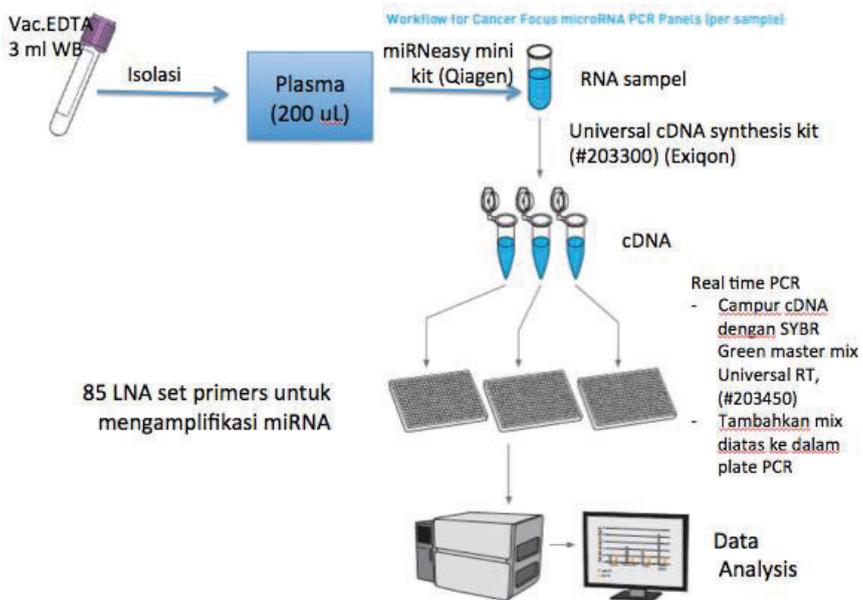
Tabung dimasukkan ke dalam alat thermal cycler Biorad C1000 dan dijalankan sesuai dengan program yang menggunakan tiga siklus, yang pertama dengan temperatur 42° C selama 60 menit, lalu 95 °C selama 5 menit dan 4 °C. Penyimpanan hasil sintesis cDNA dilakukan dalam lemari pendingin -20oC untuk penyimpanan beberapa hari, jika akan disimpan dalam waktu yang lama diletakkan pada lemari pendingin -80°C.

### **3.7. Profiling miRNA menggunakan Cancer Plate 169 target**

Bahan untuk real time qPCR adalah ExiLent SYBR Green master mix, 2.5 mL (Cat No. 203402, Exiqon), Cancer Focus microRNA PCR Panel (Cat No. 203834, Exiqon, dan cDNA yang telah dibuat sebelumnya. Keluarkan RNA yang telah diisolasi dari lemari pendingin -20°C. Letakkan pada wadah tabung yang telah dialasi dengan ice pack.

Biarkan mencair secara perlahan. Homogenisasi dengan vortex kemudian spin down.

Encerkan cDNA dengan RNase free water dengan perbandingan 1:50, yaitu 10  $\mu\text{L}$  cDNA dengan 490  $\mu\text{L}$  RNase free water. Homogenisasi dengan vortex kemudian spin down. Ambil SYBR Green master mix dari lemari pendingin  $-20^{\circ}\text{C}$ . Cairkan dalam suhu ruang. Homogenisasi SYBR Green master mix dengan mengetuk tabung pelan kemudian vortex dan spin down. Homogenisasi primer dengan vortex kemudian spin down. Tambahkan 500  $\mu\text{L}$  master mix ke dalam campuran cDNA yang telah diencerkan. Homogenisasi dengan vortex kemudian spin down. Bagi ke dalam masing-masing tabung reaksi sebanyak 10  $\mu\text{L}$  per sumuran. Set program real time qPCR Tabel 3 pada mesin Biorad C1000.



Gambar 4. Alur pemeriksaan profiling miRNA

### **3.8. Kuantifikasi real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR)**

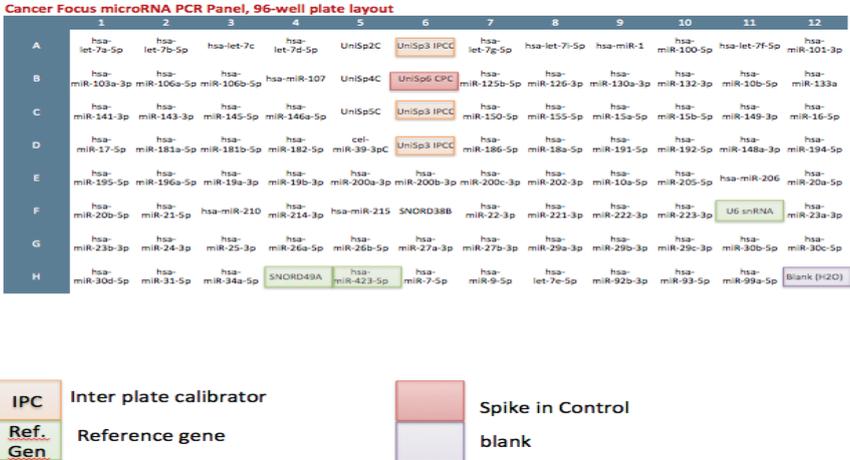
Bahan untuk real time qPCR adalah ExiLent SYBR Green master mix, 2.5 mL (Cat No. 203402, Exiqon), primer set (forward dan reverse) microRNA, cDNA yang telah dibuat sebelumnya. Keluarkan RNA yang telah diisolasi dari lemari pendingin -20oC. Letakkan pada wadah tabung yang telah dialasi dengan ice pack. Biarkan mencair secara perlahan. Homogenisasi dengan vortex kemudian spin down. Encerkan cDNA dengan RNase free water dengan perbandingan 1:80, yaitu 5 µL cDNA dengan 395 µL RNase free water. Homogenisasi dengan vortex kemudian spin down. Simpan dalam wadah tabung yang telah dialasi dengan ice pack. Ambil SYBR Green master mix dan primer set microRNA dan primer kontrol u6 snRNA dari lemari pendingin -20oC. Cairkan dalam suhu ruang. Homogenisasi SYBR Green Master Mix dengan mengetuk tabung pelan kemudian vortex dan spin down. Homogenisasi primer dengan vortex kemudian spin down. Buat campuran master mix sebanyak 6buah : kontrol mir-16, miR-21, miR-29c, miR-141, miR-155, miR-200c. Campurkan 5 µl SYBR Green master mix, dan 1 µl PCR primer mix (untuk masing-masing campuran dibedakan). Homogenisasi dengan vortex kemudian spin down. Bagi ke dalam masing-masing tabung reaksi sebanyak 6 µl master mix. Masukkan 4 µl sampel cDNA yang telah diencerkan sebelumnya. Set program real time qPCR pada mesin Biorad CFX 96.

Adapun beberapa siklus yang digunakan pada qRT-PCR yaitu tahapan denaturasi dengan suhu 95°C selama 10 menit, lalu amplifikasi selama 40 siklus. Suhu 95°C selama 10 detik dan 60 °C, 1 menit ramp-rate 1,6 °C/s. Tahapan terakhir optical read dan analisis kurva leleh dan pilih ya. Lakukan analisa dengan Biorad CFX Manager™ Software untuk memperoleh nilai Quantification cycle (Cq), quantification curve dan melting curve.

### **3.9. Analisis Data**

Analisis dilakukan dengan menggunakan Genex Pro with Exiqon qPCR wizard, qPCR each analysis software, perpetual licence for academic use (Cat No. 207006, Exiqon). Tahapan yang dilakukan adalah

memasukkan data dengan cara pilih tools, kemudian klik GenEx 6 dengan metode analisis ekspresi relatif menggunakan metode Livak (Livak and Schmittgen 2001). Pilih alat Biorad C1000, dan masukkan file yang memuat layout panel. Kemudian dilanjutkan dengan memasukkan file data Ct masing-masing sampel. Edit jenis sampel menjadi pasien1 atau 2 dan sehat 1 atau 2 perlu dilakukan setelah data masuk. Tambahkan kolom baru untuk memasukkan nama grup, yaitu grup pasien untuk pasien 1 dan 2, serta grup sehat untuk sehat 1 dan 2. Masukkan data ke dalam data editor. Lakukan pre-processing data meliputi interplate calibrator, internal amplification control, validate sheet, normalisasi dengan reference gene, relatif quantitation, log<sub>2</sub>, dan missing data untuk menghilangkan data yang tidak lengkap. Data kemudian disimpan dan masuk ke dalam kontrol panel software. Edit data manager dengan memasukkan nama grup yang sudah diatur sebelumnya. Kemudian analisa dapat mulai dilakukan, antara lain: T-test, Box-Plot, dan statistik deskriptif.



Gambar 5. Peta dari profil miRNA dengan menggunakan qPCR

### 3.10. Analisis Bioinformatika

Analisis mekanisme gen dari ekspresi miRNA diferensial dilakukan menggunakan perangkat lunak Inequinity Pathway Analysis (IPA). Data ekspresi miRNA dianalisis dan diinterpretasi menggunakan GraphPad Prism 9, sebuah perangkat lunak statistik dan analisis data yang umum digunakan dalam penelitian biomedis. Konfigurasi gambar

digunakan untuk menggambarkan hasil analisis, termasuk rata-rata, standar deviasi (SD), dan uji-t siswa yang digunakan untuk menganalisis perbedaan antara dua kelompok data yang independen. Selain itu, analisis sensitivitas dan spesifisitas ROC digunakan untuk menguji keakuratan metode analisis, dengan interval kepercayaan 99% dan nilai p kurang dari 0,05 sebagai nilai yang signifikan secara statistik. Hasil analisis ini dapat memberikan informasi yang lebih rinci tentang perbedaan ekspresi miRNA antara kelompok yang dibandingkan dan mengidentifikasi jalur-jalur biologis atau proses biologis yang diatur oleh miRNA yang berbeda.

# BAB IV.

## HUBUNGAN EBV TERHADAP KEJADIAN KANKER

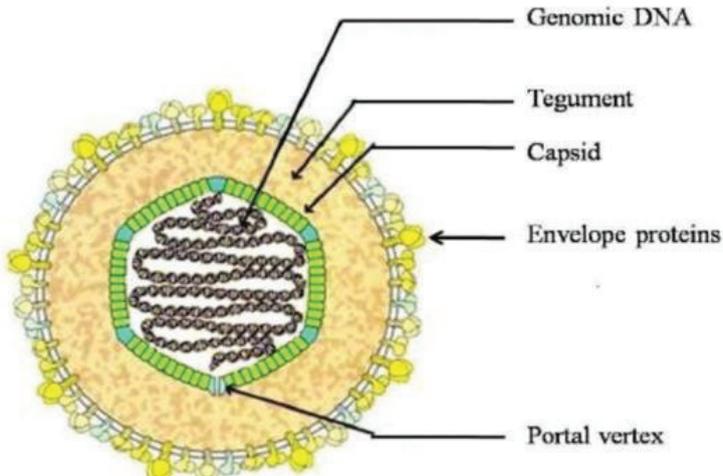
### 4.1. Karakteristik Virus Epstein-Barr

Virus Epstein-Barr (EBV), atau disebut juga Human Herpesvirus 4 (HHV-4) merupakan virus yang termasuk dalam keluarga Herpesviridae. Virus ini ditemukan pertama kali pada tahun 1964 oleh Michael Anthony Epstein dan Yvonne Barr, dan merupakan salah satu virus yang paling umum ditemukan pada manusia (Klisczczewska et al. 2017). EBV terutama menyerang manusia, dan secara alami menetap dalam tubuh tanpa menimbulkan gejala pada sebagian besar individu yang terinfeksi. Namun, EBV juga dikenal sebagai salah satu penyebab utama beberapa penyakit, termasuk kanker seperti karsinoma nasofaring, limfoma hodgkin, dan limfoma non-hodgkin (Tsao et al. 2017; Fugl and Andersen 2019; Bakkalci et al. 2020).

EBV memiliki struktur yang kompleks dan mengandung materi genetik dalam bentuk DNA. Virus ini memiliki diameter sekitar 150-200 nanometer dan terbungkus oleh lapisan lipid yang melindungi genom virion. Struktur EBV terdiri dari beberapa komponen, termasuk kapsid, kapsomer, envelop virus, dan glikoprotein permukaan yang berfungsi dalam pengenalan dan interaksi dengan sel inang (Young and Dawson 2014).

EBV memiliki genom DNA ganda beruntai linear dengan panjang sekitar 172 kb pasangan basa. Genom EBV mengandung sekitar 85-90 gen yang mengkodekan protein, dan dikelompokkan menjadi tiga daerah utama: daerah repetitif terminal panjang (*Long Terminal Repeat* or LTR) (Lander et al. 2001), daerah repetitif terminal pendek (*Short Terminal Repeat* or STR), dan daerah unik internal (*Internal Unique Region* or IRU). Genom EBV juga mengandung berbagai elemen repetitif, seperti repetisi terminal repetitif (*Terminal Repeats* or TR),

repetisi internal (*Internal Repeats* or IR), dan repetisi unit terbatas (*Limited Repeat* or LR) (Young et al. 2007).

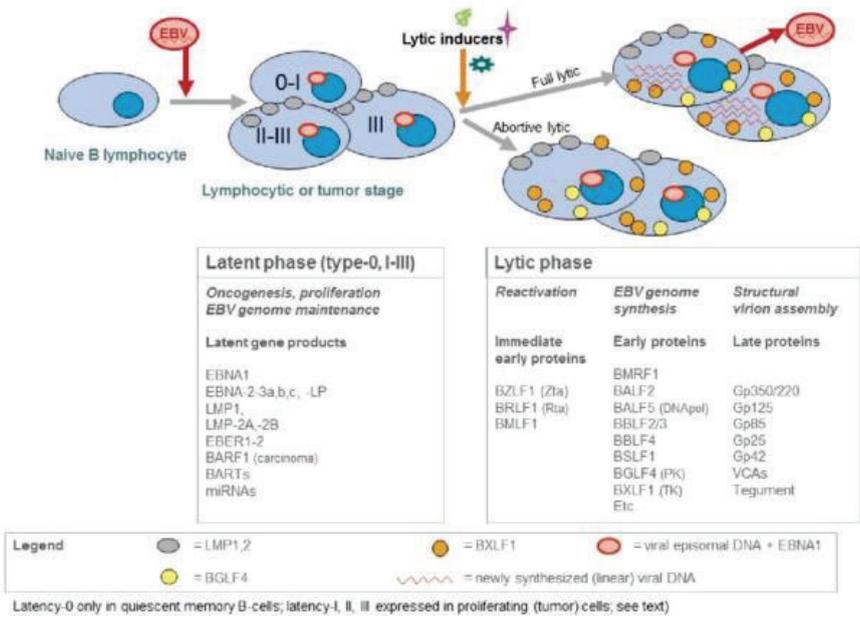


Gambar 6. Struktur virion dari virus epstein barr yang dihubungkan pada banyak kejadian penyakit termasuk kanker (Hadi et al. 2015)

Salah satu karakteristik unik dari EBV adalah kemampuannya untuk beradaptasi dalam dua fase siklus hidup (*biphasic*), yaitu fase laten dan fase litik. Fase laten merupakan fase virus tetap berada dalam sel inang tanpa menghasilkan virus baru dan biasanya tidak menimbulkan gejala (Hawkins et al. 2013). Namun, virus dalam fase laten masih dapat menghasilkan sejumlah protein yang memodulasi proses sel inang dan berperan dalam evolusi penyakit (Rosemarie and Sugden 2020). Fase litik, di sisi lain, adalah fase virus bereplikasi dan menghasilkan partikel virus yang baru, yang kemudian dapat menginfeksi sel inang baru atau dilepaskan ke lingkungan untuk menginfeksi sel inang lain (Murata et al. 2021).

Selama fase laten, EBV membentuk episom sebagai bentuk genom virus yang terpisah dari genom sel inang. Oleh karena itu, EBV tidak mengintegrasikan genom virusnya ke dalam genom sel inang. Meskipun begitu, episom EBV dapat mempengaruhi regulasi ekspresi gen sel inang, menyebabkan transformasi seluler dan berkontribusi pada terjadinya karsinoma nasofaring yang terkait dengan EBV. Episom

adalah elemen genetik ekstrasromosomal atau DNA ekstrasomik yang terpisah dari kromosom dan dapat mengalami replikasi secara mandiri. EBV mengintegrasikan genom virusnya ke dalam genom sel inang yang merupakan DNA berbentuk cincin yang mandiri dan dapat bertahan dalam nukleus sel inang. Integrase EBV, yang dikenal sebagai Enzim Integrase Sitoplasmik Epstein-Barr atau Epstein-Barr Nuclear Antigen 1 (EBNA1), berperan dalam pemeliharaan dan replikasi episom dalam sel inang. Komponen EBV yang berperan penting dalam fase laten adalah Epstein-Barr Nuclear Antigens (EBNAs) dan Latent Membrane Proteins (LMPs) (Xin et al. 2019). EBNAs berperan dalam pengaturan replikasi dan pemeliharaan episom, serta memodulasi aktivitas sel inang untuk mendukung kelangsungan hidup virus. LMPs, di sisi lain, berperan dalam memodulasi aktivitas sel inang, seperti proliferasi, migrasi, dan apoptosis, yang dapat berkontribusi pada perkembangan kanker (Fierti et al. 2022).



Gambar 7. Skematik overview dari gene yang diekspresikan oleh EBV pada fase laten dan lytic (Hadi et al. 2015)

Selain itu, EBV juga menghasilkan beberapa mikroRNA (miRNA) selama fase laten, yang berfungsi dalam mengatur ekspresi gen sel inang dan dapat berperan dalam perkembangan kanker. miRNA ini dapat mempengaruhi jalur-jalur biologis yang terkait dengan proliferasi, diferensiasi, dan resistensi terhadap apoptosis sel inang, serta mengatur sistem kekebalan tubuh untuk melindungi virus dari eliminasi oleh respons imun tubuh (Peng et al. 2019). Sebaliknya, selama fase litik, EBV mengaktifkan berbagai gen yang terkait dengan replikasi, transkripsi, dan produksi virus baru. Protein yang dihasilkan selama fase litik termasuk glycoproteins permukaan virus yang diperlukan untuk pengenalan dan infeksi sel inang baru. Selama fase litik, EBV juga mengeluarkan protein spesifik yang dapat memodulasi respons imun tubuh dan membantu virus dalam menghindari penghapusan oleh sistem kekebalan tubuh (Tsao et al. 2017; Verhoeven et al. 2019).

Telah banyak penelitian yang menunjukkan bagaimana EBV telah terbukti berperan dalam perkembangan pada kejadian KNF. Studi epidemiologi menunjukkan bahwa hampir semua kasus KNF di seluruh dunia terinfeksi oleh EBV (El-Sharkawy et al. 2018; Bakkalci et al. 2020; Fierti et al. 2022). Pada sel KNF, EBV cenderung berada dalam fase laten, mengintegrasikan genom virusnya ke dalam sel inang dan menghasilkan protein viral yang memodulasi jalur-jalur biologis dalam sel inang, seperti proliferasi, apoptosis, dan invasi. Salah satu peran penting genetik dalam KNF adalah gen MTHFR (*methylenetetrahydrofolate reductase*). MTHFR merupakan enzim yang berperan dalam metabolisme asam folat, suatu nutrisi yang penting dalam sintesis DNA, metilasi, dan proses biokimiawi lainnya dalam sel (Raghubeer and Matsha 2021; Ueland 2021). Mutasi atau polimorfisme dalam gen MTHFR dapat menghasilkan perubahan dalam aktivitas enzim, yang dapat mempengaruhi metabolisme asam folat dalam tubuh (Roufael et al. 2023).

Studi telah menunjukkan bahwa polimorfisme dalam gen MTHFR, terutama polimorfisme C677T dan A1298C, dapat meningkatkan risiko KNF. Polimorfisme C677T dikaitkan dengan penurunan aktivitas enzim MTHFR, yang dapat mengakibatkan peningkatan kadar homosistein dalam darah, suatu biomarker yang dikaitkan dengan risiko KNF (Zanrosso et al. 2009; Petrone et al. 2021).

Polimorfisme A1298C, di sisi lain, dikaitkan dengan penurunan aktivitas enzim MTHFR dalam jalur metabolisme dan DNA repair, yang juga dapat berkontribusi pada risiko KNF (Zhang et al. 2022).

Peran faktor lingkungan juga diyakini berperan dalam perkembangan KNF yang terkait dengan EBV. Beberapa faktor lingkungan yang telah dikaitkan dengan peningkatan risiko KNF termasuk paparan bahan kimia berbahaya seperti formaldehid dan asbestos, konsumsi makanan yang tinggi dalam garam nitrit dan ikan asin, paparan virus lain seperti virus herpes simplex tipe 1 (HSV-1), serta faktor gaya hidup seperti konsumsi alkohol dan merokok. Beberapa peneliti lainnya, telah menunjukkan karakteristik molekuler EBV dan perannya dalam patogenesis karsinoma nasofaring juga telah mengungkapkan beberapa jalur biologis yang terlibat dalam perkembangan kanker ini. Pada kejadian KNF, jalur NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor kappa B) telah terbukti berperan dalam modulasi respon imun dan proliferasi sel inang dalam konteks infeksi EBV dan karsinoma nasofaring (de Oliveira et al. 2010; Valentine et al. 2010). Selain itu, jalur JAK/STAT (Janus Kinase/Signal Transducer and Activator of Transcription) juga telah diidentifikasi sebagai jalur yang terlibat dalam perkembangan KNF yang terkait dengan EBV (Poluan et al. 2020; Qing et al. 2020). Jalur ini berperan dalam pengaturan proliferasi sel, resistensi terhadap apoptosis, dan angiogenesis, yang dapat mempengaruhi perkembangan karsinoma nasofaring.

Diagnosis infeksi EBV dan karsinoma nasofaring yang terkait dengannya dapat dilakukan dengan berbagai metode molekuler, seperti PCR (Polymerase Chain Reaction) untuk mendeteksi DNA virus, ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) untuk mendeteksi antibodi terhadap virus, serta teknik imunohistokimia untuk mengidentifikasi ekspresi protein viral dalam jaringan biopsi. Diagnosis dini dan pemahaman yang baik tentang karakteristik virus EBV dapat membantu dalam manajemen dan pengobatan KNF yang terkait dengannya. Pengobatan KNF yang terkait dengan EBV, pendekatan terapi yang telah digunakan meliputi terapi radiasi, kemoterapi, dan imunoterapi. Terapi radiasi dapat digunakan untuk menghancurkan sel kanker dan mengendalikan pertumbuhan tumor. Kemoterapi dapat digunakan baik sebelum atau setelah radioterapi, dan dapat melibatkan penggunaan agen

kemoterapi tunggal atau kombinasi agen kemoterapi. Imunoterapi, seperti penggunaan pemblokir checkpoint imun, juga telah menjadi pendekatan yang menjanjikan dalam pengobatan karsinoma nasofaring yang terkait dengan EBV, dengan tujuan merangsang sistem kekebalan tubuh untuk mengenali dan menghancurkan sel kanker.

Namun, karena kompleksitas dan keberagaman karakteristik virus EBV serta interaksi virus-sel inang yang masih belum sepenuhnya dipahami, pengobatan yang efektif untuk karsinoma nasofaring yang terkait dengan EBV masih menjadi tantangan. Penelitian lanjutan dalam bidang biologi molekuler diperlukan untuk memahami mekanisme patogenesis yang lebih rinci, serta untuk mengidentifikasi target terapi yang potensial dan pengembangan strategi pengobatan yang lebih efektif. Selain itu, pengembangan vaksin EBV juga menjadi bidang penelitian yang menjanjikan. Vaksin yang mampu merangsang respon kekebalan tubuh terhadap virus EBV dapat menjadi pendekatan pencegahan yang potensial untuk mengurangi risiko infeksi EBV dan perkembangan karsinoma nasofaring yang terkait dengannya.

## **4.2. Mekanisme Infeksi Virus Epstein-Barr**

Virus Epstein-Barr (EBV) merupakan virus DNA ganda yang termasuk dalam keluarga Herpesviridae dan menjadi penyebab infeksi manusia yang sangat umum di seluruh dunia. Infeksi EBV dapat menyebabkan berbagai penyakit, termasuk mononukleosis infeksiosa (MI), karsinoma nasofaring, limfoma Hodgkin, dan limfoma nonHodgkin (Fernandez et al. 2009; Abusalah et al. 2020; Bakkalci et al. 2020). Mekanisme infeksi EBV melibatkan berbagai interaksi antara virus dan sel inang, yang terjadi pada tingkat molekuler.

Infeksi EBV umumnya terjadi melalui kontak langsung dengan saliva yang terkontaminasi virus dari individu yang terinfeksi. Setelah masuk ke dalam tubuh, virus EBV menginfeksi sel epitel nasofaring dan amandel pada awal infeksi. Virus EBV kemudian berlanjut untuk menginfeksi sel B, yang merupakan salah satu sel target utama virus ini. Protein-protein viral dalam EBV berperan dalam mekanisme infeksi, replikasi virus, serta modulasi respon imun inang. Salah satu protein penting dalam infeksi EBV adalah protein envelope glycoprotein 350/220

(gp350/220) (Crawford 2001; Chene et al. 2009), yang bertanggung jawab atas pengikatan virus ke reseptor sel inang, seperti CD21 (reseptor untuk komponen komplemen C3d) pada permukaan sel B.

Setelah pengikatan virus ke sel inang, virus EBV memasuki sel inang dan melepaskan genom virus ke dalam nukleus sel inang. Di dalam nukleus, virus EBV menggunakan enzim DNA polimerase untuk menggandakan genom virus, menghasilkan DNA ganda yang akan digunakan sebagai cetakan untuk sintesis RNA viral. Virus EBV memiliki dua fase replikasi, yaitu fase laten dan fase litik. Fase laten adalah ketika virus berada dalam keadaan tidak aktif dan tidak menghasilkan partikel virus, sedangkan fase litik adalah ketika virus menghasilkan partikel virus yang infeksius. Fase laten EBV berperan dalam keterkaitannya dengan berbagai jenis kanker, termasuk karsinoma nasofaring.

Selama fase laten, virus EBV menghasilkan beberapa protein viral, termasuk *Epstein-Barr Nuclear Antigen 1* (EBNA1) yang berperan dalam replikasi genom virus dan mempertahankan episom viral dalam nukleus sel inang. Selain itu, beberapa protein viral seperti *Latent Membrane Protein 1* (LMP1) dan LMP2A juga diekspresikan selama fase laten dan berperan dalam modulasi respon imun inang serta proliferasi sel inang. Sebaliknya, selama fase litik, virus EBV menghasilkan protein-protein viral yang diperlukan dan melibatkan ekspresi lebih banyak protein viral dan produksi virus yang lengkap, yang kemudian dilepaskan dari sel inang untuk menginfeksi sel-sel lain (Middeldorp 2015).

EBV memiliki berbagai mekanisme untuk menghindari respons imun inang, termasuk menghambat presentasi antigen dan menghancurkan sel inang yang terinfeksi. EBV juga mengatur ekspresi protein viral yang dapat mengganggu respons imun inang, seperti menghambat interferon dan mengganggu pengenalan sel inang terinfeksi oleh sel imun. Protein-protein viral EBV berinteraksi dengan komponen sel inang, termasuk protein, reseptor, enzim, dan molekul sinyal, untuk mempengaruhi fisiologi dan biologi sel inang. Misalnya, protein viral EBV dapat berinteraksi dengan protein sel inang yang terlibat dalam pengaturan siklus sel, proliferasi, apoptosis, dan respons imun (Price and Luftig 2014; Cai et al. 2015). Hal ini memungkinkan virus EBV untuk

mengatur dan memodulasi mekanisme sel inang sesuai dengan kebutuhan virus dalam proses replikasinya.

Salah satu ciri khas infeksi EBV adalah kemampuannya untuk mengubah sel-sel B normal menjadi sel-sel B yang tertransformasi. Protein viral EBV, seperti protein Laten Membrane Protein (LMP), memiliki peran penting dalam proses ini. Sel-sel B yang mengalami perubahan aktivitas oleh EBV dapat terus berkembang dan bereplikasisecara tidak terkendali, yang dapat mengarah pada pembentukan tumor, terutama dalam karsinoma nasofaring atau Burkitt lymphoma. Selain faktor genetik, peran epigenetik juga sangat penting dalam mekanisme infeksi EBV. EBV dapat mempengaruhi modifikasi epigenetik pada genom sel inang, seperti metilasi DNA, modifikasi histon, dan perubahan ekspresi mikroRNA. Hal ini dapat mengubah ekspresi gen di dalam sel inang dan mempengaruhi jalur sinyal serta regulasi biologi sel inang.

Meskipun EBV memiliki mekanisme untuk menghindari respons imun inang, sistem imun manusia tetap berperan dalam mengontrol infeksi EBV. Respon imun seluler dan humoral melibatkan pengenalan antigen viral oleh sel imun, produksi antibodi spesifik, serta aktivasi sel-sel imun untuk menghancurkan sel inang yang terinfeksi. Namun, EBV juga memiliki mekanisme untuk menghambat respons imun, seperti menghambat presentasi antigen oleh sel inang dan mengganggu aktivitas sel-sel imun.

Beberapa kelainan genetik pada manusia juga terkait dengan infeksi EBV. Sebagai contoh, defisiensi imun primer, seperti Sindrom X-Linked Lymphoproliferative (XLP), dapat meningkatkan risiko infeksi EBV dan menyebabkan penyakit yang parah seperti limfoma dan penyakit hati. Selain itu, variasi genetik pada dari host EBV, seperti HLA (Human Leukocyte Antigen), juga dapat mempengaruhi risiko terjadinya infeksi EBV dan penyakit terkait EBV (Seemayer et al. 1995; Li et al. 2016).

### **4.3. Hubungan Virus Epstein-Barr dan Karsinoma Nasofaring**

Karsinoma Nasofaring (KNF) adalah salah satu jenis kanker kepala dan leher yang memiliki prevalensi yang tinggi di beberapa wilayah di seluruh dunia, terutama di Asia dan Afrika (Wardana, Oktriani, et al. 2022). Beberapa penelitian epidemiologi telah mengaitkan infeksi EBV dengan perkembangan KNF. Diperkirakan sekitar 90% kasus KNF di daerah endemik EBV positif (Wang et al. 2018). Dalam konteks ini, biologi molekuler virus EBV menjadi salah satu fokus penelitian dalam memahami hubungannya dengan KNF.

Virus EBV memiliki peran penting dalam patogenesis KNF melalui mekanisme infeksi, transformasi sel, serta modulasi respon imun inang. Beberapa faktor molekuler yang terlibat dalam hubungan antara EBV dan KNF meliputi ekspresi gen viral, interaksi protein viral dengan sel inang, dan respons imun terhadap infeksi EBV. Selama infeksi EBV, ekspresi genom viral dapat mengakibatkan transformasi sel yang dapat berkontribusi terhadap perkembangan KNF. Beberapa protein viral seperti latent membrane protein 1 (LMP1) dan LMP2A diekspresikan selama fase laten EBV dan diketahui memiliki peran kunci dalam patogenesis KNF (Adham et al. 2012; Hutajulu et al. 2014; Zhu et al. 2014).

LMP1 merupakan protein transmembran yang mengaktifkan jalur sinyal Wnt, NF- $\kappa$ B, MAPK, dan PI3K/Akt, yang menghasilkan proliferasi sel, inhibisi apoptosis, dan perubahan fenotip sel (Shair et al. 2008). LMP1 juga dapat meningkatkan ekspresi faktor transkripsi yang terlibat dalam proliferasi sel, seperti c-Myc dan Cyclin D1. Selain itu, LMP1 dapat menginduksi ekspresi enzim matrix metalloproteinase (MMP) yang berperan dalam invasi dan metastasis sel kanker (Yoshizaki et al. 2013). LMP2A adalah protein transmembran yang dapat menghambat apoptosis sel inang dan mengatur proliferasi sel. LMP2A menghambat B-cell receptor (BCR) signaling dan menghindari deteksi oleh sel T sitotoksik. Hal ini dapat mengakibatkan proliferasi sel B yang dapat berkontribusi terhadap transformasi sel dan perkembangan KNF (Chou et al. 2008; Zebardast et al. 2021).

Selain ekspresi protein viral, beberapa protein viral EBV berinteraksi dengan komponen sel inang, yang dapat memodulasi jalur sinyal, proliferasi sel, dan respon imun inang, misalnya interaksi antara EBNA1 dan sel inang. EBNA1 merupakan protein viral yang diekspresikan selama fase laten EBV dan berperan dalam replikasi genom virus serta mempertahankan episom viral dalam nukleus sel inang. EBNA1 berinteraksi dengan beberapa protein sel inang, seperti promyelocytic leukemia (PML) protein dan tumor protein p53 (p53) (Kang et al. 2016), yang mempengaruhi fungsi normal dari protein-protein tersebut. Interaksi antara EBNA1 dan PML dapat menghancurkan granula PML-NB yang berperan dalam pengendalian pertumbuhan sel dan menghambat fungsi p53 sebagai pengatur siklus sel dan induktor apoptosis. Dengan demikian, interaksi antara EBNA1 dengan PML dan p53 dapat mengganggu regulasi normal siklus sel dan apoptosis, dan berkontribusi terhadap transformasi sel yang mungkin terjadi dalam KNF (Sivachandran et al. 2008).

Selain itu, protein viral EBV juga dapat berinteraksi dengan komponen jalur sinyal sel inang. Sebagai contoh, protein LMP1 dapat mengaktifkan jalur sinyal Wnt, NF- $\kappa$ B, MAPK, dan PI3K/Akt dalam sel inang, yang menghasilkan proliferasi sel dan perubahan fenotip sel menjadi kanker (Shair et al. 2008). Protein LMP2A juga dapat menghambat jalur sinyal BCR dalam sel B inang, yang dapat mengakibatkan proliferasi sel B yang abnormal.

Sistem imun inang memiliki peran penting dalam mengontrol infeksi EBV dan perkembangan KNF. Namun, EBV memiliki mekanisme evasi imun yang dapat menghindari respons imun inang, yang dapat berkontribusi pada perkembangan KNF. Salah satu mekanisme evasi imun yang dimiliki EBV adalah melalui ekspresi protein viral yang menghambat pengenalan dan respons imun inang. Hal ini telah banyak ditunjukkan bahwa protein viral EBNA1 dapat menghindari deteksi oleh sel T sitotoksik melalui mengurangi presentasi antigen oleh molekul kompleks utama histokompatibilitas kelas I (MHC-I) pada permukaan sel inang. Protein viral LMP1 dan LMP2A juga dapat menghambat respons imun inang dengan menghambat jalur sinyal sel T dan menghambat diferensiasi sel B inang (Rowe and Zuo 2010; Damiani et al. 2019). Selain itu, EBV juga dapat menghambat respon imun inang melalui

pengaktifan jalur sinyal immunosupresif. Sebagai contoh, protein viral LMP1 dapat mengaktifkan jalur sinyal NF- $\kappa$ B yang menghasilkan produksi sitokin immunosupresif seperti interleukin-10 (IL-10) dan transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ ) (Poppema 2005; Murata et al. 2014; Looi et al. 2021). Sitokin-sitokin ini dapat menghambat respons imun sel T dan sel NK serta menghambat aktivitas sel efektor yang bertujuan untuk menghancurkan sel kanker.

Peran sel imun dalam lingkungan mikroфизиologis KNF juga dapat berpengaruh terhadap perkembangan karsinoma nasofaring. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sel imun, seperti limfosit T tumor-infiltrating (TILs), dapat mempengaruhi prognosa dan respons terhadap pengobatan KNF. Namun, regulasi kompleks antara respons imun, ekspresi protein viral, dan interaksi antara sel inang dan virus EBV dalam tumor mikroenvironment KNF masih menjadi area penelitian yang sedang berkembang.

#### **4.4. Epidemiologi Virus Epstein-Barr**

EBV merupakan virus yang sangat umum di seluruh dunia dan merupakan anggota keluarga Herpesviridae. Infeksi EBV dapat terjadi sepanjang masa hidup individu dan dapat menyebar melalui kontak langsung dengan saliva yang terinfeksi, seperti bersin, batuk, atau berbagi alat makan. Infeksi EBV biasanya terjadi pada masa kanak-kanak atau remaja, dan sekitar 90% dari populasi dunia telah terinfeksi EBV pada usia 20 tahun (Poppema 2005).

Prevalensi infeksi EBV bervariasi di berbagai wilayah geografis, dengan tingkat prevalensi yang lebih tinggi di negara-negara berkembang, seperti Afrika, Asia, dan Amerika Latin, dibandingkan dengan negara-negara maju. Di Amerika Serikat, sekitar 90% dari populasi telah terinfeksi EBV pada usia 40 tahun. Faktor-faktor risiko yang dikaitkan dengan penularan EBV meliputi kontak dengan saliva yang terinfeksi, paparan terhadap sekresi pernapasan yang terinfeksi, dan kepadatan populasi yang tinggi, seperti dalam komunitas sekolah atau keluarga besar (Adham et al. 2012).

Infeksi EBV dapat menunjukkan beragam manifestasi klinis, mulai dari infeksi subklinis atau asimtomatik hingga penyakit akut seperti

mononukleosis infeksius (IM) atau sindrom mononukleosis mirip IM. Mononukleosis infeksius adalah penyakit yang ditandai dengan gejala seperti demam, sakit tenggorokan, pembesaran kelenjar getah bening, dan kelelahan yang berkepanjangan. IM biasanya terjadi pada usia muda dan dapat berdampak signifikan pada kualitas hidup individu yang terinfeksi. Selain itu, EBV juga terkait dengan berbagai penyakit yang lebih serius, termasuk karsinoma nasofaring (KNF), limfoma Hodgkin, limfoma non-Hodgkin, limfoproliferatif pasca transplantasi organ, dan beberapa kanker yang berkaitan dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah, seperti infeksi HIV/AIDS.

Penting untuk dicatat bahwa faktor-faktor risiko dan manifestasi klinis infeksi EBV dapat bervariasi tergantung pada kelompok populasi dan wilayah geografis. KNF merupakan salah satu dampak paling signifikan dari infeksi EBV di beberapa wilayah Asia, terutama di Cina Selatan dan Asia Tenggara, KNF merupakan salah satu jenis kanker yang paling umum terjadi. Faktor-faktor risiko yang dikaitkan dengan KNF meliputi faktor genetik, infeksi EBV, paparan zat karsinogenik, serta faktor lingkungan dan gaya hidup (Wu et al. 2018).

Meskipun EBV adalah virus yang umum dan biasanya menyebabkan infeksi ringan, virus ini dapat terkait dengan berbagai penyakit yang lebih serius, termasuk KNF dan beberapa jenis kanker lainnya. Studi epidemiologi telah memberikan pemahaman yang lebih baik tentang distribusi geografis infeksi EBV, faktor-faktor risiko yang terkait, serta manifestasi klinis yang mungkin timbul sebagai akibat infeksi EBV.

Epidemiologi KNF, sebagai salah satu dampak penting dari infeksi EBV, telah banyak dipelajari terutama di wilayah Asia KNF memiliki angka kejadian yang tinggi. Penelitian epidemiologi KNF telah mengidentifikasi beberapa faktor risiko yang berhubungan dengan pengembangan KNF, termasuk infeksi EBV, faktor genetik, faktor lingkungan, serta faktor gaya hidup. Studi epidemiologi telah menunjukkan bahwa individu dengan riwayat infeksi EBV yang kuat memiliki risiko yang lebih tinggi untuk mengembangkan KNF (Van Tornout et al. 1997; Wu et al. 2018).

Faktor risiko yang paling signifikan dalam pengembangan KNF adalah infeksi EBV. EBV telah diidentifikasi sebagai faktor kausal yang kuat dalam pengembangan KNF, dengan sekitar 90% kasus KNF di beberapa wilayah Asia terkait dengan infeksi EBV (Tan et al. 2019). Studi epidemiologi telah mengungkapkan bahwa individu yang terinfeksi EBV memiliki risiko yang lebih tinggi untuk mengembangkan KNF dibandingkan dengan mereka yang tidak terinfeksi.

Selain itu, faktor genetik juga memainkan peran penting dalam epidemiologi KNF. Beberapa penelitian telah menemukan bahwa terdapat faktor genetik yang mempengaruhi kerentanan seseorang terhadap infeksi EBV dan pengembangan KNF. Polimorfisme genetik dalam gen tertentu, seperti gen HLA (Human Leukocyte Antigen) dan gen non-HLA, telah dikaitkan dengan risiko yang berbeda dalam pengembangan KNF. Studi epidemiologi juga telah menemukan adanya keterkaitan antara faktor genetik dan paparan lingkungan dalam pengembangan KNF, yang menunjukkan adanya interaksi kompleks antara faktor-faktor risiko tersebut.

Selain faktor risiko genetik dan infeksi EBV, faktor lingkungan juga dapat berperan dalam epidemiologi KNF. Beberapa penelitian telah mengidentifikasi paparan terhadap zat karsinogenik, seperti asap kayu bakar, polusi udara, dan konsumsi makanan tertentu yang tinggi nitrosamin, sebagai faktor risiko lingkungan yang berkontribusi terhadap pengembangan KNF. Faktor lingkungan lainnya, seperti status sosioekonomi, pola makan, dan paparan radiasi, juga telah diidentifikasi sebagai faktor yang dapat mempengaruhi risiko pengembangan KNF dalam beberapa penelitian epidemiologi.

Selain faktor risiko yang telah disebutkan sebelumnya, faktor gaya hidup juga dapat mempengaruhi epidemiologi KNF. Konsumsi makanan tertentu, seperti makanan tinggi garam dan makanan asap atau diasapkan, telah dikaitkan dengan peningkatan risiko pengembangan KNF. Selain itu, merokok, konsumsi alkohol, serta kurang tidur dan pola tidur yang buruk, juga dapat mempengaruhi risiko pengembangan KNF dalam beberapa penelitian epidemiologi. Studi epidemiologi terkait dengan faktor gaya hidup ini dapat memberikan wawasan yang lebih baik

tentang bagaimana kebiasaan sehari-hari individu dapat berkontribusi terhadap pengembangan KNF.

Selain itu, penelitian epidemiologi telah mengidentifikasi beberapa karakteristik klinis yang terkait dengan infeksi EBV. Manifestasi klinis infeksi EBV dapat bervariasi dari infeksi ringan hingga penyakit yang lebih serius, termasuk mononukleosis infeksius (MI) atau sering disebut sebagai penyakit ciuman, serta komplikasi serius seperti limfoma Burkitt, karsinoma nasofaring, dan limfoma Hodgkin.

Epidemiologi mononukleosis infeksius (MI) telah banyak dipelajari. MI adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi EBV dan biasanya ditandai dengan gejala seperti demam, sakit tenggorokan, pembesaran kelenjar getah bening, dan kelelahan yang berlangsung selama beberapa minggu (Abusalah et al. 2020). Studi epidemiologi telah menunjukkan bahwa MI lebih umum terjadi pada individu muda, terutama remaja dan dewasa muda, dengan tingkat seropositivitas EBV yang tinggi pada kelompok usia ini. Selain itu, penelitian epidemiologi juga telah menunjukkan bahwa MI lebih umum terjadi pada populasi dengan status sosioekonomi rendah, paparan terhadap infeksi EBV yang lebih tinggi, serta penularan yang terjadi melalui kontak fisik, seperti ciuman atau kontak langsung dengan air liur yang terinfeksi.

Epidemiologi limfoma Burkitt, yang merupakan salah satu jenis limfoma yang terkait dengan infeksi EBV, juga telah banyak dipelajari. Limfoma Burkitt adalah limfoma agresif dan sering ditemukan pada anak-anak dan individu muda. Studi epidemiologi telah menunjukkan bahwa infeksi EBV adalah faktor risiko yang signifikan dalam pengembangan limfoma Burkitt, terutama pada varian limfoma Burkitt yang terkait dengan infeksi EBV (Young and Rickinson 2004; Abusalah et al. 2020). Selain itu, faktor-faktor lain seperti faktor genetik, paparan terhadap infeksi malaria, dan status imun juga dapat mempengaruhi risiko pengembangan limfoma Burkitt.

Penelitian epidemiologi juga telah memberikan gambaran mengenai peran infeksi EBV dalam pengembangan tumor epitelial, termasuk karsinoma nasofaring dan karsinoma lambung. Beberapa studi telah menunjukkan hubungan antara infeksi EBV dan risiko pengembangan karsinoma nasofaring, terutama di wilayah Asia angka

kejadian karsinoma nasofaring cukup tinggi (Wardana et al. 2020). Infeksi EBV juga telah dikaitkan dengan risiko pengembangan karsinoma lambung, terutama jenis karsinoma lambung difus yang lebih jarang ditemukan. Namun, mekanisme pasti bagaimana infeksi EBV terlibat dalam pengembangan tumor epitelial masih belum sepenuhnya dipahami dan memerlukan penelitian lebih lanjut.

Penelitian epidemiologi telah mengidentifikasi faktor-faktor risiko yang berhubungan dengan penularan EBV. Penularan EBV dapat terjadi melalui kontak langsung dengan air liur yang terinfeksi, seperti ciuman atau kontak fisik dengan individu yang terinfeksi. Penularan juga dapat terjadi melalui transfusi darah, transplantasi organ, atau melalui transmisi ibu-ke-anak selama kehamilan atau persalinan (Gequelin et al. 2011; Silasi et al. 2015; Enok Bonong et al. 2021; Mate et al. 2021). Beberapa faktor risiko yang telah diidentifikasi dalam penularan EBV meliputi paparan terhadap air liur individu yang terinfeksi, paparan terhadap anak-anak di rumah tangga yang sama, paparan di tempat kerja atau lingkungan yang padat, serta faktor-faktor imunologis seperti status imun yang lemah atau terapi immunosupresif.

Diagnosis infeksi EBV umumnya dilakukan melalui tes darah untuk mendeteksi antibodi terhadap EBV, seperti tes antibodi IgM dan IgG (Adham et al. 2013; Xia et al. 2015). Tes serologi dapat membantu mengidentifikasi infeksi akut atau infeksi sebelumnya. Selain itu, teknik molekuler seperti reaksi berantai polimerase (PCR) juga dapat digunakan untuk mendeteksi materi genetik EBV dalam sampel, seperti darah atau cairan tubuh lainnya.

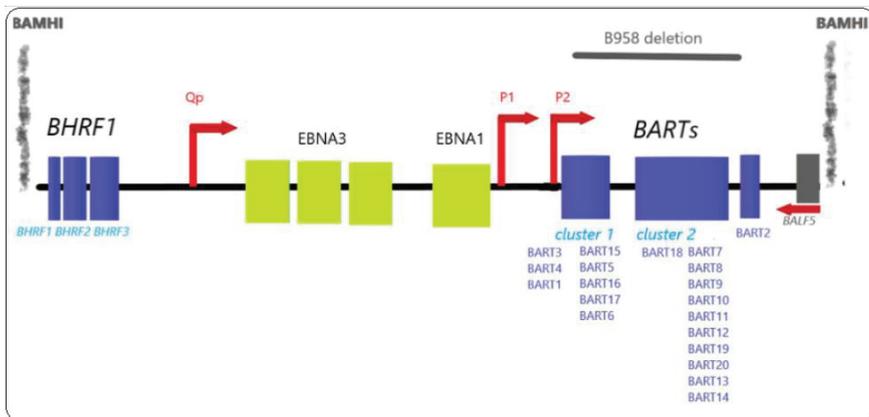
Pengelolaan infeksi EBV tergantung pada jenis manifestasinya. Pada infeksi EBV yang ringan, seperti infeksi tanpa gejala atau mononukleosis infeksius (MI) ringan, pengelolaan biasanya bersifat suportif. Ini melibatkan pengelolaan gejala seperti demam, nyeri tenggorokan, dan kelelahan dengan istirahat yang cukup, konsumsi cairan yang adekuat, dan penggunaan obat penghilang nyeri seperti acetaminophen atau ibuprofen. Kortikosteroid mungkin diberikan dalam beberapa kasus MI berat untuk mengurangi peradangan dan gejala yang berhubungan.

#### 4.5. Peran miRNA pada Karsinoma Nasofaring yang Berkaitan dengan EBV

Karsinogenesis KNF dikaitkan dengan proses bertahap perubahan genetik dan epigenetik yang terkait erat dengan infeksi Epstein Barr Virus (EBV) tahap awal. Virus Epstein-Barr (EBV) adalah virus DNA beruntai ganda yang secara laten menginfeksi lebih dari 90% populasi di seluruh dunia (Sarwari et al. 2016). EBV sering dikaitkan dengan peningkatan risiko beberapa keganasan yang terdefinisi dengan baik, termasuk limfoma Burkitt, limfoma Hodgkin, karsinoma nasofaring, kanker lambung, dan limfoma sel B-/T-NK yang berbeda (Barukcic 2019).

Pada pasien KNF, keterlibatan infeksi EBV biasanya dideteksi menggunakan uji serologis untuk mengukur peningkatan respon antibodi IgA Viral Capsid Antigen (VCA), Membrane Antigen (MA), dan Nuclear Antigens (EBNA) (Middeldorp 2015). Infeksi EBV menggunakan dan mengganggu beberapa jalur pensinyalan protein seluler intraseluler dan membran serta RNA *non-coding* untuk mendukung replikasi dan infeksi latennya. Beberapa host dan miRNA yang dikodekan EBV telah dikaitkan dengan karsinogenesis KNF dengan menargetkan ratusan mRNA yang terlibat dalam jalur seluler yang mengarah ke inisiasi dan perkembangan kanker (Oliveto et al. 2017).

EBV mengkode miRNA yang ditranskripsikan melalui dua bagian sequence yaitu BamH 1 fragment A rightward transcript (BART)-cluster 1 dan 2. Di sisi yang lainnya yaitu BamH1 fragment H rightward open reading frame 1 (BHRF1)-cluster. Pada pasien dengan penderita KNF, semua miRNA BART dapat ditemukan yang terdiri dari 22 miRNA precursor yang mengkode 40 miRNA matang (Fan et al. 2018). Beberapa peneliti melaporkan bahwa ekspresi miRNA yang dikode oleh EBV terlibat pada beberapa proses biologis yang berperang pada perkembangan KNF seperti kemampuan menghindari sistem imunitas, proliferasi, apoptosis, invasi dan metastasis.



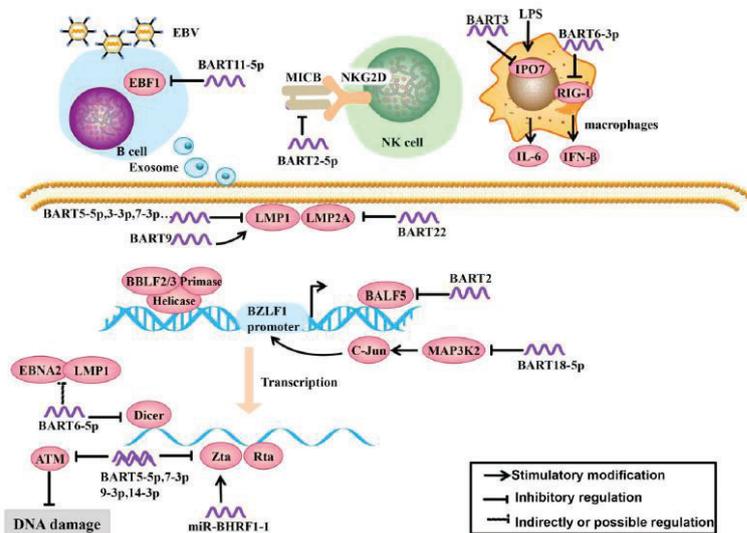
Gambar 8. Map genomik dari EBV yang terdiri dari BAMH I, BHRF1, EBNA dan BART (De Re et al. 2020)

1. Kemampuan menghindari sistem imunitas

Pada kejadian KNF, EBV yang menginfeksi sel epitel mukosa nasofaring dan bergantung pada sel inang mensintesis miRNA EBV dapat mengatur ekspresi gen virus sel inang dan sel inang untuk menutupi sel yang terinfeksi dari respons imun inang dan membantu virus mempertahankan infeksi kronis jangka panjang. Beberapa produk virus seperti LMP1, LMP2, dan EBNA1 yang diketahui dapat memicu respon kekebalan sel inang untuk merespon memproduksi sitokin (Fan et al. 2018). Hal tersebut dapat merespon aktivasi kaskade inflamasi, yang menginduksi proliferasi dan diferensiasi sel imun yang direkrut ke tempat yang terinfeksi untuk mengerahkan efek imun di bawah panduan kemokin. Selama proses ini, EBV-miRNA mengatur respon imun inang dengan mengatur produk yang dikodekan gen virus dan memblokir aktivasi sel imun inang. EBV-miRNA dapat mengganggu modulasi kekebalan sel inang dengan menumpulkan pengenalan kekebalan, menghalangi jalur pensinyalan kekebalan, mempengaruhi tingkat protein antigen dan perilaku lain untuk melumpuhkan sistem kekebalan inang (Fan et al. 2018; Chakravorty et al. 2022).

Terdapat beberapa tahapan yang dilakukan oleh miRNA yang dikode virus EBV untuk menghindari respon dari sistem

imunitas dari inang melalui penghambatan pengenalan reseptor, pengaturan aktivasi dan kematangan limfosit, modulasi antigen sel inang yang terinfeksi, dan mempertahankan status infeksi EBV.



Gambar 9. Mekanisme sistem penghindaran imunitas dari virus EBV yang bersifat latent (Fan et al. 2018)

miRNA- EBV dapat mengurangi pengenalan imun dan aktivasi limfosit. Untuk mentoleransi virus setelah infeksi EBV, sel inang menghasilkan suatu ligan, yaitu kompleks kelas I terkait kompleks 1 (MICB), yang merupakan ligan reseptor NKG2D (Fan et al. 2018). Reseptor NKG2D terletak di permukaan sel NK, berfungsi dalam pengenalan imun dalam sel terinfeksi, dan secara efektif mengaktifkan sel NK dan sel T 23. miR-BART2-5p EBV menurunkan ekspresi MICB dengan mengincar ligan sel inang MICB, yang mengurangi pengenalan imun dan aktivasi sel inang dalam sel terinfeksi (Xia et al. 2008).

Pada tahap awal infeksi EBV, sel B dormant dengan cepat berdiferensiasi menjadi sel B memori yang dipacu oleh pusat germinal. Oleh karena itu, pusat germinal memainkan peran penting dalam siklus sel limfosit dan diferensiasi. Faktor 1

sel B awal (EBF1), suatu faktor transkripsi sel B, memainkan peran kunci dalam pembentukan pusat germinal (Price and Luftig 2014). Selain itu, EBF1 mengatur banyak gen khusus sel B, termasuk regulator perkembangan sel B PAX-5 (yang diperlukan untuk mempertahankan fenotipe sel B), reseptor sel B (BCR), dan mediator interaksi sel Bcl-2 terkait kematian (Bim) (Portis and Longnecker 2004). Jika fungsi EBF1 tidak ada, sel B dewasa tidak akan berfungsi. (Fan et al. 2018) menemukan bahwa miR-BART11-5p EBV berikatan dengan 3'-UTR EBF1, menyoroti peran potensial BART-11-5p dalam regulasi diferensiasi sel B. (Skinner et al. 2017) menemukan bahwa miR-BHRF1-2, yang dihasilkan oleh EBV, menghambat ekspresi EBF1, sehingga mengganggu regulasi pusat germinal dan menyebabkan penurunan ekspresi PAX-5, BCR, dan Bim. Selain itu, miR-BHRF1-2 menghambat diferensiasi sel B menjadi sel plasma, yang diperlukan untuk produksi antibodi, sehingga mempengaruhi respons imun humoral

Selain mempengaruhi ekspresi gen inang yang terkait dengan sistem kekebalan tubuh, miRNA EBV juga dapat mengatur ekspresi gen inang dalam sel inang yang terinfeksi. Misalnya, miR-BART5-5p mengurangi ekspresi gen tumor supresor p53, yang mengatur siklus sel, apoptosis, dan respons imun, dengan mengikat langsung ke daerah 3'UTR p53 mRNA (Fan et al. 2018). Selain itu, miR-BART22 mengurangi ekspresi gen tumor supresor p16INK4A, yang berperan dalam menghentikan pertumbuhan sel, dengan mengikat langsung ke daerah 3'UTR p16INK4A mRNA. Pengaturan ekspresi gen inang oleh miRNA EBV dapat mempengaruhi fungsi sel inang, termasuk sistem kekebalan tubuh, dan memfasilitasi infeksi dan replikasi EBV.

Selain mempengaruhi sel B, miRNA EBV juga dapat mempengaruhi sel T, komponen penting dalam respons imun seluler. Beberapa miRNA EBV telah ditemukan memiliki peran dalam menghambat respons imun sel T. Sebagai contoh, miR-BART1 dan miR-BART16 diketahui menghambat ekspresi gen tumor supresor p53 dalam sel T, yang dapat menghambat

proliferasi dan fungsi sel T serta mereduksi respons imun seluler terhadap infeksi EBV (Kato et al. 2009).

miRNA EBV juga dapat mempengaruhi kematian sel (apoptosis) untuk mendukung kelangsungan hidup dan replikasi virus. Beberapa miRNA EBV, seperti miR-BHRF1-1 dan miR-BHRF1-2, diketahui menghambat kematian sel yang dipicu oleh apoptosis, sehingga memfasilitasi replikasi EBV dalam sel inang dan menghindari respon imun seluler terhadap infeksi virus. Keseluruhan, miRNA EBV memiliki peran penting dalam mengatur sistem kekebalan tubuh, menghambat aktivasi limfosit, mempengaruhi ekspresi gen inang, menghambat respons imun sel T, dan mempengaruhi kematian sel.

## 2. Peran EBV BART-7 merepresentasikan prognosis buruk.

Infeksi virus EBV dapat memanfaatkan dan mengubah beberapa jalur pensinyalan protein seluler intraseluler dan membran serta RNA *non-coding* untuk mendukung replikasi dan infeksi latennya. Salah satu molekul yang diketahui mempengaruhi fungsi dari sel yaitu miRNA yang tidak hanya dikode oleh inang, tetapi juga diekspresikan oleh virus EBV. Beberapa miRNA yang dikode oleh inang EBV telah dikaitkan dengan karsinogenesis KNF dengan menargetkan ratusan mRNA yang terlibat dalam jalur seluler yang mengarah ke inisiasi dan perkembangan kanker (Oliveto et al. 2017).

KNF mengekspresikan material genetik tidak hanya DNA, protein tetapi juga *non-coding* RNA termasuk miRNA yang dapat mengganggu regulasi genetik inang. Deregulasi ekspresi miRNA bertanggung jawab untuk pertumbuhan kanker. Peningkatan atau penurunan ekspresi miRNA berperan dalam hampir semua mekanisme seluler termasuk pertumbuhan tumor, invasi, metastasis, proliferasi, dan angiogenesis. Pada kejadian KNF, EBV merupakan virus pertama yang diketahui mengekspresikan miRNA yang terlibat pada keganasan (Lin and Flemington 2011). Penelitian sebelumnya, miRNA-EBV direpresentasikan dengan metode sequencing pada jaringan KNF (Lung et al. 2018).

Salah satu miRNA yang dikode oleh EBV diketahui sangat berhubungan dengan prognosis buruk pada kejadian KNF yaitu miR-BART7. miR-BART7 (BamHI-A rightward transcript) merupakan salah satu miRNA yang dikodekan EBV yang terbukti beredar di tubuh manusia berpotensi sebagai penanda diagnostik atau prognostic (Wang et al. 2017; Ramayanti et al. 2019). miRNA EBV yang bersirkulasi dapat lebih mencerminkan aktivitas tumor dibandingkan dengan DNA EBV yang bersirkulasi, yang terbukti berasal dari sel tumor apoptosis (Allen Chan and Dennis Lo 2002; Mo et al. 2012; Kim et al. 2017).

EBV yang dikodekan MiR-BART-7 diekspresikan dalam peristiwa KNF dan memiliki potensi untuk digunakan sebagai penanda dan target terapi melalui manipulasi level ekspresi miRNA di KNF. Perubahan ekspresi miR-BART-7 sebagai salah satu gen laten yang dikode oleh EBV berkontribusi pada pembentukan kanker, tetapi belum diketahui secara pasti manifestasi klinis yang dihasilkan. Studi ini difokuskan untuk memahami bagaimana perubahan ekspresi BART-7 berkorelasi dengan hasil klinis pasien. Peredaran ekspresi BART-7 pada kerusakan KNF dapat memberikan gambaran tentang mekanisme dan perannya. Dalam penelitian ini, kami menunjukkan bahwa terdapat perbedaan ekspresi sirkulasi pada BART7 dan status TNM pasien

Status TNM merupakan status klasifikasi yang digunakan untuk menggambarkan stadium atau tingkat keparahan suatu kanker berdasarkan ukuran tumor primer (T), penyebaran kelenjar getah bening (N), dan status kanker yang menyebar ke organ atau jaringan yang jauh dari tumor primer (M). status TNM merupakan salah satu status untuk melakukan pengklasifikasian untuk membantu diagnosis, pengobatan dan pemantauan klinis suatu kanker. Pada KNF, status TNM dianalisis berdasarkan sel epitel pada nasofaring, lokasi dibelakang rongga hidung dan di atas langit-langit mulut, pengklasifikasian melalui sistem TNM yang dikeluarkan oleh American Join Committee on Cancer (AJCC) atau International Union Against Cancer (UICC) (Bhindi

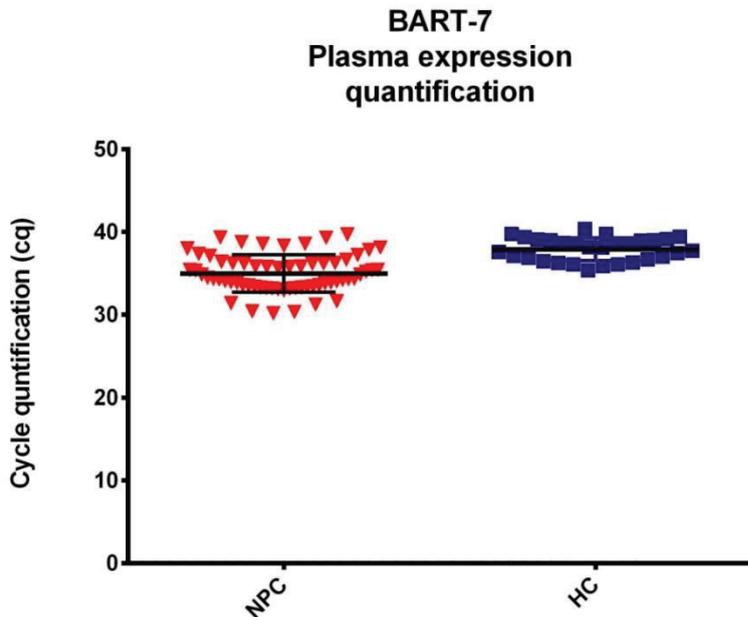
et al. 2017; Kang et al. 2017; Pan et al. 2019; He et al. 2021; Maatman et al. 2021).

Analisis ekspresi EBV miR-BART7 dengan menggunakan qRT-PCR dengan metode analisis kuantifikasi relatif menggunakan *delta-delta cycle quantification* (Cq) dengan menggunakan analisis metode livak (Livak and Schmittgen 2001), dan dapat digunakan untuk melihat hubungannya dengan tingkat keparahan pada keganasan (Diniz et al. 2015; Thangaraj et al. 2016). Analisis ekspresi dengan menggunakan metode livak dilakukan dengan cara membandingkan ekspresi antara kelompok KNF dan kontrol dengan perbandingan *reference gene* atau dikenal juga dengan nama *housekeeping gene*, meskipun sebenarnya istilah *housekeeping gene* itu kurang tepat.

*Reference gene* (gen referensi) atau gene internal kontrol digunakan sebagai acuan untuk normalisasi data qPCR yang dianggap stabil, sehingga dapat digunakan untuk mengkoreksi variasi teknis dan perbedaan kuantitas asam nukleat dalam sampel yang diuji (Paolacci et al. 2009). Metode kuantifikasi relatif melibatkan perbandingan antara kuantitas target dengan sampel yang teruji, relatif terhadap gen referensi. Metode livak memungkinkan untuk menghitung perubahan ekspresi relatif dari target gen di antara kelompok sampel yang berbeda. Ada beberapa indikator yang harus dijadikan sebagai penilaian pemilihan *reference gene* yaitu stabil di seluruh kelompok, tidak dipengaruhi oleh perlakuan, memiliki ekspresi yang cukup untuk dideteksi secara kuantitatif, tidak memiliki variasi ekspresi yang signifikan antara sampel, dan memiliki efisiensi amplifikasi yang serupa dengan target gen (Bhindi et al. 2017; Zhao et al. 2018; Maatman et al. 2021).

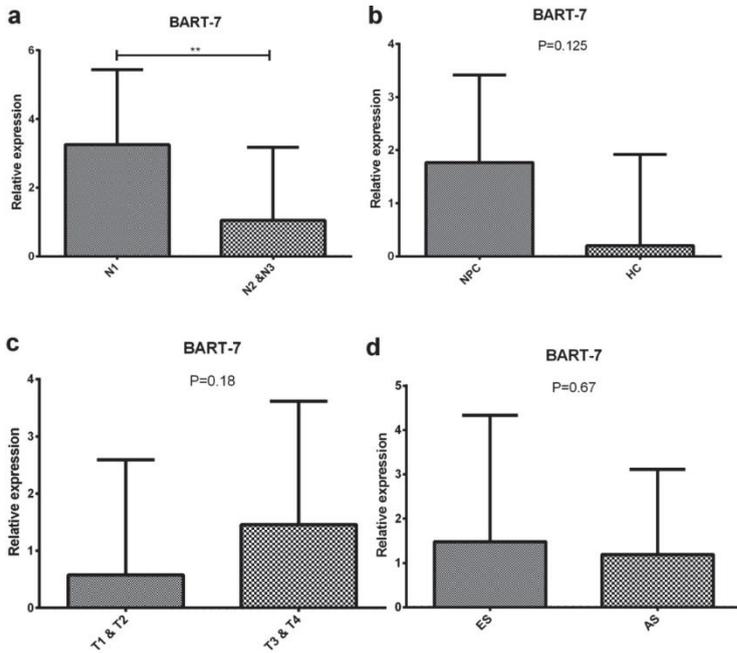
Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan analisis dengan perbandingan gen target yaitu miR-BART7 dan *reference gene* yaitu miR-16, dengan analisis (miR-BART7 – miR-16-5p). Metode livak atau juga dikenal sebagai metode  $\Delta\Delta Ct$  ( $Ct = Cycle\ threshold$ ) digunakan dalam analisis relatif ekspresi gen. Nilai Ct dari 52 sampel KNF plasma dan 30 kontrol sampel termasuk

dalam studi miR-BART7 34,97 ( $\pm 2,262$ ) dan 36,016 ( $\pm 3,93$ ). Sintesis Unisp6 RNA Spike-in dalam template setiap sampel plasma digunakan sebagai kontrol kualitas dari langkah ekstraksi miRNA, sintesis cDNA dan qPCR. Kuantifikasi target menggunakan primer LNA yang ditunjukkan pada graft Melt Peak dengan suhu 74°C sebagai indikasi target spesifik.



Gambar 10. Perbedaan cycle quantifikasi (cq) ekspresi BART-7 antara KNF dan kontrol (HC) (Wardana et al. 2020).

Kuantifikasi qRT-PCR menunjukkan hasil berupa *cycle quantification* (CQ), miR-BART7 dapat dideteksi pada sirkulasi pasien KNF. Hasil CQ dapat dilihat pada Gambar, hal ini menunjukkan ekspresi kelimpahan BART7 pada KNF dengan rerata  $\pm$ SD 34,97 ( $\pm 2,262$ ) dan HC 36,016 ( $\pm 3,93$ ). Gen referensi pada sirkulasi menggunakan miR-16 dengan rerata  $\pm$ SD 23,96 ( $\pm 0,959$ ) dan HC 23,19 ( $\pm 0,063$ ). Gen referensi miR-16 stabil terlihat dari rentang perbedaan ekspresi pada sampel KNF dan kontrol mendekati 0.



Gambar 11. Perubahan ekspresi miR-BART-7 yang dikode oleh virus EBV yang dihubungkan dengan status TNM pasien KNF (Wardana et al. 2020)

Analisis ekspresi relatif dapat dilakukan berdasarkan data klinis menggunakan salah satu perangkat lunak misalnya GenEx 6 MultiD ataupun beberapa software lainnya seperti R Bioconductor. Analisis statistik menggunakan T-Test dapat memberikan informasi berupa kesimpulan mengenai perbandingan antara kelompok. Tabel 2 menunjukkan hasil ekspresi diferensial miR-BART7 berdasarkan data klinis peserta berdasarkan status TNM pasien. Terdapat 4 kelompok dengan status klinis yang dijadikan dasar pengelompokan yaitu Kesehatan dan KNF, N-Regional Lymph Nodes, T-Primary Tumor dan Stadium.

Analisis statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dalam ekspresi beberapa variabel seperti kasus, tumor T-Primer, dan stadium. Namun, terdapat

perbedaan ekspresi yang signifikan pada miR-BART7 berdasarkan status N-Regional Lymph Nodes. MiR-BART7 menunjukkan ekspresi yang berlebihan pada N1 dan N2 dengan perubahan lipatan sebesar 4,61 (P 0,05). Perubahan ekspresi miR-BART7 juga terlihat dalam sirkulasi pada setiap kelompok KNF, dengan peningkatan ekspresi BART7 sebesar 2,15 kali lipat (P = 0,125) pada status T-Tumor Primer T1 dan T2, dan peningkatan ekspresi sirkulasi BART7 sebesar 1,22 kali lipat (p-value = 0,67) pada tahap awal. Grafik analisis ekspresi dapat dilihat pada gambar 2. Namun, tidak ditemukan hubungan yang signifikan antara miR-BART7 dari EBV dengan variabel protein EBV EBNA, EA, dan VCA (P 0,050) dalam korelasi.

Tabel 1. Relatif ekspresi miR-BART-7 pada kejadian karsinoma nasofaring berdasarkan status klinis penderita (Wardana et al. 2020)

Variable	Cycle quantification microRNAs (Mean ± SD)		Fold Change	P-Value
	BART-7	miR-16		
<b>Cases</b>				
NPC	34.97 (±2.262)	23.96 (±0.959)	2.15	0.125
Healthy Control	36.016 (±3.93)	23.19 (±0.063)		
<b>N- Regional Lymph Nodes</b>				
N1 and N2	33.45 (±2.084)	24.29 (±1.615)	4.61	<0.05 *
N3 and N4	35.84 (±2.852)	24.06 (±0.924)		
<b>T- Primary Tumor</b>				
T1 and T2	35.65 (±2.476)	23.65 (±0.992)	1.84	0.18
T3 and T4	35.12 (±3.103)	24.26 (±0.998)		
<b>Stage</b>				
Early Stage	35.17 (±3.522)	24.12 (±1.206)	1.22	0.67
Late Stage	35.38 (±2.588)	24.08 (±0.967)		

Dalam kejadian karsinoma nasofaring (KNF), terdapat 29 miRNA-EBV yang mengalami peningkatan ekspresi dalam jaringan BART-7 (Wong et al. 2012). Peningkatan ekspresi BART-7 ini dapat mengubah gen somatik dengan mengatur proses biogenesis sel inang melalui kontrol pada level pascatranskripsi. Meskipun demikian, hubungan antara infeksi

EBV dan KNF masih harus dipelajari secara lebih komprehensif. Infeksi epitel mungkin bukan proses utama dalam karsinogenesis yang terkait dengan virus, karena pada amandel pasien mononukleosis menular (IM) dan biopsi nasofaring normal dari individu berisiko tinggi yang menderita karsinoma nasofaring terkait dengan keberadaan EBV (Young and Rickinson 2004). Penelitian sebelumnya telah menyatakan bahwa peningkatan ekspresi BART-7 berhubungan dengan prognosis yang buruk pada pasien KNF pada stadium awal maupun akhir (Tan et al. 2019). BART-7 diketahui mentarget jalur pensinyalan WNT, TGF-B, dan ECM (Wan et al. 2015; L.F. Zhang et al. 2015). Selain itu, over-ekspresi BART-7 juga terkait dengan status nodul ( $p < 0,05$ ) dan derajat tumor. Ekspresi yang berlebihan dari BART-7 dalam sel KNF mempengaruhi proliferasi, invasi, dan migrasi sel. Selain itu, perubahan ekspresi yang abnormal in vitro telah dikaitkan dengan resistensi yang lebih tinggi terhadap cisplatin (Chan et al. 2012). BART-7 merupakan penanda kandidat potensial untuk hasil klinis dan status prognosis pada KNF.

#### **4.6. Mekanisme Karsinogenesis EBV pada Karsinoma Nasofaring**

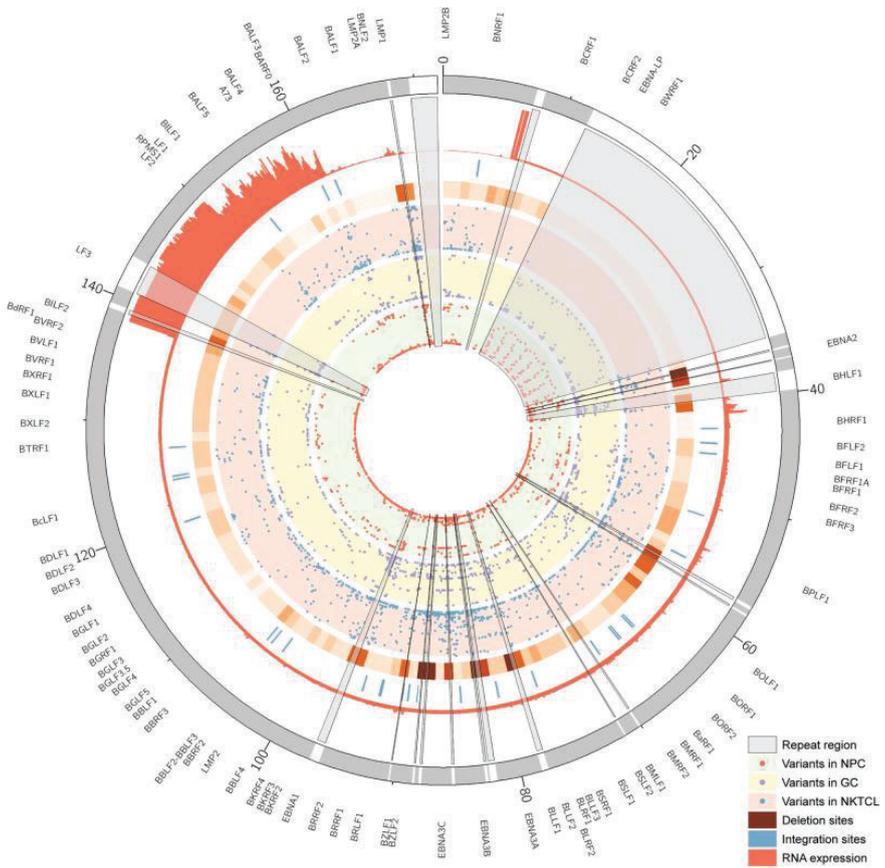
Epstein-Barr virus (EBV) adalah virus yang diketahui memainkan peran dalam pengembangan karsinoma nasofaring (KNF) (Edwards et al. 2008; Marquitz and Raab-Traub 2012; Wardana, Oktriani, et al. 2022). KNF merupakan jenis kanker yang paling umum terjadi di daerah Asia Tenggara dan Asia Timur, serta menunjukkan prevalensi yang lebih rendah di daerah lain di dunia. Infeksi EBV dapat menyebabkan kerusakan pada DNA dalam sel-sel nasofaring, yang dapat menyebabkan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol dan perkembangan kanker nasofaring (Lung et al. 2018; Aguayo et al. 2021). Beberapa faktor lain, seperti paparan bahan kimia dan faktor lingkungan lainnya, juga dapat mempengaruhi perkembangan kanker nasofaring. Faktor-faktor risiko lain yang dapat mempengaruhi risiko seseorang untuk mengembangkan kanker nasofaring termasuk riwayat keluarga, paparan

asap tembakau, dan konsumsi makanan tertentu yang terkontaminasi oleh aflatoksin (Mehrzaad et al. 2017).

Infeksi EBV ditemukan secara konsisten pada penderita KNF dan dijumpai di bagian manapun di dunia. Lebih dari 90% populasi di dunia telah terinfeksi EBV, tetapi untuk memicu transformasi ganas pada sel nasofaring normal tidak cukup hanya infeksi EBV saja karena terbukti tidak semua kasus infeksi EBV akan berkembang menjadi KNF. Oleh karena itu, diduga berbagai kofaktor lain selain infeksi EBV diperlukan untuk transformasi menjadi KNF (Aguayo et al. 2021).

EBV dapat menginfeksi sel-sel epitel nasofaring dan memicu respon inflamasi yang kronis. Respon inflamasi ini akan memicu produksi radikal bebas dan molekul sitokin yang dapat merusak DNA dan mengubah fungsi sel normal (Boga et al. 2012; Abad et al. 2014; Hosokawa et al. 2015). Hal ini kemudian memicu proliferasi sel yang tidak terkendali dan dapat menyebabkan terjadinya kanker nasofaring. EBV juga dapat mengubah ekspresi gen dalam sel yang terinfeksi, khususnya dalam sel-sel epitel nasofaring. Virus ini mengkodekan protein spesifik yang disebut Latent Membrane Protein 1 (LMP1), yang dapat mengaktifkan beberapa jalur sinyal seluler, termasuk jalur NF- $\kappa$ B dan mitogen-activated protein kinase (MAPK) (El-Sharkawy et al. 2018). Aktivasi jalur-jalur ini dapat memicu proliferasi sel dan mendorong pertumbuhan tumor.

Mekanisme EBV juga dapat memodulasi ekspresi gen dalam sel-sel T dan sel-sel B yang terinfeksi (Vaysberg et al. 2007; Hatton et al. 2014). Virus ini menginfeksi sel-sel B dan menyebabkan transformasi mereka menjadi sel-sel limfoblas yang tumbuh secara tidak terkendali. Sel-sel ini dapat menimbulkan tumor limfoid, termasuk limfoma nasofaring. Virus ini juga dapat menyebabkan perubahan pada sel T, yang dapat menyebabkan terjadinya respons imun yang tidak normal dan mendorong pertumbuhan tumor. Di samping itu, EBV juga diketahui dapat mengubah ekspresi gen melalui modulasi epigenetik. Beberapa studi menunjukkan bahwa infeksi EBV dapat menyebabkan perubahan pada DNA dan kromatin, yang dapat mempengaruhi regulasi gen dan menyebabkan terjadinya kanker nasofaring (Verhoeven et al. 2019).



Gambar 12. Landscape dari EBV Genomic dan mutasi pada kejadian Keganasan (Peng et al. 2019).

Secara keseluruhan, mekanisme molekuler yang terlibat dalam peran EBV dalam pengembangan karsinoma nasofaring melibatkan regulasi gen, jalur sinyal seluler, dan modulasi epigenetik. Hal ini menunjukkan bahwa infeksi EBV dapat menyebabkan perubahan signifikan pada sel-sel nasofaring yang dapat menyebabkan terjadinya pertumbuhan tumor.

Pada KNF fase laten, genom EBV berupa episom di dalam sitoplasma sel tumor dan limfosit B, sedangkan jika kondisi tubuh menurun, EBV akan teraktivasi menjadi fase litik, virus memproduksi partikel virus litik seperti EBNA-1, VCA, dan LMP-1, dan peningkatan jumlah salinan virus yang dapat dideteksi melalui pemeriksaan kadar

antibodi IgA protein virus tersebut dalam jaringan maupun darah penderita (Cao et al. 2021). Genom EBV menyandi lebih dari 90 gen, tetapi hanya beberapa yang diekspresikan, seperti EBERs, EBNA1-6, LMP1, LMP2, dan BARTs (Bauer et al. 2021). Pada fase laten, ekspresi gen tersebut berperan sebagai penanda laten yang klasik. Berdasarkan pola ekspresi yang berbeda pada gen viral tersebut, infeksi laten dibagi menjadi 3 tipe (latency type I, II dan III) baik pada in vivo dan kultur in vitro (Mangold et al. 2021).

#### **4.7. Hubungan antara miRNA dan Karsinoma Nasofaring**

Karsinoma nasofaring (KNF) adalah jenis kanker kepala dan leher yang terkait erat dengan infeksi virus Epstein-Barr (EBV). Infeksi EBV dapat mempengaruhi ekspresi miRNA, yang merupakan molekul kecil RNA yang berperan dalam regulasi gen. MiRNA yang dikode oleh host dan miRNA yang dihasilkan oleh virus EBV dapat mempengaruhi regulasi gen dalam sel-sel nasofaring dan berkontribusi pada patogenesis KNF yang berkaitan dengan infeksi EBV.

miRNA (mikroRNA) adalah jenis molekul RNA kecil yang berperan penting dalam regulasi ekspresi gen. Mereka ditemukan dalam sel eukariotik, termasuk manusia, dan dapat mempengaruhi banyak proses biologis, termasuk proliferasi sel, diferensiasi, apoptosis, dan respons imun (Devasthanam and Tomasi 2014; F. Wang et al. 2016). Studi terbaru telah menunjukkan bahwa miRNA juga dapat berperan dalam patogenesis karsinoma nasofaring (KNF), jenis kanker kepala dan leher yang erat kaitannya dengan infeksi virus EBV.

EBV dikenal sebagai virus onkogenik yang dapat menginfeksi sel epitel nasofaring dan menginduksi transformasi sel menjadi kanker. Selama infeksi EBV, virus menghasilkan miRNA yang dikodekan oleh virus (v-miRNA) yang dapat berinteraksi dengan miRNA yang dikodekan oleh host (h-miRNA) dan mempengaruhi regulasi genetik dalam sel inang. Selain itu, infeksi EBV juga dapat mengubah profil ekspresi miRNA dalam sel inang, yang dapat berkontribusi pada perkembangan karsinoma nasofaring.

Regulasi miRNA dalam KNF yang berkaitan dengan infeksi EBV dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, termasuk faktor genetik, faktor

lingkungan, dan faktor virus. Misalnya, polimorfisme genetik dalam daerah promotor miRNA atau gen target miRNA dapat mempengaruhi ekspresi miRNA dan berkontribusi pada risiko terjadinya KNF. Selain itu, faktor lingkungan, seperti paparan terhadap virus EBV pada usia dini, infeksi virus lain, serta faktor gaya hidup dan diet, juga dapat mempengaruhi regulasi miRNA dalam KNF.

Dalam KNF yang terkait dengan infeksi EBV, peran miRNA dapat dilihat dalam beberapa aspek, termasuk regulasi siklus sel, proliferasi, diferensiasi, resistensi apoptosis, invasi, migrasi, angiogenesis, dan respon imun. Beberapa miRNA yang telah diidentifikasi dalam konteks KNF adalah miRNA yang dikodekan oleh EBV (v-miRNA) dan miRNA yang dikodekan oleh host manusia (h-miRNA). Berikut adalah beberapa contoh miRNA yang memiliki peran penting dalam patogenesis KNF yang berkaitan dengan infeksi EBV:

1. miRNA yang dikodekan oleh EBV (v-miRNA)

EBV menghasilkan beberapa miRNA yang dikodekan oleh virus (v-miRNA) selama infeksi, seperti miR-BARTs (EBV-encoded BamHI-A rightward transcripts), miR-BHRF1s (EBV-encoded BamHI-A rightward frame 1), dan miR-BART15. Studi telah menunjukkan bahwa miR-BARTs mempengaruhi berbagai jalur biologis dalam sel inang yang dapat berkontribusi pada perkembangan KNF. Misalnya, miR-BART5-5p diketahui memfasilitasi proliferasi sel dan invasi sel KNF dengan menargetkan NF- $\kappa$ B pathway. Selain itu, miR-BHRF1-3 dapat menghambat apoptosis sel inang dengan menargetkan gen pro-apoptosis, seperti p53 dan caspase-3 (Amoroso et al. 2011).

2. miRNA yang dikodekan oleh host manusia (h-miRNA).

Beberapa h-miRNA juga telah diidentifikasi sebagai faktor penting dalam patogenesis KNF yang berkaitan dengan infeksi EBV. miR-155, yang merupakan miRNA yang diinduksi oleh EBV, ditemukan terlibat dalam proliferasi sel tumor KNF dan resistensi apoptosis dengan menghambat ekspresi gen tumor supresor TP53 dan gen pro-apoptosis FOXO3a (Lin and Flemington 2011; Zhu et al. 2014). Selain itu, miR-34a juga telah ditemukan sebagai miRNA yang dihambat oleh virus EBV, dan

memiliki peran dalam menghambat proliferasi sel tumor, invasi, dan migrasi dalam KNF (Kahraman et al. 2018).

Selain peran masing-masing miRNA yang dikodekan oleh virus EBV dan host manusia, interaksi antara v-miRNA dan h-miRNA juga dapat mempengaruhi patogenesis KNF yang berkaitan dengan infeksi EBV. Misalnya, miR-BART20-5p yang dikodekan oleh EBV telah ditemukan dapat mengeksploitasi fungsi h-miRNA miR-29a-3p untuk mempromosikan proliferasi sel tumor KNF dengan menargetkan protein tumor supresor PTEN (Zheng et al. 2018; Fierti et al. 2022). Selain itu, miR-BART9-3p yang dikodekan oleh EBV telah ditemukan dapat mengurangi ekspresi h-miRNA miR-101, yang merupakan miRNA tumor supresor, dan mempengaruhi invasi sel tumor dan proliferasi dalam KNF (Lung et al. 2018; Ramayanti et al. 2019).

miRNA juga dapat berfungsi sebagai biomarker diagnostik dan terapeutik dalam KNF yang berkaitan dengan infeksi EBV. Beberapa miRNA telah diidentifikasi sebagai biomarker potensial untuk diagnosis, prognosis, dan pemantauan respons terhadap terapi pada KNF. Misalnya, miR-21 dan miR-155 telah ditemukan meningkat dalam serum atau jaringan KNF, dan dapat digunakan sebagai biomarker untuk diagnosis dan prognosis KNF (Savitri et al. 2019; Lao et al. 2021). Selain itu, beberapa miRNA telah diuji sebagai target terapeutik potensial dalam KNF. Transfeksi miR-34a melalui vektor virus telah ditemukan efektif dalam menghambat pertumbuhan tumor KNF dalam studi praklinis (Ye et al. 2016; Kahraman et al. 2018).

miRNA telah menunjukkan potensi sebagai target terapeutik dalam KNF yang berkaitan dengan infeksi EBV. Beberapa studi praklinis telah menunjukkan bahwa transfeksi miRNA yang diubah atau transduksi miRNA sintetik dapat menghambat proliferasi sel tumor, invasi, dan migrasi, serta meningkatkan sensitivitas terhadap terapi dalam KNF. Beberapa peneliti telah menunjukkan konsistensi miR-34a, miR-143, dan miR-205 telah diuji sebagai agen terapeutik potensial dalam KNF dengan menghambat ekspresi gen target yang terlibat dalam proliferasi dan metastasis sel tumor (Wang and Lee 2009; F. Wang et al. 2016; Ye et al. 2016). Selain itu, pendekatan penghantaran miRNA melalui vektor virus atau nanopartikel telah diuji dalam studi praklinis untuk menghantarkan miRNA ke tumor secara spesifik (Lajer et al. 2011).

Meskipun banyak penelitian yang telah mengidentifikasi peran miRNA dalam patogenesis KNF yang berkaitan dengan infeksi EBV, masih ada beberapa tantangan yang perlu diatasi di masa depan. Salah satunya adalah kompleksitas regulasi miRNA, satu miRNA dapat memiliki banyak target dan satu gen target dapat diatur oleh banyak miRNA. Selain itu, variasi ekspresi miRNA dalam populasi yang berbeda dan peran miRNA dalam heterogenitas tumor juga perlu dipahami dengan lebih baik. Di samping itu, pengembangan pendekatan terapeutik berbasis miRNA juga masih dalam tahap awal dan memerlukan lebih banyak studi praklinis dan klinis untuk mengevaluasi efektivitas, keamanan, dan kelayakan klinisnya.

Namun, terdapat harapan besar untuk penggunaan miRNA sebagai alat diagnostik dan terapeutik dalam KNF yang berkaitan dengan infeksi EBV. Potensi miRNA sebagai biomarker untuk diagnosis dini, prognosis, dan pemantauan respons terhadap terapi dapat membantu meningkatkan manajemen klinis pasien KNF. Selain itu, pengembangan pendekatan terapeutik berbasis miRNA dapat memberikan alternatif baru untuk pengobatan KNF yang resisten terhadap terapi konvensional, seperti kemoterapi dan radioterapi.

Penelitian lanjutan penting untuk dilakukan untuk memahami peran miRNA dalam patogenesis KNF yang berkaitan dengan infeksi EBV dengan lebih baik, serta untuk mengatasi tantangan dan memanfaatkan potensi miRNA sebagai alat diagnostik dan terapeutik dalam pengelolaan KNF. Studi praklinis dan klinis yang lebih lanjut diperlukan untuk mengevaluasi efektivitas, keamanan, dan kelayakan klinis dari penggunaan miRNA sebagai terapi potensial dalam pengobatan KNF yang berkaitan dengan infeksi EBV. miRNA yang dikode oleh host dapat berperan sebagai faktor protektif atau faktor risiko dalam KNF. Beberapa miRNA yang dikode oleh host, seperti miR-155, miR-34a, miR-21, dan miR-143, telah teridentifikasi sebagai miRNA yang terlibat dalam regulasi proliferasi, invasi, dan migrasi sel tumor nasofaring. Selain itu, miRNA yang dihasilkan oleh virus EBV

miRNA yang dihasilkan oleh virus EBV juga memiliki peran penting dalam patogenesis KNF. Beberapa miRNA virus EBV yang telah teridentifikasi meliputi miR-BART, miR-BHRF1, dan miR-BART2.

MiRNA virus EBV dapat mempengaruhi proliferasi, invasi, dan migrasi sel tumor nasofaring dengan mengatur jalur-saluran yang terlibat dalam tumorigenesis. Misalnya, miR-BART6-3p diketahui dapat menghambat ekspresi gen tumor supresor TP53 dan mempengaruhi proliferasi sel tumor nasofaring. Selain itu, miR-BHRF1-3 juga telah terbukti berperan dalam mengatur jalur Wnt/ $\beta$ -katenin dan mempromosikan invasi dan migrasi sel tumor nasofaring (Cosmopoulos et al. 2009).

Selain itu, penelitian juga telah mengungkapkan bahwa miRNA dapat berperan dalam interaksi antara virus EBV dan sel inang. Sebagai contoh, miR-200a diketahui dapat menghambat replikasi virus EBV dengan menghambat ekspresi gen virus EBV seperti BALF5 dan LMP1. Namun, virus EBV juga dapat memodulasi ekspresi miRNA sel inang untuk memfasilitasi replikasi dan infeksi virus. Salah satu laporan ditunjukkan pada miR-BART3-3p virus EBV diketahui menghambat ekspresi gen sel inang seperti ZEB1, yang dapat mengganggu penghambatan replikasi virus EBV (Wan et al. 2015; G. Zhang et al. 2015)ba. Oleh karena itu, interaksi kompleks antara miRNA sel inang dan miRNA virus EBV dapat berkontribusi pada patogenesis KNF yang berkaitan dengan infeksi EBV.

Namun, penting untuk diingat bahwa penggunaan miRNA dalam pengobatan masih dalam tahap awal penelitian dan belum digunakan secara rutin dalam pengobatan klinis KNF. Lebih banyak penelitian dan uji klinis diperlukan untuk mengevaluasi keamanan, efikasi, dan potensi penggunaan klinis dari pendekatan terapeutik berbasis miRNA dalam KNF yang berkaitan dengan infeksi EBV.

Secara umum, dapat disimpulkan bahwa virus Epstein-Barr (EBV) merupakan virus yang berperan dalam patogenesis karsinoma nasofaring (KNF), salah satu jenis kanker kepala dan leher yang cukup prevalen di beberapa daerah tertentu di dunia. MiRNA, yang merupakan molekul kecil RNA non-koding, memiliki peran penting dalam regulasi ekspresi gen dan dapat mempengaruhi kejadian KNF yang berkaitan dengan infeksi EBV. Baik miRNA yang dikode oleh sel inang maupun miRNA virus EBV dapat mempengaruhi proliferasi, invasi, migrasi, resistensi terhadap apoptosis, dan respon imun sel dalam konteks KNF yang berkaitan dengan infeksi EBV.

MiRNA yang dihasilkan oleh sel inang dapat mengatur ekspresi gen target yang berperan dalam jalur-saluran yang terlibat dalam tumorigenesis, seperti jalur NF- $\kappa$ B, Wnt/ $\beta$ -katenin, dan Notch. Selain itu, miRNA host juga dapat mempengaruhi interaksi antara virus EBV dan sel inang melalui regulasi ekspresi gen virus EBV dan modulasi respons imun sel terhadap infeksi EBV. MiRNA virus EBV, di sisi lain, dapat mempengaruhi miRNA virus EBV, di sisi lain, dapat mempengaruhi regulasi ekspresi gen inang dan modulasi respons imun sel terhadap infeksi EBV. Beberapa miRNA virus EBV yang telah diidentifikasi antara lain miR-BARTs (BamHI-A rightward transcripts), miR-BHRF1s (BamHI-H rightward open reading frames 1), dan miR-BHLF1s (BamHI-H leftward open reading frames 1) (Gourzones et al. 2010; Verhoeven et al. 2019). MiRNA virus EBV ini telah terbukti memiliki peran dalam memodulasi ekspresi gen inang dan mempengaruhi respons imun sel inang terhadap infeksi EBV.

Misalnya, miR-BARTs dihasilkan dari daerah BamHI-A kanan dari genom EBV dan diungkapkan secara selektif dalam sel yang terinfeksi EBV dan sel karsinoma nasofaring. Beberapa miR-BARTs diketahui menghambat ekspresi gen supresor tumor, seperti p16INK4A, p53, dan LMP1, yang dapat meningkatkan proliferasi sel dan menghambat apoptosis, serta mempengaruhi sifat invasif sel karsinoma nasofaring. Selain itu, miR-BARTs juga dapat menghambat respons imun sel inang terhadap infeksi EBV dengan menghambat presentasi antigen oleh sel inang dan merangsang pelepasan faktor pertumbuhan vaskular.

miR-BHRF1s, di sisi lain, diketahui menghambat ekspresi gen Bim, yang merupakan pro-apoptotik, serta menghambat aktivitas sel T sitotoksik dan interferon- $\gamma$ , yang merupakan komponen penting dalam respons imun antiviral. Selain itu, miR-BHRF1s juga dapat menghambat ekspresi gen p53 dan penghancuran RNA sel inang, sehingga mengurangi respon imun sel inang terhadap infeksi EBV (Cullen 2011; Wang et al. 2019; Wyżewski et al. 2022).

MiR-BHLF1s, miRNA virus EBV lainnya, juga diketahui memiliki peran dalam menghambat apoptosis sel inang dan merangsang proliferasi sel. Selain itu, miR-BHLF1s juga dapat menghambat ekspresi gen p53 dan menghambat respon imun sel inang terhadap infeksi EBV.

Disamping itu, miRNA yang dikode oleh virus EBV, miRNA host juga dapat mempengaruhi interaksi antara virus EBV dan sel inang. Misalnya, miRNA host seperti miR-155 dan miR-146a diketahui terlibat dalam regulasi ekspresi gen virus EBV dan modulasi respons imun sel inang terhadap infeksi EBV (Wang et al. 2012; Chen et al. 2017; Gangwar et al. 2018). Salah satu miR yang telah banyak dilaporkan yaitu miR-155 telah terbukti mengatur ekspresi gen virus EBV, termasuk gen LMP1, yang merupakan faktor onkogenik EBV yang penting dalam patogenesis KNF (Zhu et al. 2014). miR-155 juga dapat mempengaruhi respons imun sel inang terhadap infeksi EBV dengan mengatur ekspresi gen imunologis, seperti interleukin-6 (IL-6) dan interleukin-10 (IL-10), yang dapat mempengaruhi peradangan dan respons imun terhadap infeksi EBV (Jiang et al. 2010; Li. 2014) .

mMiR-146a, di sisi lain, juga terlibat dalam regulasi ekspresi gen virus EBV dan respon imun sel inang terhadap infeksi EBV. MiR-146a diketahui mengatur ekspresi gen LMP1 dan LMP2A, yang merupakan faktor onkogenik EBV dan penting dalam patogenesis KNF. Selain itu, miR-146a juga dapat mempengaruhi respons imun sel inang terhadap infeksi EBV dengan menghambat ekspresi gen pro-inflamasi, seperti interleukin-1 receptor-associated kinase 1 (IRAK1) dan tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 (TRAF6), yang dapat mempengaruhi peradangan dan respons imun terhadap infeksi EBV (Shams K et al. 2018).

Selain itu, beberapa studi telah mengidentifikasi miRNA host lainnya yang terlibat dalam patogenesis KNF yang berkaitan dengan infeksi virus EBV. Misalnya, miR-21 diketahui mengatur ekspresi gen LMP1 dan LMP2A serta mempengaruhi proliferasi sel dan apoptosis dalam sel karsinoma nasofaring. MiR-23a dan miR-24-2 juga diketahui mengatur ekspresi gen LMP1 dan LMP2A serta mempengaruhi proliferasi sel dan migrasi sel karsinoma nasofaring (Le et al. 2004).

Selain itu, miRNA host juga dapat mempengaruhi regulasi epigenetik gen virus EBV. Sebagai contoh, miR-127 telah terbukti menghambat ekspresi gen LMP1 dengan menghambat enzim methyltransferase DNA, DNMT1, yang bertanggung jawab atas metilasi

DNA, salah satu mekanisme epigenetik yang dapat mempengaruhi regulasi ekspresi gen.

Dalam keseluruhan, miRNA host dan miRNA virus EBV memiliki peran yang kompleks dalam patogenesis karsinoma nasofaring yang berkaitan dengan infeksi virus EBV. MiRNA virus EBV dapat menghambat ekspresi gen supresor tumor, mengatur ekspresi gen virus EBV, serta mempengaruhi respons imun sel inang terhadap infeksi EBV, yang dapat berkontribusi pada transformasi sel dan perkembangan karsinoma nasofaring. MiRNA host, di sisi lain, dapat mengatur ekspresi gen virus EBV, mengatur ekspresi gen imunologis, dan mempengaruhi regulasi epigenetik gen virus EBV, yang juga dapat mempengaruhi patogenesis KNF yang berkaitan dengan infeksi virus EBV.

Namun, penting untuk diingat bahwa peran miRNA dalam patogenesis KNF masih menjadi area penelitian yang aktif dan kompleks, dan masih banyak yang perlu dipahami mengenai mekanisme dan regulasi miRNA dalam hubungannya dengan infeksi virus

#### **4.8. miRNA sebagai Target Terapi pada Karsinoma Nasofaring yang Berkaitan dengan EBV**

Karsinoma nasofaring (KNF) adalah jenis kanker yang berasal dari sel-sel epitel pada nasofaring, yaitu bagian atas tenggorokan yang berada di belakang hidung. KNF memiliki karakteristik yang unik, termasuk prevalensi yang tinggi di daerah tertentu seperti Asia Tenggara, terutama wilayah selatan Cina, serta seringkali terkait dengan infeksi virus EBV. Dalam beberapa tahun terakhir, penelitian telah menunjukkan bahwa miRNA, yaitu molekul RNA kecil yang berperan dalam regulasi ekspresi gen, dapat menjadi target terapi yang menjanjikan untuk KNF yang berkaitan dengan EBV.

miRNA sebagai regulator ekspresi gen memiliki peran kritis dalam berbagai proses biologis, termasuk perkembangan, diferensiasi, dan proliferasi sel. Mereka bekerja dengan berikatan pada daerah 3' untranslated region (UTR) dari mRNA, menyebabkan degradasi mRNA atau inhibisi translasi mRNA, sehingga mempengaruhi ekspresi gen

secara negatif. miRNA dapat berperan sebagai onkogen atau supresor tumor, tergantung pada target gen dan konteks spesifiknya.

Dalam konteks KNF yang berkaitan dengan EBV, beberapa miRNA telah diidentifikasi sebagai target terapi potensial. Beberapa miRNA, yang dikode oleh EBV, diketahui berperan dalam regulasi ekspresi gen virus EBV, penghindaran imunologi, serta proliferasi sel tumor. Sebagai contoh, miR-BARTs, yaitu miRNA yang dikode oleh EBV, telah diidentifikasi sebagai regulator ekspresi gen virus EBV yang berperan dalam penghindaran imunologi inang dan promosi proliferasi sel tumor (G. Zhang et al. 2015; Verhoeven et al. 2019). Oleh karena itu, penghambatan miR-BARTs dapat menjadi strategi terapeutik potensial untuk menghambat infeksi EBV dan pertumbuhan tumor pada KNF yang berkaitan dengan EBV.

Selain miR-BARTs, beberapa miRNA host juga telah diidentifikasi sebagai target terapi potensial pada KNF yang berkaitan dengan EBV. miR-34a diketahui sebagai miRNA host yang diinduksi oleh p53, seorang gen supresor tumor yang seringkali mutasi atau tidak berfungsi dalam KNF (Jamali et al. 2015). MiR-34a memiliki peran penting dalam menghambat proliferasi sel tumor, menginduksi apoptosis, dan menghambat metastasis pada KNF. Ekspresi miR-34a yang rendah telah dikaitkan dengan prognosis yang buruk pada KNF yang berkaitan dengan EBV. Oleh karena itu, penggantian atau peningkatan ekspresi miR-34a dapat menjadi strategi terapeutik potensial untuk mengobati KNF yang berkaitan dengan EBV (Huang et al. 2020).

MiRNA-200a adalah salah satu contoh miRNA host yang diketahui berperan dalam menghambat metastasis pada KNF yang berkaitan dengan EBV. MiR-200a bekerja dengan menghambat transisi epitel-mesenkim (EMT), yang merupakan proses biologis sel-sel epitel berubah menjadi sel-sel yang memiliki karakteristik mesenkim dan dapat bergerak secara invasif. EMT merupakan langkah awal dalam proses metastasis, sel-sel tumor dapat menyebar ke jaringan-jaringan lain dalam tubuh. Studi eksperimental telah menunjukkan bahwa ekspresi miR-200a yang rendah terkait dengan peningkatan invasivitas dan metastasis pada KNF yang berkaitan dengan EBV. Oleh karena itu, upregulasi atau peningkatan ekspresi miR-200a dapat menjadi strategi terapeutik

potensial untuk menghambat metastasis pada KNF yang berkaitan dengan EBV (Wan et al. 2015).

Selain itu, miRNA host lainnya seperti miR-155, miR-21, dan miR-23a juga telah diidentifikasi sebagai target terapi potensial pada KNF yang berkaitan dengan EBV. MiR-155 diketahui berperan dalam regulasi respons imun, proliferasi sel tumor, dan penghindaran apoptosis. Ekspresi miR-155 yang tinggi telah dikaitkan dengan prognosis yang buruk pada KNF yang berkaitan dengan EBV. Oleh karena itu, penghambatan miR-155 dapat menjadi strategi terapeutik potensial untuk mengurangi proliferasi sel tumor dan meningkatkan respons imun terhadap KNF yang berkaitan dengan EBV.

MiR-21 dan miR-23a juga diketahui berperan dalam penghambatan apoptosis, proliferasi sel tumor, dan penginduksian angiogenesis. Ekspresi miR-21 dan miR-23a yang tinggi telah dikaitkan dengan proliferasi sel tumor yang meningkat pada KNF yang berkaitan dengan EBV (Y. Ma et al. 2013; Zhu et al. 2015). Oleh karena itu, penghambatan miR-21 dan miR-23a dapat menjadi strategi terapeutik potensial untuk menghambat pertumbuhan tumor pada KNF yang berkaitan dengan EBV.

Untuk menghambat ekspresi miRNA target sebagai strategi terapeutik pada KNF yang berkaitan dengan EBV, berbagai pendekatan telah diusulkan dan dievaluasi dalam penelitian praklinis dan klinis. Salah satu pendekatan yang umum digunakan adalah penggunaan oligonukleotida antisense atau agen small interfering RNA (siRNA) yang spesifik untuk miRNA target. Oligonukleotida antisense adalah molekul sintetik yang dapat berikatan dengan miRNA target, sementara siRNA adalah molekul RNA sintetik yang dapat berinteraksi dengan kompleks protein RNAi (*RNA interference*) untuk menghancurkan miRNA target.

Pendekatan lain yang telah diusulkan adalah penggunaan vektor viral yang mengandung miRNA sintetik, yang dapat menggantikan atau mengekspresikan miRNA target pada sel tumor KNF yang berkaitan dengan EBV. Pendekatan ini telah menunjukkan hasil yang menjanjikan dalam studi praklinis, penghambatan miRNA target melalui oligonukleotida antisense atau siRNA telah berhasil mengurangi

proliferasi sel tumor, menghambat invasi, dan meningkatkan respons imun terhadap KNF yang berkaitan dengan EBV.

Pendekatan terapi gen seperti penggunaan teknologi CRISPR-Cas9 juga telah diusulkan sebagai cara untuk menghambat miRNA target pada KNF yang berkaitan dengan EBV. CRISPR-Cas9 adalah sistem pemotongan DNA yang dapat diarahkan secara spesifik untuk mengubah sekuensi genetik pada sel target, termasuk miRNA target. Beberapa studi eksperimental telah menggunakan CRISPR-Cas9 untuk menghambat miRNA target pada KNF yang berkaitan dengan EBV dan telah menunjukkan efek yang menjanjikan dalam penghambatan pertumbuhan tumor (Huo and Hu 2019).

Strategi pengiriman miRNA sintetik atau agen terapeutik ke tumor KNF yang berkaitan dengan EBV juga menjadi fokus penelitian dalam pengembangan terapi miRNA. Penggunaan nanopartikel, liposom, atau sistem pengiriman lainnya telah dieksplorasi untuk mengirimkan miRNA sintetik atau agen terapeutik ke tumor KNF yang berkaitan dengan EBV secara spesifik. Pendekatan ini bertujuan untuk meningkatkan akumulasi miRNA atau agen terapeutik di tumor, mengurangi efek samping pada sel sehat, dan meningkatkan efektivitas terapi.

Selain dari pendekatan penghambatan miRNA target, pendekatan lain yang telah diusulkan adalah modulasi miRNA host untuk mengatur ekspresi miRNA target pada KNF yang berkaitan dengan EBV. Modulasi miRNA host melibatkan penggunaan senyawa atau agen yang dapat mempengaruhi ekspresi miRNA host, yang pada gilirannya dapat mempengaruhi ekspresi miRNA target. Beberapa senyawa seperti asam retinoik, resveratrol, dan senyawa berbasis herbal telah diteliti sebagai potensi modulator miRNA host pada KNF yang berkaitan dengan EBV.

Penggunaan terapi miRNA sebagai target terapi pada KNF yang berkaitan dengan EBV masih dalam tahap penelitian praklinis dan belum diterapkan secara luas dalam pengobatan klinis. Masih diperlukan lebih banyak studi untuk memahami efektivitas, keamanan, dan efek samping potensial dari terapi miRNA ini sebelum dapat diterapkan dalam pengobatan klinis.

Selain itu, KNF yang berkaitan dengan EBV juga memiliki kompleksitas biologi dan molekuler yang berbeda-beda, dan setiap pasien dapat memiliki variasi yang unik dalam ekspresi miRNA dan respons terhadap terapi miRNA. Oleh karena itu, diperlukan pendekatan yang sangat spesifik dan personalisasi terapi untuk setiap pasien berdasarkan karakteristik tumor dan faktor individu lainnya.

Berdasarkan bukti ilmiah yang ada, dapat disimpulkan bahwa miRNA merupakan target terapi potensial yang menjanjikan pada KNF yang berkaitan dengan EBV. MiRNA dapat berperan dalam regulasi berbagai proses biologis misalnya proliferasi, invasi, metastasis, dan respons imun pada KNF yang berkaitan dengan EBV. Penghambatan miRNA target atau modulasi miRNA host telah diusulkan sebagai strategi terapeutik yang dapat mengurangi ekspresi miRNA yang tidak diinginkan dan mengganggu jalur patogenesis KNF yang berkaitan dengan EBV. Namun, terapi miRNA masih dalam tahap penelitian praklinis, dan masih banyak tantangan yang perlu diatasi sebelum dapat diterapkan secara luas dalam pengobatan klinis.

Beberapa tantangan yang dihadapi dalam pengembangan terapi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV meliputi:

1. **Spesifisitas Tumor:** KNF yang berkaitan dengan EBV dapat memiliki variasi dalam ekspresi miRNA, dan setiap pasien dapat memiliki pola ekspresi miRNA yang unik. Oleh karena itu, diperlukan identifikasi miRNA target yang sangat spesifik untuk masing-masing pasien atau subtipe tumor KNF yang berkaitan dengan EBV.
2. **Pengiriman Efisien:** transfeksi/transduksi miRNA sintetik atau agen terapeutik ke tumor KNF yang berkaitan dengan EBV memerlukan teknologi pengiriman yang efisien untuk memastikan akumulasi yang cukup di tumor tanpa merusak sel sehat sekitarnya. Pengiriman miRNA dapat terhambat oleh hambatan biologis seperti penghalang seluler, enzim degradasi, dan sistem imun tubuh.
3. **Keamanan:** Efek samping dan potensi toksisitas dari terapi miRNA pada jangka panjang perlu diidentifikasi dan dievaluasi lebih lanjut. Penghambatan atau modulasi miRNA dapat

mempengaruhi ekspresi gen yang sangat penting untuk regulasi normal dalam tubuh, dan dapat menyebabkan efek samping yang tidak diinginkan.

4. **Validasi Klinis:** Terapi miRNA perlu melalui uji klinis yang ketat untuk memvalidasi keefektifan dan keamanannya pada manusia. Studi klinis yang baik dirancang dengan sampel pasien yang cukup besar dan metode penilaian yang akurat diperlukan untuk menguji potensi terapi miRNA sebagai target terapi pada KNF yang berkaitan dengan EBV.
5. **Biaya dan Aksesibilitas:** Pengembangan terapi miRNA sebagai target terapi pada KNF yang berkaitan dengan EBV juga harus mempertimbangkan aspek biaya dan aksesibilitas. Penggunaan teknologi pengiriman dan sintesis miRNA dapat menjadi mahal, dan harus diakses secara luas oleh pasien untuk menjadi pilihan terapi yang layak.

Meskipun terdapat tantangan yang perlu diatasi, penggunaan miRNA sebagai target terapi pada KNF yang berkaitan dengan EBV memiliki potensi yang menjanjikan. Terapi miRNA dapat menjadi pendekatan terapeutik yang inovatif dan efektif dalam pengobatan KNF yang berkaitan dengan EBV, yang saat ini masih memiliki prognosis yang buruk. Dengan penelitian lebih lanjut dan pengembangan teknologi terapi gen yang terus berkembang, penggunaan miRNA sebagai target terapi pada KNF. Ekspresi miRNA pada karsinoma nasofaring yang berkaitan dengan EBV dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi ekspresi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV antara lain:

1. **Infeksi EBV:** Infeksi virus Epstein-Barr (EBV) merupakan faktor utama yang berkaitan dengan patogenesis KNF. EBV dapat menginfeksi sel epitel nasofaring dan mengubah ekspresi miRNA pada sel inang. Beberapa miRNA telah diidentifikasi sebagai miRNA yang diinduksi atau ditindaklanjuti oleh infeksi EBV pada sel nasofaring, seperti miR-155, miR-146a, dan miR-21. Ekspresi miRNA yang diatur oleh infeksi EBV dapat mempengaruhi proses proliferasi, invasi, metastasis, dan respons imun pada KNF.

2. Perubahan Epigenetik: Perubahan epigenetik, seperti metilasi DNA dan modifikasi histon, dapat mempengaruhi ekspresi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV. Perubahan epigenetik dapat mengaktifkan atau menekan ekspresi miRNA tertentu, yang dapat mempengaruhi regulasi gen pada KNF.
3. Faktor Transkripsi dan Translasi: Faktor transkripsi dan translasi dalam sel dapat mempengaruhi ekspresi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV. Faktor transkripsi seperti faktor pengikat protein, faktor transkripsi, dan faktor lainnya dapat berinteraksi dengan promotor miRNA dan mempengaruhi transkripsi miRNA. Selain itu, faktor translasi seperti protein pengikat RNA dan ribonukleoprotein (RNP) dapat berinteraksi dengan miRNA dan mempengaruhi stabilitas dan aktivitas miRNA.
4. Jalur Sinyal Seluler: Jalur sinyal seluler, seperti jalur PI3K/AKT, MAPK, dan Wnt/beta-katenin, dapat mempengaruhi ekspresi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV. Jalur sinyal seluler dapat berinteraksi dengan komponen jalur biogenesis miRNA, seperti kompleks Dicer dan Ago, serta mempengaruhi proses biogenesis miRNA.
5. Faktor Lingkungan: Faktor lingkungan, seperti paparan karsinogenik, faktor imunologi, dan kondisi mikro lingkungan tumor, dapat mempengaruhi ekspresi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV. Paparan karsinogenik, seperti polusi udara, paparan asap rokok, atau paparan bahan kimia berbahaya, dapat mempengaruhi ekspresi miRNA pada sel nasofaring dan berkontribusi terhadap patogenesis KNF. Selain itu, faktor imunologi, seperti respons imun seluler dan humoral, dapat mempengaruhi ekspresi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV melalui pengaturan respons imun terhadap virus EBV.

miRNA telah diidentifikasi sebagai target terapi potensial untuk karsinoma nasofaring yang berkaitan dengan EBV. miRNA dapat berperan dalam regulasi gen dan jalur sinyal yang terlibat dalam patogenesis KNF dan infeksi EBV. Beberapa miRNA, seperti miR-34a, miR-200a, miR-203, dan miR-141, telah diidentifikasi sebagai miRNA

yang diatur secara negatif oleh EBV dan dapat berperan dalam menghambat proliferasi, invasi, dan metastasis sel kanker nasofaring. Selain itu, beberapa miRNA, seperti miR-BARTs dan miR-BHRF1s, merupakan miRNA yang dihasilkan oleh EBV dan dapat berperan dalam modulasi respons imun dan seluler terhadap virus EBV.

Studi praklinis dan klinis telah dilakukan untuk memahami potensi terapi miRNA dalam mengobati karsinoma nasofaring yang berkaitan dengan EBV. Berbagai strategi terapi miRNA telah diuji, termasuk penggunaan agen antagomir, pengiriman miRNA eksogen, dan modifikasi ekspresi miRNA menggunakan teknologi CRISPR-Cas9. Hasil studi praklinis menunjukkan bahwa terapi miRNA dapat menghambat proliferasi, invasi, dan metastasis sel kanker nasofaring, serta meningkatkan sensitivitas terhadap kemoterapi dan radioterapi. Namun, studi klinis masih terbatas dan masih dalam tahapan awal, sehingga mengevaluasi keamanan, efikasi, dan potensi terapi miRNA pada pasien KNF yang berkaitan dengan EBV.

Selain itu, faktor-faktor yang mempengaruhi ekspresi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV, seperti infeksi EBV, perubahan epigenetik, faktor transkripsi dan translasi, jalur sinyal seluler, dan faktor lingkungan, juga harus dipertimbangkan dalam pengembangan terapi miRNA. Memahami interaksi kompleks antara miRNA, infeksi EBV, dan faktor-faktor lingkungan akan menjadi penting dalam pengembangan terapi miRNA yang efektif dan aman untuk karsinoma nasofaring yang berkaitan dengan EBV.

Dalam rangka mengembangkan terapi miRNA yang lebih efektif dan aman untuk karsinoma nasofaring yang berkaitan dengan EBV, beberapa aspek yang perlu dipertimbangkan antara lain:

1. **Identifikasi miRNA yang relevan:** Identifikasi miRNA yang berperan dalam regulasi patogenesis KNF yang berkaitan dengan EBV melalui penelitian yang lebih mendalam akan menjadi langkah awal dalam pengembangan terapi miRNA. Dengan mengidentifikasi miRNA yang spesifik dan penting dalam patogenesis KNF yang berkaitan dengan EBV, penggunaan terapi miRNA dapat menjadi lebih terarah dan efektif.

2. **Pengembangan metode pengiriman miRNA yang efektif:** Pengiriman miRNA eksogen ke sel kanker nasofaring masih merupakan tantangan teknis yang harus diatasi. Pengembangan metode pengiriman miRNA yang efektif, seperti penggunaan vektor viral, nanopartikel, liposom, atau teknologi pengiriman lainnya, akan menjadi langkah penting dalam pengembangan terapi miRNA yang efektif.
3. **Studi praklinis dan klinis yang lebih lanjut:** Studi praklinis yang lebih mendalam dan studi klinis yang diperluas akan menjadi langkah penting dalam menguji efikasi, keamanan, dan potensi terapi miRNA pada pasien KNF yang berkaitan dengan EBV. Dalam studi praklinis, penggunaan model hewan yang relevan dan representatif akan membantu memahami mekanisme aksi miRNA dan potensi efek samping yang mungkin terjadi. Studi klinis dengan desain yang baik dan jumlah sampel yang cukup besar akan memberikan bukti lebih lanjut mengenai efikasi dan keamanan terapi miRNA pada pasien KNF yang berkaitan dengan EBV.
4. **Kombinasi terapi miRNA dengan terapi konvensional:** Terapi miRNA dapat dikombinasikan dengan terapi konvensional, seperti kemoterapi dan radioterapi, untuk meningkatkan efikasi pengobatan. Kombinasi terapi miRNA dengan terapi konvensional dapat menjadi pendekatan terapi yang holistik dan komprehensif untuk mengobati karsinoma nasofaring yang berkaitan dengan EBV.
5. **Penelitian mekanisme aksi miRNA:** Lebih lanjut memahami mekanisme aksi miRNA dalam menghambat proliferasi, invasi, dan metastasis sel kanker nasofaring, serta regulasi jalur sinyal yang terlibat dalam patogenesis KNF yang berkaitan dengan EBV, akan membantu dalam pengembangan terapi miRNA yang lebih efektif. Penelitian yang lebih mendalam mengenai interaksi kompleks antara miRNA, infeksi EBV, dan faktor-faktor lingkungan juga akan memberikan wawasan yang berharga dalam pengembangan terapi miRNA.

6. **Studi efek samping dan toksisitas:** Studi yang cermat mengenai efek samping dan toksisitas terapi miRNA pada organ dan jaringan yang tidak menjadi target, serta pengaruhnya terhadap sistem kekebalan tubuh, akan menjadi penting dalam evaluasi keamanan terapi miRNA. Pengurangan efek samping dan toksisitas terapi miRNA akan menjadi faktor penting dalam penerapan klinis yang sukses.
7. **Pemahaman faktor-faktor yang mempengaruhi ekspresi miRNA:** Pemahaman lebih lanjut mengenai faktor-faktor yang mempengaruhi ekspresi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV, seperti infeksi EBV, perubahan epigenetik, faktor transkripsi dan translasi, serta lingkungan mikro di sekitar tumor, akan membantu dalam merancang strategi pengaturan ekspresi miRNA yang efektif. Pengaturan ekspresi miRNA dapat dilakukan melalui modulasi epigenetik, seperti penggunaan inhibitor histon deasetilase (HDAC), agen demetilasi DNA, atau penghambat modifikasi RNA.
8. **Validasi target miRNA dan pengembangan terapi berbasis miRNA lainnya:** Validasi target miRNA sebagai target terapi pada KNF yang berkaitan dengan EBV akan menjadi langkah penting dalam pengembangan terapi miRNA. Metode validasi target miRNA dapat melibatkan teknik seperti Western blot, qRT-PCR, atau penggunaan teknologi terkini seperti CRISPR-Cas9 untuk memodifikasi ekspresi miRNA secara spesifik. Selain itu, pengembangan terapi berbasis miRNA lainnya seperti antagomiR (miRNA antagonist) atau miRNA mimik (miRNA sintetik) juga dapat dijelajahi sebagai pendekatan terapeutik yang potensial.
9. **Pemahaman lebih lanjut mengenai mekanisme resistensi miRNA:** Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sel kanker dapat mengembangkan mekanisme resistensi terhadap terapi miRNA. Oleh karena itu, pemahaman lebih lanjut mengenai mekanisme resistensi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV akan membantu dalam merancang strategi untuk mengatasi resistensi ini, seperti kombinasi terapi miRNA dengan agen yang

dapat mengatasi resistensi atau modifikasi struktural miRNA untuk meningkatkan stabilitas dan efikasi terapi.

10. **Edukasi pasien dan ketersediaan terapi miRNA:** Edukasi pasien mengenai terapi miRNA dan pemahaman yang lebih baik tentang manfaat, risiko, dan ekspektasi terapi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV akan menjadi faktor penting dalam penerimaan dan kepatuhan pasien terhadap terapi ini. Selain itu, ketersediaan terapi miRNA secara klinis, termasuk aksesibilitas dan biaya terapi, juga akan mempengaruhi implementasi terapi miRNA dalam pengobatan pasien KNF yang berkaitan dengan EBV.

MiRNA sebagai target terapi pada karsinoma nasofaring yang berkaitan dengan EBV menunjukkan potensi yang menarik sebagai pendekatan terapeutik yang inovatif. Penelitian terbaru telah mengungkapkan peran penting miRNA dalam regulasi ekspresi gen yang terlibat dalam patogenesis KNF yang berkaitan dengan EBV, termasuk proliferasi, invasi, metastasis, serta respons im dan evasi imun. MiRNA yang terlibat dalam infeksi EBV, seperti miR-BARTs, miR-155, dan miR-146a, telah diidentifikasi sebagai kandidat terapi miRNA yang potensial pada KNF yang berkaitan dengan EBV. Studi preklinik dan klinis awal menunjukkan bahwa penggunaan terapi miRNA dapat menghambat pertumbuhan tumor, menghambat invasi dan metastasis, serta meningkatkan respons imun terhadap kanker.

Meskipun demikian, masih ada banyak tantangan dan kendala dalam penggunaan terapi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV. Beberapa di antaranya meliputi kompleksitas regulasi miRNA, keefektifan dan keamanan terapi, mekanisme resistensi, serta ketersediaan terapi secara klinis. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami secara menyeluruh peran miRNA dalam patogenesis KNF yang berkaitan dengan EBV, serta untuk mengatasi tantangan yang terkait dengan penggunaan terapi miRNA dalam pengobatan pasien.

Dalam konteks terapi miRNA, pengaturan ekspresi miRNA menjadi salah satu pendekatan yang menjanjikan. Penggunaan agen modulasi epigenetik, seperti inhibitor HDAC dan agen demetilasi DNA,

telah berhasil mengatur ekspresi miRNA pada beberapa jenis kanker. Penggunaan teknologi terkini seperti CRISPR-Cas9 yang memungkinkan modifikasi spesifik miRNA juga menjadi area penelitian yang menarik.

Validasi target miRNA sebagai target terapi pada KNF yang berkaitan dengan EBV menjadi langkah penting untuk memastikan efektivitas dan keamanan terapi. Metode validasi yang baik, seperti Western blot, qRT-PCR, atau teknologi terkini seperti CRISPR-Cas9, harus digunakan untuk memastikan spesifisitas dan efikasi terapi miRNA.

Pemahaman yang lebih baik mengenai mekanisme resistensi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV juga menjadi fokus penelitian. Dalam menghadapi resistensi miRNA, strategi kombinasi terapi miRNA dengan agen yang dapat mengatasi resistensi atau modifikasi struktural miRNA untuk meningkatkan stabilitas dan efikasi terapi dapat menjadi pendekatan yang menarik.

Edukasi pasien mengenai terapi miRNA dan ketersediaan terapi miRNA secara klinis juga menjadi faktor penting dalam implementasi terapi miRNA pada pasien KNF yang berkaitan dengan EBV. Pendidikan pasien mengenai manfaat, risiko, dan ekspektasi terapi miRNA akan membantu dalam penerimaan dan kepatuhan pasien terhadap terapi ini. Selain itu, ketersediaan terapi miRNA secara klinis, termasuk aksesibilitas dan biaya terapi, juga akan mempengaruhi implementasi terapi miRNA dalam pengobatan pasien.

Dalam kesimpulannya, miRNA sebagai target terapi pada karsinoma nasofaring yang berkaitan dengan EBV adalah area penelitian yang menjanjikan dalam upaya pengembangan terapi yang lebih efektif dan spesifik untuk pasien dengan KNF yang terkait dengan infeksi EBV. MiRNA memiliki peran penting dalam regulasi ekspresi gen dan dapat mempengaruhi proses patogenesis KNF yang berkaitan dengan EBV, termasuk proliferasi sel, invasi, metastasis, dan evasi imun. MiRNA seperti miR-BARTs, miR-155, dan miR-146a telah diidentifikasi sebagai kandidat terapi miRNA yang potensial pada KNF yang berkaitan dengan EBV.

Namun, masih ada banyak tantangan dalam penggunaan terapi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV, termasuk kompleksitas regulasi miRNA, keefektifan dan keamanan terapi, mekanisme resistensi,

serta ketersediaan terapi secara klinis. Dalam menghadapi tantangan ini, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami peran miRNA secara lebih mendalam, serta untuk mengatasi kendala yang terkait dengan penggunaan terapi miRNA dalam pengobatan pasien.

Beberapa langkah yang dapat diambil untuk memperkuat penggunaan terapi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV antara lain validasi target miRNA sebagai target terapi, pengaturan ekspresi miRNA melalui agen modulasi epigenetik atau teknologi terkini seperti CRISPR-Cas9, pemahaman mekanisme resistensi miRNA, dan edukasi pasien mengenai terapi miRNA. Validasi target miRNA sebagai target terapi melibatkan penggunaan metode validasi yang baik untuk memastikan spesifisitas dan efikasi terapi miRNA. Pengaturan ekspresi miRNA melalui agen modulasi epigenetik atau teknologi terkini seperti CRISPR-Cas9 dapat menjadi pendekatan yang menarik untuk mengatur ekspresi miRNA dengan lebih spesifik.

Selain itu, pemahaman yang lebih baik mengenai mekanisme resistensi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV juga menjadi fokus penelitian. Strategi kombinasi terapi miRNA dengan agen yang dapat mengatasi resistensi atau modifikasi struktural miRNA untuk meningkatkan stabilitas dan efikasi terapi dapat menjadi pendekatan yang menarik dalam menghadapi resistensi miRNA.

Edukasi pasien mengenai terapi miRNA dan ketersediaan terapi miRNA secara klinis juga menjadi faktor penting dalam implementasi terapi miRNA pada pasien KNF yang berkaitan dengan EBV. Pendidikan pasien mengenai manfaat, risiko, dan ekspektasi terapi miRNA akan membantu dalam penerimaan dan kepatuhan pasien terhadap terapi ini. Selain itu, ketersediaan terapi miRNA secara klinis, termasuk aksesibilitas dan biaya terapi, juga akan mempengaruhi implementasi terapi miRNA dalam pengobatan pasien.

Namun, terapi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV juga harus melalui studi preklinik dan klinis yang lebih lanjut untuk memastikan efek ifitas, keamanan, dan efikasi terapi miRNA. Studi preklinik yang melibatkan model *in vitro* dan *in vivo* dapat membantu memahami mekanisme aksi terapi miRNA, potensi efek samping, dan optimalisasi dosis. Selanjutnya, studi klinis yang melibatkan populasi

pasien yang lebih besar dan kontrol yang baik dapat memberikan data yang lebih kuat mengenai efikasi terapi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV.

Selain itu, penting untuk memperhatikan aspek regulasi dan etika dalam penggunaan terapi miRNA pada KNF yang berkaitan dengan EBV. Regulasi terapi miRNA bervariasi di berbagai negara, dan memahami regulasi yang berlaku di wilayah tertentu sangat penting dalam pengembangan dan implementasi terapi miRNA. Etika juga harus dipertimbangkan dalam penggunaan terapi miRNA, termasuk keberlanjutan, aksesibilitas, dan keadilan dalam distribusi terapi.

Untuk menghadapi tantangan ini, diperlukan penelitian lebih lanjut dalam validasi target miRNA, pengaturan ekspresi miRNA, pemahaman mekanisme resistensi miRNA, serta edukasi pasien dan regulasi yang memadai. Studi preklinik dan klinis yang baik juga harus dilakukan untuk memastikan efikasi, keamanan, dan efektivitas terapi miRNA pada pasien KNF yang berkaitan dengan EBV. Dalam penggunaan terapi miRNA, aspek regulasi dan etika juga harus dipertimbangkan secara seksama. Dengan terus meningkatnya pengetahuan dan pemahaman kita tentang miRNA dan peran mereka dalam KNF yang berkaitan dengan EBV, terapi miRNA dapat menjadi pilihan terapeutik yang menjanjikan untuk meningkatkan pengobatan dan prognosis pasien dengan KNF yang terkait dengan infeksi EBV.

## **BAB V.**

# **PROFIL EKSPRESI SIRKULASI miRNA POST KEMORADIOTERAPI**

### **5.1. Kemoradioterapi KNF**

Penelitian ini merupakan suatu penelitian observasional yang melibatkan 17 pasien dengan kanker yang terdiri dari 13 laki-laki dan 4 perempuan, dengan median usia 51 tahun. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menginvestigasi hubungan antara infeksi virus Epstein-Barr (EBV) dan status histologi pada pasien kanker. Dalam penelitian ini, data demografi pasien tercatat, median usia pasien adalah 51 tahun. Selain itu, data mengenai stadium kanker juga dikumpulkan, 4 pasien berada dalam stadium I-II dan 13 pasien berada dalam stadium III-IV. Seluruh pasien dalam penelitian ini telah menjalani kemoterapi dan radioterapi lengkap sesuai dengan prosedur yang ditentukan, seperti yang tercatat dalam Tabel 2.

Pengujian infeksi EBV dilakukan pada pasien-pasien yang terlibat dalam penelitian ini. Titer EBV EA, EBV-EBNA, dan EBV-VCA diukur untuk mengevaluasi status infeksi EBV pada masing-masing pasien. Hasil pengujian menunjukkan bahwa 15 pasien memiliki titer EBV EA yang positif, 15 pasien memiliki titer EBV-EBNA yang positif, dan 17 pasien memiliki titer EBV-VCA yang positif. Hal ini menunjukkan bahwa mayoritas pasien dalam penelitian ini memiliki infeksi EBV yang terdeteksi dalam tubuh mereka. Selain itu, status histologi pasien juga dievaluasi dalam penelitian ini. Pengklasifikasian histologi dilakukan berdasarkan klasifikasi World Health Organization (WHO). Hasil menunjukkan bahwa mayoritas partisipan penelitian ini (14 pasien) memiliki tipe histologi III berdasarkan klasifikasi WHO.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebagian besar pasien kanker dalam penelitian ini memiliki infeksi EBV yang terdeteksi dalam tubuh mereka, dengan mayoritas memiliki titer EBV EA, EBV-EBNA,

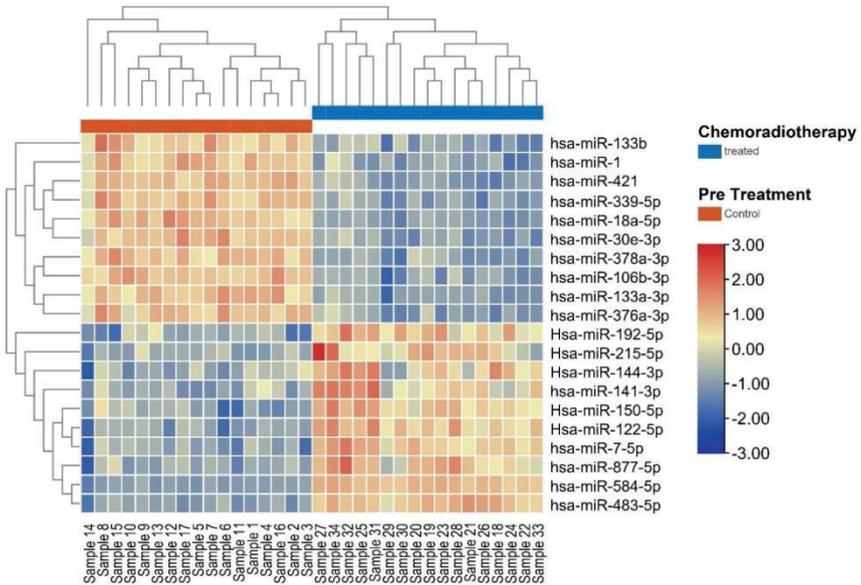
dan EBV-VCA yang positif. Selain itu, mayoritas pasien juga memiliki tipe histologi III berdasarkan klasifikasi WHO. Hasil ini dapat memberikan wawasan yang lebih mendalam mengenai hubungan antara infeksi EBV dan status histologi pada pasien kanker yang dapat digunakan sebagai acuan dalam pengelolaan pasien kanker di masa depan.

Tabel 2. Demografi pasien KNF yang terlibat dalam proses profiling kuantifikasi miRNA pada sikulasi

<b>Karakteristik</b>	<b>N</b>	<b>persen (%)</b>
Pre kemoterapi	17	100
Post Kemoterapi	17	100
Median Umur (Tahun), Range	51 (20-66)	
Sex		
	Laki-laki	13 76%
	Perempuan	4 24%
Histologi (WHO)		
	WHO I	1 6%
	WHO II	2 12%
	WHO III	14 82%
stadium diagnosis		
	I	0 0
	II	4 24%
	III	4 24%
	IV	9 53%
Patologi Anatomi		
	Undifferentiated	2 12%
	Non-Keratin, Undiff-Sub Type	13 76%
	Non-Keratin, Differentiated	1 6%
	Keratin	1 6%
EBV - EA		
	Positif	15 88%
	Negatif	2 12%
EBV - EBNA		
	Positif	15 88%
	Negatif	2 12%
EBV - VCA		
	Positif	17 100%
	Negatif	0 0%

## 5.2. Pengaruh terapi terhadap perubahan ekspresi miRNA

Analisis T-test dilakukan untuk melihat perbedaan ekspresi antara pasien preterapi dan postterapi. Pada analisis ini peneliti membandingkan ekspresi pada kedua kelompok dengan semua target menggunakan analisis T-Test Unpaired dan P value 2-tail. Hasil analisis ekspresi fold change dari semua target miRNA dapat dilihat pada Gambar 13, 14 dan persebaran data pada Gambar 15.



Gambar 13. Heat map profil ekspresi miRNA sirkulasi setelah mendapatkan chemoradiotherapy pada sirkulasi pasien KNF (Wardana, Chasanah, et al. 2022)

Hasil qPCR cancer panel mikroRNA didapatkan 53 ekspresi miRNA. Sampel-sampel yang memiliki cq lebih dari 34 dihilangkan dari analisis karena dianggap sebagai outlier pada prosesi program genex, nilai cq 34 digunakan sebagai cut off. Outlier dapat diakibatkan oleh beberapa hal yaitu gen target memang tidak terekspresi pada pemeriksaan sampel, adanya penghambat biologis, atau terjadinya mutasi pada target. Hasil *missing* data hanya didapatkan 42 miRNA yang memenuhi syarat untuk dianalisis. Tahapan selanjutnya adalah analisis data yaitu

membandingkan ekspresi 42 miRNA pada sampel preterapi dengan postterapi. Ekspresi miRNAs dalam sirkulasi 17 pasien KNF dengan respons lengkap setelah kemoradioterapi menunjukkan ekspresi kebalikan dari 20 miRNA sebelum dan sesudah menerima terapi (Gbr. 13). Lima miRNA termasuk miR-483-5p, miR-584-5p, miR-122-5p, miR-7-5p, dan miR150-5p diregulasi. 5 miRNA lainnya termasuk miR-421, miR-133a-5p, miR-18a-5p, miR-106b-3p, dan miR-339-5p diturunkan regulasinya. Analisis sensitivitas dan spesifisitas dilakukan pada 10 miRNA yang secara konsisten mengalami perubahan ekspresi setelah menerima kemoterapi.

### 5.3. Sensitivitas dan Spesifisitas miRNA

Analisis sensitivitas dan spesifisitas digunakan untuk mengevaluasi kinerja suatu model prediksi yang menggunakan miRNA sebagai prediktor pada pasien KNF yang menjalani kemoterapi. Sensitivitas, yaitu kemampuan model untuk mengidentifikasi pasien yang benar-benar positif atau merespons terhadap kemoterapi, dihitung dengan membagi jumlah pasien yang dikenali sebagai benar positif oleh model dengan jumlah total pasien yang sebenarnya positif. Spesifisitas, yaitu kemampuan model untuk mengidentifikasi pasien yang benar-benar negatif atau tidak merespons terhadap kemoterapi, dihitung dengan membagi jumlah pasien yang dikenali sebagai benar negatif oleh model dengan jumlah total pasien yang sebenarnya negatif. Sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi menunjukkan bahwa model memiliki kemampuan yang baik dalam mengenali pasien yang merespons atau tidak merespons terhadap kemoterapi.

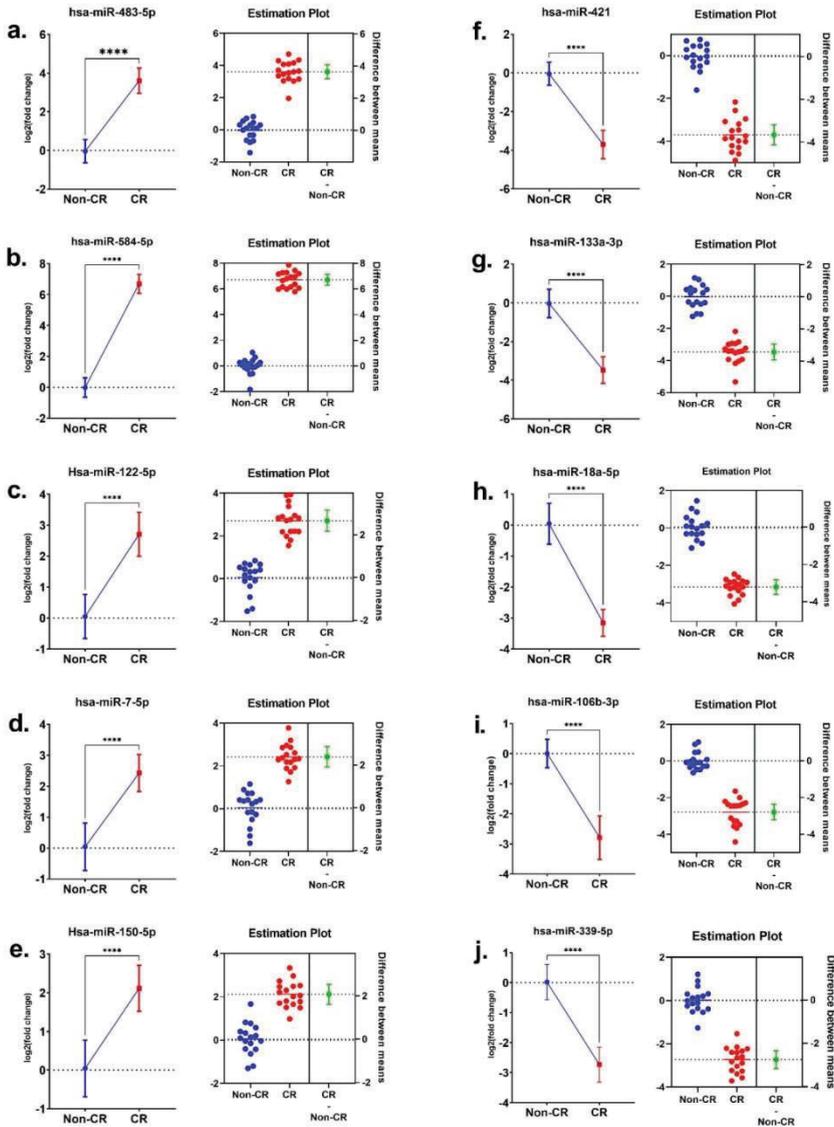
Analisis kurva ROC dianalisis yang dapat menggambarkan hubungan antara sensitivitas dan spesifisitas pada berbagai titik ambang batas (*threshold*) yang berbeda dalam model. Kurva ROC digunakan untuk memvisualisasikan kinerja model pada berbagai ambang batas. Semakin dekat kurva ROC ke sudut kiri atas grafik, semakin baik kinerja model dalam membedakan antara hasil positif dan negatif. AUC (*Area Under the Curve*) adalah pengukuran numerik yang diperoleh dari kurva ROC. AUC menggambarkan seberapa baik model dalam memprediksi hasil yang benar. Nilai AUC antara 0,5 hingga 1, dengan 0,5 menunjukkan kinerja yang acak dan 1 menunjukkan kinerja yang

sempurna. Semakin tinggi nilai AUC, semakin baik kinerja model dalam memprediksi hasil yang benar terkait respons pasien KNF terhadap kemoterapi menggunakan miRNA sebagai prediktor.

Dalam analisis sensitivitas, spesifisitas, kurva ROC, dan AUC untuk prediktor miRNA pada pasien KNF yang menjalani kemoterapi, nilai sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, serta kurva ROC yang mendekati sudut kiri atas dan AUC yang tinggi, menunjukkan bahwa model memiliki kinerja yang baik dalam memprediksi hasil yang benar terkait respons pasien KNF terhadap kemoterapi menggunakan miRNA sebagai prediktor. Namun, hasil analisis ini harus dikonfirmasi dengan penelitian lebih lanjut dan validasi menggunakan data yang lebih besar dan beragam untuk memastikan hasil yang konsisten dan dapat diandalkan.

Analisis menunjukkan bahwa 10 miRNA dapat disarankan sebagai kandidat untuk menilai respons terhadap kemoradioterapi pada pasien KNF menggunakan miRNA yang bersirkulasi. Analisis ROC menunjukkan nilai AUC (*Area Under Curve*) 0,9 dengan interval kepercayaan 99% dengan nilai signifikansi  $p < 0,0001$  (dapat dilihat pada Gambar 3).

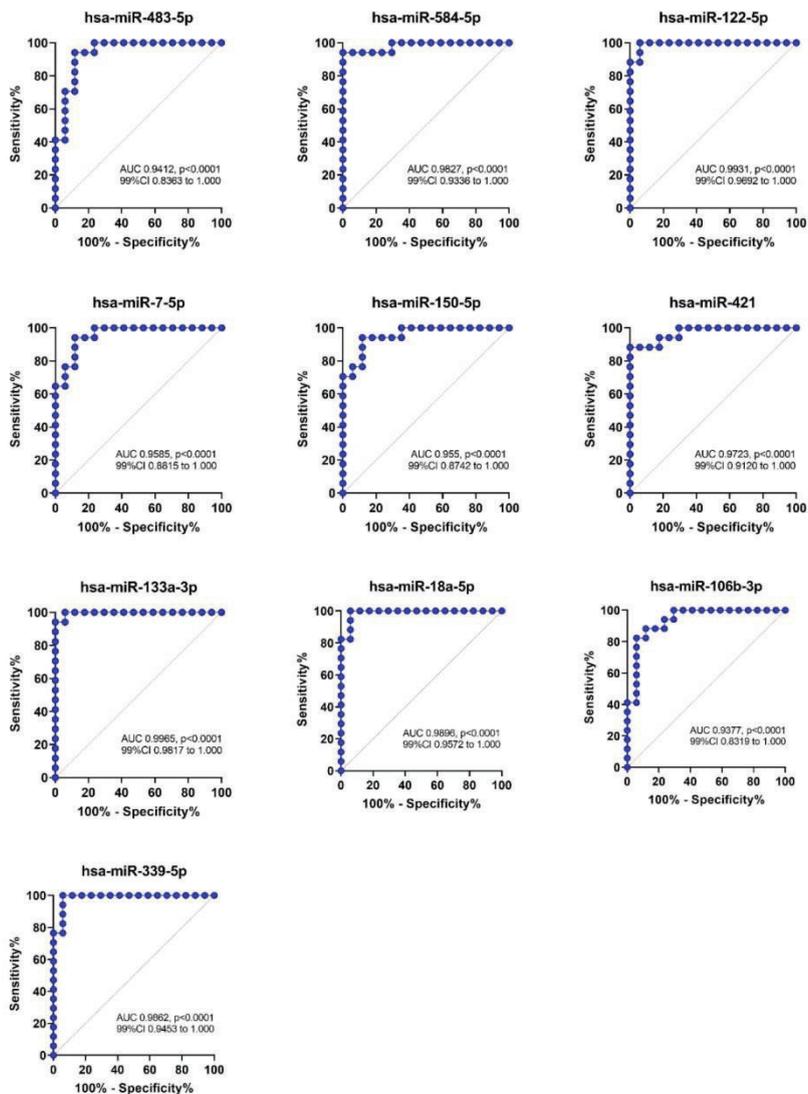
Analisis sensitivitas dan spesifisitas menunjukkan bahwa 10 miRNA ini adalah kandidat yang menjanjikan untuk biomarker berbasis respons kemoradioterapi invasif minimal dalam kejadian KNF (Gbr. 4). Itu juga ditunjukkan sebagai penanda berbasis miRNAs pada kanker lambung stadium lanjut dengan sensitivitas tinggi, dan spesifisitas miR-338-3p dan miR-142-3p adalah 0,86 (95% CI, 0,587–0,981; sensitivitas = 70%, spesifisitas = 100%). Beberapa penelitian lain menunjukkan bahwa miRNA terkait dengan kemoradioterapi pada kanker rektal stadium lanjut, adenokarsinoma rektal, kanker prostat, kanker payudara, dan kanker paru-paru (Wardana, Chasanah, et al. 2022).



Gambar 14. Ekspresi profil dengan nilai-p signifikansi tinggi ( $p < 0,0001$ ) menggunakan panel mikroRNA fokus kanker dari pretreatment sirkulasi (non-kemo-radioterapi) dan kemo-radioterapi pada KNF (Wardana, Chasanah, et al. 2022).

Pemberian rejimen kemoterapi dan radioterapi merupakan standart dari pengobatan karsinoma nasofarings (KNF) di Indonesia. Radioterapi yang dikombinasikan dengan kemoterapi merupakan standar yang memiliki tingkat resiko yang cukup tinggi pada kasus KNF. Beberapa kejadian relapse dan kejadian resistensi sering muncul dari pasien-pasien yang telah diberikan terapi. Tantangan klinis sampai saat ini pada kejadian setelah pemberian treatment terapi yaitu pengobatan, radiotherapy resistance dan *chemoterapy resistance*. Pengembangan suatu metode biomarker untuk mengetahui bagaimana regulasi yang terjadi pada sel pada saat diberikan treatment regimen tertentu dapat menggambarkan peningkatan atau penurunan jumlah ekspresi dari suatu molekul pada pathogenesis dan prognosis survival pasien. Salah satu molekul yang diketahui responsif dan sensitif terhadap perubahan dari aktivitas seluler seperti pemberian terapi yaitu miRNA.

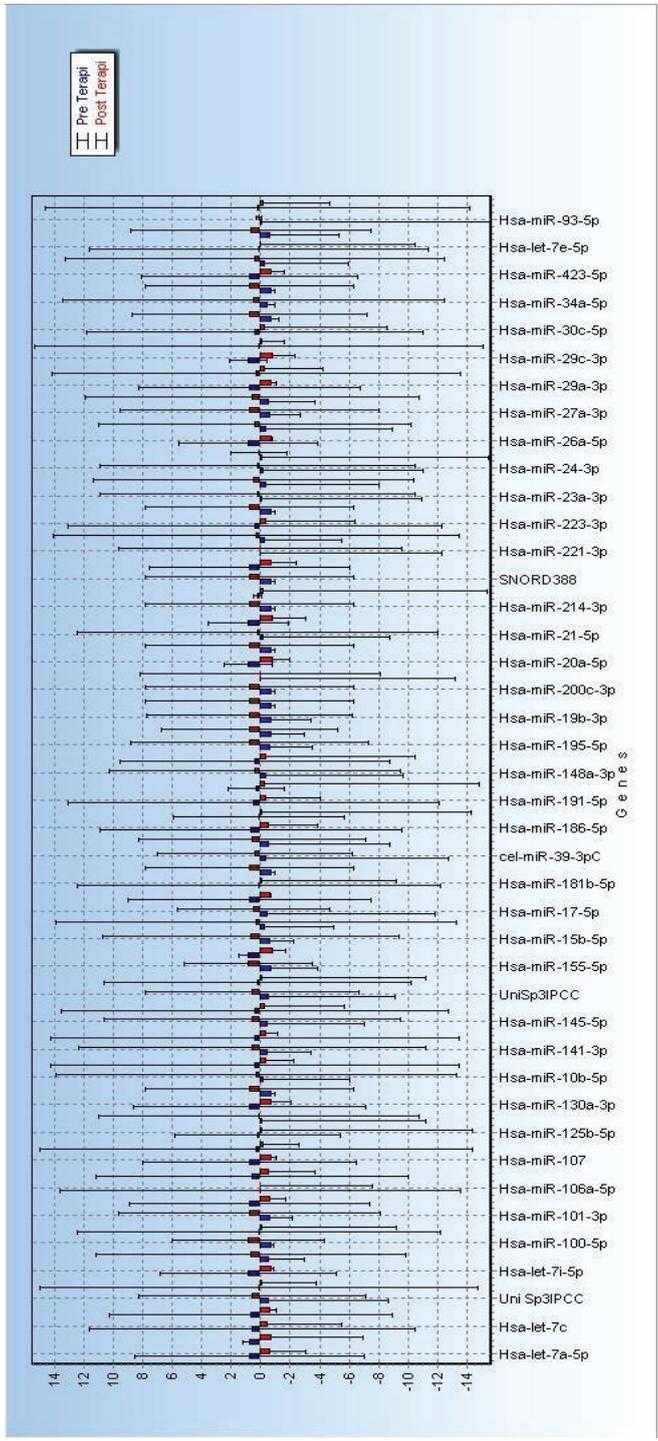
miRNA yang merupakan *small molecule* 18-24 nukleotida yang diekspresikan dan memiliki peran pada post transkripsi dalam meregulasi dan mentargetkan mRNA sehingga menjadi penentu ditranslasikan atau tidaknya mRNA menjadi protein. Pada kejadian terapi miRNA sangat responsif terhadap terjadinya stres seperti pengaruh terhadap hypoxia, proses biologis seperti poliferasi sel, apoptosis, tumorigenesis serta dapat memberikan gambaran umum terhadap *microenvironment* yang dapat mengurangi ekspresi dari miRNA. Hasil penelitian didapatkan 5 miRNA yang mengalami peningkatan secara signifikan setelah menjalani terapi. Kelima miRNA tersebut yaitu Hsa-miR-15a -5p, Hsa-miR-29c-3p, Hsa-miR-20a-5p, Hsa-miR-210, Hsa-miR-26a -5p.



Gambar 15. Sensitivitas analisis dan tentukan setelah melalui analisis ROC melalui AUC (Area Under Curve) dengan interval kepercayaan (CI) 99% nilai p 0,0001; A. miR-483-5p; B. miR-584-5p; C. miR-122-5p; D. miR-7-5p; e. miR-150-5p; F. miR-421; G. miR-133a-3p; H. miR-18a-5p; i.miR-106b-3p; J. miR-339-5p (Wardana, Chasanah, et al. 2022).

miR-15a merupakan RNA yang sangat konserve, gen penyandi miR-15a terletak pada kromosom 13q14 dan telah diketahui terlibat dalam beberapa proses biologis dalam beberapa tahun terakhir (Zhu et al. 2016). miR-15a telah dilaporkan sebagai inhibitor dari sintesis DNA (Cohen et al. 2009) dan tumor supresor (Aqeilan et al. 2010) dalam berbagai kanker. miR-15a menghambat proliferasi sel tumor hipofisis (Renjie and Haiqian 2015) dan menginduksi apoptosis sel pada *non-small cell lung cancer* (Bozok Çetintaş et al. 2016). Overekspresi miR-15a secara signifikan dapat mengurangi proliferasi dan menginduksi apoptosis sel CNE1. Overekspresi miR-15a meningkatkan level ekspresi p27, GSK-3b, Bax, procaspase 3, dan aktif caspase 3, tapi tidak p21, sedangkan penurunan miR-15a menurunkan regulasi protein tersebut (Zhu et al. 2016). p27 dan p21 merupakan dua inhibitor CDK, yang berfungsi mengeblok siklus sel pada fase G0/G1 sehingga menahan proliferasi sel (S. Wang et al. 2016).

miR-15a mungkin menghambat proliferasi sel CNE1 dengan cara mengatur ekspresi protein p27 tapi tidak p21. (Kang et al. 2015) menunjukkan bahwa miR-15a memberikan sebuah fungsi penghambatan pada *gastric adenocarcinoma cell viability* dengan menargetkan p27. Telah dilaporkan bahwa overekspresi miR-15a menghambat pertumbuhan sel dengan cara memasuki fase *cell arrest* pada fase G1 (Luo et al. 2013). Selain itu, telah ditemukan untuk menginduksi apoptosis dengan menarget B-cell lymphoma/ leukemia-2 (Bcl-2) baik pada in vitro dan in vivo (Cimmino et al. 2005). Dalam studi yang dilakukan oleh Zhang et al pada tahun 2014 menyatakan bahwa miR-15a menghambat proliferasi sel dan meningkatkan apoptosis sel CNE2 dengan mengatur Bcl-2, caspase 2, dan caspase 3 (L. Zhang et al. 2015). miR-15a secara signifikan dapat menghambat proliferasi sel dan menginduksi apoptosis pada sel KNF. miR-15a mungkin menjadi target potensial untuk pengobatan KNF di masa depan. Namun, studi lebih lanjut tentang miR-15a pada KNF masih perlu dilakukan (Zhu et al. 2016).



Gambar 16. miRNA yang mengalami kegagalan fungsi dengan signifikan pada kejadian plasma karsinoma nasofaring

Tabel 3. Profil ekspresi miRNA pada plasma pasien yang mengalami perubahan ekspresi pada sampel yang telah mendapatkan perlakuan terapi.

(Pre Therapy) vs (Post Therapy)	Fold change	Difference (A-B log scale)	P-Value
Hsa-miR-652-3p	2.119475	1.08370724	1.00E-08
Hsa-Let-7F-5p	-1.79696	-0.8455573	1.00E-08
Hsa-miR-181A-5p	-1.27924	-0.3552884	1.00E-08
Hsa-miR-145-5p	1.769712	0.82351482	1.00E-08
UniSp3-IPC	-1.5569	-0.6386806	1.00E-08
Hsa-miR-26A-5p	-1.26346	-0.3373784	1.00E-08
Hsa-miR-143-3p	-1.28632	-0.3632491	1.00E-08
Hsa-miR-222-3p	1.568052	0.64897342	1.00E-08
Hsa-miR-342-3p	-1.23267	-0.3017819	1.00E-08
Hsa-Let-7F-5p	-1.00166	-0.0023956	1.00E-08
Hsa-miR-139-5p	1.600234	0.67828253	1.00E-08
Hsa-miR-451A	-3.42964	-1.7780555	1.00E-08
Hsa-Let-7A-5p	1.208726	0.27348676	1.00E-08
Hsa-miR-125A-5p	1.997119	0.99792051	1.00E-08
Hsa-miR-152-3p	1.510873	0.59538283	1.00E-08
Hsa-miR-30C-5p	2.20867	1.14317776	1.00E-08
Hsa-miR-197-3p	3.051134	1.60934553	1.00E-08
Hsa-miR-99B-5p	1.008731	0.01254106	1.00E-08
Hsa-miR-17-5p	1.123703	0.16826084	1.00E-08
Hsa-miR-30D-5p	1.776589	0.82911021	1.00E-08
Hsa-Let-7i-5p	-1.33679	-0.4187751	1.00E-08
Hsa-miR-26B-5p	1.763192	0.81818993	1.00E-08
Hsa-miR-320B	1.860557	0.89573451	1.00E-08
Hsa-miR-590-5p	2.246405	1.167618	1.00E-08
Hsa-miR-99A-5p	1.244868	0.31599335	1.00E-08
Hsa-miR-122-5p	-11.9104	-3.5741504	1.00E-08
Hsa-miR-101-3p	1.29468	0.37259583	1.00E-08
Hsa-miR-365A-3p	1.014733	0.02109999	1.00E-08
Hsa-miR-215-5p	-3.9535	-1.9831305	1.00E-08
Hsa-miR-338-3p	1.688384	0.75564339	1.00E-08
Hsa-miR-223-3p	-3.18038	-1.669201	1.00E-08
Hsa-miR-142-3p	1.613785	0.69044854	1.00E-08
Hsa-miR-19A-3p	1.093009	0.12830476	1.00E-08
Hsa-miR-144-3p	-2.85123	-1.5115841	1.00E-08
Hsa-miR-126-3p	1.583079	0.66273353	1.00E-08
Hsa-miR-148A-3p	1.233355	0.30258827	1.00E-08
Hsa-miR-10B-5p	-1.97752	-0.9836944	1.00E-08
Hsa-miR-195-5p	-1.50862	-0.5932338	1.00E-08
Hsa-miR-192-5p	-4.82858	-2.2715997	1.00E-08

(Pre Therapy) vs (Post Therapy)	Fold change	Difference (A-B log scale)	P-Value
Hsa-miR-18B-5p	1.153029	0.20542917	1.00E-08
Hsa-miR-320D	1.459648	0.54562026	1.00E-08
Hsa-miR-199A-3p	3.006901	1.58827737	1.00E-08
Hsa-miR-29A-3p	-1.13093	-0.1775088	1.00E-08
Hsa-miR-150-5p	-6.24972	-2.6437915	1.00E-08
Hsa-miR-30B-5p	-1.02182	-0.0311406	1.00E-08
hsa-miR-154-5p	-1.51757	-0.6017642	1.00E-08
hsa-miR-155-5p	-2.58842	-1.3720719	1.00E-08
hsa-miR-23b-3p	1.759084	0.81482444	1.00E-08
hsa-miR-1	3.092799	1.62891313	1.00E-08
hsa-miR-382-5p	1.331642	0.41320641	1.00E-08
hsa-miR-133b	3.315687	1.72930777	1.00E-08
hsa-let-7d-5p	1.187391	0.24779508	1.00E-08
hsa-miR-133a-3p	6.247203	2.64321041	1.00E-08
hsa-miR-20b-5p	-3.00138	-1.5856236	1.00E-08
hsa-miR-532-5p	1.879694	0.9104982	1.00E-08
hsa-miR-660-5p	-2.61845	-1.3887138	1.00E-08
hsa-miR-130a-3p	-1.10036	-0.1379755	1.00E-08
hsa-miR-132-3p	-1.49031	-0.5756137	1.00E-08
hsa-miR-29b-3p	1.130217	0.17659929	1.00E-08
hsa-miR-136-5p	-2.37029	-1.245061	1.00E-08
hsa-miR-15b-3p	1.965421	0.97483867	1.00E-08
hsa-miR-142-5p	1.212788	0.27832712	1.00E-08
hsa-miR-326	-2.69442	-1.4299751	1.00E-08
hsa-miR-362-3p	-1.38837	-0.4733885	1.00E-08
hsa-miR-223-5p	-2.21028	-1.144226	1.00E-08
hsa-miR-146b-5p	1.13425	0.18173915	1.00E-08
hsa-miR-378a-3p	3.493162	1.80453353	1.00E-08
hsa-miR-454-3p	-2.28065	-1.1894419	1.00E-08
hsa-miR-127-3p	-1.656	-0.7277027	1.00E-08
hsa-miR-16-2-3p	-3.40331	-1.7669387	1.00E-08
hsa-miR-140-5p	1.539929	0.62286365	1.00E-08
hsa-miR-130b-3p	2.313281	1.20994038	1.00E-08
hsa-miR-629-5p	1.29885	0.37723525	1.00E-08
hsa-miR-200c-3p	1.129609	0.17582335	1.00E-08
hsa-miR-2110	1.917768	0.93942813	1.00E-08
hsa-miR-93-3p	-2.29712	-1.1998292	1.00E-08
hsa-miR-199a-5p	3.558319	1.83119579	1.00E-08
hsa-miR-766-3p	1.066993	0.09355012	1.00E-08
hsa-miR-92a-3p	-1.24788	-0.3194769	1.00E-08
hsa-miR-483-5p	-17.6283	-4.1398194	1.00E-08
hsa-miR-877-5p	-5.03386	-2.3316656	1.00E-08
hsa-miR-324-3p	-1.35167	-0.4347451	1.00E-08

(Pre Therapy) vs (Post Therapy)	Fold change	Difference (A-B log scale)	P-Value
hsa-miR-106b-3p	3.167119	1.66317117	1.00E-08
hsa-miR-30e-3p	3.599303	1.84771758	1.00E-08
hsa-miR-543	-1.54594	-0.6284812	1.00E-08
hsa-miR-495-3p	1.924515	0.94449529	1.00E-08

miR-29c merupakan salah satu miRNA yang terpengaruhi oleh keadaan patogenesis dan respon terapi. miR-29c termasuk tumor suppressor miR yang termasuk kedalam homologous sequence tetapi berbeda dengan isoforms miR-29 family (29 a,b,c). Gen penyandi miR-29c terletak pada kromosom 7q32 dan 1q23. miR-29c sangat erat kaitannya dengan kanker genesis dan progresi. Pada beberapa kasus KNF dan AML yang diberikan beberapa jenis terapi berbasis Cisplatin, zacitidine, bertazomid, dan decitabine diketahui bahwa miR-29c mempengaruhi proses modifikasi metilasi dengan menargetkan DNMT3a dan DNMT3b. Proses modifikasi metilasi yang menyebabkan perubahan ekspresi gen dengan tidak mengubah sequence DNA dan bisa menstabilkan transmisi melalui meiosis pada proses pertumbuhan dan proliferasi sel. miR-29c mengalami penurunan ekspresi pada plasma pasien KNF dan terjadi kenaikan ekspresi pada plasma pasien KNF yang telah menjalani terapi kombinasi antara kemoterapi berbasis cisplatin dan radioterapi. Perubahan ekspresi yang signifikan memungkinkan miR-29c potensial untuk digunakan sebagai suatu marker prognosis pada teriapi KNF.

miR-26a umumnya mengalami downregulasi pada jaringan KNF dan sel liniKNF dengan konsekuensi fungsional penting. Sebuah studi terbaru menunjukkan bahwa miR-26a mengalami downregulasi pada jaringan KNF dibandingkan dengan jaringan normal menggunakan pendekatan analisis mirna microarray (Chen et al., 2009). Ekspresi ektopik dari miR-26a secara dramatis menekan proliferasi sel dan pembentukan koloni dengan menginduksi G1-phase cell-cycle arrest. miR-26a sangat kuat menyebabkan penurunan ekspresi onkogen EZH2 pada sel KNF. miR-26a menekan ekspresi c-myc, D3 cyclin dan E2, dan cyclin-dependent kinase CDK4 dan CDK6 sekaligus meningkatkan ekspresi CDK inhibitor p14ARF dan p21CIP1 terkait EZH2. Pada spesimen klinis, EZH2 secara luas diekspresikan dan tingkat mRNA yang

berkorelasi terbalik dengan ekspresi miR-26a. miR-26a berfungsi sebagai growth-suppressive miRNA dengan menekan ekspresi EZH2 pada KNF (Lu et al. 2011).

Salah satu mekanisme yang diketahui memiliki sensitivitas terhadap respon positif ataupun relapse pada pemberian rejimen terapi yaitu Hypoxia. Beberapa miRNA telah diketahui memiliki peran serta pada regulasi pemberian terapi terhadap kejadian relapse dan resistensi konsisten terhadap penelitian yang telah kami lakukan yaitu has-miR-210 dan has-miR-20a. Hasil yang telah kami lakukan dengan melakukan profiling ekspresi miRNA dengan menggunakan qPCR pada sirkulasi pasien KNF diketahui bahwa kedua miR tersebut merupakan miRNA dengan frekuensi tingkatan ekspresi yang tinggi terhadap respon pemberian terapi.

Has-miR-210 merupakan salah satu miRNA yang memiliki respon terhadap perubahan aktivitas seluler dari terapi pada kejadian kanker. miR-210 diketahui memiliki beberapa peran pada jalur apoptosis, angiogenesis, promosi invasi dan metastasis serta terlibat pada DNA repair yang merupakan fokus terhadap permasalahan pada terapi kanker. miR-210 merupakan intronic miRNA yang terletak pada lokus genomik dari transkripsi AK123483 yang dapat bersifat sebagai *oncogene* maupun *tumor suppressor*, berfungsi pada *mitochondrial metabolism* dan merupakan salah satu kandidat dari diagnostik dan prognostik yang sangat menjanjikan pada kejadian kanker.

Hypoxia terutama diregulasi miRNA (HRM) diketahui berperan aktif pada salah satu jalur penting apoptosis yang merupakan bagian dari salah satu *hallmarks of cancer*. Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa miR-210 merupakan jenis miRNA antiapoptosis dan cytoprotective tidak hanya pada sel kanker namun juga pada sel normal seperti *Pulmonary artery smooth muscle cell* (HPASMC), *cardiomyocytes*, *bone marrow derived mesenchymal stem cells* (MSCS) (Gou et al. 2012; Qin et al. 2014). Peran dari miR-210 yang berperan serta pada jalur apoptosis diketahui mentargetkan mRNA ekspresi protein seperti Caspase 8 protein-2 (Casp8ap2), dapat menekan ekspresi ROD2 dan berikatan pada protein 3 (PT BP3), sehingga dapat mengurangi kejadian apoptosis pada hypoxia sehingga meningkatkan survival dari sel

hypoxia yang menyebabkan meningkatnya kasus resistensi pada kejadian kanker (Qin et al. 2014; Lv et al. 2019; Marwarha et al. 2022). pada jalur HIF-1 $\lambda$ . miR-210 banyak dihubungkan dengan prognosis buruk terhadap kejadian dini kanker payudara, dan diketahui meregulasi jalur hypoxia yang telah dikonfirmasi pada beberapa cell lines seperti kanker leher dan hidung, paru, kolon dan ginjal. Kondisi hipoksia dalam tumor banyak dihubungkan terhadap prognosis buruk dan resistensi terhadap radioterapi, progresivitas, *high histological grade* dan stadium lanjut.

miRNA dapat berfungsi sebagai *oncogene* yang telah diidentifikasi dapat merespon dan mengalami upregulasi pada sel yang mengalami hypoxia dan merupakan kunci pada solid tumor dalam pembentukan tumor. Pada perkembangan studi bioinformatika, miR-210 diketahui memiliki banyak peran terutama meregulasi proliferasi sel dengan menekan jalur MAX network transcriptional, apoptosis, migrasi, invasi, dan DNA repair. miR-210 juga diketahui berperan pada regulasi angiogenesis, promosi invasi dan metastasis yang merupakan faktor utama pada kejadian relapse. Kejadian apoptosis tidak hanya terlibat pada suplai dari nutrients, oksigen dan pembuangan dari sisa metabolisme, dan karbondioksida yang berperan pada keberlangsungan hidup dari sel kanker. Salah satu hal yang sangat vital dan penting pada keadaan sel normal yaitu integritas genomik yang sangat penting dalam suatu mekanisme perbaikan DNA yang berimplikasi pada kejadian mutasi sehingga terlibat sebagai penyebab timbulnya suatu penyakit seperti kanker. Salah satu peran dalam instabilitas genom terutama pada jalur hypoxia tumor *microenvironment* pada DNA repair pada karsinogenesis. miR-210 diketahui terlibat pada DNA repair dengan menargetkan protein pengkode RADS2 yang merupakan protein yang berfungsi pada perbaikan DNA DSB (Double-strand break) dan rekombinasi homolog. Pada banyak kejadian kanker, miR-210 mengalami kenaikan ekspresi pada solid tumor misalnya breast cancer, lung cancer, renal cancer, lymphoma, osteosarcoma, esophageal cancer (Qin et al. 2014; Jamali et al. 2015; Segal et al. 2015; Thakur et al. 2016). Namun pada beberapa kasus terdapat ketidakkonsistensi ekspresi dengan jenis kanker yang kompleks dan heterogen pada kanker esofagus.

Beberapa peneliti telah mengungkapkan bahwa has-miR-210 secara konsisten mengalami peningkatan ekspresi pada kanker prostat, kanker payudara, dan karsinoma hepatoseluler. Pada kejadian kanker payudara dengan uji sel MCF-7 dan pada 219 pasien diketahui bahwa miR-210 tidak hanya merefleksikan regulasi terhadap hypoxia namun juga berhubungan dengan agresivitas pada pasien dan keseluruhan survival. Secara konsisten pada beberapa kejadian respon tetapi pada kanker dihubungkan dengan beberapa jalur seperti CAIX, VEGF, HIF1 $\lambda$ , HOXA1 (yang berperan pada proliferasi dan transformasi dari sel onkogenik), FGFRL1 (berperan pada proliferasi sel), HOXA9 (memiliki peran pada proliferasi sel dan apoptosis) (Gupta and Qin 2003; Arfin et al. 2021).

Hsa-miR-20a merupakan salah satu jenis miRNA precursor 17-92 dan diketahui mengalami ketidak konsistenan pada beberapa jenis kanker. miR20a merupakan salah satu jenis miR yang berperan sebagai kunci pada beberapa biological proses seperti aktivitas promotes, differensiasi, transduksi sinyal, apoptosis, progresi tumor, prognosis buruk dan proses pembentukan tumor (Schetter et al. 2008; Hui et al. 2010; L. Zhang et al. 2015). miR-20a diketahui mengalami perubahan ekspresi yang signifikan pada perubahan aktivitas sel dengan pemberian terapi dan merupakan salah satu kandidat promising sebagai marker prognosis. miR-20a merupakan jenis kanker yang responsif terhadap radioresistence yang terlibat pada jalur aktivasi PTEN/PI3K/Akt dan diketahui dapat merepresentasikan keadaan seluler berdasarkan klinikopatologi stadium TNM pada *cutaneous squamous cell carcinoma* (CSCC) dan karsinoma nasofaring (KNF).

miR-20a diketahui juga mengalami penurunan ekspresi pada sel liniHCC dan pancreatic cancer. miR-20a diketahui memiliki beberapa peran dalam menekan proliferasi sel, siklus sel, antiproliferasi, antiapoptotik dan meregulasi siklus sel melalui fase G1/S melalui penargetkan protein famili dari CDKN1a/P21. Pada kejadian pancreatic cancer miR-20a dapat menargetkan STAT3 yang dapat menghambat proliferasi dan metastasis sehingga sangat mempengaruhi kejadian resistensi dan perubahan pada pemberian terapi (Schetter et al. 2008; Wang et al. 2021).

#### 5.4. Mekanisme signaling pathways

Analisis jalur sinyal (*signaling pathways*) digunakan untuk memahami bagaimana miRNA sebagai prediktor dapat mempengaruhi jalur-jalur biologis yang terlibat dalam respons terhadap kemoterapi pada pasien KNF. MiRNA dapat berperan sebagai molekul pengatur (regulator) yang mempengaruhi ekspresi gen dalam jalur sinyal yang terlibat dalam proses kanker, termasuk respons terhadap kemoterapi.

Analisis jalur sinyal dilakukan dengan penggunaan perangkat lunak atau alat bioinformatika untuk mengidentifikasi jalur sinyal yang dikaitkan dengan miRNA prediktor pada KNF yang menjalani kemoterapi. Metode analisis jalur sinyal melibatkan identifikasi miRNA target yang potensial, pengkategorian miRNA target ke dalam jalur sinyal yang terkait, dan analisis interaksi antara miRNA target dengan komponen jalur sinyal. Dalam analisis ini, fokus dapat diberikan pada jalur-jalur sinyal yang diketahui terlibat dalam resistensi kemoterapi, proliferasi sel, apoptosis, angiogenesis, dan metastasis, yang merupakan proses biologis yang relevan dalam kanker nasofaring dan respons terhadap kemoterapi.

Hasil dari analisis jalur sinyal dapat memberikan pemahaman yang lebih dalam tentang bagaimana miRNA sebagai prediktor dapat berinteraksi dengan jalur sinyal yang terlibat dalam kanker nasofaring dan respons terhadap kemoterapi. Informasi ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi jalur sinyal yang menjadi target potensial untuk terapi yang diarahkan pada miRNA atau komponen jalur sinyal yang terpengaruh oleh miRNA. Namun, analisis jalur sinyal ini harus diperkuat dengan penelitian lebih lanjut dan validasi eksperimental untuk memastikan keakuratan dan relevansi biologis dari temuan tersebut.

Identifikasi mekanisme biologis potensial yang dipengaruhi oleh disregulasi ekspresi miRNAs setelah kemoradioterapi dilakukan menggunakan IPA (*Ingenuity Analysis Pathways*). Ekspresi diferensial dari deregulasi miRNAs dengan analisis menggunakan IPA menunjukkan beberapa dampak mekanisme seluler dengan kategori p-value 0,01 dengan z-score aktivasi  $-1,131 - 2,256$ . Perubahan signifikan akibat dampak kemoterapi dan radioterapi mempengaruhi mekanisme kematian sel dan kelangsungan hidup yang terlibat dalam nekrosis, apoptosis,

viabilitas sel, dan kematian sel dari garis sel karsinoma (Tabel 3). 13 miRNA yang diregulasi terlibat dalam proses viabilitas sel. Enam miRNA terlibat dalam pengaturan kematian sel, 23 miRNA dikaitkan dengan jalur biologis apoptosis, dan 25 miRNA terlibat dalam proses nekrosis sel.

Kemoterapi dan radioterapi saat ini merupakan perawatan inti untuk pasien dengan KNF. Penyakit sisa setelah pengobatan dan perkembangan penyakit sering dialami oleh pasien, terutama yang awalnya didiagnosis pada stadium akhir (Tabel 2). Analisis molekuler terperinci dari jalur biologis yang terlibat dalam respons lengkap setelah perawatan mungkin menginformasikan biomarker potensial KNF, jalur biologis, dan pengobatan bertarget potensial. Rendahnya jumlah pasien untuk mencapai respon lengkap membuat menarik untuk mengetahui perubahan molekuler.

Untuk menyelidiki lebih lanjut mekanisme pengaturan miRNAs karsinoma nasofaring ini, ekspresi dengan signifikansi miRNAs 4 regulasi seluler kematian dan kelangsungan hidup sel terkait dengan pengobatan kemoterapi dan radioterapi. Kami menemukan perubahan miRNA terkait dengan nekrosis, apoptosis, viabilitas sel, dan kematian sel dari garis sel karsinoma. Meskipun analisis mekanisme berhubungan dengan respon kemoradioterapi pada kasus karsinoma nasofaring, hubungan langsung dengan miRNA masih belum jelas.

Salah satu molekul yang diketahui dapat diatur secara diferensial sebagai respons terhadap perubahan aktivitas seluler seperti terapi adalah microRNA (miRNA). MicroRNA responsif terhadap efek seperti stres pada hipoksia. Proses biologis seperti proliferasi sel, apoptosis, dan tumorigenesis dapat memberikan gambaran umum tentang lingkungan mikro yang mempengaruhi ekspresi miRNA. Oleh karena itu, penemuan biomarker kandidat berdasarkan invasif minimal diharapkan dapat memberikan pendekatan baru untuk menilai keberhasilan pengobatan untuk meningkatkan upaya keberhasilan pengobatan.

Tabel 4. Mekanisme seluler yang terjadi pada miRNA yang mengalami dysregulasi setelah mendapatkan kemo radioterapi pada kejadian karsinoma nasofaring

Categories	Diseases or Functions Annotation	p-value	Activation z-score	Molecules	# Molecules
Cardiovascular System Development and Function, Organismal Development	Angiogenesis	0.00551	0.67	miR-122-5p, miR-125b-5p, miR-126a-3p, miR-16-5p, miR-199a-5p, miR-221-3p, miR-27a-3p, miR-320b, miR-378a-3p, miR-532-5p, miR-7a-5p	11
	Interphase	0.0237		let-7a-5p, miR-132-3p, miR-16-5p, miR-186-5p, miR-21-5p, miR-27a-3p, miR-451a, miR-92a-3p	8
	Arrest in interphase	0.0162		miR-132-3p, miR-16-5p, miR-186-5p, miR-21-5p, miR-27a-3p, miR-451a	6
	G1 phase	0.0491		let-7a-5p, miR-16-5p, miR-21-5p, miR-27a-3p, miR-92a-3p	5
	Arrest in G0 phase	0.000783		miR-16-5p, miR-186-5p, miR-27a-3p, miR-451a	4
Cell Death and Survival	Necrosis	0.000624	-0.522	let-7a-5p, miR-1-3p, miR-10a-5p, miR-122-5p, miR-125b-5p, miR-132-3p, miR-141-3p, miR-142-3p, miR-145-5p, miR-146a-5p, miR-148a-3p, miR-150-5p, miR-16-5p, miR-186-5p, miR-199a-3p, miR-21-5p, miR-221-3p, miR-223-3p, miR-24-3p, miR-30c-5p, miR-320b, miR-378a-3p, miR-451a, miR-486-5p, miR-7a-5p	25

Categories	Diseases or Functions Annotation	p-value	Activation z-score	Molecules	# Molecules
	Apoptosis	0.00351	-0.615	let-7a-5p, miR-1-3p, miR-10a-5p, miR-122-5p, miR-125b-5p, miR-132-3p, miR-141-3p, miR-145-5p, miR-146a-5, miR-148a-3p, miR-150-5p, miR-16-5p, miR-186-5p, miR-199a-3p, miR-21-5p, miR-221-3p, miR-223-3p, miR-30c-5p, miR-320b, miR-378a-3p, miR-451a, miR-486-5p, miR-7a-5p	23
	Cell viability	0.0181	2.256	miR-133a-3p, miR-141-3p, miR-145-5p, miR-150-5p, miR-16-5p, miR-186-5p, miR-21-5p, miR-221-3p, miR-24-3p, miR-30c-5p, miR-378a-3p, miR-486-5p, miR-7a-5p	13
	Cell death of carcinoma cell lines	0.00496	0.119	let-7a-5p, miR-145-5p, miR-146a-5p, miR-21-5p, miR-221-3p, miR-223-3p	6
Cell Morphology, Cellular Function, and Maintenance	Autophagy of tumor cell lines	0.0326		miR-125b-5p, miR-130a-3p, miR-23a-3p	3
Cellular Development	The epithelial-mesenchymal transition of tumor cell lines	0.0187		miR-141-3p, miR-483-5p, miR-7a-5p	3
Cellular Development, Cellular Growth and Proliferation	Cell proliferation of tumor cell lines	5.7E-12	0.694	let-7a-5p, miR-10a-5p, miR-122-5p, miR-125b-5p, miR-128-3p, miR-130a-3p, miR-132-3p, miR-133a-3p, miR-139-5p, miR-141-3p, miR-145-5p, miR-146a-5p, miR-	32

Categories	Diseases or Functions Annotation	p-value	Activation z-score	Molecules	# Molecules
				148a-3p,miR-16-5p, miR-186-5p,miR-18a-5p,miR-192-5p,miR-197-3p,miR-199a-3p,miR-199a-5p, miR-21-5p,miR-221-3p,miR-223-3p,miR-23a-3p,miR-24-3p,miR-27a-3p,miR-30a-3p ,miR-378a-3p ,miR-451a ,miR-708-5p,miR-7a-5p,miR-92a-3p	
	Differentiation of thyroid precursor cells	0.00514		miR-144-3p, miR-451a,miR-486-5p	3
	Leucopoiesis	0.00477	-1.067	miR-125b-5p, miR-132-3p, miR-144-3p, miR-146a-5p,miR-150-5p,miR-16-5p ,miR-18a-5p ,miR-21-5p, miR-451a ,miR-486-5p	10
	Myelopoiesis of leukocytes	0.00201	-1.131	miR-125b-5p, miR-144-3p, miR-16-5p, miR-21-5p, miR-451a	5
	Differentiation of myeloid leukocytes	0.00619	-1.131	miR-125b-5p, miR-144-3p, miR-16-5p, miR-21-5p, miR-451a	5
	Granulopoiesis	0.00223	-1.131	miR-125b-5p, miR-144-3p, miR-21-5p, miR-451a	4
Cellular Movement	Cell movement	0.00865	1.196	let-7a-5p, miR-10a-5p, miR-122-5p, miR-125b-5p, miR-130a-3p, miR-133a-3p,miR-139-5p,miR-141-3p,miR-145-5p,miR-146a-5p,miR-151-5p,miR-16-5p ,miR-197-3p ,miR-21-5p ,miR-221-3p,miR-27a-3p,miR-320b ,miR-532-5p ,miR-7a-5p ,miR-92a-3p	20

Categories	Diseases or Functions Annotation	p-value	Activation z-score	Molecules	# Molecules
	Invasion of tumor cell lines	8E-09	0.158	miR-10a-5p, miR-122-5p, miR-125b-5p, miR-126a-3p, miR-139-5p, miR-141-3p, miR-145-5p, miR-146a-5p, miR-151-5p, miR-197-3p, miR-199a-3p, miR-21-5p, miR-221-3p, miR-223-3p, miR-451a, miR-483-5p, miR-532-5p, miR-7a-5p, miR-92a-3p	19
	Migration of cells	0.00542	1.64	let-7a-5p, miR-10a-5p, miR-122-5p, miR-125b-5p, miR-130a-3p, miR-133a-3p, miR-139-5p, miR-141-3p, miR-146a-5p, miR-151-5p, miR-16-5p, miR-197-3p, miR-21-5p, miR-221-3p, miR-27a-3p, miR-320b, miR-532-5p, miR-7a-5p, miR-92a-3p	19
	Cell movement of tumor cell lines	6.04E-06	1.092	let-7a-5p, miR-10a-5p, miR-122-5p, miR-125b-5p, miR-130a-3p, miR-139-5p, miR-141-3p, miR-145-5p, miR-151-5p, miR-16-5p, miR-197-3p, miR-21-5p, miR-221-3p, miR-27a-3p, miR-532-5p, miR-7a-5p, miR-92a-3p	17
Cellular Movement, Hematological System Development and Function, Immune Cell Trafficking, Inflammatory Response	Migration of monocytes	0.00465		miR-125b-5p, miR-133a-3p, miR-146a-5p	3

Categories	Diseases or Functions Annotation	p-value	Activation z-score	Molecules	# Molecules
DNA Replication, Recombination, and Repair	Chromosomal aberration	0.00682		let-7a-5p, miR-125b-5p, miR-130a-3p, miR-708-5p	4
	DNA damage	0.0139	-0.152	let-7a-5p, miR-16-5p, miR-7a-5p, miR-92a-3p	4
Inflammatory Response	Inflammation of absolute anatomical region	7.94E-08		let-7a-5p, miR-130a-3p, miR-133a-3p, miR-150-5p, miR-16-5p, miR-197-3p, miR-199a-5p, miR-210-3p, miR-221-3p, miR-223-3p, miR-23a-3p, miR-27a-3p, miR-30c-5p, miR-320b, miR-338-3p, miR-376a-3p, miR-409-3p, miR-423-3p, miR-486-5p, miR-532-5p, miR-92a-3p	21
		4.88E-07		let-7a-5p, miR-130a-3p, miR-133a-3p, miR-150-5p, miR-16-5p, miR-197-3p, miR-199a-5p, miR-210-3p, miR-221-3p, miR-223-3p, miR-23a-3p, miR-27a-3p, miR-30c-5p, miR-320b, miR-423-3p, miR-486-5p, miR-532-5p, miR-92a-3p	18
Organismal Survival	Survival of organism	0.0259	-0.293	let-7a-5p, miR-122-5p, miR-141-3p, miR-142-3p, miR-16-5p, miR-221-3p, miR-223-3p, miR-92a-3p	8

Studi sebelumnya telah melaporkan bahwa ekspresi miRNA dikaitkan dengan beberapa respons kemoterapi dan peristiwa resistensi pada kanker esophagus (Hummel et al. 2014), karsinoma sel skuamosa oral (Liu et al. 2019), kanker payudara (Anwar et al. 2019), dan kanker paru-paru (Ashrafizadeh et al. 2021). Dalam laporan lain tentang karsinoma nasofaring, miR-324-3p dan miR-519d dideregulasi dengan menghambat ترجمahan gen yang menargetkan WNT2B (Li et al. 2013) dan PDRG1 (Xu et al. 2013) menuju sensitivitas radioterapi. Selain itu, miR-29c diketahui sensitif terhadap radioterapi dan kemoterapi berbasis cisplatin (L. Ma et al. 2013; wardana et al. 2016; Savitri et al. 2019).

Hasil analisis menunjukkan bahwa miRNA berperan dalam berbagai mekanisme dan kasus kanker lainnya. miR-483-5p pada kanker adrenokortikal dan prostat menargetkan RBM5, yang terlibat dalam proliferasi dan invasi dan berhubungan dengan prognosis yang buruk (Soon et al. 2009; Chabre et al. 2013; Yang et al. 2017). Ekspresi miR-584 yang berlebihan menghambat proliferasi. Ini menginduksi apoptosis melalui target WW domain-containing E3 ubiquitin-protein ligase 1 (Fan et al. 2017), miR-122-5p, dan miR-421 menghambat migrasi dan invasi sel dengan mengatur DUSP4 di lambung (Xu et al. 2018), kanker dan chemosensitizer di kanker payudara (Zhang et al. 2019). miR-7-5p dan miR-150-5p menekan proliferasi sel dan menginduksi apoptosis sel kanker payudara (Shi et al. 2014) dan kanker kolorektal (Chen et al. 2018). Dalam penelitian lain, penurunan ekspresi miR -133a-3p berperan dalam mempromosikan migrasi sel pada kanker kandung kemih [48] dan aktivasi RhoA pada kanker kolorektal (Yu et al. 2019). Selain itu, miR-18a, miR-106b-3p, dan miR-339-5p memodulasi apoptosis dan menghambat proliferasi dengan lncRNA pada karsinoma nasofaring (Miao et al. 2019), karsinoma sel skuamosa esophagus (Qiao et al. 2019), dan kanker paru (Gan et al. 2017).

# **BAB VI.**

## **PERBEDAAN EKSPRESI miR-21 DAN 29c HUBUNGAN DENGAN RESPON PARSIAL DAN RESPON PENUH PADA PENDERITA KNF**

### **6.1. Kemoradioterapi pada Karsinoma Nasofaring**

Kemoterapi adalah suatu metode pengobatan yang menggunakan obat-obatan kemoterapi untuk menghancurkan sel kanker. Pada pasien kanker nasofaring, kemoterapi sering kali digunakan bersamaan dengan radioterapi, atau yang dikenal sebagai terapi kombinasi atau chemoradioterapi. Terapi kombinasi ini bertujuan untuk meningkatkan efektivitas pengobatan dengan menggabungkan dua metode pengobatan yang berbeda namun saling melengkapi.

Kemoterapi pada pasien KNF dapat diberikan sebelum radioterapi (neoadjuvan), selama radioterapi (konkomitan), atau setelah radioterapi (adjuvan). Pemberian kemoterapi neoadjuvan bertujuan untuk mengurangi ukuran tumor sebelum radioterapi dilakukan, sehingga mempermudah pengobatan radioterapi dan mengoptimalkan hasil pengobatan. Kemoterapi konkomitan diberikan selama radioterapi untuk meningkatkan efektivitas radioterapi dengan meningkatkan sensitivitas sel kanker terhadap radiasi, sedangkan kemoterapi adjuvan diberikan setelah radioterapi untuk membersihkan sisa-sisa sel kanker yang mungkin masih ada.

Obat-obatan kemoterapi yang digunakan pada pasien KNF dapat beragam, tergantung pada protokol pengobatan yang diikuti oleh tim medis yang merawat pasien. Contoh obat-obatan kemoterapi yang umum digunakan untuk pasien KNF antara lain cisplatin, carboplatin, 5-fluorouracil (5-FU), dan docetaxel. Kombinasi obat-obatan kemoterapi

yang digunakan dapat bervariasi tergantung pada kebijakan rumah sakit atau protokol klinis yang diterapkan.

Radioterapi, sebagai metode pengobatan lokal, menggunakan sinar radiasi untuk menghancurkan sel kanker pada daerah yang ditargetkan. Pada pasien KNF, radioterapi biasanya diberikan secara eksternal, sinar radiasi diarahkan ke daerah nasofaring yang terkena kanker. Radioterapi pada KNF dapat dilakukan sebagai pengobatan tunggal atau dikombinasikan dengan kemoterapi, seperti yang telah disebutkan sebelumnya.

Selama radioterapi pada pasien KNF, teknik radiasi yang digunakan dapat beragam, termasuk radioterapi konvensional, radioterapi intensitas modulasi (IMRT), atau teknik lain yang lebih canggih seperti radioterapi stereotaktik tubuh (SBRT) atau radioterapi proton. Tujuan dari radioterapi adalah untuk menghancurkan sel kanker dan meminimalkan kerusakan pada jaringan sehat di sekitar daerah nasofaring yang terkena radiasi. Kemoterapi dan radioterapi pada pasien KNF juga dapat memiliki efek samping yang signifikan, termasuk mual, muntah, penurunan nafsu makan, penurunan berat badan, serta efek samping seperti kulit terbakar, sakit tenggorokan, xerostomia (keringnya mulut), dan masalah kognitif selama radioterapi. Oleh karena itu, manajemen efek samping dan perawatan suportif menjadi penting dalam merawat pasien KNF yang menjalani kemoterapi dan radioterapi.

## **6.2. Peran miRNA terhadap Kemoradioterapi**

Penelitian terbaru telah menunjukkan bahwa miRNA memainkan peran penting dalam respons sel terhadap kemoterapi dan radioterapi pada pasien KNF. MiRNA adalah molekul RNA kecil *non-coding* yang berperan dalam mengatur ekspresi gen dan memiliki potensi sebagai target terapeutik atau biomarker dalam pengobatan kanker, termasuk dalam konteks kemoterapi dan radioterapi.

Beberapa penelitian telah menemukan bahwa miRNA dapat mempengaruhi sensitivitas sel kanker nasofaring terhadap kemoterapi dan radioterapi. Beberapa miRNA telah diidentifikasi sebagai modulator pengaturan respons terhadap kemoterapi dan radioterapi, baik dengan mengurangi atau meningkatkan sensitivitas sel kanker nasofaring

terhadap pengobatan tersebut. Beberapa miRNA telah ditemukan memiliki peran dalam mengatur respons sel terhadap kemoterapi dengan mengurangi ekspresi gen yang terkait dengan resistensi terhadap kemoterapi. Sebagai contoh, miRNA-34a telah terbukti menghambat ekspresi gen yang terkait dengan resistensi kemoterapi pada KNF, sehingga meningkatkan sensitivitas sel kanker terhadap kemoterapi.

Selain itu, beberapa miRNA juga telah ditemukan memiliki peran dalam mengatur respons sel terhadap radioterapi. Beberapa miRNA telah diketahui memiliki efek radioprotektif, yaitu melindungi sel dari kerusakan radiasi, sementara miRNA lainnya dapat meningkatkan sensitivitas sel kanker nasofaring terhadap radioterapi dengan menghambat mekanisme reparasi DNA atau mengurangi kemampuan sel untuk bertahan hidup setelah terpapar radiasi. Beberapa miR yang diketahui berperan pada proses kemoradioterapi yaitu miR-21 dan 29c.

miR-21 merupakan salah satu jenis miRNA yang berperan sebagai regulator onkomiR dalam berbagai proses biologi, termasuk proliferasi sel, invasi, migrasi, dan apoptosis. MiR-21 bekerja dengan menekan ekspresi protein yang berperan sebagai tumor supresor. Beberapa penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa ekspresi miR-21 cenderung meningkat pada kanker stadium lanjut dibandingkan dengan stadium awal. MiR-21 memiliki kemampuan untuk mengarahkan banyak mRNA yang terkait dengan tumor supresor, salah satunya adalah PTEN. Dampak dari penurunan ekspresi tumor supresor PTEN oleh miR-21 adalah stimulus pertumbuhan sel, invasi, dan metastasis dalam kanker. Selain itu, mekanisme ini juga dipengaruhi oleh faktor-faktor lain, seperti ketika satu protein menjadi target dari beberapa miRNA, termasuk miR-21 dan miR-221, yang keduanya dapat menghambat ekspresi tumor supresor PTEN. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa penurunan ekspresi mRNA PTEN terjadi pada lebih dari setengah kasus karsinoma nasofaring (KNF). PTEN memiliki peran yang sangat penting dalam regulasi jalur PI3K/Akt, yang berperan dalam mengatur keberadaan substrat fosfatase di dalam sel. Akumulasi PI3K/Akt yang terganggu akibat penurunan ekspresi PTEN dapat mempengaruhi inhibisi apoptosis, peningkatan proliferasi, tumorigenesis, dan angiogenesis pada sel kanker.

MiR-21 dapat mempengaruhi resistensi terhadap pengobatan pada kanker. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa hampir semua obat kanker yang diberikan kepada pasien tidak memberikan hasil optimal, dan mekanisme jalur biologi yang terlibat dalam hal ini sangat kompleks. Memahami peran molekul biologi yang terlibat dalam kanker dapat memberikan informasi yang berharga dalam pengembangan model terapi berbasis mikroRNA. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi ekspresi miR-21 dan PTEN berdasarkan tingkat stadium klinis pada sampel plasma darah pasien dengan karsinoma nasofaring.

miR-29c merupakan salah satu anggota keluarga miRNA yang telah diidentifikasi memiliki peran potensial dalam karsinoma nasofaring (KNF). Penelitian terbaru menunjukkan bahwa miR-29c dapat berperan sebagai supresor tumor dalam KNF. miR-29c diketahui memiliki kemampuan untuk menargetkan dan menghancurkan mRNA dari beberapa gen yang terlibat dalam proliferasi sel, invasi, dan metastasis pada kanker, seperti MMPs (*matrix metalloproteinases*) dan VEGF (*vascular endothelial growth factor*). Dengan menekan ekspresi gen-gen ini, miR-29c dapat menghambat kemampuan sel kanker untuk berproliferasi, berinvasi, dan membentuk metastasis.

Selain itu, miR-29c juga dapat menghambat jalur jalur biologi yang berperan dalam resistensi terhadap kemoterapi, seperti jalur PI3K/Akt dan Wnt/ $\beta$ -katenin. Ekspresi miR-29c yang rendah telah dikaitkan dengan peningkatan resistensi terhadap kemoterapi pada pasien KNF, sedangkan peningkatan ekspresi miR-29c dapat meningkatkan sensitivitas sel kanker terhadap kemoterapi.

### **6.3. Perbandingan Ekspresi miR-21 dan miR-29 Pasien Parsial dan Complete Respon**

Sebanyak 44 sampel darah telah dilakukan pemeriksaan pada penelitian ini, terdiri dari 34 sampel yang merupakan pasien KNF yang terinfeksi EBV (Epstein-Barr Virus) dan 10 sampel sebagai kelompok kontrol. Karakteristik pasien yang divalidasi dalam penelitian ini tertera pada Tabel 1. Penelitian ini membagi pasien menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok kontrol, pasien yang belum menerima terapi (kemoterapi dan

radioterapi), dan pasien yang tidak menerima pengobatan. Pasien yang terlibat dalam kelompok pasien KNF memiliki diagnosis histopatologi, patologi klinik, dan hasil uji positif untuk EBV (CA, EA, dan EBNA).

Pada kelompok pasien yang telah diberikan terapi, kami membaginya menjadi dua kelompok, yaitu *Complete Response* (CR) dan *partial response/non-response* (PR). Penilaian respon terhadap terapi dinilai setelah 8-12 minggu pascaterapi menggunakan CT scan NF. Pada pasien dengan CR, mukosa nasofaring menjadi halus, tidak ada massa, dan kelenjar getah bening leher sudah tidak teraba, sedangkan pada pasien dengan PR masih terlihat massa di mukosa nasofaring dan kelenjar getah bening leher masih teraba.

Hubungan antara disregulasi miRNA, patogenesis, dan respons terhadap terapi belum banyak diteliti, terutama pada KNF. Oleh karena itu, peneliti menganalisis ekspresi miR-21 dan miR-29c pada 34 sampel KNF dan 10 plasma kontrol. Kuantifikasi miRNA dilakukan menggunakan primer LNA (lock nucleic acid) oleh exiqon, Denmark. Uji primer LNA qPCR memberikan analisis sensitivitas dan spesifisitas tinggi untuk miRNA dewasa. Analisis kuantifikasi ekspresi miRNA dilakukan dengan metode livak yang menggunakan kuantifikasi relatif dengan membandingkan ekspresi miRNA target dengan gen referensi yang stabil pada masing-masing kelompok.

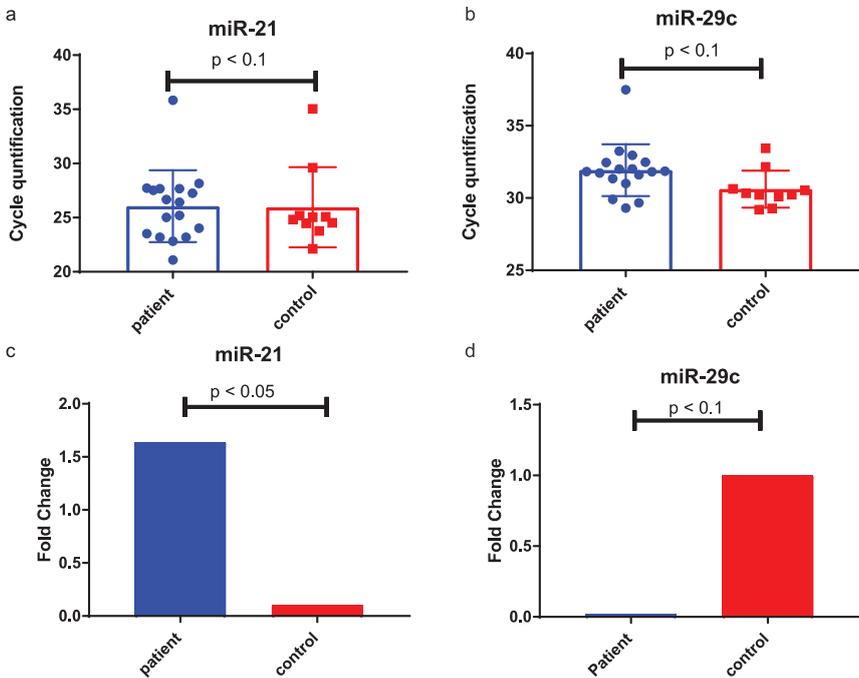
Level ekspresi miRNA yang stabil pada masing-masing kelompok terlihat pada Gambar 1. Disregulasi miR-29c dan miR-21 pada KNF dapat dilihat pada Tabel 2. Pola ekspresi yang spesifik menunjukkan bahwa ekspresi miRNA memiliki spesifisitas tinggi pada jenis sampel dan memberikan respons yang sensitif terhadap terapi, seperti yang terlihat pada Gambar 1 dan 2. miR-21 berperan sebagai oncomir yang meningkatkan ekspresi protein target. Kuantifikasi miR-21 pada pasien KNF diketahui meningkatkan ekspresi sebesar 1,64 ( $P < 0,05$ ) secara signifikan secara statistik. Namun, tidak terdapat perbedaan signifikan pada ekspresi miR-29c yang mengalami penurunan hingga 45 kali lipat dengan nilai fold change sebesar 0,021 ( $p < 0,05$ ).

Tabel 5. Relatif ekspresi miR-21 dan 29c pada kejadian karsinoma nasofaring setelah mendapatkan terapi dengan status complete respons dan partial respons

	Fold Change	P value	
<b>miR-21</b>			
Patient vs control	1,64	P < 0.05	<i>Over expression</i>
post vs Pre therapy	0.095	P < 0.1	<i>Down regulated</i>
CR vs PR	0.255	P < 0.1	<i>Down regulated</i>
<b>miR-29c</b>			
Patient vs control	0.021	P < 0.05	<i>Downregulated</i>
Post vs Pre-therapy	0.79	P < 0.1	<i>Downregulated</i>
CR vs PR	1.118	P < 0.1	<i>Over-Expression</i>

Penilaian respon terhadap terapi dan pemeriksaan ekspresi miRNA dilakukan pada kelompok pasien KNF yang telah menerima terapi. Hasil analisis menunjukkan bahwa pasien KNF yang mengalami *Complete Response* (CR) memiliki ekspresi miR-21 yang lebih rendah daripada pasien yang mengalami *partial response/non-response* (PR). Ekspresi miR-29c lebih tinggi pada pasien KNF yang mengalami CR dibandingkan dengan pasien PR.

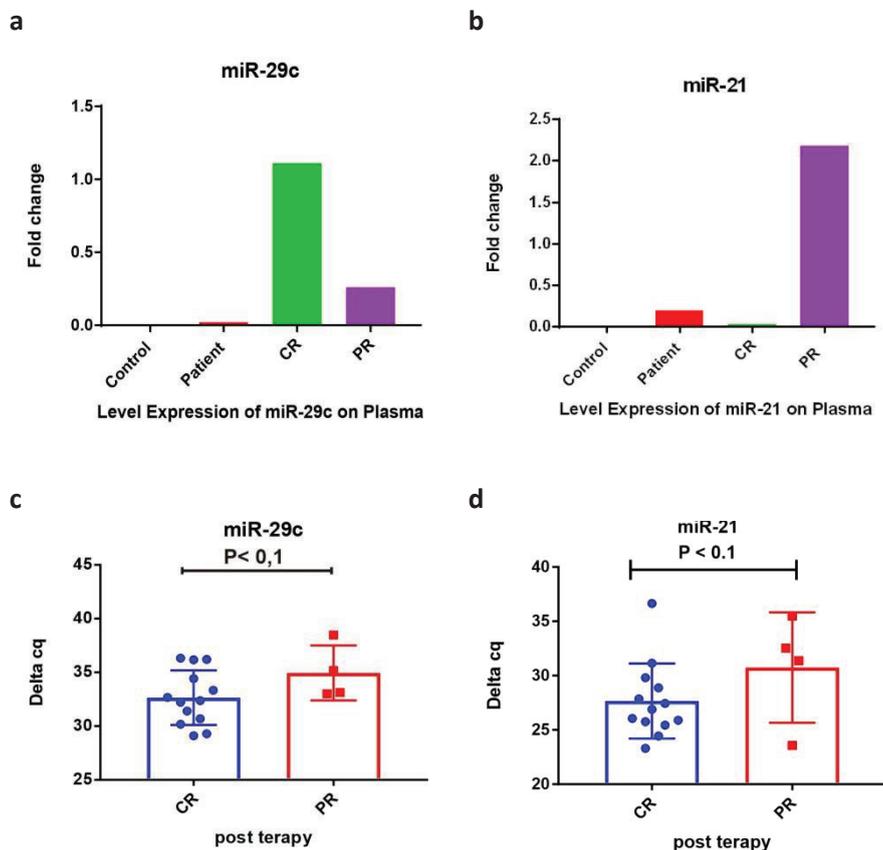
Selain itu, peneliti juga melakukan analisis korelasi antara ekspresi miR-21 dan miR-29c dengan faktor prognostik klinikal pada pasien KNF. Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat korelasi positif antara ekspresi miR-21 dengan stadium klinis KNF ( $p < 0,05$ ), namun tidak terdapat korelasi antara ekspresi miR-29c dengan faktor prognostik klinikal yang diteliti. Pentingnya peran miR-21 dan miR-29c dalam patogenesis dan respons terhadap terapi pada KNF dapat menjadi dasar untuk pengembangan terapi yang lebih efektif pada masa depan. Dalam penelitian ini, kami telah membuktikan bahwa ekspresi miR-21 dan miR-29c dapat berperan sebagai biomarker potensial untuk memprediksi respon terhadap terapi pada pasien KNF. Namun, penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar dan desain penelitian yang lebih kompleks diperlukan untuk mengonfirmasi temuan ini.



Gambar 17. Perbedaan ekspresi miR-21 dan miR 29c pada pasien plasma karsinoma nasofaring dibandingkan kontrol a. Kuantifikasi siklus data qPCR  $p < 0,1$ , b. Kuantifikasi siklus pengukuran qPCR, c. Overekspresi miR-21 pada plasma KNF pasien ( $p < 0,05$ , d. Turunkan ekspir miR-29c pada plasma KNF ( $p < 0,01$ ) (Savitri et al. 2017).

miR-21 dan miR-29c mengalami *disregulasi* pada pasien KNF, miR-21 meningkat dan miR-29c menurun. Pola ekspresi miRNA ini dapat berperan sebagai biomarker potensial dalam memprediksi respon terhadap terapi pada pasien KNF. Hasil penelitian ini dapat memberikan wawasan baru dalam pemahaman patogenesis dan pengelolaan pasien KNF, serta berpotensi sebagai target terapi yang baru pada masa depan.

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan dengan melibatkan lebih banyak sampel pasien KNF, mempertimbangkan faktor prognostik klinis yang lebih lengkap, serta mengintegrasikan analisis miRNA dengan faktor genetik, epigenetik, dan lingkungan lainnya untuk memperoleh pemahaman yang lebih komprehensif tentang peran miR-21 dan miR-29c dalam patogenesis dan respons terhadap terapi pada KNF.



Gambar 18. Hilangnya fungsi miR-21 dan miR-29c pada plasma KNF, level ekspresi miRNA diukur dengan qPCR dan ekspresi level kuantifikasi dilakukan Metode Livak. Level ekspresi miRNA memiliki pola ekspresi masing-masing kelompok sampel, a. Ekspresi miR-29c mengalami respon positif pada pasien post terapi (CR) dan memberikan pola respon negatif pada pasien Post terapi (PR). B. Ekspresi miR-21 telah turun diatur setelah perawatan dengan respons lengkap, c-d, Delta cq telah menggambarkan ekspresi miR-21 dan miR-29c setelah normalisasi oleh gen Referensi (wardana et al. 2016).



## DAFTAR PUSTAKA

- Abad MJ, Bessa AL, Ballarin B, Arag??n O, Gonzales E, Bermejo P, Adler LSS, Albrecht H, Yoder JJI, Phillips D, et al. 2014. Perfil metabólico y marcadores químicos de *Castilleja tenuiflora* Benth . en diferente altitud. *J Ethnopharmacol.* 20(1).
- Abusalah MAH, Gan SH, Al-hatamleh MAI, Irekeola AA, Shueb RH, Yean CY. 2020. Recent advances in diagnostic approaches for epstein–barr virus. *Pathogens.* 9(3):226. doi:10.3390/pathogens9030226.
- Adham M, Greijer AE, Verkuijlen SAWM, Juwana H, Fleig S, Rachmadi L, Malik O, Kurniawan AN, Roezin A, Gondhowiardjo S, et al. 2013. Epstein-barr virus DNA load in nasopharyngeal brushings and whole blood in nasopharyngeal carcinoma patients before and after treatment. *Clin Cancer Res.* 19(8):2175–2186. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-2897.
- Adham M, Kurniawan AN, Muhtadi AI, Roezin A, Hermani B, Gondhowiardjo S, Bing Tan I, Middeldorp JM. 2012. Nasopharyngeal carcinoma in indonesia: Epidemiology, incidence, signs, and symptoms at presentation. *Chin J Cancer.* 32(4):185–196. doi:10.5732/cjc.011.10328.
- Aguayo F, Boccardo E, Corvalán A, Calaf GM, Blanco R. 2021. Interplay between Epstein-Barr virus infection and environmental xenobiotic exposure in cancer. *Infect Agent Cancer.* 16(1):50. doi:10.1186/s13027-021-00391-2.
- Al-Sarraf M. 2002. Treatment of locally advanced head and neck cancer: Historical and critical review. *Cancer Kontrol.* 9(5):387–399. doi:10.1177/107327480200900504.
- Allen Chan KC, Dennis Lo YM. 2002. Circulating EBV DNA as a tumor marker for nasopharyngeal carcinoma. *Semin Cancer Biol.* 12(6):489–496. doi:10.1016/S1044579X02000913.
- Amoroso R, Fitzsimmons L, Thomas WA, Kelly GL, Rowe M, Bell AI. 2011. Quantitative Studies of Epstein-Barr Virus-Encoded MicroRNAs Provide Novel Insights into Their Regulation. *J Virol.* 85(2):996–1010. doi:10.1128/jvi.01528-10.

- Anwar SL, Tanjung DS, Fitria MS, Kartika AI, Sari DNI, Rakhmina D, Wardana T, Astuti I, Haryana SM, Aryandono T. 2020. Dynamic Changes of Circulating Mir-155 Expression and the Potential Application as a Non-Invasif Biomarker in Breast Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 21(2):491–497. doi:10.31557/APJCP.2020.21.2.491.
- Anwar SLSLSL, Sari DNIDNI, Kartika AIAI, Fitria MSMS, Tanjung DSDS, Rakhmina D, Wardana T, Astuti I, Haryana SMSM, Aryandono T. 2019. Upregulation of circulating MiR-21 expression as a potential biomarker for therapeutic monitoring and clinical outcome in breast cancer. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 20(4):1223–1228. doi:10.31557/APJCP.2019.20.4.1223.
- Aqeilan RI, Calin GA, Croce CM. 2010. MiR-15a and miR-16-1 in cancer: Discovery, function and future perspectives. *Cell Death Differ.* doi:10.1038/cdd.2009.69.
- Arfin S, Jha NK, Jha SK, Kesari KK, Ruokolainen J, Roychoudhury S, Rathi B, Kumar D. 2021. Oxidative stress in cancer cell metabolism. *Antioxidants.* 10(5). doi:10.3390/antiox10050642.
- Ashrafizadeh M, Zarrabi A, Hushmandi K, Hashemi Farid, Moghadam ER, Owrang M, Hashemi Fardin, Makvandi P, Goharrizi MASB, Najafi M, et al. 2021. Lung cancer cells and their sensitivity/resistance to cisplatin chemotherapy: Role of microRNAs and upstream mediators. *Cell Signal.* 78:109871. doi:10.1016/j.cellsig.2020.109871.
- Baba Y, Iyama KI, Ikeda K, Ishikawa S, Hayashi N, Miyanari N, Sado Y, Ninomiya Y, Baba H. 2008. The expression of type IV collagen  $\alpha 6$  chain is related to the prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol.* doi:10.1245/s10434-007-9592-4.
- Bakkalci D, Jia Y, Winter JR, Lewis JEA, Taylor GS, Stagg HR. 2020. Risk factors for Epstein Barr virus-associated cancers: A systematic review, critical appraisal, and mapping of the epidemiological evidence. *J Glob Health.* 10(1). doi:10.7189/jogh.10.010405.
- Barukcic I. 2019. Epstein Barr Virus and Atrial Fibrillation. *Mod Heal Sci.* 2(1):p1. doi:10.30560/mhs.v2n1p1.
- Bauer M, Jasinski-Bergner S, Mandelboim O, Wickenhauser C, Seliger B. 2021. Epstein–barr virus—associated malignancies and

- immune escape: The role of the tumor microenvironment and tumor cell evasion strategies. *Cancers (Basel)*. 13(20):5189. doi:10.3390/cancers13205189.
- Berindan-Neagoe I, Monroig P del C, Pasculli B, Calin GA. 2014. MicroRNAome genome: A treasure for cancer diagnosis and therapy. *CA Cancer J Clin*. 64(5):311–336. doi:10.3322/caac.21244.
- Bhindi B, Karnes RJ, Rangel L, Mason R, Gettman M, Frank I, Tollefson M, Thompson RH, Boorjian S. 2017. MP20-01 VALIDATION OF THE AMERICAN JOINT COMMITTEE ON CANCER (AJCC) 8 TH EDITION PROSTATE CANCER STAGING SYSTEM. *J Urol*. 197(4S). doi:10.1016/j.juro.2017.02.633.
- Boga JA, Coto-Montes A, Rosales-Corral SA, Tan DX, Reiter RJ. 2012. Beneficial actions of melatonin in the management of viral infections: A new use for this “molecular handyman”? *Rev Med Virol*. 22(5):323–338. doi:10.1002/rmv.1714.
- Bossi P, Chan AT, Licitra L, Trama A, Orlandi E, Hui EP, Halámková J, Mattheis S, Baujat B, Hardillo J, et al. 2021. Nasopharyngeal carcinoma: ESMO-EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 32(4):452–465. doi:10.1016/j.annonc.2020.12.007.
- Bozok Çetintaş V, Tetik Vardarlı A, Düzgün Z, Tezcanlı Kaymaz B, Açıkgöz E, Aktuğ H, Kosova Can B, Gündüz C, Eroğlu Z. 2016. miR-15a enhances the anticancer effects of cisplatin in the resistant non-small cell lung cancer cells. *Tumor Biol*. doi:10.1007/s13277-015-3950-9.
- Brooks JD. 2012. Translational genomics: The challenge of developing cancer biomarkers. *Genome Res*. 22(2):183–187. doi:10.1101/gr.124347.111.
- Cai L, Li J, Zhang X, Lu Y, Wang J, Lyu X, Chen Y, Liu J, Cai H, Wang Y, et al. 2015. Gold nano-particles (AuNPs) carrying anti-EBV-miR-BART7-3p inhibit growth of EBV-positive nasopharyngeal carcinoma. *Oncotarget*. 6(10):7838–7850. doi:10.18632/oncotarget.3046.
- Cao X, Allu SR, Jiang S, Gunn, BS JR, Yao, PhD C, Xin, PhD J, Bruza, PhD P, Gladstone, ScD DJ, Jarvis, MD, PhD LA, Tian, PhD J, et al. 2021. High-Resolution pO<sub>2</sub> Imaging Improves Quantification of the Hypoxic Fraction in Tumors During Radiation Therapy. *Int*

- J Radiat Oncol Biol Phys. 109(2):603–613. doi:10.1016/j.ijrobp.2020.09.046.
- Cao X, Hou J, An Q, Assaraf YG, Wang X. 2020. Towards the overcoming of anticancer drug resistance mediated by p53 mutations. *Drug Resist Updat.* 49:100671. doi:10.1016/j.drup.2019.100671.
- Chabre O, Libé R, Assie G, Barreau O, Bertherat J, Bertagna X, Feige JJ, Cherradi N. 2013. Serum miR-483-5p and miR-195 are predictive of recurrence risk in adrenocortical cancer patients. *Endocr Relat Cancer.* 20(4):579–594. doi:10.1530/ERC-13-0051.
- Chakravorty S, Afzali B, Kazemian M. 2022. EBV-associated diseases: Current therapeutics and emerging technologies. *Front Immunol.* 13. doi:10.3389/fimmu.2022.1059133.
- Chan ATC, Teo PML, Johnson PJ. 2002. Nasopharyngeal carcinoma. *Ann Oncol.* 13(7):1007–1015. doi:10.1093/annonc/mdf179.
- Chan JYW, Gao W, Ho WK, Wei WI, Wong TS. 2012. Overexpression of epstein-barr virus-encoded microRNA-BART7 in undifferentiated nasopharyngeal carcinoma. *Anticancer Res.* 32(8):3201–10.
- Chen J, Hu C, Pan P. 2017. Extracellular vesicle microRNA transfer in lung diseases. *Front Physiol.* 8(DEC). doi:10.3389/fphys.2017.01028.
- Chen X, Xu X, Pan B, Zeng K, Xu M, Liu X, He B, Pan Y, Sun H, Wang S. 2018. miR-150-5p suppresses tumor progression by targeting VEGFA in colorectal cancer. *Aging (Albany NY).* 10(11):3421–3437. doi:10.18632/aging.101656.
- Chen Y, Liang W, Liu K, Shang Z. 2021. FOXD1 promotes EMT and cell stemness of oral squamous cell carcinoma by transcriptional activation of SNAI2. *Cell Biosci.* 11(1). doi:10.1186/s13578-021-00671-9.
- Chene A, Donati D, Orem J, Mbidde ER, Kironde F, Wahlgren M, Bejarano MT. 2009. Endemic Burkitt's lymphoma as a polymicrobial disease. New insights on the interaction between *Plasmodium falciparum* and Epstein-Barr virus. *Semin Cancer Biol.* 19(6):411–420. doi:10.1016/j.semcancer.2009.10.002.
- Chou J, Lin YC, Kim J, You L, Xu Z, He B, Jablons DM. 2008. Nasopharyngeal carcinoma - Review of the molecular

- mechanisms of tumorigenesis. *Head Neck*. 30(7):946–963. doi:10.1002/hed.20833.
- Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio M V., Ferracin M, Shimizu M, Wojcik SE, Aqeilan RI, Zupo S, Dono M, et al. 2005. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. doi:10.1073/pnas.0506654102.
- Cohen EEW, Zhu H, Lingen MW, Martin LE, Kuo WL, Choi EA, Kocherginsky M, Parker JS, Chung CH, Rosner MR. 2009. A feed-forward loop involving protein kinase C $\alpha$  and microRNAs regulates tumor cell cycle. *Cancer Res*. doi:10.1158/0008-5472.CAN-08-0377.
- Cortez MA, Bueso-Ramos C, Ferdin J, Lopez-Berestein G, Sood AK, Calin GA. 2011. MicroRNAs in body fluids-the mix of hormones and biomarkers. *Nat Rev Clin Oncol*. 8(8):467–477. doi:10.1038/nrclinonc.2011.76.
- Cosmopoulos K, Pegtel M, Hawkins J, Moffett H, Novina C, Middeldorp J, Thorley-Lawson DA. 2009. Comprehensive Profiling of Epstein-Barr Virus MicroRNAs in Nasopharyngeal Carcinoma. *J Virol*. 83(5):2357–67. doi:10.1128/jvi.02104-08.
- Crawford DH. 2001. Biology and disease associations of Epstein-Barr virus. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 356(1408):461–473. doi:10.1098/rstb.2000.0783.
- Cullen BR. 2011. Viruses and microRNAs: RISCy interactions with serious consequences. *Genes Dev*. 25(18):1881–1894. doi:10.1101/gad.17352611.
- Daaboul HE, Dagher C, Taleb RI, Bodman-Smith K, Shebaby WN, El-Sibai M, Mroueh MA, Daher CF. 2019.  $\beta$ -2-Himachalen-6-ol inhibits 4T1 cells-induced metastatic triple negative breast carcinoma in murine model. *Chem Biol Interact*. 309. doi:10.1016/j.cbi.2019.06.016.
- Damiani G, Calzavara-Pinton P, Stingeni L, Hansel K, Cusano F, Pigatto PDM, Huo Y, Li SS, Liu J, Li X, et al. 2019. Viral immune modulators perturb the human molecular network by common and unique strategies. *Nat Neurosci*. 10(1).
- Derakhshani A, Silvestris N, Hemmat N, Asadzadeh Z, Shadbad MA, Nourbakhsh NS, Mobasher L, Vahedi P, Shahmirzaie M, Brunetti O, et al. 2020. Targeting TGF- $\beta$ -Mediated SMAD Signaling pathway via novel recombinant cytotoxin II: A potent

- protein from naja naja oxiana venom in Melanoma. *Molecules*. 25(21):5148. doi:10.3390/molecules25215148.
- Devasthanam AS, Tomasi TB. 2014. Dicer in immune cell development and function. *Immunol Invest*. 43(2):182–195. doi:10.3109/08820139.2013.863557.
- Diniz MG, de Fatima Correia Silva J, de Souza FTA, Pereira NB, Gomes CC, Gomez RS. 2015. Association between cell cycle gene transcription and tumor size in oral squamous cell carcinoma. *Tumor Biol*. 36(12):9717–9722. doi:10.1007/s13277-015-3735-1.
- Dong Y, Zhao J, Wu CW, Zhang L, Liu X, Kang W, Leung WW, Zhang N, Chan FKL, Sung JJY, et al. 2013. Tumor suppressor functions of miR-133a in colorectal cancer. *Mol Cancer Res*. 11(9):1051–1060. doi:10.1158/1541-7786.MCR-13-0061.
- Dwijayanti F, Prabawa A, Besral, Herawati C. 2020. The Five-Year Survival Rate of Patients with Nasopharyngeal Carcinoma Based on Tumor Response after Receiving Neoadjuvant Chemotherapy, Followed by Chemoradiation, in Indonesia: A Retrospective Study. *Oncol*. 98(3):154–160. doi:10.1159/000504449.
- Edwards RH, Marquitz AR, Raab-Traub N. 2008. Epstein-Barr Virus BART MicroRNAs Are Produced from a Large Intron prior to Splicing. *J Virol*. 82(18):9094–9106. doi:10.1128/jvi.00785-08.
- El-Sharkawy A, Al Zaidan L, Malki A. 2018. Epstein-Barr virus-associated malignancies: Roles of viral oncoproteins in carcinogenesis. *Front Oncol*. 8(AUG). doi:10.3389/fonc.2018.00265.
- Enok Bonong PR, Buteau C, Delage G, Tanner JE, Lacroix J, Duval M, Laporte L, Tucci M, Robitaille N, Spinella PC, et al. 2021. Transfusion-related Epstein-Barr virus (EBV) infection: A multicenter prospective cohort study among pediatric recipients of hematopoietic stem cell transplants (TREASuRE study). *Transfusion*. 61(1):144–158. doi:10.1111/trf.16149.
- Esteller M. 2008. Molecular origins of cancer: Epigenetics in cancer. *N Engl J Med*. 358(11):1148–1159. doi:10.1056/NEJMra072067.
- Fan C, Tang Y, Wang J, Xiong F, Guo C, Wang Y, Xiang B, Zhou M, Li Xiayu, Wu X, et al. 2018. The emerging role of Epstein-Barr virus encoded microRNAs in nasopharyngeal carcinoma. *J Cancer*. 9(16):2852–2864. doi:10.7150/jca.25460.

- Fan H, Li H, Liu G, Cong W, Zhao H, Cao W, Zheng J. 2017. Doxorubicin combined with low intensity ultrasound suppresses the growth of oral squamous cell carcinoma in culture and in xenografts. *J Exp Clin Cancer Res.* 36(1):163. doi:10.1186/s13046-017-0633-y.
- Feldheim J, Kessler AF, Monoranu CM, Ernestus RI, Löhr M, Hagemann C. 2019. Changes of o6-methylguanine dna methyltransferase (Mgmt) promoter methylation in glioblastoma relapse—a meta-analysis type literature review. *Cancers (Basel).* 11(12). doi:10.3390/cancers11121837.
- Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, Bray F. 2019. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer.* 144(8):1941–1953. doi:10.1002/ijc.31937.
- Fernandez AF, Rosales C, Lopez-Nieva P, Graña O, Ballestar E, Ropero S, Espada J, Melo SA, Lujambio A, Fraga MF, et al. 2009. The dynamic DNA methylomes of double-stranded DNA viruses associated with human cancer. *Genome Res.* 19(3):438–451. doi:10.1101/gr.083550.108.
- Fierti AO, Yakass MB, Okertchiri EA, Adadey SM, Quaye O. 2022. The Role of Epstein-Barr Virus in Modulating Key Tumor Suppressor Genes in Associated Malignancies: Epigenetics, Transcriptional, and Post-Translational Modifications. *Biomolecules.* 12(1). doi:10.3390/biom12010127.
- Foessl I, Kotzbeck P, Obermayer-Pietsch B. 2019. miRNAs as novel biomarkers for bone related diseases. *J Lab Precis Med.* 4(2). doi:10.21037/jlpm.2018.12.06.
- Foo W, Ngan RKC, Law CK, Yiu HHY, Tse KC, Lau WH, Yau S, Cheung FY, Chan TM, Kwok CH, et al. 2002. Combination gemcitabine and cisplatin chemotherapy for metastatic or recurrent nasopharyngeal carcinoma: Report of a phase II study. *Ann Oncol.* 13(8):1252–1258. doi:10.1093/annonc/mdf200.
- Fugl A, Andersen CL. 2019. Epstein-Barr virus and its association with disease - A review of relevance to general practice. *BMC Fam Pract.* 20(1). doi:10.1186/s12875-019-0954-3.
- Gan CZ, Li G, Luo QS, Li HM. 2017. miR-339-5p downregulation contributes to Taxol resistance in small-cell lung cancer by targeting  $\alpha$ 1,2-fucosyltransferase 1. *IUBMB Life.* 69(11):841–849. doi:10.1002/iub.1679.

- Gangwar RS, Rajagopalan S, Natarajan R, Deiullis JA. 2018. Noncoding RNAs in Cardiovascular Disease: Pathological Relevance and Emerging Role as Biomarkers and Therapeutics. *Am J Hypertens.* 31(2):150–165. doi:10.1093/ajh/hpx197.
- Gao Y, Huang HQ, Bai B, Cai QC, Wang XX, Cai QQ. 2014. Treatment outcome of docetaxel, capecitabine and cisplatin regimen for patients with refractory and relapsed nasopharyngeal carcinoma who failed previous platinum-based chemotherapy. *Expert Opin Pharmacother.* 15(2):163–171. doi:10.1517/14656566.2014.866652.
- García-López J, Briño-Enríquez MA, Del Mazo J. 2013. MicroRNA biogenesis and variability. *Biomol Concepts.* 4(4):367–380. doi:10.1515/bmc-2013-0015.
- Gequelin LCF, Riediger IN, Nakatani SM, Biondo AW, Bonfim CM. 2011. Epstein-Barr virus: General factors, virus-related diseases and measurement of viral load after transplant. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 33(5):383–388. doi:10.5581/1516-8484.20110103.
- Ghafouri-Fard S, Abak A, Tondro Anamag F, Shoorei H, Fattahi F, Javadinia SA, Basiri A, Taheri M. 2021. 5-Fluorouracil: A Narrative Review on the Role of Regulatory Mechanisms in Driving Resistance to This Chemotherapeutic Agent. *Front Oncol.* 11:1210. doi:10.3389/fonc.2021.658636.
- Gilad S, Meiri E, Yogev Y, Benjamin S, Lebanony D, Yerushalmi N, Benjamin H, Kushnir M, Cholakh H, Melamed N, et al. 2008. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS One.* 3(9):e3148. doi:10.1371/journal.pone.0003148. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003148>.
- Gou D, Ramchandran R, Peng X, Yao L, Kang K, Sarkar J, Wang Z, Zhou G, Usha Raj J. 2012. Mir-210 has an antiapoptotic effect in pulmonary artery smooth muscle cells during hypoxia. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol.* 303(8). doi:10.1152/ajplung.00344.2011.
- Gourzones C, Gelin A, Bombik I, Klibi J, Vérillaud B, Guigay J, Lang P, Témam S, Schneider V, Amiel C, et al. 2010. Extra-cellular release and blood diffusion of BART viral micro-RNAs produced by EBV-infected nasopharyngeal carcinoma cells. *Virol J.* 7(7):271. doi:10.1186/1743-422X-7-271.

- Gupta MK, Qin RY. 2003. Mechanism and its regulation of tumor-induced angiogenesis. *World J Gastroenterol.* 9(6):1144–1155. doi:10.3748/wjg.v9.i6.1144.
- Hadi AM, Mohammed SH, Jebor MA. 2015. Molecular localization of Epstein-Barr virus and BCL-2 expression in tissues from patients infected with nasopharyngeal tumors. *Res J Pharm Biol Chem Sci.* 6(5):1050–1063.
- Hartwig A, Arand M, Epe B, Guth S, Jahnke G, Lampen A, Martus HJ, Monien B, Rietjens IMCM, Schmitz-Spanke S, et al. 2020. Mode of action-based risk assessment of genotoxic carcinogens. *Arch Toxicol.* 94(6):1787–1877. doi:10.1007/s00204-020-02733-2.
- Hatton OL, Harris-Arnold A, Schaffert S, Krams SM, Martinez OM. 2014. The interplay between Epstein-Barr virus and B lymphocytes: Implications for infection, immunity, and disease. *Immunol Res.* 58(2–3):268–276. doi:10.1007/s12026-014-8496-1.
- Hawkins JB, Delgado-Eckert E, Thorley-Lawson DA, Shapiro M. 2013. The Cycle of EBV Infection Explains Persistence, the Sizes of the Infected Cell Populations and Which Come under CTL Regulation. *PLoS Pathog.* 9(10). doi:10.1371/journal.ppat.1003685.
- He T, Yan RN, Chen HY, Zeng YY, Xiang ZZ, Liu F, Shao BF, Ma JC, Wang XR, Liu L. 2021. Comparing the 7th and 8th editions of UICC/AJCC staging system for nasopharyngeal carcinoma in the IMRT era. *BMC Cancer.* 21(1). doi:10.1186/s12885-021-08036-8.
- Herawati C. 2019. CLINICAL SIGNIFICANCE OF PLASMA MIR-21 , MIR-141 , MIR-29C , AND MIR-BART7 IN PATIENTS WITH LOCALLY ADVANCED NASOPHARYNGEAL CANCER AND THEIR ALTERATIONS AFTER CHEMORADIATION THERAPY. 01(02):45–49. doi:10.32734/ijKNF.v1i2.1136.
- Hosokawa K, Muranski P, Feng X, Keyvanfar K, Townsley DM, Dumitriu B, Chen J, Kajigaya S, Taylor JG, Hourigan CS, et al. 2015. Identification of novel microRNA signatures linked to acquired aplastic anemia. *Haematologica.* 100(12):1534–1545. doi:10.3324/haematol.2015.126128.
- Huang D, Zhu X, Wang Y, Yu H, Pu Y. 2020. Long *non-coding* RNA FAM133B-2 represses the radio-resistance of nasopharyngeal

- cancer cells by targeting miR-34a-5p/CDK6 axis. *Aging* (Albany NY). 12(17):16936–16950. doi:10.18632/AGING.103600.
- Hui ABY, Lenarduzzi M, Krushel T, Waldron L, Pintilie M, Shi W, Perez-Ordóñez B, Jurisica I, O’Sullivan B, Waldron J, et al. 2010. Comprehensive MicroRNA profiling for head and neck squamous cell carcinomas. *Clin Cancer Res.* 16(4):1129–1139. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-2166.
- Hummel R, Sie C, Watson DI, Wang T, Ansar A, Michael MZ, Van Der Hoek M, Haier J, Hussey DJ. 2014. MicroRNA signatures in chemotherapy resistant esophageal cancer cell lines. *World J Gastroenterol.* 20(40):14904–14912. doi:10.3748/wjg.v20.i40.14904.
- Huo H, Hu G. 2019. CRISPR/Cas9-mediated LMP1 knockout inhibits Epstein-Barr virus infection and nasopharyngeal carcinoma cell growth. *Infect Agent Cancer.* 14(1). doi:10.1186/s13027-019-0246-5.
- Hutajulu SH, Howdon D, Taroeno-Hariadi KW, Hardianti MS, Purwanto I, Indrasari SR, Herdini C, Hariwiyanto B, Ghozali A, Kusumo H, et al. 2021. Survival outcome and prognostic factors of patients with nasopharyngeal cancer in Yogyakarta, Indonesia: A hospital-based retrospective study. *PLoS One.* 16(2 February):e0246638. doi:10.1371/journal.pone.0246638.
- Hutajulu SH, Indrasari SR, Indrawati LPL, Harijadi A, Duin S, Haryana SM, Steenbergen RDM, Greijer AE, Middeldorp JM. 2011. Epigenetic markers for early detection of nasopharyngeal carcinoma in a high risk population. *Mol Cancer.* 10(1):1–9. doi:10.1186/1476-4598-10-48.
- Hutajulu SH, Kurnianda J, Tan IB, Middeldorp JM. 2014. Therapeutic implications of Epstein–Barr virus infection for the treatment of nasopharyngeal carcinoma. *Ther Clin Risk Manag.* 10:721–736. doi:10.2147/TCRM.S47434.
- Jamali Z, Aminabadi NA, Attaran R, Pournagiazar F, Oskouei SG, Ahmadpour F. 2015. MicroRNAs as prognostic molecular signatures in human head and neck squamous cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncol.* 51(4):321–331. doi:10.1016/j.oraloncology.2015.01.008.
- Kahraman M, Röske A, Laufer T, Fehlmann T, Backes C, Kern F, Kohlhaas J, Schrörs H, Saiz A, Zabler C, et al. 2018. MicroRNA

- in diagnosis and therapy monitoring of early-stage triple-negative breast cancer. *Sci Rep.* 8(1). doi:10.1038/s41598-018-29917-2.
- Kang H, Kiess A, Chung CH. 2015. Emerging biomarkers in head and neck cancer in the era of genomics. *Nat Rev Clin Oncol.* 12(1):11–26. doi:10.1038/nrclinonc.2014.192.
- Kang HJ, Lee IS, Park YS, Ho WJ, Sohn DH, Ahn JY, Yook JH, Kim BS. 2016. Biomarkers of EBV-positive Gastric Cancers: Loss of PTEN Expression is Associated with Poor Prognosis and Nodal Metastasis. *Ann Surg Oncol.* 23(11):3684–3692. doi:10.1245/s10434-016-5284-2.
- Kang M, Zhou P, Li G, Yan H, Feng G, Liu M, Zhu J, Wang R. 2017. Validation of the 8th edition of the UICC/AJCC staging system for nasopharyngeal carcinoma treated with intensity-modulated radiotherapy. *Oncotarget.* 8(41):70586–70594. doi:10.18632/oncotarget.19829.
- Karimi Dermani F, Najafi R. 2018. miR-200c as a Predictive Biomarker for 5-Fluorouracil Chemosensitivity in Colorectal Cancer. *J Gastrointest Cancer.* 49(1):102–103. doi:10.1007/s12029-017-0038-3.
- Kato M, Paranjape T, Ullrich R, Nallur S, Gillespie E, Keane K, Esquela-Kerscher A, Weidhaas JB, Slack FJ. 2009. The mir-34 microRNA is required for the DNA damage response in vivo in *C. elegans* and in vitro in human breast cancer cells. *Oncogene.* 28(25):2419–2424. doi:10.1038/onc.2009.106.
- Kim KY, Le QT, Yom SS, Pinsky BA, Bratman S V., Ng RHW, El Mubarak HS, Chan KCA, Sander M, Conley BA. 2017. Current state of PCR-based Epstein-barr virus DNA testing for nasopharyngeal cancer. *J Natl Cancer Inst.* 109(4). doi:10.1093/jnci/djx007.
- Kliszczewska E, Jarzyński A, Boguszewska A, Pasternak J, Polz-Dacewicz M. 2017. Epstein-Barr Virus – pathogenesis, latency and cancers. *J Pre-Clinical Clin Res.* 11(2):142–146. doi:10.26444/jpccr/81214.
- Krol J, Loedige I, Filipowicz W. 2010. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet.* 11(9):597–610. doi:10.1038/nrg2843.
- Lajer CB, Nielsen FC, Friis-Hansen L, Norrild B, Borup R, Garnæs E, Rossing M, Specht L, Therkildsen MH, Nauntofte B, et al. 2011.

- Different miRNA signatures of oral and pharyngeal squamous cell carcinomas: A prospective translational study. *Br J Cancer*. 104(5):830–840. doi:10.1038/bjc.2011.29.
- Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, Devon K, Dewar K, Doyle M, Fitzhugh W, et al. 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 409(6822):860–921. doi:10.1038/35057062.
- Lao TD, Nguyen MT, Nguyen DH, Le TAH. 2021. Upregulation of mirna-155 in nasopharyngeal carcinoma patients. *Iran J Public Health*. 50(8):1642–1647. doi:10.18502/ijph.v50i8.6810.
- Lee AWM, Lin JC, Ng WT. 2012. Current Management of Nasopharyngeal Cancer. *Semin Radiat Oncol*. 22(3):233–244. doi:10.1016/j.semradonc.2012.03.008.
- Lee H, Zhang D, Wu J, Otterbein LE, Jin Y. 2017. Lung Epithelial Cell–Derived Microvesicles Regulate Macrophage Migration via MicroRNA-17/221–Induced Integrin  $\beta$ 1 Recycling. *J Immunol*. 199(4):1453–1464. doi:10.4049/jimmunol.1700165.
- Li G, Liu Y, Su Z, Ren S, Zhu G, Tian Y, Qiu Y. 2013. MicroRNA-324-3p regulates nasopharyngeal carcinoma radioresistance by directly targeting WNT2B. *Eur J Cancer*. 49(11):2596–2607. doi:10.1016/j.ejca.2013.03.001.
- Li P, Huang P, Yang Y, Hao M, Peng H, Li F. 2016. Updated Understanding of Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome (ALPS). *Clin Rev Allergy Immunol*. 50(1):55–63. doi:10.1007/s12016-015-8466-y.
- Li XD, Li XM, Gu JW, Sun XC. 2017. MiR-155 regulates lymphoma cell proliferation and apoptosis through targeting SOCS3/JAK-STAT3 signaling pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 21(22):5153–5159. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29228427/>.
- Lin Z, Flemington EK. 2011. MiRNAs in the pathogenesis of oncogenic human viruses. *Cancer Lett*. 305(2):186–99. doi:10.1016/j.canlet.2010.08.018.
- Liu B, Cao G, Dong Z, Guo T. 2019. Effect of microRNA-27b on cisplatin chemotherapy sensitivity of oral squamous cell carcinoma via FZD7 signaling pathway. *Oncol Lett*. 18(1):667–673. doi:10.3892/ol.2019.10347.

- Livak KJ, Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. *Methods*. 25(4):402–8. doi:10.1006/meth.2001.1262.
- Lo AKF, Kwok W Lo, Sai WT, Hing LW, Hui JWY, Ka FT, Hayward SD, Yiu LC, Yu LL, Takada K, et al. 2006. Epstein-Barr virus infection alters cellular signal cascades in human nasopharyngeal epithelial cells. *Neoplasia*. 8(3):173–180. doi:10.1593/neo.05625.
- Looi CK, Hii LW, Chung FFL, Mai CW, Lim WM, Leong CO. 2021. Roles of inflammasomes in Epstein-Barr virus-associated nasopharyngeal cancer. *Cancers (Basel)*. 13(8). doi:10.3390/cancers13081786.
- Lu J, He ML, Wang L, Chen Y, Liu X, Dong Q, Chen YC, Peng Y, Yao KT, Kung HF, et al. 2011. MiR-26a inhibits cell growth and tumorigenesis of nasopharyngeal carcinoma through repression of EZH2. *Cancer Res*. doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-1850.
- Lung RWM, Hau PM, Yu KHO, Yip KY, Tong JHM, Chak WP, Chan AWH, Lam KH, Lo AKF, Tin EKY, et al. 2018. EBV-encoded miRNAs target ATM-mediated response in nasopharyngeal carcinoma. *J Pathol*. 244(4):394–407. doi:10.1002/path.5018.
- Luo Q, Li X, Li J, Kong X, Zhang J, Chen L, Huang Y, Fang L. 2013. MiR-15a is underexpressed and inhibits the cell cycle by targeting CCNE1 in breast cancer. *Int J Oncol*. doi:10.3892/ijo.2013.2034.
- Lv JX, Zhou J, Tong RQ, Wang B, Chen XL, Zhuang YY, Xia F, Wei XD. 2019. Hypoxia-induced miR-210 contributes to apoptosis of mouse spermatocyte GC-2 cells by targeting Kruppel-like factor 7. *Mol Med Rep*. 19(1):271–279. doi:10.3892/mmr.2018.9644.
- Ma L, Bajic VB, Zhang Z. 2013. On the classification of long *non-coding* RNAs. *RNA Biol*. 10(6):924–933. doi:10.4161/rna.24604.
- Ma Y, Wang B, Jiang F, Wang D, Liu H, Yan Y, Dong H, Wang F, Gong B, Zhu Y, et al. 2013. A Feedback Loop Consisting of MicroRNA 23a/27a and the  $\beta$ -Like Globin Suppressors KLF3 and SP1 Regulates Globin Gene Expression. *Mol Cell Biol*. 33(20):3994–4007. doi:10.1128/mcb.00623-13.
- Maatman TK, Aversa J, Flick K, Allen SL, Ceppa EP, Nakeeb A, Nguyen TK, Schmidt CM, Zyromski NJ, House MG. 2021. 640 THE ROLE OF EXTENDED PORTAL LYMPHADENECTOMY DURING HEPATECTOMY FOR

INTRAHEPATIC CHOLANGIOCARCINOMA.  
Gastroenterology. 160(6):S-897-S-898. doi:10.1016/s0016-5085(21)02881-x.

- Mahdavifar N, Ghoncheh M, Mohammadian-Hafshejani A, Khosravi B, Salehiniya H. 2016. Epidemiology and Inequality in the Incidence and Mortality of Nasopharynx Cancer in Asia. *Osong Public Heal Res Perspect.* 7(6). doi:10.1016/j.phrp.2016.11.002.
- Makowska A, Meier S, Shen L, Busson P, Baloch V, Kontny U. 2021. Anti-PD-1 antibody increases NK cell cytotoxicity towards nasopharyngeal carcinoma cells in the context of chemotherapy-induced upregulation of PD-1 and PD-L1. *Cancer Immunol Immunother.* 70(2):323–336. doi:10.1007/s00262-020-02681-x.
- Mangold CA, Rathbun MM, Renner DW, Kuny C V., Szpara ML. 2021. Viral infection of human neurons triggers strain-specific differences in host neuronal and viral transcriptomes. *PLoS Pathog.* 17(3):e1009441. doi:10.1371/journal.ppat.1009441.
- Marcus KJ, Tishler RB. 2010. Head and Neck Carcinomas Across the Age Spectrum: Epidemiology, Therapy, and Late Effects. *Semin Radiat Oncol.* 20(1):52–57. doi:10.1016/j.semradonc.2009.09.004.
- Marquitz AR, Raab-Traub N. 2012. The role of miRNAs and EBV BARTs in KNF. *Semin Cancer Biol.* 22(2):166–172. doi:10.1016/j.semcancer.2011.12.001.
- Marwarha G, Røsand Ø, Scrimgeour N, Slagsvold KH, Høydal MA. 2022. Mir-210 regulates apoptotic cell death during cellular hypoxia and reoxygenation in a diametrically opposite manner. *Biomedicines.* 10(1). doi:10.3390/biomedicines10010042.
- Mate A, Reyes-Goya C, Santana-Garrido Á, Sobrevia L, Vázquez CM. 2021. Impact of maternal nutrition in viral infections during pregnancy. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 1867(11). doi:10.1016/j.bbadis.2021.166231.
- Matthews HK, Bertoli C, de Bruin RAM. 2021. Cell cycle kontrol in cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol.*:1–15. doi:10.1038/s41580-021-00404-3.
- Mehrzad J, Malvandi AM, Alipour M, Hosseinkhani S. 2017. Environmentally relevant level of aflatoxin B1 elicits toxic pro-inflammatory response in murine CNS-derived cells. *Toxicol Lett.* 279:96–106. doi:10.1016/j.toxlet.2017.07.902.

- Menzies AM, Long G V. 2014. Systemic treatment for BRAF-mutant melanoma: Where do we go next? *Lancet Oncol.* 15(9). doi:10.1016/S1470-2045(14)70072-5.
- Miao WJ, Yuan DJ, Zhang GZ, Liu Q, Ma HM, Jin QQ. 2019. LncRNA CASC2/miR-18a-5p axis regulates the malignant potential of nasopharyngeal carcinoma by targeting RBBP8. *Oncol Rep.* 41(3):1797–1806. doi:10.3892/or.2018.6941.
- Middeldorp JM. 2015. Epstein-barr virus-specific humoral immune responses in health and disease. In: *Current Topics in Microbiology and Immunology.*
- Mishra R, Kumar A, Ingle H, Kumar H. 2020. The Interplay Between Viral-Derived miRNAs and Host Immunity During Infection. *Front Immunol.* 10. doi:10.3389/fimmu.2019.03079.
- Mo MH, Chen L, Fu Y, Wang W, Fu SW. 2012. Cell-free Circulating miRNA Biomarkers in Cancer. *J Cancer.* 3:432–448. doi:10.7150/jca.4919.
- Murata T, Sato Y, Kimura H. 2014. Modes of infection and oncogenesis by the Epstein-Barr virus. *Rev Med Virol.* 24(4):242–253. doi:10.1002/rmv.1786.
- Murata T, Sugimoto A, Inagaki T, Yanagi Y, Watanabe T, Sato Y, Kimura H. 2021. Molecular basis of epstein–barr virus latency establishment and lytic reactivation. *Viruses.* 13(12). doi:10.3390/v13122344.
- Nedaenia R, Manian M, Jazayeri MH, Ranjbar M, Salehi R, Sharifi M, Mohaghegh F, Goli M, Jahednia SH, Avan A, et al. 2017. Circulating exosomes and exosomal microRNAs as biomarkers in gastrointestinal cancer. *Cancer Gene Ther.* 24(2):48–56. doi:10.1038/cgt.2016.77.
- de Oliveira DE, Ballon G, Cesarman E. 2010. NF- $\kappa$ b signaling modulation by EBV and KSHV. *Trends Microbiol.* 18(6):248–257. doi:10.1016/j.tim.2010.04.001.
- Oliveto S, Mancino M, Manfrini N, Biffo S. 2017. Role of microRNAs in translation regulation and cancer. *World J Biol Chem.* 8(1):45–56. doi:10.4331/wjbc.v8.i1.45.
- Olver I, Carey M, Boyes A, Hall A, Noble N, Bryant J, Walsh J, Sanson-Fisher R. 2018. The timeliness of patients reporting the side effects of chemotherapy. *Support Care Cancer.* 26(10):3579–3586. doi:10.1007/s00520-018-4225-y.

- Paia F, Di Cataldo V, Zei G, Pasquetti EM, Cecchini S, Meattini I, Mangoni M, Agresti B, Iermano C, Bonomo P, et al. 2012. Role of chemotherapy in nasopharyngeal carcinoma. *Oncol Rev.* 6(1):1–6. doi:10.4081/oncol.2012.e1.
- Pan XX, Tong LH, Chen YF, Li FL, Tang WB, Liu YJ, Yang W. 2019. A simplified T classification based on the 8th edition of the UICC/AJCC staging system for nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Manag Res.* 11:3163–3169. doi:10.2147/CMAR.S185860.
- Paolacci AR, Tanzarella OA, Porceddu E, Ciaffi M. 2009. Identification and validation of reference genes for quantitative RT-PCR normalization in wheat. *BMC Mol Biol.* doi:10.1186/1471-2199-10-11.
- Peng RJ, Han BW, Cai QQ, Zuo XY, Xia T, Chen JR, Feng LN, Lim JQ, Chen SW, Zeng MS, et al. 2019. Genomic and transcriptomic landscapes of Epstein-Barr virus in extranodal natural killer T-cell lymphoma. *Leukemia.* 33(6):1451–1462. doi:10.1038/s41375-018-0324-5.
- Petrone I, Bernardo PS, Santos EC Dos, Abdelhay E. 2021. Mthfr c677t and a1298c polymorphisms in breast cancer, gliomas and gastric cancer: A review. *Genes (Basel).* 12(4). doi:10.3390/genes12040587.
- Poluan RH, Sudigyo D, Rahmawati G, Setiasari DW, Sesotiyosari SL, Wardana T, Astuti I, Herianto DS, Indrasari SR, Herawati C, et al. 2020. Transcriptome related to avoiding immune destruction in nasopharyngeal cancer in Indonesian patients using next-generation sequencing. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 21(9):2593–2601. doi:10.31557/APJCP.2020.21.9.2593.
- Poppema S. 2005. Immunobiology and pathophysiology of Hodgkin lymphomas. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.*:231–238. doi:10.1182/asheducation-2005.1.231.
- Portis T, Longnecker R. 2004. Epstein-Barr virus (EBV) LMP2A mediates B-lymphocyte survival through constitutive activation of the Ras/PI3K/Akt pathway. *Oncogene.* 23(53):8619–8628. doi:10.1038/sj.onc.1207905.
- Price AM, Luftig MA. 2014. Dynamic Epstein-Barr virus gene expression on the path to B-cell transformation. *Adv Virus Res.* 88:279–313. doi:10.1016/B978-0-12-800098-4.00006-4.

- Qiao G, Dai C, He Y, Shi J, Xu C. 2019. Effects of miR-106b-3p on cell proliferation and epithelial-mesenchymal transition, and targeting of ZNRF3 in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Mol Med.* 43(4):1817–1829. doi:10.3892/ijmm.2019.4107.
- Qin Q, Wei F, Li B. 2014. Multiple functions of hypoxia-regulated miR-210 in cancer. *J Exp Clin Cancer Res.* 33(1). doi:10.1186/1756-9966-33-50.
- Qing X, Tan GL, Liu HW, Li W, Ai JG, Xiong SS, Yang MQ, Wang TS. 2020. LINC00669 insulates the JAK/STAT suppressor SOCS1 to promote nasopharyngeal cancer cell proliferation and invasion. *J Exp Clin Cancer Res.* 39(1). doi:10.1186/s13046-020-01674-z.
- Raghubeer S, Matsha TE. 2021. Methylenetetrahydrofolate (Mthfr), the one-carbon cycle, and cardiovascular risks. *Nutrients.* 13(12). doi:10.3390/nu13124562.
- Ramayanti O, Verkuijlen SAWM, Novianti P, Scheepbouwer C, Misovic B, Koppers-Lalic D, van Weering J, Beckers L, Adham M, Martorelli D, et al. 2019. Vesicle-bound EBV-BART13-3p miRNA in circulation distinguishes nasopharyngeal from other head and neck cancer and asymptomatic EBV-infections. *Int J Cancer.* 144(10):2555–2566. doi:10.1002/ijc.31967.
- De Re V, Caggiari L, De Zorzi M, Fanotto V, Miolo G, Puglisi F, Cannizzaro R, Canzonieri V, Steffan A, Farruggia P, et al. 2020. Epstein-Barr virus BART microRNAs in EBV-associated Hodgkin lymphoma and gastric cancer. *Infect Agent Cancer.* 15(1):42. doi:10.1186/s13027-020-00307-6.
- Renjie W, Haiqian L. 2015. MiR-132, miR-15a and miR-16 synergistically inhibit pituitary tumor cell proliferation, invasion and migration by targeting Sox5. *Cancer Lett.* doi:10.1016/j.canlet.2014.10.003.
- Rosemarie Q, Sugden B. 2020. Epstein–barr virus: How its lytic phase contributes to oncogenesis. *Microorganisms.* 8(11):1–19. doi:10.3390/microorganisms8111824.
- Roufael M, Bitar T, Sacre Y, Andres C, Hleihel W. 2023. Folate–Methionine Cycle Disruptions in ASD Patients and Possible Interventions: A Systematic Review. *Genes (Basel).* 14(3):709. doi:10.3390/genes14030709.
- Rowe M, Zuo J. 2010. Immune responses to Epstein-Barr virus: molecular interactions in the virus evasion of CD8+ T cell

- immunity. *Microbes Infect.* 12(3):173–181. doi:10.1016/j.micinf.2009.12.001.
- Saini A, Kumar M, Bhatt S, Saini V, Malik A. 2020. CANCER CAUSES AND TREATMENTS. *Int J Pharm Sci Res.* 11(7):3121. <http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11>.
- Saleh A, Perets R. 2021. Mutated p53 in hgsc—from a common mutation to a target for therapy. *Cancers (Basel).* 13(14):3465. doi:10.3390/cancers13143465.
- Salter KH, Acharya CR, Walters KS, Redman R, Anguiano A, Garman KS, Anders CK, Mukherjee S, Dressman HK, Barry WT, et al. 2008. An integrated approach to the prediction of chemotherapeutic response in patients with breast cancer. *PLoS One.* 3(4). doi:10.1371/journal.pone.0001908.
- Sarwari NM, Khoury JD, Hernandez CMR. 2016. Chronic Epstein Barr virus infection leading to classical Hodgkin lymphoma. *BMC Hematol.* 16(19):1–6. doi:10.1186/s12878-016-0059-3.
- Savitri E, Maharis I, Kadir A, Djamin R, Mubarikaand S, Wardana T, Safri JS, Djamin R, Punagi AQ, Kadir A, et al. 2019. The expression of mir-21 and mir-29c in blood plasma of nasopharyngeal carcinoma patient post-chemoradiotherapy. *Indian J Public Heal Res Dev.* 10(10):1523–1529. doi:10.5958/0976-5506.2019.03054.7.
- Savitri E, Safri JSJS, Djamin R, Punagi AQAQ, Kadir A, Mubarika S, Wardana T. 2017. Expression of micro RNA-21 and 29c in blood plasma of patients with nasopharyngeal carcinoma. *J Med Sci.* 17(4):148–155. doi:10.3923/jms.2017.148.155.
- Schetter AJ, Leung SY, Sohn JJ, Zanetti KA, Bowman ED, Yanaihara N, Yuen ST, Chan TL, Kwong DLW, Au GKH, et al. 2008. MicroRNA expression profiles associated with prognosis and therapeutic outcome in colon adenocarcinoma. *JAMA.* 299(4):425–436. doi:10.1001/jama.299.4.425.
- Schwarzenbach H, Hoon DSB, Pantel K. 2011. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients. *Nat Rev Cancer.* 11(6):426–437. doi:10.1038/nrc3066.
- Schwarzenbach H, Nishida N, Calin GA, Pantel K. 2014. Clinical relevance of circulating cell-free microRNAs in cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* 11:145–156. doi:10.1038/nrclinonc.2014.5.

- Seemayer TA, Gross TG, Egeler RM, Pirruccello SJ, Davis JR, Kelly CM, Okano M, Lanyi A, Sumegi J. 1995. X-linked lymphoproliferative disease: Twenty-five years after the discovery. *Pediatr Res.* 38(4):471–478. doi:10.1203/00006450-199510000-00001.
- Segal C V., Koufaris C, Powell C, Gooderham NJ. 2015. Effects of treatment with androgen receptor ligands on microRNA expression of prostate cancer cells. *Toxicology.* 333:45–52. doi:10.1016/j.tox.2015.04.002.
- Setiasari DW, Rahmawati G, Sudigyo D, Poluan RH, Sesotiyosari SL, Wardana T, Indrasari SR, Herawati C, Heriyanto DS, Astuti I, et al. 2020. Transcriptome profile of next-generation sequencing data relate to proliferation aberration of nasopharyngeal carcinoma patients in Indonesia. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 21(9):2585–2591. doi:10.31557/APJCP.2020.21.9.2585.
- Shair KHY, Schnegg CI, Raab-Traub N. 2008. EBV latent membrane protein 1 effects on plakoglobin, cell growth, and migration. *Cancer Res.* 68(17):6997–7005. doi:10.1158/0008-5472.CAN-08-1178.
- Shi M, Cui J, Du J, Wei D, Jia Z, Zhang J, Zhu Z, Gao Y, Xie K. 2014. A novel KLF4/LDHA signaling pathway regulates aerobic glycolysis in and progression of pancreatic cancer. *Clin Cancer Res.* 20(16):4370–4380. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-0186.
- Shi Y, Norberg E, Vakifahmetoglu-Norberg H. 2021. Mutant p53 as a Regulator and Target of Autophagy. *Front Oncol.* 10:3300. doi:10.3389/fonc.2020.607149.
- Silasi M, Cardenas I, Kwon JY, Racicot K, Aldo P, Mor G. 2015. Viral Infections During Pregnancy. *Am J Reprod Immunol.* 73(3):199–213. doi:10.1111/aji.12355.
- Sivachandran N, Sarkari F, Frappier L. 2008. Epstein-Barr nuclear antigen 1 contributes to nasopharyngeal carcinoma through disruption of PML nuclear bodies. *PLoS Pathog.* 4(10). doi:10.1371/journal.ppat.1000170.
- Skinner CM, Ivanov NS, Barr SA, Chen Y, Skalsky RL. 2017. An Epstein-Barr Virus MicroRNA Blocks Interleukin-1 (IL-1) Signaling by Targeting IL-1 Receptor 1. *J Virol.* 91(21). doi:10.1128/jvi.00530-17.

- Soon PSH, Tacon LJ, Gill AJ, Bambach CP, Sywak MS, Campbell PR, Yeh MW, Wong SG, Clifton-Bligh RJ, Robinson BG, et al. 2009. miR-195 and miR-483-5p identified as predictors of poor prognosis in adrenocortical cancer. *Clin Cancer Res.* 15(24):7684–7692. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-1587.
- Taft RJ, Pang KC, Mercer TR, Dinger M, Mattick JS. 2010. *Non-coding RNAs: Regulators of disease.* *J Pathol.* 220(2):126–139. doi:10.1002/path.2638.
- Tan LP, Tan GW, Sivanesan VM, Goh SL, Ng XJ, Lim CS, Kim WR, Mohidin TBBM, Mohd Dali NS, Ong SH, et al. 2019. Systematic comparison of plasma EBV DNA, anti-EBV antibodies and miRNA levels for early detection and prognosis of nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer.* 146(8):2336–2347. doi:10.1002/ijc.32656.
- Tang LL, Chen YP, Chen C Ben, Chen MY, Chen NY, Chen XZ, Du XJ, Fang WF, Feng M, Gao J, et al. 2021. The Chinese Society of Clinical Oncology (CSCO) clinical guidelines for the diagnosis and treatment of nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Commun.* 41(11):1195–1227. doi:10.1002/cac2.12218.
- Tao Q, Chan ATC. 2007. Nasopharyngeal carcinoma: Molecular pathogenesis and therapeutic developments. *Expert Rev Mol Med.* 9(12):1–24. doi:10.1017/S1462399407000312.
- Thakur S, Grover RK, Gupta S, Yadav AK, Das BC. 2016. Identification of specific miRNA signature in paired sera and tissue samples of Indian women with triple negative breast cancer. *PLoS One.* 11(7):e0158946. doi:10.1371/journal.pone.0158946.
- Thangaraj SV, Shyamsundar V, Krishnamurthy A, Ramani P, Ganesan K, Muthuswami M, Ramshankar V. 2016. Molecular portrait of oral tongue squamous cell carcinoma shown by integrative meta-analysis of expression profiles with validations. *PLoS One.* 11(6). doi:10.1371/journal.pone.0156582.
- Tian Y, Tang L, Yi P, Pan Q, Han Y, Shi Y, Rao S, Tan S, Xia L, Lin J, et al. 2020. MiRNAs in radiotherapy resistance of nasopharyngeal carcinoma. *J Cancer.* 11(13):3976–3985. doi:10.7150/jca.42734.
- Van Tornout JM, Spruck CH, Shibata A, Schmutte C, Gonzalez-Zulueta M, Nichols PW, Chandrasoma PT, Yu MC, Jones PA. 1997. Presence of p53 mutations in primary nasopharyngeal carcinoma

- (KNF) in non-Asians of Los Angeles, California, a low-risk population for KNF. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 6(7):493–497.
- Tsao SW, Tsang CM, Lo KW. 2017. Epstein-barr virus infection and nasopharyngeal carcinoma. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 372(1732). doi:10.1098/rstb.2016.0270.
- Tulalamba W, Janvilisri T. 2012. Nasopharyngeal carcinoma signaling pathway: An update on molecular biomarkers. *Int J Cell Biol.* doi:10.1155/2012/594681.
- Ueland PM. 2021. Molecular Biology of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) and Overview of Mutations/Polymorphisms. In: *MTHFR Polymorphisms and Disease.* p. 15–34.
- Valentine R, Dawson CW, Hu C, Shah KM, Owen TJ, Date KL, Maia SP, Shao J, Arrand JR, Young LS, et al. 2010. Epstein-Barr virus-encoded EBNA1 inhibits the canonical NF- $\kappa$ B pathway in carcinoma cells by inhibiting IKK phosphorylation. *Mol Cancer.* 9. doi:10.1186/1476-4598-9-1.
- Vaysberg M, Balatoni CE, Nepomuceno RR, Krams SM, Martinez OM. 2007. Rapamycin inhibits proliferation of Epstein-Barr virus-positive B-cell lymphomas through modulation of cell-cycle protein expression. *Transplantation.* 83(8):1114–1121. doi:10.1097/01.tp.0000260142.38619.9c.
- Verhoeven RJA, Tong S, Mok BWY, Liu J, He S, Zong J, Chen Y, Tsao SW, Lung ML, Chen H. 2019. Epstein-barr virus bart long *non-coding* rnas function as epigenetic modulators in nasopharyngeal carcinoma. *Front Oncol.* 9(11):1120. doi:10.3389/fonc.2019.01120.
- Wan XX, Yi H, Qu JQ, He QY, Xiao ZQ. 2015. Integrated analysis of the differential cellular and EBV miRNA expression profiles in microdissected nasopharyngeal carcinoma and non-cancerous nasopharyngeal tissues. *Oncol Rep.* 34(5):2585–601. doi:10.3892/or.2015.4237.
- Wang F, Lu J, Peng X, Wang J, Liu X, Chen X, Jiang Y, Li X, Zhang B. 2016. Integrated analysis of microRNA regulatory network in nasopharyngeal carcinoma with deep sequencing. *J Exp Clin Cancer Res.* 35(1):1–11. doi:10.1186/s13046-016-0292-4.

- Wang H, Chen M, Xu S, Pan Y, Zhang Y, Huang H, Xu L. 2021. Abnormal regulation of microRNAs and related genes in pediatric  $\beta$ -thalassemia. *J Clin Lab Anal.* 35(9):e23945. doi:10.1002/jcla.23945.
- Wang H, Peng W, Ouyang X, Li W, Dai Y. 2012. Circulating microRNAs as candidate biomarkers in patients with systemic lupus erythematosus. *Transl Res.* 160(3):198–206. doi:10.1016/j.trsl.2012.04.002.
- Wang J, Wang BJ, Yang JC, Wang MY, Chen C, Luo GX, He WF. 2020. Advances in the research of mechanism of pulmonary fibrosis induced by Corona Virus Disease 2019 and the corresponding therapeutic measures. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi.* doi:10.3760/cma.j.cn501120-20200307-00132.
- Wang M, Gu B, Chen X, Wang Y, Li P, Wang K. 2019. The Function and Therapeutic Potential of Epstein-Barr Virus-Encoded MicroRNAs in Cancer. *Mol Ther - Nucleic Acids.* 17:657–668. doi:10.1016/j.omtn.2019.07.002.
- Wang M, Yu F, Wu W, Wang Y, Ding H, Qian L. 2018. Epstein-Barr virus-encoded microRNAs as regulators in host immune responses. *Int J Biol Sci.* 14(5):565–576. doi:10.7150/ijbs.24562.
- Wang S, Pan Y, Zhang R, Xu T, Wu W, Zhang R, Wang C, Huang H, Calin CA, Yang H, et al. 2016. Hsa-miR-24-3p increases nasopharyngeal carcinoma radiosensitivity by targeting both the 3'UTR and 5'UTR of Jab1/CSN5. *Oncogene.* 35(47):6096–6108. doi:10.1038/onc.2016.147.
- Wang Y, Guo Z, Shu Y, Zhou H, Wang H, Zhang W. 2017. BART miRNAs: An unimaginable force in the development of nasopharyngeal carcinoma. *Eur J Cancer Prev.* 26(2):144–150. doi:10.1097/CEJ.0000000000000221.
- Wang Y, Lee CGL. 2009. MicroRNA and cancer - Focus on apoptosis. *J Cell Mol Med.* 13(1):12–23. doi:10.1111/j.1582-4934.2008.00510.x.
- Wang Z, Gerstein M, Snyder M. 2009. RNA-Seq: A revolutionary tool for transcriptomics. *Nat Rev Genet.* 10(1):57–63. doi:10.1038/nrg2484.
- Wardana T, Chasanah SN, Oktriani R, Herawati C, Anwar SL, Astuti I, Haryana SM. 2022. Circulation microRNA expression profiles in patients with complete responses to chemoradiotherapy in nasopharyngeal carcinoma. *Non-coding RNA Res.* 7(4):233–241.

- Wardana T, Gunawan L, Herawati C, Oktriani R, Anwar SL, Astuti I, Aryandhono T, Mubarika S. 2020. Circulation EBV mir-bart-7 relating to clinical manifestation in nasopharyngeal carcinoma. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 21(9):2777–2782. doi:10.31557/APJCP.2020.21.9.2777.
- Wardana T, Herawati C, Oktriani R, Anwar SL, Astuti I, Aryandono T, Haryana SM. 2016. Over- and down-expression mir-29c and mir-21 after chemotherapy and radio-therapy in nasopharyngeal carcinomas and the down-regulating proteins encoding eipstein barr virus and c-Myc. *J thee Med Sci (Berkala Ilmu Kedokteran).* 48(04 (Suplement)):24–25. doi:10.19106/jmedsciesup004804201622.
- Wardana T, Oktriani R, Murjayanto CH, Putri DU, Anwar SL, Aryandono T, Haryana SM. 2022. MicroRNA Gene Signature for Predicting Mechanisms in Nasopharyngeal Carcinoma: A Case Study on the Potential Application of Circulating Biomarkers. *MicroRNA (Shariqah, United Arab Emirates).* 12(1):29–44. doi:10.2174/2211536611666220919144834.
- Wildeman MA, Fles R, Herdini C, Indrasari RS, Vincent AD, Tjokronagoro M, Stoker S, Kurnianda J, Karakullukcu B, Taroeno-Hariadi KW, et al. 2013. Primary Treatment Results of Nasopharyngeal Carcinoma (KNF) in Yogyakarta, Indonesia. *PLoS One.* 8(5):e63706. doi:10.1371/journal.pone.0063706. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063706>.
- Wong AMG, Kong KL, Tsang JWH, Kwong DLW, Guan XY. 2012. Profiling of Epstein-Barr virus-encoded microRNAs in nasopharyngeal carcinoma reveals potential biomarkers and oncomirs. *Cancer.* 118(3):698–710. doi:10.1002/cncr.26309.
- Wu L, Li C, Pan L. 2018. Nasopharyngeal carcinoma: A review of current updates. *Exp Ther Med.* 15(4):3687–3692. doi:10.3892/etm.2018.5878.
- Wyżewski Z, Mielcarska MB, Gregorczyk-Zboroch KP, Myszka A. 2022. Virus-Mediated Inhibition of Apoptosis in the Context of EBV-Associated Diseases: Molecular Mechanisms and Therapeutic Perspectives. *Int J Mol Sci.* 23(13). doi:10.3390/ijms23137265.
- Xia C, Zhu K, Zheng G. 2015. Expression of EBV antibody EA-IgA, Rta-IgG and VCA-IgA and SA in serum and the implication of combined assay in nasopharyngeal carcinoma diagnosis. *Int J Clin Exp Pathol.* 8(12):16104.

- Xia T, O'Hara A, Araujo I, Barreto J, Carvalho E, Sapucaia JB, Ramos JC, Luz E, Pedroso C, Manrique M, et al. 2008. EBV microRNAs in primary lymphomas and targeting of CXCL-11 by ebv-mir-BHRF1-3. *Cancer Res.* 68(5):1436–1442. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-5126.
- Xin S, Du S, Liu L, Xie Y, Zuo L, Yang J, Hu J, Yue W, Zhang J, Cao P, et al. 2019. Epstein-Barr Virus Nuclear Antigen 1 Recruits Cyclophilin A to Facilitate the Replication of Viral DNA Genome. *Front Microbiol.* 10. doi:10.3389/fmicb.2019.02879.
- Xu T, Tang J, Gu M, Liu L, Wei W, Yang H. 2013. Recurrent nasopharyngeal carcinoma: A clinical dilemma and challenge. *Curr Oncol.* 20(5):e406–e419. doi:10.3747/co.20.1456.
- Xu X, Gao F, Wang J, Tao L, Ye J, Ding L, Ji W, Chen X. 2018. MiR-122-5p inhibits cell migration and invasion in gastric cancer by down-regulating DUSP4. *Cancer Biol Ther.* 19(5):427–435. doi:10.1080/15384047.2018.1423925.
- Yang C, Chen Hui, Chen Hongli, Zhong B, Luo X, Chun J. 2017. Antioxidant and anticancer activities of essential oil from gannan navel orange peel. *Molecules.* 22(8):1391. doi:10.3390/molecules22081391.
- Ye J, Li L, Feng P, Wan J, Li J. 2016. Downregulation of miR-34a contributes to the proliferation and migration of laryngeal carcinoma cells by targeting cyclin D1. *Oncol Rep.* 36(1):390–398. doi:10.3892/or.2016.4823.
- Yoshizaki T, Kondo S, Murono S, Endo K, Tsuji A, Nakanishi Y, Nakanishi S, Sugimoto H, Hatano M, Ueno T, et al. 2015. Progress and controversy for the role of chemotherapy in nasopharyngeal carcinoma. *Jpn J Clin Oncol.* 45(3):244–247. doi:10.1093/jjco/hyu212.
- Yoshizaki T, Kondo S, Wakisaka N, Murono S, Endo K, Sugimoto H, Nakanishi S, Tsuji A, Ito M. 2013. Pathogenic role of Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 in the development of nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Lett.* 337(1):1–7. doi:10.1016/j.canlet.2013.05.018.
- Young LS, Arrand JR, Murray PG. 2007. EBV gene expression and regulation. In: *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis.* p. 461–489.

- Young LS, Dawson CW. 2014. Epstein-Barr virus and nasopharyngeal carcinoma. *Chin J Cancer*. 33(12):581–590. doi:10.5732/cjc.014.10197.
- Young LS, Rickinson AB. 2004. Epstein-Barr virus: 40 Years on. *Nat Rev Cancer*. 4(10):757–768. doi:10.1038/nrc1452.
- Yu AJ, Choi JS, Swanson MS, Kokot NC, Brown TN, Yan G, Sinha UK. 2019. Association of Race/Ethnicity, Stage, and Survival in Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma: A SEER Study. *OTO Open*. 3(4). doi:10.1177/2473974X19891126.
- Yu X, Li Z, Yu J, Chan MTV, Wu WKK. 2015. MicroRNAs predict and modulate responses to chemotherapy in colorectal cancer. *Cell Prolif*. 48(5):503–510. doi:10.1111/cpr.12202.
- Zanrosso CW, Hatagima A, Emerenciano M, Ramos F, Figueiredo A, Félix TM, Segal SL, Giugliani R, Muniz MTC, Pombo-de-Oliveira MS. 2009. Erratum to “The role of methylenetetrahydrofolate reductase in acute lymphoblastic leukemia in a Brazilian mixed population” [*Leuk. Res*. 30 (2006) 477-481] (DOI:10.1016/j.leukres.2005.08.008). *Leuk Res*. 33(7):1009. doi:10.1016/j.leukres.2009.01.019.
- Zebardast A, Tehrani SS, Latifi T, Sadeghi F. 2021. Critical review of Epstein–Barr virus microRNAs relation with EBV-associated gastric cancer. *J Cell Physiol*. 236(9):6136–6153. doi:10.1002/jcp.30297.
- Zhang G, Zong J, Lin S, Verhoeven RJA, Tong S, Chen Y, Ji M, Cheng W, Tsao SW, Lung M, et al. 2015. Circulating Epstein-Barr virus microRNAs miR-BART7 and miR-BART13 as biomarkers for nasopharyngeal carcinoma diagnosis and treatment. *Int J Cancer*. 136(5):E301-12. doi:10.1002/ijc.29206.
- Zhang J, Zeng C, Huang X, Liao Q, Chen H, Liu F, Sun D, Luo S, Xiao Y, Xu W, et al. 2022. Association of homocysteine and polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase with early-onset post stroke depression. *Front Nutr*. 9. doi:10.3389/fnut.2022.1078281.
- Zhang L, Xiang P, Han X, Wu L, Li X, Xiong Z. 2015. Decreased expression of microRNA-20a promotes tumor progression and predicts poor prognosis of cutaneous squamous cell carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*.

- Zhang LF, Li YH, Xie SH, Ling W, Chen SH, Liu Q, Huang QH, Cao SM. 2015. Incidence trend of nasopharyngeal carcinoma from 1987 to 2011 in Sihui county, Guangdong province, South China: An age-period-cohort analysis. *Chin J Cancer*. 34(8):1–8. doi:10.1186/s40880-015-0018-6.
- Zhang S, Lu Z, Unruh A K, Ivan C, Baggerly K A., Calin G A., Li Z, Bast RC, Le X-F. 2015. Clinically Relevant microRNAs in Ovarian Cancer. *Mol Cancer Res*. 13(3):393–401. doi:10.1158/1541-7786.MCR-14-0424.
- Zhang X, Kang C, Li N, Liu X, Zhang J, Gao F, Dai L. 2019. Identification of special key genes for alcohol-related hepatocellular carcinoma through bioinformatic analysis. *PeerJ*. 2019(2). doi:10.7717/peerj.6375.
- Zhao H, Ma TF, Lin J, Liu LL, Sun WJ, Guo LX, Wang SQ, Otecko NO, Zhang YP. 2018. Identification of valid reference genes for mRNA and microRNA normalisation in prostate cancer cell lines. *Sci Rep*. 8(1). doi:10.1038/s41598-018-19458-z.
- Zheng G, Wang H, Zhang X, Yang Y, Wang L, Du L, Li W, Li J, Qu A, Liu Y, et al. 2013. Identification and validation of reference genes for qPCR detection of serum microRNAs in colorectal adenocarcinoma patients. *PLoS One*. doi:10.1371/journal.pone.0083025.
- Zheng X, Wang J, Wei L, Peng Q, Gao Y, Fu Y, Lu Y, Qin Z, Zhang Xuemei, Lu J, et al. 2018. Epstein-Barr Virus MicroRNA miR-BART5-3p Inhibits p53 Expression. *J Virol*. 92(23). doi:10.1128/jvi.01022-18.
- Zhu H, Zhu X, Cheng G, Zhou M, Lou W. 2015. Downregulation of microRNA-21 enhances radiosensitivity in nasopharyngeal carcinoma. *Exp Ther Med*. 9(6):2185–2189. doi:10.3892/etm.2015.2403.
- Zhu K, He Y, Xia C, Yan J, Hou J, Kong D, Yang Y, Zheng G. 2016. MicroRNA-15a inhibits proliferation and induces apoptosis in CNE1 nasopharyngeal carcinoma cells. *Oncol Res*. doi:10.3727/096504016X14611963142290.
- Zhu X, Wang Y, Sun Y, Zheng J, Zhu D. 2014. MiR-155 up-regulation by LMP1 DNA contributes to increased nasopharyngeal carcinoma cell proliferation and migration. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology*. 271(7):1939–1945. doi:10.1007/s00405-013-2818-0.

## GLOSSARIUM

- Abnormalitas : Keadaan yang tidak normal atau tidak wajar dalam struktur, fungsi, atau perilaku suatu organisme atau sistem biologis
- Apoptosis : Proses pemrograman kematian sel yang terjadi secara alami sebagai respons terhadap sinyal internal atau eksternal, yang melibatkan penghancuran terkontrol sel-sel yang sudah tidak diperlukan atau rusak
- Biomarker : Indikator biologis yang dapat diukur dan digunakan untuk mengidentifikasi, mendiagnosis, atau memantau perkembangan penyakit atau kondisi medis.
- Cairan Tubuh : Zat cair yang ditemukan dalam tubuh, seperti darah, urin, cairan serebrospinal, dan lain-lain, yang dapat digunakan untuk diagnostik atau analisis medis
- COL4A1 Dan COL A1 : Gen yang mengkodekan protein kolagen tipe IV, yang merupakan komponen utama matriks ekstraselular dalam jaringan tubuh
- Diagnosis : Proses identifikasi penyakit atau kondisi medis berdasarkan gejala, tanda, pemeriksaan fisik, tes laboratorium, atau prosedur diagnostik lainnya
- Differensiasi : Proses perkembangan sel yang mengarah pada pematangan dan spesialisasi fungsional sel
- Dna : Asam deoksiribonukleat, molekul genetik yang mengandung informasi genetik dalam sel
- Early Antigen Dan EBNA : Antigen yang dihasilkan oleh virus Epstein-Barr (EBV), yang berperan dalam infeksi dan replikasi virus EBV

- Efek Samping Pengobatan : Efek yang tidak diinginkan atau merugikan yang timbul sebagai hasil dari penggunaan obat atau terapi medis.
- Envelop Virus : Lapisan luar virus yang terdiri dari lipida dan protein yang melapisi kapsid virus.
- Epidemiologi : Studi tentang distribusi, penyebab, dan kontrol penyakit dalam populasi manusia.
- Epstein Barr Virus : Virus yang termasuk dalam keluarga herpesvirus dan merupakan penyebab mononukleosis infeksius serta terkait dengan berbagai jenis kanker, termasuk kanker nasofaring.
- Eskpresi Gene : Proses pengkodean informasi genetik dalam DNA menjadi produk protein atau RNA yang dapat digunakan oleh sel.
- Exosome : Vesikel kecil yang dilepaskan oleh sel yang mengandung berbagai macam molekul biologis, termasuk miRNA dan dapat berperan dalam komunikasi sel-sel.
- Faktor Genetik : Komponen genetik yang berkontribusi pada risiko atau kerentanan individu terhadap suatu penyakit atau kondisi medis.
- Faktor Resiko : Faktor-faktor yang meningkatkan kemungkinan seseorang mengembangkan suatu penyakit atau kondisi medis.
- Gejala Klinis : Tanda atau manifestasi yang dapat diamati atau dirasakan oleh pasien atau dokter sebagai hasil dari suatu penyakit atau gangguan kesehatan. Gejala klinis dapat berupa nyeri, demam, mual, muntah, ruam kulit, atau tanda-tanda lain yang muncul pada pemeriksaan fisik

- Genom : Seluruh kumpulan materi genetik atau informasi genetik yang ada dalam suatu organisme. Genom terdiri dari DNA (asam deoksiribonukleat) pada organisme eukariotik, yang mencakup segala informasi yang diperlukan untuk mengatur pewarisan sifat-sifat biologis suatu organisme
- Getah Bening : Cairan bening yang berada dalam sistem limfatik, yang terdiri dari jaringan dan organ-organ yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh. Getah bening mengandung sel-sel imun, seperti limfosit, serta substansi-substansi kimia yang terlibat dalam respon imun tubuh terhadap infeksi, inflamasi, atau penyakit lainnya
- Glikoprotein : Protein yang memiliki gula (karbohidrat) yang terikat padanya. Glikoprotein ditemukan dalam berbagai jenis sel dan memiliki banyak fungsi biologis, termasuk dalam pengenalan sel, perlekatan sel-sel, dan transduksi sinyal seluler. Glikoprotein juga sering berperan sebagai biomarker dalam diagnosis dan penelitian penyakit
- Imunitas : Kemampuan tubuh untuk melawan infeksi atau penyakit, biasanya melibatkan sistem kekebalan tubuh yang melibatkan berbagai jenis sel, protein, dan respons biologis.
- Imunoterapi : Terapi yang menggunakan sistem kekebalan tubuh untuk melawan penyakit, seperti kanker, dengan merangsang atau memodifikasi respons imun tubuh.
- Infeksi Virus : Infeksi yang disebabkan oleh virus, yaitu mikroorganisme yang terdiri dari materi genetik dalam bentuk RNA atau DNA yang dapat menginfeksi sel-sel tubuh inangnya untuk mereplikasi diri dan menghasilkan lebih banyak virus

- Inflamasi : Respon tubuh terhadap infeksi, iritasi, atau cedera, yang melibatkan peradangan jaringan yang ditandai dengan kemerahan, pembengkakan, panas, dan nyeri.
- Insidensi : Jumlah kasus baru suatu penyakit atau kondisi kesehatan dalam populasi tertentu dalam suatu periode waktu tertentu. Biasanya dihitung sebagai jumlah kasus baru per unit populasi (misalnya per 100.000 orang) dalam suatu periode waktu tertentu, seperti per tahun. Insidensi digunakan sebagai salah satu indikator untuk mengukur tingkat kejadian suatu penyakit atau kondisi dalam populasi
- Interaksi Protein : Proses dua atau lebih protein berinteraksi satu sama lain dalam sel atau dalam sistem biologis tertentu. Interaksi protein dapat melibatkan berbagai mekanisme, seperti ikatan fisik langsung, pengenalan molekul sinyal, atau modulasi aktivitas biologis. Interaksi protein sering kali penting dalam regulasi fungsi seluler, jalur-sinyal, dan proses biologis lainnya
- Invasi : Proses sel atau jaringan abnormal atau ganas menyerang dan menembus jaringan normal atau sehat dalam tubuh. Invasi sering kali merupakan ciri khas dari kanker, sel kanker dapat menyebar dan menyerang jaringan sekitarnya atau bahkan merambah ke organ atau bagian tubuh lainnya melalui proses metastasis.
- Isolasi RNA : Proses untuk memisahkan atau mengambil molekul RNA dari sampel biologis, seperti sel, jaringan, atau cairan tubuh, untuk tujuan analisis atau penelitian. Isolasi RNA adalah langkah penting dalam studi biologi molekuler, termasuk dalam analisis ekspresi gen, studi fungsi RNA, dan penentuan profil RNA.

- Jaringan : Kumpulan sel yang memiliki fungsi, struktur, atau asal yang serupa yang bekerja bersama-sama untuk melakukan fungsi tertentu dalam organisme. Jaringan dapat ditemukan dalam berbagai bagian tubuh, seperti otot, kulit, tulang, darah, saraf, dan organ-organ lainnya. Jaringan adalah unit dasar dalam organisasi struktural tubuh yang lebih kompleks dan merupakan subjek penting dalam studi histologi dan anatomi
- Kanker : Penyakit yang ditandai oleh pertumbuhan tidak terkontrol dan pembelahan sel-sel abnormal yang dapat menyerang dan merusak jaringan normal dalam tubuh. Kanker dapat terjadi di berbagai bagian tubuh dan dapat bersifat ganas (malignan), yang dapat menyebar ke bagian tubuh lainnya melalui proses metastasis, atau bersifat jinak (benign), yang biasanya tidak menyebar ke bagian tubuh lain. Kanker adalah penyebab utama kematian di seluruh dunia dan memerlukan diagnosis dan perawatan yang tepat
- Kapsid : Struktur protein yang mengelilingi materi genetik (seperti DNA atau RNA) dalam virus. Kapsid berfungsi sebagai lapisan pelindung untuk materi genetik virus dan membantu virus dalam berinteraksi dengan sel inang serta memasuki sel inang untuk mereplikasi diri. Bentuk dan komposisi kapsid dapat bervariasi tergantung pada jenis virusnya
- Karsinogenesis : Proses pembentukan kanker atau tumor ganas
- Karsinoma : Jenis kanker yang berasal dari sel epitel, yang melapisi permukaan tubuh atau organ dalam tubuh.
- Karsinoma Nasofaring : Kanker yang berasal dari nasofaring, bagian atas faring atau tenggorokan bagian belakang yang berdekatan dengan rongga hidung.

- Kekambuhan : Kembali munculnya suatu penyakit atau kondisi setelah masa pemulihan atau periode bebas penyakit, seperti kanker.
- Kekebalan Inang : Sistem pertahanan tubuh yang melibatkan berbagai mekanisme biologis untuk melawan serangan patogen, seperti bakteri, virus, atau parasit
- Kekebalan Tubuh : Kemampuan tubuh untuk melawan infeksi dan penyakit
- Kemoradioterapi : Pengobatan kanker yang menggunakan kombinasi terapi radiasi dan kemoterapi untuk menghancurkan sel-sel kanker
- Kemoterapi : Metode pengobatan penyakit, terutama kanker, dengan menggunakan obat-obatan yang merusak sel-sel yang berkembang biak secara cepat, termasuk sel kanker.
- Kerusakan DNA : Gangguan atau kerusakan pada struktur DNA yang dapat terjadi akibat berbagai faktor, seperti radiasi, zat kimia berbahaya, atau kerusakan secara genetik
- Kuantifikasi Mirna : Proses pengukuran atau penentuan jumlah miRNA (mikro RNA) dalam sampel biologis untuk tujuan analisis atau penelitian.
- Letak Anatomi : Posisi atau lokasi struktur dalam tubuh manusia atau organisme lain dalam konteks anatomi atau ilmu anatomi.
- Limfosit : Jenis sel darah putih yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh dan berfungsi dalam mengenali dan melawan patogen, seperti bakteri, virus, atau sel kanker.
- LMP : Singkatan dari "Latent Membrane Protein", yang merujuk pada protein yang ditemukan dalam virus tertentu, seperti virus Epstein-Barr, yang berperan dalam karsinogenesis atau pembentukan kanker.

- Massa Jaringan : Jumlah, ukuran, atau volume dari suatu jaringan dalam tubuh manusia atau organisme lain.
- Material Genetik : Materi atau substansi yang mengandung informasi genetik, seperti DNA atau RNA, yang membawa instruksi untuk pewarisan sifat keturunan.
- Metabolisme : Serangkaian proses kimia dalam tubuh yang berperan dalam perubahan makanan menjadi energi, serta pengaturan dan pengolahan zat-zat dalam tubuh.
- Metastasis : Proses penyebaran sel-sel kanker dari tumor primer ke lokasi lain dalam tubuh melalui peredaran darah atau limfatik.
- Migrasi Sel : Proses perpindahan atau pergerakan sel-sel dalam tubuh, baik selama perkembangan embrio, penyembuhan luka, atau proses patologis, seperti penyebaran sel kanker.
- Mikrovesikel : Vesikel kecil yang dikeluarkan oleh sel dalam bentuk partikel kecil dan berperan dalam komunikasi antar sel, serta dapat berisi berbagai komponen, seperti protein, asam nukleat, atau lipid
- Minimal Invasif* : Metode atau teknik medis atau bedah yang menggunakan akses kecil atau invasi minimal ke tubuh untuk mengurangi trauma pada jaringan sekitarnya.
- miRNA : Singkatan dari "microRNA", yang merupakan molekul RNA kecil yang berperan dalam regulasi ekspresi genetik dalam sel.
- Modulasi Antigen : Proses pengaturan atau pengendalian respon kekebalan tubuh terhadap antigen, baik dengan meningkatkan atau menekan aktivitas sistem kekebalan tubuh terhadap antigen tertentu.

- Mononukleosis : Infeksi virus yang ditandai dengan peningkatan jumlah sel darah putih mononuklear dalam darah, biasanya disebabkan oleh virus Epstein-Barr atau citomegalovirus.
- Mortalitas : Tingkat kematian dalam suatu populasi atau populasi yang telah mengalami kematian dalam suatu periode waktu tertentu.
- Mrna : Singkatan dari "messenger RNA", yang merupakan molekul RNA yang membawa informasi genetik dari DNA ke ribosom dalam proses sintesis protein.
- Mutasi : Perubahan dalam urutan DNA atau materi genetik, yang dapat terjadi secara alami atau akibat dari faktor lingkungan, dan dapat mempengaruhi sifat atau fungsi organisme
- Nanopartikel : Partikel sangat kecil dalam skala nanometer, yaitu satu miliar dari satu meter, yang digunakan dalam berbagai aplikasi di bidang ilmu material, teknologi, dan biomedis
- Nekrosis : Kematian atau kerusakan jaringan atau sel dalam tubuh akibat gangguan aliran darah, cedera, atau proses patologis lainnya.
- Non-coding* RNA : Molekul RNA yang tidak mengkodekan informasi untuk sintesis protein, namun memiliki peran penting dalam pengaturan ekspresi gen, regulasi seluler, dan fungsi biologis lainnya.
- Nukleotida : Unit dasar pembentuk asam nukleat, seperti DNA dan RNA, yang terdiri dari gula, basa nitrogen, dan gugus fosfat
- Nukleus : Bagian inti dari sel eukariotik yang mengandung materi genetik, seperti DNA, serta mengatur kegiatan seluler.
- Onkogen : Gen yang berpotensi menyebabkan transformasi sel normal menjadi sel kanker jika mengalami mutasi atau aktivasi yang tidak normal

- Onkomir : MicroRNA (miRNA) yang berperan dalam pengaturan ekspresi gen yang terlibat dalam kanker dan dapat menjadi target potensial untuk terapi kanker.
- Partikel Virus : Partikel berukuran sangat kecil yang terdiri dari materi genetik (DNA atau RNA) yang dikelilingi oleh protein dan dapat menyebabkan infeksi dalam sel-sel inang.
- Pasien : Orang yang menerima perawatan medis atau klinis dari tenaga medis, termasuk diagnosa, pengobatan, atau tindakan lainnya.
- Patofisiologi : Studi tentang perubahan patologis yang terjadi dalam tubuh sebagai akibat dari penyakit atau gangguan kesehatan, termasuk mekanisme dan proses yang mendasarinya.
- Patogenesis : Proses atau mekanisme yang menyebabkan perkembangan penyakit atau gangguan kesehatan dalam tubuh.
- Patologi : Cabang ilmu kedokteran yang mempelajari penyakit dalam tubuh, baik melalui analisis jaringan, sel, atau cairan tubuh untuk mendiagnosis penyakit.
- Pengobatan : Proses atau metode yang digunakan untuk merawat atau mengobati penyakit atau gangguan kesehatan dalam tubuh, termasuk penggunaan obat, terapi fisik, atau intervensi medis lainnya.
- Pemeriksaan Laboratorium : Proses atau tes yang dilakukan di laboratorium medis untuk mendiagnosis atau memantau penyakit atau kondisi medis, seperti tes darah, tes urin, tes imunologi, atau tes biokimia
- Penyakit : Kondisi atau gangguan yang mempengaruhi kesehatan tubuh dan dapat mengganggu fungsi normal organ atau sistem tubuh, baik fisik maupun mental.

- Perawatan : Tindakan atau metode yang diberikan kepada pasien untuk merawat, mengelola, atau mengobati penyakit atau gangguan kesehatan, termasuk penggunaan obat, terapi fisik, terapi psikologis, atau intervensi medis lainnya
- Pertumbuhan Tumor : Proses perluasan atau perbanyakkan sel-sel abnormal yang membentuk massa atau benjolan dalam tubuh, yang bisa bersifat jinak (tidak kanker) atau ganas (kanker)
- Precision Medicine* : Pendekatan medis yang menggunakan informasi khusus tentang individu, seperti informasi genetik, lingkungan, dan faktor gaya hidup, untuk mengambil keputusan yang lebih tepat dalam pengobatan dan manajemen penyakit, guna memberikan perawatan yang lebih efektif dan personal.
- Prediktif Kanker : Penilaian risiko seseorang untuk mengembangkan kanker berdasarkan faktor-faktor tertentu, seperti riwayat keluarga, genetik, paparan lingkungan, atau faktor risiko lainnya.
- Prediktor Terapi : Faktor atau indikator yang digunakan untuk memprediksi respons atau hasil terapi pada pasien tertentu, seperti respons terhadap pengobatan kanker berdasarkan karakteristik individu pasien atau sifat tumor.
- Profiling Mirna : Pengidentifikasian dan analisis pola ekspresi microRNA (miRNA), yang merupakan jenis molekul RNA kecil yang berperan dalam pengaturan ekspresi gen, dalam sampel biologis, seperti jaringan atau cairan tubuh, untuk memahami peran mereka dalam penyakit atau kondisi tertentu.
- Prognosis : Prediksi tentang perkiraan hasil atau perkembangan suatu penyakit atau kondisi medis berdasarkan faktor-faktor seperti gejala, tipe penyakit, respons terhadap pengobatan, dan faktor risiko

- Proliferasi : Proses pertumbuhan dan memperbanyak sel secara aktif, baik dalam tubuh manusia atau organisme lainnya. Proliferasi sel dapat terjadi sebagai respons normal tubuh terhadap pertumbuhan, perbaikan, atau regenerasi jaringan, tetapi juga dapat terjadi secara berlebihan dalam kondisi patologis seperti kanker.
- Protein : Makromolekul biologis yang terdiri dari rantai asam amino dan berfungsi sebagai dasar struktural dan fungsional dalam sel. Protein memiliki berbagai peran dalam tubuh, termasuk sebagai enzim, hormon, penyusun sel, dan sinyal seluler.
- qRT-PCR : Singkatan dari quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, yaitu metode laboratorium yang digunakan untuk mengukur jumlah relatif RNA spesifik dalam sampel biologis, yang melibatkan konversi RNA menjadi cDNA (complementary DNA) dan amplifikasi DNA menggunakan teknik PCR (Polymerase Chain Reaction) untuk menghitung jumlah RNA yang ada secara kuantitatif.
- Radioterapi : Metode pengobatan kanker yang menggunakan radiasi ionizing, seperti sinar-X atau sinar gamma, untuk merusak dan menghancurkan sel kanker dalam upaya mengendalikan atau menghilangkan pertumbuhan tumor. Radioterapi dapat dilakukan secara lokal atau sistemik, dan sering digunakan bersamaan dengan metode pengobatan lain seperti operasi atau kemoterapi.
- Regulasi miRNA : Proses pengaturan ekspresi microRNA (miRNA), yaitu molekul RNA kecil yang berperan dalam pengaturan ekspresi gen, dalam sel. Regulasi miRNA melibatkan berbagai mekanisme molekuler yang dapat mempengaruhi stabilitas, sintesis, atau aktivitas miRNA, yang pada gilirannya dapat mempengaruhi aktivitas gen dalam sel.

- Regulator : Molekul atau mekanisme yang berperan dalam mengontrol atau mengatur aktivitas biologis, seperti ekspresi gen, aktivitas enzim, atau respon seluler. Regulator dapat berperan dalam berbagai proses biologis, termasuk pertumbuhan, diferensiasi, dan respons terhadap stimulus eksternal atau internal.
- Relatif Ekspresi : Ukuran atau perbandingan tingkat ekspresi gen atau molekul tertentu dalam sampel biologis yang dinyatakan relatif terhadap sampel atau kondisi lain, sering kali menggunakan teknik analisis komparatif untuk mengidentifikasi perubahan ekspresi yang signifikan antara sampel atau kondisi yang berbeda.
- Replikasi DNA : Proses pembentukan salinan identik dari molekul DNA yang ada, yang melibatkan pemisahan dua untai DNA dan sintesis untai baru untuk membentuk dua molekul DNA baru. Replikasi DNA merupakan proses penting dalam pembelahan sel dan reproduksi seluler, serta menjadi dasar dalam pewarisan materi genetik dari satu generasi sel ke generasi sel berikutnya
- Replikasi RNA : Proses sintesis molekul RNA berdasarkan cetakan atau templat DNA
- Resistensi Obat : Kondisi ketika mikroorganisme, seperti virus atau bakteri, menjadi tidak responsif atau tahan terhadap pengobatan obat-obatan yang biasanya efektif untuk mengatasi infeksi atau penyakit.
- Respon Imun : Reaksi tubuh terhadap antigen atau patogen yang masuk ke dalam tubuh, melibatkan aktivasi sistem imun untuk melawan dan menghancurkan patogen atau sel yang terinfeksi.
- Respon Klinis : Respon atau hasil terhadap pengobatan atau tindakan medis yang diamati atau diukur pada pasien, biasanya dalam konteks pengobatan penyakit atau kondisi medis.

- RNA : Asam ribonukleat (RNA) adalah molekul asam nukleat yang terdiri dari rantai tunggal nukleotida yang berfungsi dalam sintesis protein (mRNA), regenerasi molekul DNA (reverse transcription), dan berbagai fungsi regulasi dalam sel.
- Sel Inang : Sel yang menjadi tuan rumah atau tempat hidup bagi parasit, virus, atau organisme lain yang menginfeksi sel tersebut dan menggunakan sel inang untuk berkembang biak.
- Sel-Sel Epitel : Sel-sel yang membentuk lapisan luar atau permukaan tubuh atau organ dalam, yang berfungsi sebagai lapisan pelindung dan penyaring serta berperan dalam berbagai fungsi fisiologis.
- Sensitivitas : Kemampuan atau kepekaan dalam mendeteksi atau merespons stimulus, perubahan, atau perubahan kondisi tertentu.
- Sintesis cDNA : Proses sintesis molekul DNA komplementer (cDNA) berdasarkan templat RNA, sering kali dilakukan dalam laboratorium untuk menghasilkan salinan DNA dari molekul RNA tertentu.
- Sirkulasi : Proses atau pergerakan zat atau substansi dalam tubuh melalui aliran darah atau sistem peredaran darah.
- Sistem Imunitas : Sistem kompleks dalam tubuh yang bertanggung jawab untuk melawan infeksi dan penyakit, melibatkan berbagai organ, jaringan, dan sel-sel yang bekerja bersama untuk mengidentifikasi, melawan, dan menghancurkan patogen.
- Sitokin : Molekul atau protein yang dihasilkan oleh sel-sel sistem imun yang berperan dalam mengatur respon imun, termasuk peradangan, proliferasi sel, dan regulasi imun lainnya.

- Sitotoksitas : Kemampuan atau kapasitas untuk merusak atau menghancurkan sel, sering kali merujuk pada kemampuan sel imun atau zat-zat kimia untuk menghancurkan sel yang terinfeksi atau sel yang berpotensi menjadi kanker.
- Spesifik : Bersifat khusus atau terbatas pada sesuatu yang tertentu, dalam konteks medis biasanya merujuk pada respons atau pengobatan yang ditargetkan pada patogen atau sel yang spesifik.
- Status Nodul : Status atau kondisi nodul atau benjolan dalam tubuh, sering kali merujuk pada benjolan yang ditemukan pada pemeriksaan fisik atau pemeriksaan medis.
- Surveilans* : Proses pengawasan atau pemantauan terhadap suatu kondisi atau situasi, biasanya untuk mengidentifikasi perubahan atau ancaman potens
- Tipe Karsinoma : Jenis tumor ganas atau kanker yang berasal dari sel epitel, yang merupakan salah satu jenis sel yang membentuk lapisan permukaan tubuh atau organ dalam.
- TNM : Sistem penilaian klinis yang digunakan untuk mengklasifikasikan stadium atau tingkat keparahan kanker berdasarkan ukuran tumor (T), keterlibatan kelenjar getah bening (N), dan penyebaran metastasis (M).
- Tp53 : Gen yang mengodekan protein p53, yang merupakan salah satu protein supresor tumor yang penting dalam mengontrol pertumbuhan dan pembelahan sel. Mutasi dalam gen TP53 seringkali terkait dengan perkembangan kanker.
- Transformasi Sel : Proses perubahan sel normal menjadi sel kanker, sel-sel kehilangan kontrol pertumbuhan normal dan dapat berkembang biak secara tidak terkendali.

- Transkripsi : Proses pembentukan molekul RNA dari templat DNA, yang merupakan langkah pertama dalam ekspresi genetik yang melibatkan sintesis RNA dari informasi genetik dalam DNA
- Translasi : Proses pembentukan protein dalam sel berdasarkan urutan nukleotida dalam molekul RNA yang dihasilkan selama transkripsi. Proses ini melibatkan penggunaan ribosom dan transfer RNA (tRNA) untuk menghasilkan rantai polipeptida yang membentuk protein.
- Tumor : Pertumbuhan abnormal sel dalam tubuh, dapat bersifat jinak (tidak kanker) atau ganas (kanker).
- Tumor Primer : Tumor asli atau awal yang muncul di tempat pertumbuhannya yang asli sebelum penyebaran metastasis ke bagian tubuh yang lain.
- Tumor Suppresor : Protein atau gen yang berfungsi menghambat pertumbuhan sel atau menghancurkan sel yang berpotensi menjadi kanker, melindungi integritas genomik dan mencegah perkembangan tumor.
- Tumor Suppresor miR : MicroRNA yang berperan dalam mengontrol pertumbuhan sel dan dapat menghambat perkembangan tumor dengan mengurangi ekspresi gen yang terlibat dalam proliferasi sel.
- VCA : Virus Capsid Antigen, yaitu antigen yang ditemukan pada kapsid atau selubung virus yang dapat digunakan untuk mendeteksi atau mengidentifikasi virus tertentu.
- VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor, yaitu faktor pertumbuhan yang merangsang pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis), seringkali terkait dengan pertumbuhan tumor.
- Virion : Bentuk virus yang lengkap, terdiri dari asam nukleat virus (DNA atau RNA) yang dikemas

dalam kapsid protein, yang merupakan bentuk infeksius virus yang dapat menginfeksi sel inang.

Virus : Sebuah entitas mikroskopis yang mengandung material genetik dan dapat menginfeksi sel inang untuk mereplikasi diri dan menyebabkan penyakit.

# INDEX

## A

aktivitas sel, 16, 37, 42, 45, 68, 99  
anatomi, 8, 25, 147, 148  
angiogenesis, 3, 39, 54, 64, 72, 97, 98,  
100, 110, 125, 157  
antiapoptosis, 3, 97  
apoptosis, 3, 6, 14, 15, 17, 23, 37, 38,  
39, 41, 43, 44, 50, 53, 54, 55, 63, 64,  
67, 68, 69, 71, 72, 90, 92, 97, 98, 99,  
100, 101, 107, 110, 121, 128, 129,  
138, 142  
asam nukleat, 56, 149, 150, 155, 157

## B

Biogenesis, 15, 16  
biokimiawi, 38  
biomarker, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 19, 22, 38,  
65, 66, 88, 90, 101, 109, 113, 114,  
118, 145  
Biomarker, 2, 118, 127, 143  
biopsi, 9, 28, 39, 60

## C

cairan tubuh, 17, 18, 49, 146, 151, 152  
cDNA, 21, 30, 31, 32, 57, 153, 155  
*chemoterapy resistance*, 90  
cisplatin, 3, 11, 28, 60, 96, 107, 108,  
118, 119, 123, 124, 128  
CRISPR-Cas9, 73, 77, 79, 81, 82

## D

diagnosis, 3, 8, 12, 15, 19, 55, 65, 66,  
85, 112, 119, 127, 136, 139, 141,  
145, 147  
diferensiasi, 3, 38, 44, 51, 52, 63, 64,  
70, 154

diisolasi, 30, 32  
DNA, 3, 18, 23, 35, 37, 39, 40, 41, 42,  
50, 54, 55, 60, 61, 69, 73, 76, 79, 80,  
96, 97, 98, 106, 110, 117, 123, 127,  
136, 140, 142, 144, 145, 147, 148,  
149, 150, 151, 153, 154, 155, 157

## E

EBNA, 13, 25, 26, 28, 50, 51, 59, 62,  
84, 85, 112, 143  
EBV, iii, 1, 5, 13, 14, 26, 35, 36, 37, 38,  
39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48,  
49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59,  
60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69,  
70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79,  
80, 81, 82, 83, 84, 85, 111, 117, 119,  
120, 122, 124, 125, 127, 129, 130,  
131, 132, 133, 135, 136, 137, 139,  
140, 141, 143  
efikasi, 67, 77, 78, 80, 81, 82, 83  
ekspresi protein, 39, 41, 44, 45, 92, 110,  
112  
endosomal, 17  
envelope, 40  
epidemiologi, 38, 43, 46, 47, 48, 49  
*ethical clearance*, 25

## F

faktor genetik, 47  
faktor resiko, 10  
fase laten, 36, 38, 41, 43, 44, 62  
fase litik, 36, 38, 41, 62  
fenotip sel, 43, 44  
fenotipe sel, 53

## G

gaya hidup, 8, 10, 39, 46, 47, 64, 152  
gen referensi, 22, 56, 112

gen supresor, 23, 68, 70, 71  
*gen tumor suppressor*, 4, 13  
genetik, 1, 8, 10, 12, 13, 14, 35, 38, 42,  
46, 47, 48, 49, 50, 54, 63, 73, 114,  
143, 144, 145, 147, 148, 149, 150,  
151, 152, 154, 157, 158  
genom virus, 41, 44

## H

histologi, 84, 85, 147  
*housekeeping gene*, 56

## I

imunosupresif, 45, 49  
infeksi, 1, 8, 10, 11, 13, 21, 26, 38, 39,  
40, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50,  
51, 52, 53, 54, 59, 61, 62, 63, 64, 65,  
66, 67, 68, 69, 70, 71, 75, 76, 77, 78,  
79, 80, 81, 83, 84, 143, 145, 146,  
148, 151, 154, 155  
Infeksi EBV, 40, 45, 49, 50, 60, 63  
infeksi latennya, 50, 54  
insidensi, 1, 8  
interaksi antara sel, 45  
invasi, 3, 38, 43, 50, 54, 60, 64, 65, 66,  
67, 73, 74, 75, 77, 78, 80, 81, 97, 98,  
107, 110, 111, 149

## J

jalur glikolisis, 24  
jalur-jalur biologis, 34, 38, 100

## K

kanker, 1, 2, 3, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13,  
14, 15, 17, 19, 20, 21, 22, 24, 35, 36,  
37, 38, 39, 41, 43, 44, 45, 46, 50, 54,  
55, 60, 61, 63, 67, 70, 77, 78, 79, 80,  
81, 84, 88, 89, 92, 96, 97, 98, 99,  
100, 107, 108, 109, 110, 111, 144,  
145, 146, 147, 148, 149, 150, 151,  
152, 153, 156, 157

karsinogenesis, 50, 54, 60, 98, 148  
karsinoma, iii, iv, 4, 6, 7, 8, 10, 12, 13,  
14, 15, 16, 17, 22, 25, 28, 35, 39, 40,  
41, 42, 45, 46, 48, 50, 59, 60, 62, 63,  
67, 68, 69, 70, 75, 76, 77, 78, 80, 90,  
93, 101, 102, 107, 110, 111, 113,  
114  
karsinoma nasofaring, iv, 7, 25, 39, 40,  
48, 60, 63, 68, 69, 70, 101  
keganasan, 1, 5, 8, 12, 23, 25, 50, 56  
kekambuhan, 2, 5, 9, 11  
kekebalan tubuh, 38, 40, 46, 53, 54, 79,  
145, 148, 149  
kelangsungan hidup, 1, 3, 6, 19, 37, 54,  
100, 101  
kematian sel, 18, 54, 100, 101, 143  
kemoradiasi, 1, 11  
kemoradioterapi, 2, 3, 4, 5, 6, 28, 87,  
88, 100, 101, 109, 110  
kemoterapi, 1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 14,  
20, 25, 28, 39, 66, 77, 78, 84, 85, 87,  
88, 90, 96, 100, 101, 107, 108, 109,  
111, 148, 153  
kerusakan DNA, 23, 24  
kesembuhan, 5, 8  
KNF, 1, 2, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13,  
14, 23, 28, 38, 39, 43, 44, 45, 46, 47,  
50, 58, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67,  
69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78,  
79, 80, 81, 82, 83, 85, 87, 88, 89, 90,  
92, 96, 97, 99, 100, 101, 108, 109,  
110, 111, 112  
kromosom, 14, 15, 92, 96

## L

lingkungan, 1, 8, 10, 12, 18, 36, 39, 46,  
47, 49, 60, 64, 76, 77, 78, 79, 101,  
114, 150, 152

## M

manifestasi klinis, 45, 46, 55  
menghambat pertumbuhan sel, 92, 157  
metastasi, 2

metastasis, 1, 3, 9, 11, 43, 50, 54, 65,  
71, 74, 75, 77, 78, 80, 81, 97, 98, 99,  
100, 110, 111, 146, 147, 156, 157  
metilasi, 20, 38, 42, 69, 76, 96  
migrasi, 37, 60, 64, 65, 66, 67, 69, 98,  
107, 110  
miRNA, iii, iv, 2, 3, 4, 5, 6, 15, 17, 18,  
19, 20, 21, 22, 28, 29, 30, 31, 33, 38,  
50, 51, 52, 53, 54, 55, 57, 59, 63, 64,  
65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74,  
75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 85,  
86, 87, 88, 90, 93, 94, 96, 97, 98, 99,  
100, 101, 102, 107, 109, 110, 111,  
112, 113, 114, 115, 128, 131, 133,  
136, 137, 144, 148, 149, 151, 152,  
153  
miRNA host, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74  
modulasi epigenetik, 61, 62, 79, 80, 82  
molekuler, 10, 12, 20, 39, 40, 43, 49,  
62, 74, 101, 146, 153  
mortalitas, 1, 7, 8  
mRNA, 3, 15, 17, 19, 20, 21, 22, 53, 54,  
70, 90, 96, 97, 110, 111, 142, 155  
Mutasi, 23, 38, 150, 156  
Mutasi gen, 23

## N

nasofaring, iii, iv, 1, 4, 6, 7, 9, 10, 14,  
22, 25, 28, 35, 39, 40, 41, 42, 45, 46,  
48, 50, 51, 55, 59, 60, 61, 62, 63, 66,  
67, 68, 69, 70, 75, 76, 77, 78, 80, 81,  
93, 100, 101, 102, 107, 108, 109,  
110, 111, 112, 113, 114, 144, 147  
Nasofaring, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 43, 50,  
60, 63, 70, 108, 147  
nekrosis, 17, 18, 100, 101  
*non-coding* RNA, 2, 20, 54, 125  
N-Regional Lymph Nodes, 58, 59

## O

oligonukleotida, 19, 72  
onkogen, 4, 23, 71, 96  
onkoprotein, 23

## P

partikel virus, 36, 41, 62  
pasien, iv, 1, 2, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 14,  
17, 23, 25, 26, 28, 33, 50, 55, 57, 58,  
60, 66, 74, 75, 77, 78, 80, 81, 82, 83,  
84, 85, 86, 87, 88, 90, 94, 96, 97, 99,  
100, 101, 108, 109, 111, 112, 113,  
114, 115, 144, 152, 154  
patofisiologi, 2, 21  
patogenesis, 3, 13, 39, 40, 43, 63, 64,  
65, 66, 67, 69, 70, 74, 75, 76, 77, 78,  
80, 81, 96, 112, 113, 114  
patologi, 5, 25, 112  
penghambatan translasi, 15, 17  
pengobatan, 1, 2, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11,  
12, 14, 15, 19, 20, 28, 39, 40, 45, 55,  
66, 67, 73, 74, 75, 78, 80, 81, 82, 83,  
90, 92, 101, 108, 109, 110, 111, 112,  
148, 151, 152, 153, 154, 156  
Pengobatan, 1, 3, 11, 39, 144, 148, 151  
pengobatan kanker, 3, 10  
penyakit, 1, 2, 9, 11, 12, 15, 17, 19, 22,  
28, 35, 36, 40, 42, 45, 46, 48, 98,  
101, 143, 144, 145, 146, 148, 151,  
152, 154, 155, 158  
perkembangan penyakit, 2  
pertumbuhan tumor, 4, 61, 71, 72  
plasma, 4, 5, 12, 17, 20, 22, 25, 26, 28,  
29, 53, 56, 93, 96, 111, 112, 114,  
115, 134, 136  
polimorfisme, 14, 38, 64  
*precision medicine*, 5  
prediktor terapi, 4, 5, 6, 7, 12  
prognosis, 2, 3, 12, 14, 19, 54, 55, 60,  
65, 66, 71, 72, 75, 83, 90, 96, 98,  
107, 118, 134, 136, 141  
progresivitas kanker, 3  
proliferasi, 3, 8, 15, 23, 37, 38, 39, 41,  
43, 44, 50, 51, 54, 60, 61, 63, 64, 65,  
66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75,  
77, 78, 80, 81, 92, 96, 99, 100, 101,  
107, 110, 111, 155, 157  
proliferasi sel, 3, 15, 24, 39, 41, 43, 44,  
61, 63, 64, 65, 67, 68, 69, 70, 71, 72,

73, 81, 92, 96, 99, 100, 101, 107,  
110, 111, 155, 157  
proses biologis, 34, 50, 63, 70, 71, 74,  
90, 92, 100, 146, 154  
protein, 3, 6, 13, 15, 19, 23, 24, 35, 36,  
38, 40, 41, 42, 43, 44, 50, 51, 54, 59,  
61, 63, 65, 72, 76, 90, 92, 97, 98, 99,  
107, 110, 121, 122, 135, 137, 140,  
143, 144, 145, 146, 147, 148, 149,  
150, 151, 155, 156, 157  
protein viral, 38, 39, 40, 41, 43, 44, 45  
pusat germinal, 52

## Q

qPCR, 5, 20, 21, 22, 30, 31, 32, 33, 56,  
57, 86, 97, 112, 114, 115, 142  
qRT-PCR, 6, 20, 22, 32, 56, 57, 79, 81,  
153

## R

radioterapi, iv, 1, 5, 8, 9, 10, 11, 28, 39,  
66, 77, 78, 84, 89, 90, 96, 98, 100,  
101, 102, 107, 108, 109, 110, 112  
Radioterapi, iii, 9, 28, 90, 109, 153  
reatif ekspresi livak, 33  
regulasi gen, 19, 61, 62, 63, 76  
regulator, 3, 53, 70, 71, 100, 110  
replikasi, 23, 37, 38, 40, 41, 44, 50, 53,  
54, 67, 143  
replikasi DNA, 23  
replikasi EBV, 53, 54  
replikasi genom, 41, 44  
resistance, 90, 118, 120, 123, 125, 136  
resisten, 20, 66  
resistensi, 3, 38, 39, 60, 64, 67, 79, 80,  
81, 82, 83, 90, 98, 99, 100, 107, 110,  
111  
respon imun, 39, 40, 41, 43, 44, 51, 54,  
64, 67, 68, 69, 145, 155  
respon negative, 11  
respon positif, 5, 97, 115  
respons, 3, 4, 6, 14, 18, 20, 38, 41, 42,  
43, 44, 45, 51, 53, 54, 61, 63, 65, 66,

68, 69, 70, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 80,  
87, 88, 100, 101, 107, 109, 110, 112,  
113, 114, 115, 143, 145, 152, 153,  
154, 156  
respons imun, 18, 38, 41, 42, 43, 44, 45,  
51, 53, 54, 61, 63, 68, 69, 70, 72, 73,  
74, 75, 76, 77, 80, 145  
risiko infeksi, 9, 40, 42  
RNA, 3, 15, 21, 22, 29, 30, 32, 41, 50,  
54, 57, 63, 67, 68, 70, 72, 76, 79, 92,  
109, 129, 134, 138, 144, 145, 146,  
147, 148, 149, 150, 151, 152, 153,  
154, 155, 157  
*RNA non-coding*, 50, 54  
RNA viral, 41

## S

sakit tenggorokan, 9, 46, 48, 109  
sampel cDNA, 32  
sampel kontrol, 5, 25  
sel B memori, 52  
sel eukariotik, 24, 63, 150  
sel inang, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42,  
43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 59, 63, 64,  
67, 68, 69, 70, 75, 147, 151, 155,  
157, 158  
sel kanker, 3, 9, 13, 24, 40, 107, 108,  
109, 110, 111, 146, 148, 153  
sel T, 43, 44, 52, 53, 54, 61, 68  
sensitif, 12, 90, 107, 112  
sensitivitas, 3, 11, 12, 17, 19, 20, 22, 34,  
65, 77, 87, 88, 97, 107, 108, 109,  
110, 111, 112  
siklus sel, 23, 24, 41, 44, 52, 53, 64, 92,  
99  
sintesis DNA, 14, 38, 92  
sirkulasi, iii, 3, 4, 5, 6, 17, 18, 19, 20,  
22, 55, 57, 59, 86, 87, 89, 97  
Sirkulasi, 18, 155  
sistem imunitas, 50, 51, 52  
sitokin, 45, 51, 61  
sitoplasma, 15, 62  
spesifisitas, 34, 81, 82, 87, 88, 112  
stabilitas, 76, 80, 81, 82, 153

stadium, 1, 2, 10, 11, 12, 21, 28, 55, 58,  
60, 84, 85, 88, 98, 99, 101, 110, 111,  
113, 156  
Stadium, 58  
stadium awal, 1, 10, 60, 110  
stadium lanjut, 1, 2, 11, 12, 88, 98, 110  
status TNM, 55, 58

## T

target gen, 56, 71  
target terapi, 40, 55, 70, 71, 72, 73, 74,  
75, 76, 79, 80, 81, 82, 114  
Tes serologi, 49  
TNM, 55, 99, 156  
toksisitas, 74, 79  
T-Primary Tumor, 58  
transformasi, 23, 43, 44, 61, 63, 70, 99,  
150  
transformasi sel, 23, 43, 44, 63, 70, 150  
Transformasi Sel, 156  
transkripsi, 13, 21, 23, 24, 38, 43, 53,  
59, 76, 77, 79, 90, 97, 157  
Transkripsi, 76, 157  
Translasi, 76, 157  
translasi protein, 2  
tumor, 3, 9, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20,  
23, 39, 42, 44, 48, 53, 54, 55, 58, 60,

61, 62, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71,  
72, 73, 74, 76, 79, 80, 92, 96, 97, 98,  
99, 103, 105, 108, 110, 111, 117,  
119, 120, 121, 122, 125, 133, 141,  
147, 149, 152, 153, 156, 157  
tumor epitelial, 48  
tumor padat, 20  
Tumor Supresor, 157  
Tumor Supresor miR, 157  
tumor supresor, 53, 64, 65, 67, 92, 110

## V

variasi genetik, 42  
VCA, 13, 25, 26, 28, 50, 59, 62, 84, 85,  
139, 157  
Virion, 157  
Virus, 10, 13, 35, 40, 41, 43, 45, 50, 61,  
111, 117, 118, 121, 122, 123, 127,  
132, 135, 138, 139, 140, 142, 144,  
145, 151, 157, 158  
Virus Epstein-Barr, 1, 14, 63, 67, 75,  
84, 143, 148, 150

## W

wild type, 23, 24

## TABEL KREDIT GAMBAR

No	Nomor Gambar	Sumber Gambar	Tanggal Unduh
1	Gambar 1	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6756073/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6756073/</a>	12 November 2022
2	Gambar 2	<a href="https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/bmc-2013-0015/html">https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/bmc-2013-0015/html</a>	14 November 2022
3	Gambar 3	Dokumentasi Pribadi	
4	Gambar 4	Dokumentasi Pribadi	
5	Gambar 5	Dokumentasi Pribadi	
6	Gambar 6	<a href="https://www.researchgate.net/publication/283025697_Molecular_localization_of_Epstein-Barr_virus_and_BCL-2_expression_in_tissues_from_patients_infected_with_nasopharyngeal_tumors">https://www.researchgate.net/publication/283025697_Molecular_localization_of_Epstein-Barr_virus_and_BCL-2_expression_in_tissues_from_patients_infected_with_nasopharyngeal_tumors</a>	02 Januari 2023
7	Gambar 7	<a href="https://www.researchgate.net/publication/283025697_Molecular_localization_of_Epstein-Barr_virus_and_BCL-2_expression_in_tissues_from_patients_infected_with_nasopharyngeal_tumors">https://www.researchgate.net/publication/283025697_Molecular_localization_of_Epstein-Barr_virus_and_BCL-2_expression_in_tissues_from_patients_infected_with_nasopharyngeal_tumors</a>	02 Januari 2023
8	Gambar 8	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7310352/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7310352/</a>	12 Januari 2023
9	Gambar 9	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6096363/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6096363/</a>	12 Januari 2023
10	Gambar 10	<a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32986380/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32986380/</a>	13 Januari 2023
11	Gambar 11	<a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32986380/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32986380/</a>	13 Januari 2023
12	Gambar 12	<a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30546078/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30546078/</a>	15 Januari 2023
13	Gambar 13	<a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36203524/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36203524/</a>	20 Januari 2023
14	Gambar 14	<a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36203524/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36203524/</a>	20 Januari 2023
15	Gambar 15	<a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36203524/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36203524/</a>	20 Januari 2023
16	Gambar 16	Dokumentasi Pribadi	
17	Gambar 17	<a href="https://www.researchgate.net/publication/338130663_The_Expression_of_miR-21_and_miR-29c_in_Blood_Plasma_of_Nasopharyngeal_Carcinoma_Patient_Post-Chemoradiotherapy">https://www.researchgate.net/publication/338130663_The_Expression_of_miR-21_and_miR-29c_in_Blood_Plasma_of_Nasopharyngeal_Carcinoma_Patient_Post-Chemoradiotherapy</a>	2 Februari 2023
18	Gambar 18	<a href="https://garuda.kemdikbud.go.id/documents/detail/688604">https://garuda.kemdikbud.go.id/documents/detail/688604</a>	3 Februari 2023



UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN  
Gd. UNSOED *Press*  
Jalan Prof. Dr. H.R. Boenyamin 708 Purwokerto  
Kode Pos 53122 Kotak Pos 115  
Telepon (0281) 626070  
Email: [unsoedpresspwt@gmail.com](mailto:unsoedpresspwt@gmail.com)

ISBN 978-623-465-112-6

