

Perbandingan Kadar *Soluble Platelet-Selectin* pada Berbagai Stadium Karsinoma Nasofaring dan Korelasinya dengan Hitung Trombosit

Adi Surya Komala¹, Asrul Harsal², Andhika Rachman³, Cleopas Martin Rumende⁴

¹ Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI/RSCM

²Divisi Hematologi dan Onkologi Medik, Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI/RS Kanker Dharmas

³Divisi Hematologi dan Onkologi Medik, Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI/RSCM

⁴Divisi Respirologi dan Penyakit Kritis, Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI/RSCM

ABSTRAK

Pendahuluan. Karsinoma nasofaring (KNF) merupakan jenis keganasan yang unik dengan distribusi geografis dan etnis tertentu. Daerah Cina Selatan dan Asia Tenggara memiliki insidens kejadian yang tinggi. Indonesia memiliki insidens 5,66 kasus per 100.000 penduduk per tahun. Salah satu penyebab kematian pada pasien dengan keganasan adalah trombositis. Kadar *soluble Platelet-selectin* (*sP-selectin*) yang tinggi dalam plasma, hasil dari aktivasi sel-sel endotel dan trombosit, adalah salah satu prediktor kejadian trombositis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar *sP-selectin* pada berbagai stadium karsinoma nasofaring dan korelasinya dengan hitung trombosit.

Metode. Dilakukan studi potong lintang pada 60 kasus karsinoma nasofaring yang baru terdiagnosis di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo pada periode Maret hingga November 2012. Kadar *sP-selectin* pada berbagai stadium yang diukur dengan teknik *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* akan dibandingkan dan dikorelasikan dengan hitung trombosit.

Hasil. Dari 60 pasien KNF didapatkan rerata usia 43,9 tahun. Rasio laki-laki dengan perempuan 3:1 dan jenis patologi terbanyak adalah karsinoma tidak berdiferensiasi (83,3%). Sepuluh persen pasien mengalami trombositosis. Median kadar *sP-selectin* adalah 45,73 ng/mL dengan rentang interkuartil: 42,02-57,66 ng/mL. Secara statistik terdapat perbedaan kadar *sP-selectin* diantara stadium IVC dengan stadium lainnya (stadium IVB, $p = 0,001$ dan kelompok stadium I-IVA, $p < 0,001$). Hitung trombosit tidak berkorelasi dengan *sP-selectin* ($r: 0,185$; $p = 0,158$) pada karsinoma nasofaring.

Simpulan. Terdapat perbedaan kadar *sP-selectin* pada berbagai stadium karsinoma nasofaring. Hitung trombosit tidak berkorelasi dengan kadar *sP-selectin*.

Kata kunci. Karsinoma nasofaring, *sP-selectin*, hitung trombosit

PENDAHULUAN

Karsinoma nasofaring merupakan keganasan yang unik karena memiliki perbedaan distribusi secara geografis dan etnis tertentu. Di Indonesia insidens karsinoma nasofaring tergolong tinggi bila dibandingkan dengan daerah-daerah lainnya di dunia. Hitung trombosit, jumlah leukosit, hemoglobin, D-dimer, ekspresi faktor jaringan pada sel-sel tumor, mikropartikel, faktor VIII,¹ fragmen protrombin 1+2,² dan *soluble Platelet-selectin* (*sP-selectin*) diketahui dapat memprediksi kejadian tromboemboli vena pada pasien keganasan.³ Granula α trombosit dan badan Weibel-Palade sel-sel endotel merupakan sumber *sP-selectin*.⁴⁻⁸ Bilamana trombosit dan sel-sel endotel teraktivasi akan terjadi peningkatan kadar *sP-selectin* terlarut dalam plasma.^{9,10}

Penelitian *The Vienna Cancer and Thrombosis Study* (CATS) menemukan adanya peningkatan kejadian

tromboemboli vena pada keganasan dengan kadar *sP-selectin* yang tinggi. Pada mereka dengan kadar *sP-selectin* $\geq 53,1$ ng/mL memiliki *Hazard Ratio* 2,6 (95% Interval Kepercayaan: 1,4-4,9) untuk mengalami tromboemboli vena. Oleh karena itu pengukuran kadar *sP-selectin* pada saat diagnosis kanker dapat membantu mengidentifikasi pasien dengan risiko tinggi akan kejadian tromboemboli vena.¹¹

Pada karsinoma nasofaring, D-dimer sebagai salah satu prediktor kejadian tromboemboli vena diketahui berkorelasi dengan stadium.¹² Demikian pula dengan *sP-selectin*, Shi-fu dkk serta Lei dkk mendapatkan adanya peningkatan kadar *sP-selectin* pada KNF seiring dengan semakin lanjutnya stadium.^{13,14} Trombosit yang merupakan salah satu sumber *sP-selectin*, diketahui berhubungan dengan stadium KNF dan menjadi salah satu prediktor metastasis.¹⁵ Peningkatan jumlah hitung trombosit atau trombositosis diketahui berhubungan dengan semakin

besarnya volume tumor atau stadium yang lanjut.^{16,17} Hal ini terkait dengan kemampuan sel-sel kanker untuk mengagregasi trombosit sehingga terbentuk agregat sel-sel kanker dan trombosit (trombus tumor-trombosit) dalam sirkulasi yang dapat menghindarkan sel-sel kanker dari sistem imun tubuh dan mempermudah tertahannya sel-sel tersebut pada jaringan mikrovaskular dari organ jauh.^{15,18,19}

Pada berbagai kanker telah diketahui adanya peningkatan kadar *sP-selectin* dan hal ini diketahui berhubungan dengan peningkatan risiko kejadian tromboemboli vena. Sejauh pengetahuan peneliti, belum ada penelitian yang mengukur kadar *sP-selectin* pada KNF di Indonesia. Mengingat saat ini *sP-selectin* merupakan salah satu prediktor kejadian tromboemboli vena, maka adalah penting untuk mengetahui kadar *sP-selectin* dan korelasinya dengan hitung trombosit agar dapat mengetahui risiko kejadian tromboemboli vena di kemudian hari.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kadar *sP-selectin* pada berbagai stadium karsinoma nasofaring dan korelasi antara hitung trombosit dengan kadar *sP-selectin* pada karsinoma nasofaring.

METODE

Penelitian ini merupakan studi potong lintang (*cross-sectional study*). Penelitian dilakukan di poliklinik divisi Hematologi Onkologi Medik Departemen Ilmu Penyakit Dalam RSUPN Cipto Mangunkusumo pada bulan April 2012 hingga November 2012. Populasi target pada penelitian ini adalah pasien dengan karsinoma nasofaring. Populasi terjangkau adalah populasi target yang telah menjalani *staging* dan belum menjalani terapi baik kemoterapi maupun radioterapi. Sementara sampel adalah populasi terjangkau yang memenuhi kriteria penelitian. Pada penelitian ini, kasus karsinoma nasofaring yang telah dilakukan *staging* menurut AJCC akan dikelompokkan menjadi tiga kelompok berdasarkan jauhnya metastasis (metastasis regional dan organ jauh), yaitu: kelompok stadium I hingga IVA, stadium IVB, dan stadium IVC.

Besar sampel yang diperlukan untuk mengetahui perbedaan kadar *sP-selectin* pada berbagai karsinoma nasofaring dihitung dengan menggunakan rumus besar sampel untuk uji beda rerata dua populasi. Sementara besar sampel yang diperlukan untuk mendapatkan korelasi hitung trombosit dengan kadar *sP-selectin* dihitung dengan menggunakan rumus besar sampel tunggal minimal untuk koefisien korelasi. Dari berbagai perhitungan besar sampel tersebut, ditetapkan jumlah sampel sebanyak 16 orang untuk tiap kelompok, sehingga diperlukan total sampel sebanyak 48 orang.

Teknik pengambilan sampel dengan menggunakan metode konsekutif yaitu semua pasien dengan karsinoma nasofaring yang belum menjalani terapi yang datang di poliklinik divisi Hematologi Onkologi Medik RSCM. Pada pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak memiliki kriteria eksklusi akan dilakukan anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan laboratorium.

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah telah ditegakkan diagnosis karsinoma nasofaring berdasarkan gejala klinis, pemeriksaan radiologis, dan pemeriksaan patologi anatomi; telah dilakukan *staging* lengkap, meliputi: *CT scan* nasofaring, foto *roentgen thorax*, ultrasonografi/*CT scan* abdomen, dan *bone scan* (skintigrafi tulang) dan atau spot fluoroskopi tulang; belum mendapatkan terapi, baik pembedahan, kemoterapi maupun radioterapi.

Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah mengalami infeksi sistemik, perdarahan aktif, keganasan lain, baik tumor padat maupun keganasan hematologi, hamil, diabetes melitus, penyakit ginjal kronik, dalam terapi antiplatelet atau antikoagulan, gagal jantung, fibrilasi atrial.

Subjek penelitian diambil dari pasien dengan karsinoma nasofaring yang telah dilakukan *staging* dan belum menjalani tindakan terapi, baik pembedahan, radioterapi, maupun kemoterapi. Pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak memiliki kriteria eksklusi akan dilakukan *Informed Consent* terhadap pasien dan walinya sebelum dilakukan pengambilan data. Pada subjek penelitian kemudian akan dilakukan anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pengambilan data penunjang. Data yang dikumpulkan mencakup data karakteristik pasien dan data penunjang diagnostik, meliputi: pemeriksaan laboratorium (darah perifer lengkap, fungsi hati dan ginjal), radiologis (*CT scan* nasofaring, foto *roentgen thorax*, *CT scan* abdomen atau USG abdomen, dan skintigrafi tulang atau spot fluoroskopi tulang), patologi anatomi (biopsi tumor primer dan atau penanda imunohistokimia).

Sampel darah sebanyak 2,7 mL untuk pemeriksaan kadar *sP-selectin* diperoleh dari pungsi vena di area antekubiti dengan menggunakan jarum 20G yang kemudian disimpan pada *citrate BD vacutainers™* (tutup biru muda). Dalam jangka waktu 30 menit pasca pengambilan darah, akan dilakukan sentrifugasi 1000 x g selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh akan disimpan pada tabung Eppendorf 1,5 mL pada suhu -80°C. Dengan teknik *immunoassay* yang menggunakan *human soluble P-selectin kit* dari R&D Systems (nomor katalog BBE6), diukur kadar *sP-selectin* dengan teknik *solid phase ELISA* (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). Kadar *sP-selectin*

akan dibaca dengan alat ELISA *micro strip reader* Stat Fax 303+ dalam bentuk *optical density* yang selanjutnya akan dimasukkan ke dalam kurva standar. Sementara untuk hitung trombosit digunakan sampel darah sebanyak 3 mL yang disimpan pada tabung EDTA *BD vacutainers™* (tutup ungu). Penghitungan dilakukan dengan menggunakan alat Sysmex XE-2000 analyzer.

Pengolahan data penelitian dilakukan secara elektronik menggunakan perangkat SPSS versi 13. Perhitungan nilai rerata hitung, median, dan sebaran baku dilakukan untuk data yang bersifat kuantitatif. Untuk membandingkan kadar *sP-selectin* pada berbagai stadium KNF digunakan uji Anova, sementara untuk menilai korelasi hitung trombosit dengan kadar *sP-selectin* dilakukan dengan menggunakan uji korelasi Pearson.

Penelitian ini telah mendapat Keterangan Lolos Kaji Etik dari Panitia Tetap Etik Penelitian Kedokteran Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/ Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo dengan nomor surat: 349/PT02.FK/ETIK/2012. Semua data rekam medik yang digunakan akan dijaga kerahasiaannya.

HASIL

Penelitian ini dilakukan secara potong lintang dalam kurun waktu antara bulan Maret hingga bulan November 2012 dengan mengikutsertakan pasien-pasien sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Dalam periode tersebut didapatkan 60 pasien dengan karsinoma nasofaring yang dapat diikutsertakan dalam penelitian. Usia rerata subjek penelitian adalah 43,9 tahun (Simpang Baku/SB: 11,58) dengan kelompok usia terbanyak pada rentang usia 51-60 tahun. Lebih dari separuh pasien berasal dari etnis Jawa dan Sunda. Proporsi pasien laki-laki lebih banyak daripada perempuan, sekitar 75% dari keseluruhan pasien.

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian

Karakteristik	Keterangan
Jenis Kelamin	
Laki-laki	45 (75%)
Perempuan	15 (25%)
Usia	
Rerata	43,9 Tahun ($\pm 11,58$)
Median	43,5 Tahun
Kelompok Usia	
< 20 Tahun	2 (3,3%)
21-30 Tahun	4 (6,7%)
31-40 Tahun	17 (28,3%)
41-50 Tahun	15 (25%)
51-60 Tahun	18 (30%)
> 60 Tahun	4 (6,7%)
Suku Bangsa	
Jawa	20 (33,3%)
Sunda	16 (26,7%)
Melayu	7 (11,7%)
Batak	5 (8,3%)
Tionghoa	3 (5%)
Lain-lain	3 (5%)

Sebagian besar pasien tamat sekolah menengah umum dan memiliki riwayat merokok. Jaminan Kesehatan Daerah (Jamkesda) merupakan jenis pembiayaan kesehatan yang banyak digunakan.

Tabel 2. Karakteristik sosial ekonomi subjek penelitian

Karakteristik	Keterangan
Pendidikan	
Tidak Tamat SD	3 (5%)
Tamat SD	8 (13,3%)
Tamat SMP	6 (10%)
Tamat SMU	35 (58,3%)
Tamat Dipl III	2 (3,3%)
Tamat S1	6 (10%)
Jenis Pembiayaan	
Umum	4 (6,7%)
Askes	15 (25%)
SKTM	6 (10%)
Jamkesmas	13 (21,7%)
Jamkesda	22 (36,7%)
Riwayat Merokok	
Ya	41 (68,3%)
Tidak	19 (32,7%)

Jenis karsinoma yang tidak berdiferensiasi merupakan jenis patologi yang banyak ditemukan pada karsinoma nasofaring (sekitar 83,3%). Secara keseluruhan, sebagian besar pasien datang telah dalam stadium IV. Sebanyak 68,3% pasien datang dalam T4, dan sekitar 60% dengan status N3.

Tabel 3. Karakteristik klinis subjek penelitian

Karakteristik	Keterangan
Histopatologi	
WHO Tipe-1	1 (1,7%)
WHO Tipe-2	9 (15%)
WHO Tipe-3	50 (83,3%)
Tumor	
T1	4 (6,7%)
T2	11 (18,3%)
T3	4 (6,7%)
T4	41 (68,3%)
Nodal	
N0	2 (3,3%)
N1	8 (13,3%)
N2	14 (23,3%)
N3a	30 (50%)
N3b	6 (10%)
Stadium	
Stadium I	1 (1,7%)
Stadium II	1 (1,7%)
Stadium III	4 (6,7%)
Stadium IVA	16 (26,7%)
Stadium IVB	19 (31,7%)
Stadium IVC	19 (31,7%)

Diantara pasien dengan metastasis, tulang merupakan organ yang paling sering menjadi tempat metastasis. Hampir separuh subjek penelitian mengalami karsinoma nasofaring yang menyebar ke lebih dari satu organ jauh.

Tabel 4. Karakteristik metastasis subjek penelitian

Karakteristik	Keterangan
Lokasi metastasis	
Tulang	16 (84,2%)
KGB non-regional	2 (3,3%)
Hepar	2 (3,3%)
Paru-paru	3 (5%)
Susunan saraf pusat	2 (3,3%)
Jumlah lokasi metastasis	
Satu lokasi	10 (52,6%)
Dua lokasi	7 (36,9%)
Tiga lokasi	2 (10,5%)

Pada penelitian ini didapatkan rerata hemoglobin 12,36 g/dL (SB: 2,04) dan rerata trombosit 326.433,3/ μ L (SB: 108.468,8). Bila dikelompokkan berdasarkan kriteria normal tidaknya hitung trombosit, terdapat 6 (10%) orang subjek penelitian yang mengalami trombositosis dan hanya satu orang (1,7%) yang mengalami trombositopenia. Bila kelompok hitung trombosit dibedakan berdasarkan stadium seperti terlihat pada tabel 5.6, empat orang subjek penelitian dengan trombositosis berada pada stadium IVC.

Tabel 5. Karakteristik laboratorium subjek penelitian

	Jumlah	Hb (Rerata \pm SB)	Leukosit (Rerata \pm SB)	Trombosit (Rerata \pm SB)
Kelompok Stadium	I-IVA 22	13,28 \pm 1,46	8.400,91 \pm 2.659,98	323.772,73 \pm 84.884,2
	IVB 19	13,05 \pm 1,41	9.141,05 \pm 3.122,55	316.789,47 \pm 70.073,44
	IVC 19	10,59 \pm 2,06	17.065,26 \pm 12.690,81	339.157,89 \pm 158.020,1
	60	12,36 \pm 2,04	11.379 \pm 8.364,3	326.433,33 \pm 108.468,8

Tabel 6. Sebaran kelompok hitung trombosit berdasarkan stadium

	< 150000	150000-450000	> 450000
Stadium I	-	1 (1,7%)	-
Stadium II	-	1 (1,7%)	-
Stadium III	-	4 (6,7%)	-
Stadium IVA	-	14 (23,3%)	2 (3,3%)
Stadium IVB	-	19 (31,7%)	-
Stadium IVC	1 (1,7%)	14 (23,3%)	4 (6,7%)

Hasil pengukuran kadar *sP-selectin* berdasarkan kelompok stadium dapat dilihat pada tabel 5.7. Dari hasil tersebut diperoleh nilai median *sP-selectin* 45,73 ng/mL dengan rentang interkuartil: 42,02-57,66 ng/mL.

Tabel 7. Kadar *sP-Selectin* berdasarkan stadium

	Jumlah	Rerata (ng/mL)	Simpang Baku
Stadium I	1	32,30	-
Stadium II	1	19,65	-
Stadium III	4	38,60	7,43
Stadium IVA	16	43,84	13,58
Stadium IVB	19	44,62	8,17
Stadium IVC	19	75,03	37,70
Total	60	53,02	27,3

Subjek penelitian selanjutnya akan dikelompokkan ke dalam tiga kelompok berdasarkan jauhnya metastasis (metastasis regional atau keterlibatan kelenjar getah bening leher dan keberadaan metastasis), yaitu kelompok stadium I hingga IVA, kelompok stadium IVB, dan kelompok stadium IVC.

Dari uji normalitas Shapiro-Wilk, pada kelompok stadium IVC terdapat distribusi data yang tidak normal. Oleh karena transformasi data tidak dapat dilakukan maka untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kadar *sP-selectin* antara berbagai stadium dilakukan dengan uji non-parametrik Kruskal-Wallis.

Tabel 8. Kadar *sP-Selectin* berdasarkan kelompok stadium

	Jumlah	Rerata (ng/mL)	Simpang Baku	Uji Normalitas (p)
Stadium I-IVA	22	42,81	12,88	0,278
Stadium IVB	19	42,83	8,98	0,108
Stadium IVC	19	75,03	37,70	0,01

Dari uji Kruskal-Wallis diperoleh nilai $p < 0,05$ sehingga setidaknya terdapat perbedaan nilai *sP-selectin* antara dua kelompok. Untuk mengetahui diantara kelompok mana terdapat perbedaan maka dilakukan uji *post-hoc* dengan uji Mann-Whitney.

Tabel 9. Hasil analisis Kruskal-Wallis

	Jumlah	Median (minimum-maksimum)	P
Kelompok Stadium	Stadium I-IVA 22	42,66 (19,65-67,93)	< 0,001
	Stadium IVB 19	45,09 (27,09-60,24)	
	Stadium IVC 19	59,5 (31,49-165,12)	

Uji Kruskal-Wallis. Uji *post-hoc* Mann-Whitney: stadium I-IVA vs IVB $p = 0,25$; stadium I-IVA vs IVC $p < 0,001$; stadium IVB vs IVC $p = 0,001$

Dari tabel di atas, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan nilai *sP-selectin* antara: kelompok stadium I-IVA dengan stadium IVC dan antara stadium IVB dengan IVC.

Pada penelitian ini juga didapatkan sebaran data hitung trombosit yang tidak normal dan karena transformasi data juga tidak dapat dilakukan maka uji korelasi hitung trombosit dengan kadar *sP-selectin* dilakukan dengan uji korelasi Spearman.

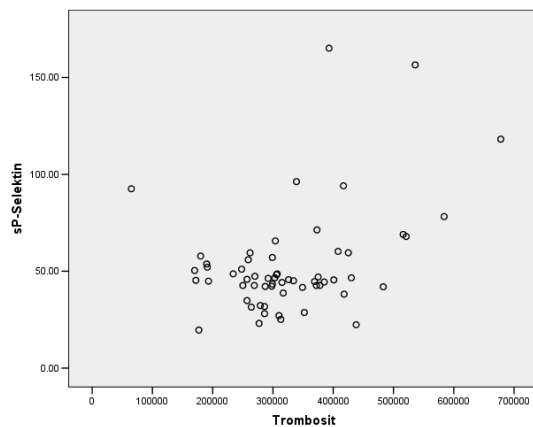
Tabel 10. Uji normalitas hitung trombosit dan kadar *sP-Selectin*

Jumlah	<i>sP-Selectin</i> (Rerata \pm SB)	Hitung Trombosit (Rerata \pm SB)
60	53,02 \pm 27,30	326.433,33 \pm 108.468,8

Uji normalitas Kolmogorov-Smirnov *sP-selectin*: $p < 0,001$

Uji normalitas Kolmogorov-Smirnov hitung trombosit: $p = 0,037$

Sebelum melakukan uji korelasi Spearman, perlu dilihat apakah terdapat hubungan linear antara hitung trombosit dengan kadar *sP-selectin* dengan menggambar diagram baur seperti yang terlihat pada gambar 1.



Gambar 1. Diagram baur hitung trombosit dengan *sP-Selectin*

Seperti yang terlihat pada gambar 5.1, tidak terlihat adanya hubungan linier antara hitung trombosit dengan kadar *sP-selectin*. Oleh karena itu bisa disimpulkan bahwa tidak terdapat korelasi antara hitung trombosit dengan kadar *sP-selectin*. Hal ini dapat dibuktikan dengan uji korelasi Spearman seperti terlihat pada tabel 5.8, dimana diperoleh nilai $p = 0,158$ sehingga tidak terdapat korelasi antara hitung trombosit dengan kadar *sP-selectin*.

Tabel 11. Hasil uji Spearman hitung trombosit dan kadar *sP-Selectin*

		<i>sP-Selectin</i>
Hitung Trombosit	r	0,185
	p	0,158
Jumlah		60

Dari hasil di atas, diperoleh nilai $p = 0,158$ yang menunjukkan tidak ada korelasi yang bermakna antara hitung trombosit dengan kadar *sP-selectin* pada karsinoma nasofaring.

DISKUSI

Penelitian ini dilakukan secara potong lintang dengan mengambil sampel sebanyak 60 subjek pasien dengan karsinoma nasofaring yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Pada penelitian ini didapat median usia 43,5 tahun (rentang: 16 hingga 69 tahun) dan proporsi pasien laki-laki terhadap perempuan sebesar 3:1. Sebanyak 30% pasien berada pada kelompok usia 51-60 tahun, sedikit berbeda dengan penelitian Adham dkk di RSCM yang menemukan kasus terbanyak pada kelompok usia 41-50 tahun.²⁰ Di tingkat regional, rerata usia pasien dalam penelitian ini lebih muda dibandingkan dengan penelitian Devi dkk di Sarawak, Malaysia yang mendapatkan rerata usia pasien karsinoma nasofaring 47,7 tahun (SB: 14,6) dan terbanyak pada kelompok usia 50-59 tahun.²¹

Sel-sel kanker dapat berinteraksi dengan seluruh komponen dari sistem hemostatik termasuk trombosit.¹⁸ Sel-sel kanker mempunyai kemampuan untuk mengagregasi trombosit yang dikenal dengan istilah *tumor cell-induced platelet aggregation* (TCIPA). Hal ini disebabkan karena kemampuan sel-sel kanker untuk mengekspresikan reseptor dan molekul adhesi seperti yang dimiliki oleh trombosit. Adanya TCIPA akan memberikan keuntungan terhadap kesintasan sel-sel kanker.^{18,22}

Kemiripan fenotip sel-sel kanker dengan trombosit juga disertai dengan kemampuan sel-sel kanker untuk menghasilkan berbagai agonis trombosit seperti: ADP dan trombin. Trombosit manakala teraktivasi akan melepaskan berbagai protein yang terdapat dalam granula α dan *dense*.¹⁸ Salah satu isi dari granula α adalah *P-selectin* yang setelah diekspresikan pada permukaan membran trombosit akan dilepaskan ke dalam plasma sebagai *sP-selectin*.¹⁰

Pada penelitian ini didapatkan rerata nilai *sP-selectin* 53,02 ng/mL (SB: 27,3) dan median 45,73 ng/mL. Nilai ini berbeda dari penelitian Lei dkk yang mendapatkan nilai median 89,04 ng/mL.¹⁴ Sementara Shi-fu dkk mendapatkan rerata *sP-selectin* 97,76 ng/mL (SB: 56,57).¹³ Perbedaan ini kemungkinan disebabkan adanya beberapa kriteria eksklusi yang tidak diberlakukan pada penelitian Lei maupun Shi-fu tersebut.

Tabel 6.1. Kadar *sP-Selectin* Pada Berbagai Kanker¹¹

Lokasi Tumor	<i>sP-Selectin</i> , ng/mL (median dan rentang interkuartil)
Payudara (n=125)	40,9 (32,5-49,5)
Paru-paru (n=86)	43,9 (35,5-55,5)
Gastrointestinal Atas (n=30)	44,9 (40-59,5)
Kolorektal (n=100)	43,2 (32,7-52,8)
Pankreas (n=42)	40,2 (32,7- 52,4)
Ginjal (n=19)	44,6 (35,3-58,6)
Prostat (n=72)	45,2 (35,9-53,3)
Otak (n=80)	41,1 (32,2-55,3)
Limfoma (n=73)	40,6 (31,2-53,9)
Mieloma multipel (n=18)	33,3 (27,2-50,7)
Lain-lain (n=42)	41,3 (34,1-58,0)

Pada *The Vienna Cancer and Thrombosis Study*, Ay dkk melihat nilai *SP-selectin* pada berbagai keganasan yang meliputi: kanker payudara, paru, gastrointestinal bagian atas, kolorektal, pankreas, ginjal, prostat, otak, limfoma, dan mieloma multipel. Dari penelitian tersebut, Ay tidak menemukan adanya perbedaan nilai median *sP-selectin* diantara berbagai lokasi keganasan ($p = 0,25$).¹¹ Pada penelitian ini diperoleh nilai median yang tidak berbeda jauh dengan penelitian Ay dkk (median: 45,73 ng/mL dan rentang interkuartil: 42,02-57,66).

Pada penelitian ini terlihat adanya perbedaan median nilai *sP-selectin* pada mereka dengan metastasis (59,5 ng/mL) dibandingkan dengan stadium-stadium lainnya (vs 42,66 ng/mL pada kelompok stadium I-IVA dan vs 44,69 ng/mL pada stadium IVB). Sementara di antara kelompok stadium I-IVA dengan stadium IVB tidak terdapat perbedaan bermakna ($p = 0,794$).

McAllister dkk pada berbagai jenis kanker mendapatkan kadar *sP-selectin* yang lebih tinggi pada kasus yang telah bermetastasis dibandingkan dengan kasus lokal (66,2 vs 38,3 ng/mL; $p < 0,05$).²³ Pada keganasan kolorektal, Ferroni dkk juga mendapatkan median kadar *sP-selectin* yang lebih tinggi pada pasien dengan metastasis dibandingkan yang tanpa metastasis (68,2 vs 48,6 ng/mL; $p = 0,002$).²⁴ Demikian pula temuan Dymicka-Piekarska dkk pada kanker kolorektal menemukan kadar *sP-selectin* yang lebih tinggi pada mereka dengan metastasis (76,85 vs 54,22 ng/mL, $p < 0,001$).²⁵

Pada karsinoma nasofaring, Shi-fu mendapatkan kadar *sP-selectin* yang lebih tinggi pada mereka dengan metastasis kelenjar getah bening dibandingkan yang tanpa metastasis ($137,54 \pm 62,48$ ng/mL dan $72,31 \pm 39,86$ ng/mL).¹³ Demikian pula penelitian Lei dkk juga mendapatkan hasil yang sama.¹⁴ Menilik hasil penelitian-penelitian tersebut, maka tingginya kadar *sP-selectin* pada saat diagnosis karsinoma nasofaring, sepatutnya diduga adanya stadium keganasan yang telah lanjut.

Dalam penelitian ini didapatkan rerata hitung trombosit $326.433,33/\mu\text{L}$. (median: 306.500; SB: 108.468,8). Selama 30 tahun terakhir, telah ditemukan bukti-bukti keterlibatan trombosit pada penyebaran kanker. Hampir setiap tahapan dalam proses metastasis dihubungkan dengan trombosit.²⁶ Kontribusi trombosit pada proses metastasis merupakan suatu proses terorganisir yang mendasari patobiologi pertumbuhan dan penyebaran tumor.¹⁸

Trombositosis atau bahkan jumlah trombosit pada rentang atas nilai normal telah dihubungkan dengan tahapan lanjut kanker atau metastasis, dan menjadi penanda prognostik negatif bagi kebanyakan tumor, seperti: karsinoma endometrium, kanker serviks, ovarium, gaster, esofagus, otak, payudara, paru-paru, kolon, dan ginjal.^{22,27,28} Pada penelitian ini 10% subjek penelitian mengalami trombositosis yang kesemuanya berada pada stadium IV dan 2/3 diantara mereka berada pada stadium IVC. Sejalan dengan penelitian ini, Gao dkk mendapatkan 11,8% kasus karsinoma nasofaring dengan hitung trombosit $> 300.000/\mu\text{L}$. Mereka dengan hitung trombosit di atas nilai tersebut memiliki prognosis yang jelek dan kecenderungan untuk mengalami metastasis.¹⁵

Salah satu subjek penelitian memiliki nilai trombosit $65.000/\mu\text{L}$. Trombositopenia pada beberapa tumor solid dianggap sebagai bagian dari sindrom paraneoplastik. Pada karsinoma nasofaring sendiri jarang terjadi trombositopenia kecuali sudah menginfiltrasi sumsum tulang secara difus. Hingga saat ini hanya ada dua laporan kejadian trombositopenia pada karsinoma nasofaring.²⁹

Dari hasil uji korelasi Spearman tidak didapatkan adanya korelasi antara hitung trombosit dengan kadar *sP-selectin* ($p = 0,158$). Penelitian Ay dkk tidak menemukan korelasi yang relevan antara hitung trombosit dengan kadar *sP-selectin* ($r = 0,19$).¹¹ Hal ini berbeda dengan McAllister yang menemukan adanya korelasi antara hitung trombosit dengan kadar *sP-selectin* ($r = 0,44$)²³ maupun penelitian Dymicka-Piekarska pada kanker kolorektal ($r = -0,8242$)²⁵.

Tidak adanya korelasi antara hitung trombosit dengan kadar *sP-selectin* pada penelitian ini dikarenakan *sP-selectin* tak hanya dihasilkan oleh trombosit tetapi juga oleh sel-sel endotel. Ada beberapa kemungkinan penyebab tidak adanya korelasi antara hitung trombosit dengan kadar *sP-selectin* pada penelitian ini. Dalam menilai peranan trombosit, sebaiknya tak hanya terbatas terhadap hitung trombosit, tetapi juga fungsi atau aktivasi trombosit. Bilamana terjadi aktivasi trombosit maka akan terjadi peningkatan ekspresi *P-selectin* yang diikuti dengan peningkatan kadar *sP-selectin* dalam plasma. Selain oleh trombosit, *sP-selectin* juga dihasilkan oleh sel-sel endotel di dalam badan Weibel-Palade.

Beberapa keadaan diketahui dapat mengaktivasi trombosit dan sel-sel endotel sehingga dapat meningkatkan kadar *sP-selectin*. Hipertensi^{30,31}, riwayat merokok, kadar kolesterol dan trigliserida^{32,33} dapat mempengaruhi kadar *sP-selectin*. Pemeriksaan profil lipid sengaja tidak dilakukan pada penelitian ini demi kenyamanan pasien. Hipertensi juga tidak menjadi salah satu kriteria eksklusi karena merupakan kondisi yang bersifat fluktuatif. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi tekanan darah, antara lain: nyeri dan kondisi psikis (efek *white-coat*³⁴). Kondisi nyeri akut dapat mempengaruhi tekanan darah yang diperantarai oleh aktivitas saraf simpatis dan kontrol dari area *periaqueductal grey area* di *midbrain*.³⁵ Oleh karena itu untuk melihat peranan tekanan darah terhadap kadar *sP-selectin* diperlukan pemantauan tekanan darah secara berkala.

Global Adult Tobacco Survey (GATS) yang dilakukan Departemen Kesehatan dan WHO pada tahun 2011 mendapatkan kenyataan bahwa 67,4% laki-laki dan 4,5% perempuan Indonesia merupakan perokok aktif.

Sementara pada mereka yang bukan perokok aktif, sekitar 51,3% hingga 85,4% diantaranya terpapar dengan asap rokok baik di rumah maupun di tempat kerja/umum.³⁶ Oleh karena tingginya populasi perokok di Indonesia, peneliti tidak menjadikannya sebagai salah satu kriteria eksklusi. Tak berbeda dengan survei GATS, 68,3% subjek penelitian ini memiliki riwayat merokok.

Faktor lain yang dapat turut berperan adalah leukosit. Karsinoma nasofaring salah satunya dicirikan dengan banyaknya leukosit yang menginfiltrasi stroma tumor. Leukosit-leukosit tersebut sering kali mengelilingi kelompokan sel-sel kanker dan terkadang menyebar di antara sel-sel epitel. Banyaknya leukosit ini diduga karena sel-sel kanker nasofaring mampu melepaskan berbagai interleukin (meliputi: IL-1 dan IL-18) dan kemokin (meliputi CXCL10 dan CCL20).³⁷ Hal ini menimbulkan asumsi bahwa dengan semakin progresifnya kanker, maka hal itu akan melibatkan lebih banyak leukosit. Dan dengan semakin banyaknya leukosit yang terlibat, hal itu juga akan meningkatkan kemungkinan interaksi leukosit dengan sel-sel lainnya (leukosit, sel-sel endotel, trombosit, maupun sel-sel kanker) melalui ligan-ligan yang dimilikinya, seperti: PSGL-1, *E-Selectin Ligand-1* (ESL-1), sialyl Lewis-a, sialyl Lewis-x, CD 24, CD34, CD 44, MadCAM-1.³⁸ Akibatnya semakin banyak pula trombosit dan sel-sel endotel yang teraktivasi sehingga meningkatkan kadar *sP-selectin*.

Penelitian ini merupakan penelitian pertama yang mengukur kadar *sP-selectin* pada karsinoma nasofaring di Indonesia dan juga di wilayah Asia Tenggara. Insidens kejadian KNF di Indonesia tergolong moderat dan lebih tinggi dibandingkan dengan kebanyakan negara-negara di belahan dunia lainnya.

Karsinoma nasofaring pada subjek penelitian ini sebagian besar didiagnosis saat stadium IV sehingga kurang mencakup stadium yang lebih awal (stadium I, II, dan III). Penelitian ini juga hanya menilai hitung trombosit dan tidak mengevaluasi aktivasi trombosit. Perlu dianalisa pula faktor-faktor lain yang dapat berkontribusi pada peningkatan nilai *sP-selectin* seperti: aktivasi trombosit, fungsi leukosit, profil lipid, dan disfungsi sel endotel.

Pada bagian akhir pembahasan ini, perlu diulas mengenai seberapa jauh hasil penelitian ini bisa diaplikasikan pada populasi yang lebih luas. Sesuai dengan prinsip representasi sampel terhadap populasi dan teknik pengambilan sampel, maka penilaian generalisasi dilakukan terhadap validitas interna dan validitas eksternal dan II.

Penilaian terhadap validitas interna dilakukan dengan memperhatikan apakah subjek yang menyelesaikan

penelitian dapat mempresentasikan sampel yang memenuhi kriteria pemilihan subjek. Pada penelitian ini, peneliti berhasil merekrut 60 orang subjek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi. Kesemua sampel dapat dilakukan pemeriksaan hitung trombosit maupun *sP-selectin*. Atas dasar ini, validitas interna dari penelitian ini diperkirakan cukup baik.

Untuk validitas eksternal I, penilaian dilakukan terhadap representasi subjek yang direkrut sesuai dengan kriteria pemilihan terhadap populasi terjangkau. Populasi terjangkau penelitian ini adalah pasien dengan karsinoma nasofaring yang telah menjalani *staging* dan belum menjalani terapi baik kemoterapi maupun radioterapi. Metode pengambilan sampel dilakukan dengan metode konsekutif yaitu semua pasien yang memenuhi kriteria penelitian. Teknik pengambilan sampel ini merupakan jenis *non-probability sampling* yang paling baik untuk mempresentasikan populasi terjangkau. Berdasarkan hal ini, maka validitas eksternal I dari penelitian ini dianggap cukup baik.

Untuk validitas eksternal II, penilaian dilakukan secara *common sense* dan berdasarkan pengetahuan umum yang ada. Dengan demikian, perlu dinilai apakah populasi terjangkau dalam penelitian ini merupakan representasi dari populasi target (pasien karsinoma nasofaring di Indonesia). Penelitian ini hanya dilakukan secara *single centre* di satu unit rawat jalan sehingga sangat mungkin adanya perbedaan karakteristik pasien dengan pusat-pusat kesehatan lainnya mengingat keunikan dari karsinoma nasofaring. Oleh karena itu peneliti menilai validitas eksternal II dari penelitian ini tidak cukup baik. Untuk dapat merepresentasikan pasien-pasien karsinoma nasofaring di Indonesia perlu dirancang penelitian *multi centre* dengan jangka waktu yang lama sehingga dapat mencakup pasien dengan beragam stadium.

SIMPULAN

Terdapat perbedaan kadar *sP-selectin* pada berbagai stadium karsinoma nasofaring. Tidak terdapat korelasi antara hitung trombosit dengan kadar *sP-selectin* pada karsinoma nasofaring.

DAFTAR PUSTAKA

1. Khorana AA. Risk assessment for cancer-associated thrombosis: what is the best approach? *Thromb Res.* 2012;129:S10-S15.
2. Ay C, Vormittag R, Dunkler D, Simanek R, Chiriac AL, Drach J, et al. D-dimer and prothrombin fragment 1+2 predict venous thromboembolism in patients with cancer: results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study. *J Clin Oncol.* 2009;27:4124-9.
3. Khorana AA, Connolly GC. Assessing risk of venous thromboembolism in the patient with cancer. *J Clin Oncol.* 2009;27:4839-47.

4. Andre P. P-selectin in haemostasis. *British Journal of Haematology*. 2004;126:298-306.
5. Geng JG, Chen M, Chou KC. P-selectin cell adhesion molecule in inflammation, thrombosis, cancer growth and metastasis. *Current Medicinal Chemistry*. 2004;11:2153-60.
6. Flaumenhaft R. P-selectin: basic aspects. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. 1998;6:93-102.
7. Polgar J, Matuskova J, Wagner D. The P-selectin, tissue factor, coagulation triad. *J Thromb Hemost*. 2005;3:1590-6.
8. Chen M, Geng JG. P-selectin mediates adhesion of leukocytes, platelets, and cancer cells in inflammation, thrombosis, and cancer growth and metastasis. *Arch Immunol Ther Exp*. 2006;54:75-84.
9. Ferroni P, Martini F, Riondino S, La Farini F, Magnapera A, Ciatti F, et al. Soluble P-selectin as marker of in vivo platelet activation. *Clinica Chimica Acta*. 2009;399:88-91.
10. Berger G, Hartwell DW, Wagner DD. P-selectin and platelet clearance. *Blood*. 1998;92:4446-52.
11. Ay C, Simanek R, Vormittag R, Dunkler D, Alguet G, Koder S, et al. High plasma levels of soluble P-selectin are predictive of venous thromboembolism in cancer patients: result from the Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS). *Blood*. 2008;112(7): 2703-8.
12. Suega K, Bakta IM. Correlation between clinical stage of solid tumor and D dimer as a marker of coagulation activation. *Acta Med Indones-Indones J Intern Med*. 2011;43(3):162-7.
13. Shi-fu Z, Li-Lan C, Jun-fa X, Xiang-yang C. Determination and significance of plasma soluble P-selectin in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Chin J Cancer Prev Treat*. 2004;11(3):261-2.
14. Lei L, Ping L, Yu-qiong Y, Hang Z, Ping W, Yu JL, et al. sCD40L, sP-selectin, and sICAM-1 plasma levels in nasopharyngeal carcinoma. *J Sichuan Univ*. 2009;40(3):513-6.
15. Gao J, Zhang HY, Xia YF. Increased platelet count is an indicator of metastasis in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Tumor Biol* [Internet]. 2012 [diakses tanggal: 29 Desember 2012]. diunduh dari: <http://www.springerlink.com/content/47080470u7432r55/fulltext.pdf>
16. Lu CC, Chang KW, Chou FC, Cheng CY, Liu CJ. Association of pretreatment thrombocytosis with disease progression and survival in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncology*. 2007;43:283-8.
17. Lee CC, Huang TT, Lee MS, Hsiao SH, Lin HY, Su YC, et al. Clinical application of tumor volume in advanced nasopharyngeal carcinoma to predict outcome. *Radiation Oncology*. 2010;5:20-5.
18. Bambace NM, Holmes CE. The platelet contribution to cancer progression. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2011;9:237-49.
19. Fribourg C, Denis CV. Plaquettes et tumeurs. *Hematologie Revue*. 2006;12(6):400-11.
20. Adham M, Kurniawan AN, Muhtadi AI, Roezin A, Hermani B, Gondhowiardjo S, et al. Nasopharyngeal carcinoma in Indonesia: epidemiology, incidence, signs, and symptoms at presentation. *Chin J Cancer*. 2012;31(4):185-96.
21. Xie SH, Yu ITS, Tse LA, Mang OW, Yue L. Sex difference in the incidence of nasopharyngeal carcinoma in Hong Kong 1983-2008: Suggestion of a potential protective role of oestrogen. *European Journal of Cancer*. 2012 [diakses tanggal: 16 November 2012]. diunduh dari: www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959804912005631
22. Erpenbeck L, Schon MP. Deadly allies: the fatal interplay between platelets and metastizing cancer cells. *Blood*. 2010;115:3427-36.
23. McAllister I, Spence GM, Graham ANJ, Ritchie JL, Armstrong MA, Alexander HD, et al. Soluble plasma P-selectin is elevated in patients with advanced carcinoma. *European Journal of Cancer*. 2001;37:S129.
24. Ferroni P, Roselli M, Martini F, D'Alessandro R, Mariotti SBasilis S, et al. Prognostic value of soluble P-selectin levels in colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2004;111:404-8.
25. Dymicka-Piekarska V, Matowicka-Karna J, Gryko M, Kemonachetnik I, Kemon H. Relationship between soluble P-selectin and inflammatory factors (interleukin-6 and C-reactive protein) in colorectal cancer. *Thromb Res*. 2007;120:585-90.
26. Nash GF, Turner LF, Scully MF, Kakkar AK. Platelets and cancer. *Lancet Oncol*. 2002;3:425-30.
27. Jurasz P, Alonso-Escolano D, Radomski MW. Platelet-cancer interactions: mechanisms and pharmacology of tumour cell-induced platelet aggregation. *British Journal of Pharmacology*. 2004;143:819-26.
28. Gay LJ, Felding-Habermann B. Contribution of platelets to tumour metastasis. *Nat Rev Cancer*. 2011;11:123-33.
29. Yang K, Zhang T, Chen J, Fan L, Yin Z, Hu Y, et al. Immune thrombocytopenia as a paraneoplastic syndrome in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Head Neck*. 2012;34:127-30.
30. Preston RA, Coffey JO, Materson BJ, Ledford M, Alonso AB. Elevated P-selectin expression and platelet activation in high risk patients with uncontrolled severe hypertension. *Atherosclerosis*. 2007;192:148-154.
31. Blann AD, Steele C, McCollum CN. The influence of smoking on soluble adhesion molecules and endothelial cell markers. *Thrombosis Research*. 1997;85(5):433-8.
32. Carter AM, Anagnostopoulou K, Mansfield MW, Grant PJ. Soluble P-selectin levels, P-selectin polymorphisms and cardiovascular disease. *J Thromb Haemost*. 2003;1:1718-23.
33. Kirk G, McLaren M, Muir AH, Stonebridge PA, Belch JF. Decrease in P-selectin levels in patients with hypercholesterolaemia and peripheral arterial occlusive disease after lipid-lowering treatment. *Vasc Med*. 1999;4:23-6.
34. Ghuman N, Campbell P, White WB. Role of ambulatory and home blood pressure recording in clinical practice. *Curr Cardiol Rep*. 2009;11(6):414-21.
35. Green AI, Wang S, Owen SLF, Xie K, Bittar RG, Stein JF, et al. Stimulating the human midbrain to reveal the link between pain and blood pressure. *Pain*. 2006;124:349-59.
36. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Global Adult Tobacco Survey: Indonesia Report 2011. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2012. p.14-34, 57-66.
37. Gourzones C, Barjon C, Busson P. Host-tumor interactions in nasopharyngeal carcinoma. *Seminars in Cancer Biology*. 2012;22:127-36.
38. Witz IP. The selectin-selectin ligand axis in tumor progression. *Cancer Metastasis Rev*. 2008;27:19-30.