

## Hubungan Kepadatan *Tumor-Associated-Macrophages* dan *Tumor-Associated-Neutrophils* dengan Karakteristik Klinikohistopatologi pada Pasien Limfoma Hodgkin

<sup>1</sup>Nadya Virana Putri, <sup>2</sup>Neti, <sup>3</sup>Riana Sari Puspita Rasyid, <sup>2</sup>Krisna Murti

<sup>1</sup>Program Studi Sarjana Kedokteran, <sup>2</sup>Bagian Patologi Anatomi, <sup>3</sup>Bagian Histologi  
 Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya  
 Palembang

Penulis korespondensi: dr. Krisna Murti, M. Biotech. Stud., Ph.D., SpPA.  
 Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya  
 Jl. Jenderal Sudirman Km. 3½, Palembang 30126. email: krisna.arinafril@unsri.ac.id

### ABSTRAK

#### Latar belakang

Proses perkembangan sel-sel tumor pada limfoma Hodgkin dikaitkan dengan peranan lingkungan mikro tumor. *Tumor-Associated-Macrophages* (TAMs) dan *Tumor-Associated-Neutrophils* (TANs) merupakan komponen lingkungan mikro yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tumor. Kepadatan TAMs dan TANs tinggi mempengaruhi perjalanan penyakit pasien. Tujuan penelitian ini adalah melihat hubungan kepadatan TAMs dan TANs terhadap karakteristik klinikohistopatologi pasien, yaitu usia, jenis kelamin, lokasi, dan subtipe.

#### Metode

Penelitian ini menggunakan metode *case series*. Sampel penelitian ini yaitu pasien limfoma Hodgkin di Departemen Patologi Anatomi RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. Didapatkan 44 kasus limfoma Hodgkin selama periode 1 Januari 2015-30 Oktober 2019, dan 31 sampel yang memenuhi kriteria inklusi. Dilakukan pemeriksaan immunohistokimia menggunakan antibodi spesifik untuk makrofag (anti-CD163) dan identifikasi neutrofil dilakukan dengan melihat morfologinya. Analisis statistik menggunakan uji Spearman dari SPSS versi 23.0, dianggap berhubungan bila  $p < 0,05$ .

#### Hasil

Sebanyak 31 sampel terdiri dari 30 sampel (96,8%) merupakan limfoma Hodgkin tipe klasik dan 1 sampel merupakan NLPHL (3,2%). Sebaran kasus CHL masing-masing subtipenya yaitu LR (*lymphocyte-rich*) (60%), MC (*mixed-cellularity*) (26,7%), dan NS (*nodular sclerosis*) (13,3%). Limfoma Hodgkin paling banyak ditemukan pada laki-laki, lokasi tumor terbanyak di regio kepala-leher, serta paling banyak pada kelompok usia 20-29 tahun, 40-49 tahun, dan  $\geq 50$  tahun. Terdapat hubungan kepadatan TAMs dengan usia ( $p=0,043$ ).

#### Kesimpulan

Terdapat hubungan antara kepadatan TAMs dengan karakteristik klinikohistopatologi yaitu usia, namun tidak terdapat hubungan antara kepadatan TANs dengan karakteristik klinikohistopatologi limfoma Hodgkin.

**Kata kunci:** limfoma Hodgkin, TAM, TAN, lingkungan mikro tumor, klinikohistopatologi.

## Relationship between *Tumor-Associated-Macrophages* and *Tumor-Associated-Neutrophils* Density with Clinicohistopathological Characteristics of Hodgkin's Lymphoma Patients

### ABSTRACT

#### Background

The development and aggressiveness of tumor cells were influenced by tumor microenvironment. *Tumor-Associated-Macrophages* (TAMs) and *Tumor-Associated-Neutrophils* (TANs) are components of tumor microenvironment, contribute to development and growth of tumor cells. The aim of this research was to analyse correlation of TAMs and TANs densities with clinicohistopathologic characteristics of patients i.e. age, gender, location, and subtype.

#### Methods

A case series was conducted. The samples were paraffin blocks of Hodgkin lymphoma patients at Anatomic Pathology Department Faculty of Medicine Universitas Sriwijaya/RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. Among 44 cases of Hodgkin lymphoma diagnosed from 1<sup>st</sup> Januari 2015 to 30<sup>th</sup> October 2019, only 31 cases were included. Immunohistochemistry was performed by using anti-CD163 antibody and neutrophils were identified by morphologic appearances. The results were correlated to characteristic factors. Statistical analysis was performed using Spearman and Lambda test with significant consideration if  $p < 0.05$ .

#### Results

The study results showed 30 cases of classical Hodgkin lymphoma (CHL) and 1 case of NLPHL. CHL has only 3 variants LR (*lymphocyte-rich*) (60%), MC (*mixed-cellularity*) (26.7%), and NS (*nodular sclerosis*) (13.3%). Hodgkin lymphoma is most commonly found in males (61.3%). Tumor were mostly found in the head and neck, and patient ages were majority in the age group 20-29 years, 40-49 years, and over 50 years. Spearman test showed there was a significant correlation between density of TAMs with ages ( $p=0.043$ ).

#### Conclusion

High density of TAM was correlated with age, however, there was no correlation between TAN and clinicohistopathologic characteristics of Hodgkin lymphoma.

**Key words:** Hodgkin lymphoma, TAM, TAN, tumor microenvironment, clinicohistopathology.

## PENDAHULUAN

Limfoma Hodgkin adalah keganasan yang melibatkan sistem limfatik khususnya limfosit B yang mengalami mutasi. Saat ini limfoma Hodgkin menduduki peringkat 27 dari seluruh jenis kanker terbanyak di dunia dengan kasus baru sebanyak 79.990 orang.<sup>1</sup> Menurut GLOBOCAN tahun 2018, kasus baru limfoma Hodgkin di Eropa mencapai 19.193 orang dan di Indonesia tercatat jumlah kasus baru limfoma Hodgkin yaitu sebanyak 1.047 orang.<sup>2</sup>

Limfoma Hodgkin merupakan neoplasma yang kejadiannya bervariasi secara signifikan berdasarkan usia dan jenis kelamin. Laki-laki dilaporkan lebih banyak menderita limfoma Hodgkin dibandingkan perempuan.<sup>2</sup> Limfoma Hodgkin sering terjadi pada puncak usia muda yaitu usia 15 hingga 34 tahun dan usia tua yaitu 55 tahun keatas.<sup>3</sup>

Limfoma Hodgkin memiliki karakteristik khas adanya sel *Reed-Sternberg*. Fitur yang menonjol dari limfoma jenis ini adalah kelangkaan (sekitar 1%) elemen neoplastik dalam populasi sel, sedangkan sebagian besar sel adalah non-neoplastik.<sup>4</sup> Limfoma tipe klasik (cHL) terhitung 95% dari semua kasus limfoma Hodgkin dan sisanya 5% merupakan tipe NLPHL (*Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma*).<sup>5</sup> Pada pasien usia anak dan usia tua, subtype yang mendominasi adalah MCCHL (*Mixed cellularity classical Hodgkin Lymphoma*) sedangkan pada usia dewasa muda didominasi oleh subtype NSCHL (*Nodular sclerosis classical Hodgkin lymphoma*).<sup>7</sup> LRCHL (*Lymphocyte-rich classical Hodgkin lymphoma*) biasanya terjadi pada usia tua dengan predileksi di kelenjar getah bening servikal.<sup>8</sup>

Banyak penelitian yang telah dilakukan yang menunjukkan bahwa lingkungan mikro tumor (*tumor microenvironment*), imunitas pejamu, dan respon inflamasi memainkan peranan penting dalam menentukan perjalanan klinis dari pasien limfoma Hodgkin.<sup>9</sup> Selama perkembangan tumor, monosit dan makrofag yang bersirkulasi menjadi sangat aktif menuju lokasi tumor dimana mereka akan mengubah lingkungan mikro tumor untuk mendukung progresivitas dari tumor itu sendiri. Makrofag inilah yang disebut sebagai TAMs (*Tumor-Associated-Macrophages*).<sup>10</sup>

TAMs terlibat dalam induksi gen yang penting untuk perkembangan siklus sel tumor dan penekanan apoptosis. Selain itu, TAMs

dapat memberikan lingkungan mikro yang menguntungkan untuk perkembangan dan pertumbuhan tumor yang meliputi peningkatan kelangsungan hidup sel tumor, angiogenesis tumor, invasi dan metastasis sel tumor, immunosupresi, serta resistensi terhadap kemoterapi.<sup>10</sup>

Jumlah neutrofil dan faktor yang berhubungan dengan neutrofil juga telah dikaitkan dapat meningkatkan perkembangan tumor (*Tumor-Associated-Neutrophils*) dan berperan aktif dalam mempromosikan metastasis pada pasien kanker.<sup>11</sup> Selain itu, TANs juga berperan dalam perkembangan kanker dengan melepaskan faktor-faktor yang memodulasi matriks ekstraseluler (ECM) dan peradangan pada lingkungan mikro tumor serta bukti baru mengatakan bahwa neutrofil mungkin memiliki efek lebih langsung pada proliferasi dan invasi sel kanker.<sup>12</sup>

Studi klinikopatologis telah mengindikasikan bahwa pasien dengan kepadatan TAMs dan TANs yang lebih tinggi secara signifikan memiliki kelangsungan hidup yang lebih rendah.<sup>10</sup> Peningkatan TAMs ini dapat berfungsi sebagai biomarker untuk memprediksi prognosis dan penilaian klinis. Dengan dihambatnya aktivitas TAMs, diharapkan dapat menghambat pertumbuhan tumor dan metastasis dari tumor tersebut sehingga diharapkan akan menjadi terapi kanker secara tidak langsung.<sup>13</sup>

Penelitian yang menggambarkan hubungan kepadatan TAMs dan TANs dengan klinikohistopatologi pasien limfoma Hodgkin sangat menarik untuk diteliti, terlebih lagi penelitian ini di Indonesia sampai saat ini belum dilakukan, khususnya di Sumatera Selatan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menggambarkan prognosis dan penatalaksanaan di kemudian hari.

## METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian deskriptif dengan desain *case series* (serial kasus), dilakukan di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. Data yang dikumpulkan berupa kasus limfoma Hodgkin yang telah didiagnosis secara histopatologi dan imunohistokimia di Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang periode 1 Januari 2015 hingga 30 Oktober 2019. Sampel

penelitian adalah arsip preparat hematoxilin dan eosin dan blok parafin/formalin *fixed paraffin embedded* (FFPE).

Sampel penelitian adalah bagian populasi yang sudah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi adalah kasus limfoma Hodgkin yang didiagnosis dan yang mempunyai data lengkap (status, slaid dan blok parafin). Kriteria eksklusi adalah kasus limfoma Hodgkin dengan blok parafin yang rusak atau tidak cukup mengandung jaringan tumor untuk pemeriksaan imunohistokimia dengan antibodi anti-CD163. Sampel penelitian kemudian dilakukan pulasan imunohistokimia menggunakan antibodi primer anti-CD163 (*clone* 10D6).

Penilaian ekspresi CD163 dilakukan dengan cara memilih 5 fokus pada area tumor dengan kepadatan tertinggi pada pembesaran lemah (100x) kemudian dengan pembesaran kuat (400x) dipilih 5 fokus dengan kepadatan tertinggi lalu dilakukan penghitungan pada TAMs dengan ekspresi CD163 positif. TANs memiliki morfologi yang sama dengan neutrofil sehingga identifikasi TANs dilakukan dengan melihat morfologinya yaitu nucleus memiliki beberapa lobus yang dihubungkan oleh untaian kromatin tipis dan sitoplasmanya mengandung granula. Pengamatan, penghitungan, dan interpretasi kepadatan TAMs dan TANs menggunakan hasil pindai dengan kamera Olympus DP-21 dan dianalisis menggunakan *software image J*. Selanjutnya ditentukan nilai rerata dengan cara dijumlahkan dan dibagi lima.

Selanjutnya data yang diperoleh dianalisa menggunakan program statistik pada komputer statistik. Untuk mengetahui distribusi dan hubungan kepadatan TAMs dan TANs terhadap karakteristik klinikohistopatologi yang meliputi usia, jenis kelamin, lokasi tumor, dan sub tipe limfoma Hodgkin. Untuk mengetahui hubungan kepadatan TAMs dan TANs dengan karakteristik pasien limfoma Hodgkin dinilai menggunakan uji korelasi *Spearman* dan *Lambda*. Nilai  $p$  dianggap bermakna jika  $p < 0,05$ .

**HASIL**

**Karakteristik klinikohistopatologi subjek penelitian**

Dari sejumlah 44 kasus yang terkumpul, hanya dipilih 31 kasus yang memenuhi kriteria inklusi dan dipilih sebagai sampel. Karakteristik klinikohistopatologi pasien limfoma Hodgkin pada penelitian ini ditunjukkan pada Tabel 1. Limfoma

Hodgkin paling banyak ditemukan pada dua puncak usia yaitu kelompok usia 20-29 tahun (25,8%) dan kelompok usia  $\geq 50$  tahun (25,8%), terbanyak pada laki-laki (61,3%) dengan perbandingan laki-laki:perempuan 1,6:1. Berdasarkan lokasinya, limfoma Hodgkin paling banyak ditemukan di regio kepala-leher (80,6%). Berdasarkan tipe histopatologinya, limfoma tipe klasik berjumlah sebanyak 30 kasus (96,8%) dan NLPHL hanya ditemukan 1 kasus (3,2%). Tiga variasi terbanyak tipe limfoma Hodgkin klasik yaitu LRCHL (58,1%), MCCHL (8%), dan NSCHL (4%).

Tabel 1. Karakteristik klinikohistopatologi pasien limfoma Hodgkin

Karakteristik klinikohistopatologi	f (n=31)	%
Usia (tahun)		
<20	4	12,9
20-29	8	25,8
30-39	3	9,7
40-49	8	25,8
$\geq 50$	8	25,8
JenisKelamin		
Laki-laki	19	61,3
Perempuan	12	38,7
Lokasi		
Kepala-leher	25	80,6
Batang tubuh	2	6,5
Ekstremitas atas	1	3,2
Ekstremitas bawah	3	9,7
Subtipe		
CHL	30	96,8
-NSCHL	4	13,3
-MCCHL	8	26,7
-LDCHL	0	0
-LRCHL	18	60
NLPHL	1	3,2

**Hubungan kepadatan TAMs dengan klinikohistopatologi subyek penelitian**

Sebelum dilakukan uji statistik, dilakukan terlebih dahulu uji normalitas data dengan *Shapiro-Wilk test* (sampel  $< 50$ ) dan didapatkan data tidak terdistribusi normal ( $p < 0,05$ ). Nilai rerata (*mean*) dari kepadatan TAMS adalah 76,123 dan nilai 76 ini dijadikan *cut off point* dalam menentukan tinggi rendahnya kepadatan TAMs. Jika nilai kepadatan makrofag di atas 76 maka dikategorikan sebagai kepadatan TAMs tinggi, dan apabila nilai kepadatan makrofag di bawah 76 maka dikategorikan kepadatan TAMs rendah.

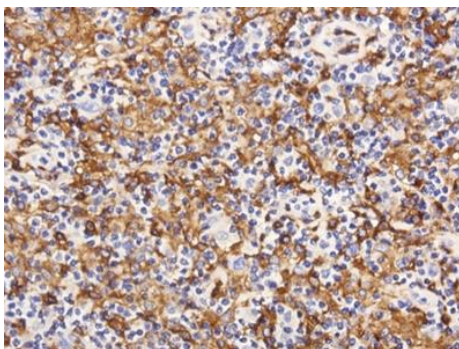
Tabel 2. Distribusi Kepadatan TAMs.

	Rata-rata	Std. Deviasi	Min	Max
Kepadatan TAMs	76,123	40,7306	20,0	176,2

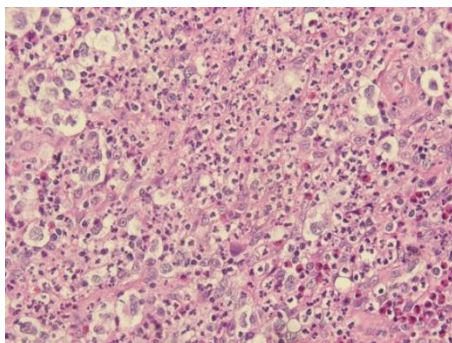
Nilai rerata (*mean*) dari kepadatan TANs adalah 4,864 dan nilai ini dijadikan *cut off point* dalam menentukan tinggi rendahnya kepadatan TANs. Jika nilai kepadatan neutrofil di atas 5 maka dikategorikan kepadatan TANs tinggi, dan apabila nilai kepadatan neutrofil di bawah 5 maka dikategorikan kepadatan TANs rendah.

Tabel 3. Distribusi kepadatan TANs.

	Rata-rata	Std. Deviasi	Min	Max
Kepadatan TANs	4,865	14,5106	0,0	81,0



Gambar 1. Pulasan imunohistokimia terhadap antibodi anti-CD163. Nampak kepadatan TAM tinggi pada lingkungan mikro tumor. 400x.



Gambar 2. Subtipe *Mixed cellularity Classical Hodgkin Lymphoma* dengan pulasan H&E. Sel radang neutrofil (TANs) banyak dijumpai pada lingkungan mikro tumor, sebagian tampak menempel pada sel-sel tumor. 400x

Lalu dilanjutkan dengan uji korelasi Spearman untuk menilai hubungan antara kepadatan TAMs dan TANs dengan karakteristik klinikohistopatologi usia dan uji korelasi *Lambda* untuk menilai hubungan antara kepadatan TAMs dan TANs terhadap karakteristik klinikohistologi jenis kelamin, lokasi tumor, dan subtipe. Setelah analisis statistik dimulai, akan ditentukan kemaknaan korelasi, kekuatan korelasi, dan arah

korelasi. Bila  $p < 0,05$  maka terdapat korelasi bermakna antar variabel.

Tabel 4. Hubungan kepadatan TAMs dengan karakteristik klinikohistopatologi pasien limfoma Hodgkin.

Karakteristik	Kepadatan TAMs		r	P*
	Tinggi	Rendah		
Usia (tahun)				
<20	0	4		
20-29	4	4		
30-29	2	1	0,366	0,043
40-49	4	4		
≥50	6	2		
Total	16	15		
Jenis kelamin				
Laki-laki	8	11	0,200	0,488
Perempuan	8	4		
Total	16	15		
Lokasi				
Kepala-leher	14	11	0,133	0,307
Batangtubuh	1	1		
Ekstremitas atas	0	1		
Ekstremitas bawah	1	2		
Total	16	15		
Subtipe				
NSCHL	2	2	0,067	0,309
MCCHL	4	4		
LDCHL	0	0		
LRCHL	10	8		
NLPHL	0	1		
Total	16	15		

Tabel 5. Hubungan kepadatan TANs dengan karakteristik klinikohistopatologi pasien limfoma Hodgkin.

Karakteristik	Kepadatan TANs		r	P*
	Tinggi	Rendah		
Usia (tahun)				
<20	0	4		
20-29	4	4		
30-29	0	3	0,013	0,946
40-49	2	6		
≥50	1	7		
Total	7	24		
Jenis kelamin				
Laki-laki	4	15	0,002	0,801
Perempuan	3	9		
Total	7	24		
Lokasi				
Kepala-leher	7	18	0,070	0,552
Batangtubuh	0	2		
Ekstremitas atas	0	1		
Ekstremitas bawah	0	3		
Total	7	24		
Subtipe				
NSCHL	0	4	0,001	0,835
MCCHL	4	4		
LDCHL	0	0		
LRCHL	3	15		
NLPHL	0	1		
Total	7	24		

Pada penelitian ini terdapat korelasi dengan kekuatan sedang ( $r=0,366$ ) positif dan

bermakna ( $p=0,043$ ) antara kepadatan TAMs dengan usia. Sementara itu, korelasi antara kepadatan TAMs dengan karakteristik kliniko-histopatologi jenis kelamin, sub tipe, dan lokasi tumor yaitu tidak terdapat korelasi bermakna ( $p>0,05$ ).

Pada analisis TANs, didapati hasil (Tabel 5) tidak terdapat korelasi bermakna antara kepadatan TANs dengan semua karakteristik klinikohistopatologi yaitu usia, jenis kelamin, lokasi tumor, dan sub tipe limfoma Hodgkin ( $p>0,05$ ).

## DISKUSI

Lingkungan mikro tumor adalah faktor penting dalam perkembangan dan progresivitas keganasan. Bukti terbaru mengatakan bahwa komponen seluler dari lingkungan mikro tumor secara signifikan dapat memodifikasi keluaran klinis pada keganasan hematologi.<sup>14</sup> *Tumor-associated-macrophages* (TAM) memiliki peran yang besar dalam proses terjadinya inflamasi dan pertumbuhan kanker itu sendiri seperti menginisiasi proliferasi sel tumor, angiogenesis, pergantian komponen matriks secara terus menerus, dan represi imunitas adaptif, yang mana secara signifikan dapat mempengaruhi progresi penyakit. Pada penelitian ini, digunakan antibodi CD163 yang dianggap sebagai antigen terkait makrofag. Anti-CD163 banyak digunakan sebagai penanda makrofag M2 dan telah terbukti berkorelasi dengan prognosis yang tidak menguntungkan pada berbagai keganasan, termasuk salah satunya adalah limfoma Hodgkin.<sup>15</sup>

Limfoma Hodgkin merupakan neoplasma sel B dengan kejadian bervariasi secara signifikan berdasarkan usia, jenis kelamin, etnis, status ekonomi, dan lokasi geografis. Usia merupakan faktor risiko yang penting dalam perkembangan limfoma Hodgkin. Limfoma Hodgkin masih didominasi oleh orang berusia dewasa muda (15-34 tahun) dan usia tua (>50 tahun).<sup>3</sup> Pada penelitian ini, mayoritas kasus limfoma Hodgkin terjadi pada kelompok usia 20-29 tahun, 40-49 tahun, dan  $\geq 50$  tahun dengan masing-masing memiliki proporsi jumlah yang sama (25,8%) sedangkan kasus limfoma paling sedikit terdapat pada kelompok usia <20 tahun. Hal ini sesuai dengan penelitian Tonbary tahun 2012 yang menyatakan bahwa limfoma Hodgkin sangat jarang terjadi pada usia anak.<sup>14</sup>

Usia merupakan faktor prognostik yang sangat penting dalam menentukan prognosis

penyakit limfoma Hodgkin yang akan digunakan pada *International Prognostic Score* (IPS).<sup>16</sup> Analisis hubungan antara usia dan kepadatan TAMs pada penelitian ini telah dilakukan dan didapatkan adanya hubungan antara usia dengan kepadatan TAMs ( $p=0,019$ ), dengan mayoritas kepadatan TAMs yang tinggi terjadi pada kelompok usia  $\geq 50$  tahun. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Bedewy, *et al* tentang korelasi antara ekspresi CD163 dengan parameter klinikopatologi yang mengatakan bahwa terdapat hubungan antara usia dengan kepadatan TAMs ( $p=0,008$ ) dan seiring dengan pertambahan usia akan memperburuk keluaran klinis dan prognosis pasien limfoma Hodgkin.<sup>17</sup> Penelitian Yoon, *et al* juga melaporkan bahwa terdapat hubungan antara indeks CD163 yang tinggi (>20%) dengan usia yang tua, jenis kelamin laki-laki, adanya gejala B, IPS yang lebih tinggi ( $\geq 4$ ), tingkat kesembuhan (*complete remission/CR*) yang lebih rendah, dan durasi CR yang lebih pendek pada pasien cHL dari setiap stadium.<sup>18</sup> Kamper *et al* menemukan bahwa dalam limfoma Hodgkin, TAMs CD163+ intra-tumoral yang tinggi berkorelasi dengan keluaran klinis yang buruk dan parameter klinis tersebut mencerminkan biologi penyakit agresif yang mendasarinya.<sup>19</sup> Dalam Studi Kelompok Hematologi Wilayah Utara, pasien limfoma Hodgkin usia <60 tahun menunjukkan hasil *survival outcome* sangat baik, tetapi meluruh cepat pada pasien >60 tahun.<sup>20</sup> Penelitian oleh Klimm, *et al* pada tahun 2006 menyatakan bahwa pasien lanjut usia dengan limfoma Hodgkin tahap awal yang tidak menguntungkan umumnya memiliki profil risiko dan hasil yang lebih buruk dibandingkan dengan pasien yang lebih muda. Hal ini terjadi karena pada usia pasien yang lebih tua biasanya disertai penyakit komorbid, perubahan metabolisme agen kemoterapi, diagnosis kemudian dalam perjalanan penyakit, sub tipe histologis yang berbeda, dan banyak lainnya.<sup>21</sup>

Penderita limfoma Hodgkin biasanya lebih banyak terjadi pada laki-laki dibandingkan perempuan. Penelitian ini menemukan penderita limfoma Hodgkin laki-laki (61,3%) lebih banyak dibandingkan perempuan (38,7%) dengan perbandingan 1,6:1. Hal ini sesuai dengan penelitian Shanbag, *et al* pada tahun 2017 yang menyebutkan bahwa angka kejadian limfoma Hodgkin pada laki-laki lebih tinggi (sekitar 56%) dibanding perempuan.<sup>2</sup> Pada penelitian yang dilakukan oleh Kamper, *et al* didapatkan rasio laki-laki dan

perempuan pada penderita limfoma Hodgkin adalah 1,2 dengan mayoritas kepadatan TAMs yang tinggi.<sup>15</sup> Begitu juga dengan kepustakaan lain yang menyebutkan hal serupa seperti penelitian yang dilakukan oleh Salati (2014), Al-Tonbary (2012), Huh (2012), Mohammedzaki (2019),<sup>3,7,22,23</sup> Akan tetapi, setelah dilakukan analisis statistik pada penelitian ini, tidak didapatkan hubungan antara jenis kelamin dengan kepadatan TAMs ( $p=0,766$ ). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Bedewy, *et al* yang menyatakan bahwa tidak terdapat hubungan antara kepadatan CD163 dengan jenis kelamin ( $p=0,428$ ).

Lokasi tumor limfoma Hodgkin pada penelitian ini paling banyak di regio kepala-leher (80,6%) dimana hal ini sesuai dengan kepustakaan yang mengatakan bahwa limfoma Hodgkin memang paling sering terjadi di regio servikal.<sup>16</sup> Konkay *et al* dalam penelitiannya menyatakan hal yang serupa yakni limfonodus servikal adalah kelompok limfonodus yang paling umum menjadi *primary site tumor* dibandingkan dengan semua limfonodus yang terlibat baik secara tunggal atau bersama dengan kelompok nodus lain.<sup>25</sup> Namun pada hasil analisis korelasi pada penelitian ini, tidak didapatkan hubungan antara lokasi invasi tumor dengan kepadatan TAMs ( $p=0,307$ ).

Subtipe dengan kepadatan TAMs yang tinggi pada penelitian ini terbanyak pada subtipe *Lymphocyte-Rich Classical Hodgkin Lymphoma* (LRCHL) lalu diikuti dengan subtipe *Mixed Cellularity Classical Hodgkin Lymphoma* (MCCHL). Hal ini berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Azambuja (2012), Bedewy (2013), dan Koh (2014). Pada ketiga penelitian tersebut didapatkan subtipe dengan kepadatan TAMs yang tinggi paling banyak adalah *Nodular Sclerosing Classical Lymphoma Hodgkin* (NSCHL) lalu diikuti MCCHL.<sup>17,26,27</sup> Analisis korelasi pada penelitian ini didapatkan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara kepadatan TAMs dengan subtipe limfoma Hodgkin ( $p=0,309$ ).

Berbeda dengan TAMs, pada analisis TANs didapatkan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara kepadatan TANs dengan karakteristik klinikohistopatologi pasien, baik dari usia, jenis kelamin, subtipe, dan lokasi invasi tumor tidak didapatkan hubungan bermakna ( $p < 0,05$ ). Hal ini mungkin disebabkan karena kepadatan TAN sangat sedikit. Pada penelitian

ini subtipe LRCHL mendominasi sampel, sedangkan kepadatan neutrofil yang tinggi paling banyak terdapat pada subtipe MCCHL dan subtipe ini dijumpai hanya sedikit sehingga kepadatan TANs pada penelitian ini sangat minimal. Kemungkinan lain adalah bias yang dapat terjadi saat penghitungan neutrofil secara morfologi dengan pulasan HE karena khawatir keliru dengan morfologi sel apoptosis maka neutrofil yang mirip sel yang mengalami apoptosis tidak dihitung. Untuk penelitian selanjutnya sebaiknya menggunakan marker untuk TANs misalnya CD66b.<sup>33</sup>

Sesuai dengan nama tipe MCCHL, secara histologi komposisi latar belakang pada subtipe tersebut terdiri dari campuran berbagai jenis sel inflamasi termasuk limfosit, sel plasma, histiosit, eosinofil, dan neutrofil yang melimpah. Sedangkan kepadatan neutrofil terhitung rendah pada subtipe LRCHL yang disebabkan karena komposisi latar belakang pada subtipe LRCHL terdapat sel limfosit yang sangat padat sehingga sulit menemukan neutrofil.<sup>34</sup>

Literatur mengatakan bahwa memang saat ini perhatian diarahkan pada neutrofil terkait tumor dan fungsinya dalam lingkungan mikro tumor. Neutrofil berperan penting dalam progresivitas tumor dan mempengaruhi prognosis serta keluaran klinis pasien.<sup>11,12,28</sup> Namun beberapa penelitian lain juga menunjukkan bahwa tidak ada hubungan antara TANs dengan keluaran klinis pasien dan prognosis yang tidak menguntungkan.<sup>29-32</sup> Penelitian mengenai hubungan kepadatan TANs dengan klinikohistopatologi limfoma Hodgkin belum pernah dilakukan. Masih diperlukan lebih banyak penelitian dan data tentang hubungan kepadatan TANs terhadap karakteristik klinikohistopatologi limfoma Hodgkin untuk menggambarkan perkembangan tumor yang difasilitasi neutrofil.

## KESIMPULAN

Terdapat hubungan antara kepadatan TAMs dengan karakteristik klinikohistopatologi limfoma Hodgkin yaitu usia, dan tidak terdapat hubungan kepadatan TANs dengan semua karakteristik klinikohistopatologi yang meliputi usia, jenis kelamin, lokasi tumor, dan subtipe limfoma Hodgkin.

## SARAN

Standarisasi penilaian kepadatan TAMs dan TANs pada limfoma Hodgkin secara histo-

patologik sebaiknya segera ditetapkan. Penelitian lanjutan untuk mengetahui peranan TAMs dan TANs sebagai faktor prognosis sebaiknya dilakukan dan bekerjasama dengan klinisi.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68:394-424.
2. Shanbhag S, Ambinder RF. Hodgkin lymphoma: A review and update on recent progress. *CA Cancer J Clin.* 2018;68:116-32.
3. Salati M, Cesaretti M, Macchia M, El Mistiri M, Federico M. Epidemiological overview of Hodgkin lymphoma across the Mediterranean basin. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2014;6:1-10.
4. Medeiros LJ, Greiner TC. Hodgkin's Disease. *Cancer J.* 1995;75:357-69.
5. Hansmann ML, Hartmann S, Küppers R. Hodgkin lymphoma. *Lymphoid Neoplasms 3<sup>ed</sup>* 2010;85:587-607. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2012.07.002>
6. Eichenauer DA, Aleman BMP, André M, Federico M, Hutchings M, Illidge T, *et al.* Hodgkin lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2018;29:iv19-29.
7. Huh J. Epidemiologic overview of malignant lymphoma. *Korean J Hematol.* 2012;47:92.
8. Mathas S, Hartmann S, Küppers R. Hodgkin lymphoma: Pathology and biology. *Semin Hematol.* 2016;53:139-47.
9. Marcheselli R, Bari A, Tadmor T, Marcheselli L, Cox MC, Pozzi S, *et al.* Neutrophil-lymphocyte ratio at diagnosis is an independent prognostic factor in patients with nodular sclerosis Hodgkin lymphoma: results of a large multicenter study involving 990 patients. *Hematol Oncol.* 2017;35:561-6.
10. Chanmee T, Ontong P, Konno K, Itano N. Tumor-associated macrophages as major players in the tumor microenvironment. *Cancers (Basel).* 2014;6:1670-90.
11. Swierczak A, Mouchemore KA, Hamilton JA, Anderson RL. Neutrophils: important contributors to tumor progression and metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* 2015;34:735-51.
12. Powell DR, Huttenlocher A. Series: Neutro-

- phils in action neutrophils in the tumor micro-environment. *Trends Immunol.* 2016;37:41-52.
13. Brower BV. Macrophages : Cancer Therapy's Double. 2012;649-52.
14. Hsi ED. Biologic features of Hodgkin lymphoma and the development of biologic prognostic factors in Hodgkin lymphoma : Tumor and microenvironment. *Leuk Lymphoma.* 2008; 49: 1668-80.
15. Kamper P, Bendix K, Hamilton-dutoit S, Honoré B, Nyengaard JR, Amore F, *et al.* Original Articles Tumor-infiltrating macrophages correlate with adverse prognosis and Epstein-Barr virus status in classical Hodgkin's lymphoma. *Haematologica.* 2011;96:269-76.
16. Moccia AA, Donaldson J, Chhanabhai M, Hoskins PJ, Klasa RJ, Savage KJ, *et al.* International Prognostic Score in advanced-stage Hodgkin's lymphoma : altered utility in the modern era. *J Clin Oncol.* 2012;30:3383-8.
17. Bedewy M, El-maghraby S, Bedewy A. CD163 and c-Met expression in the lymph node and the correlations between elevated levels of serum free light chain and the different clinico-pathological parameters of advanced classical Hodgkin's lymphoma. *Blood Res.* 2013;48:121-7.
18. Yoon DH, Koh YW, Kang HJ, Kim S, Park C, Lee S, *et al.* CD68 and CD163 as prognostic factors for Korean patients with Hodgkin lymphoma. *Eur J Haematol.* 2011;88:292-305.
19. Kamper P, Bendix K, Hamilton-Dutoit S, Honoré B, d'Amore F. Tumor-infiltrating CD163-positive macrophages, clinicopathological parameters, and prognosis in classical Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol.* 2009; 27 (15\_suppl):8528.
20. Proctor SJ, Rueffer JU, Angus B, Breuer K, Flechtner H, Jarrett R, *et al.* Hodgkin's disease in the elderly: current status and future directions. *Ann Oncol.* 2002;13 (Supplement 1):133-7.
21. Klimm B, Eich HT, Haverkamp H, Lohri A, Koch P, Boissevain F, *et al.* Poorer outcome of elderly patients treated with extended-field radiotherapy compared with involved-field radiotherapy after chemotherapy for Hodgkin's lymphoma: an analysis from the German Hodgkin Study Group. *Ann Oncol.*

- 2007;18:357-63.
22. Al-Tonbary Y. (2012). Epidemiology of Hodgkin's Lymphoma, Hodgkin's Lymphoma, Dr. Nima Rezaei (Ed.), ISBN: 978-953-51-0402-5, In Tech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/hodgkin-s-lymphoma/epidemiology-of-hodgkin-s-lymphoma>
  23. Mohammedzaki LB, Hasan KM. and the outcome of Hodgkin lymphoma patients in Erbil city, Iraq. *Iraqi J Hematol.* 2019;8:14-20.
  24. Küppers R, Engert A, Hansmann M. Review series Hodgkin lymphoma. *J Clin Invest.* 2012;122:3439-47.
  25. Konkay K, Paul TR, Uppin SG, Rao DR. Hodgkin lymphoma: A clinicopathological and immunophenotypic study. *Indian J Med Paediatr Oncol.* 2016;37:59-65.
  26. Azambuja D, Natkunam Y, Biasoli I, Lossos IS, Anderson MW, Morais JC, *et al.* Lack of association of tumor-associated macrophages with clinical outcome in patients with classical Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol.* 2012; 23:736-42.
  27. Koh YW, Park C, Yoon DH, Suh C, Huh J. CD163 expression was associated with angiogenesis and shortened survival in patients with uniformly treated classical Hodgkin lymphoma. *PLoS One.* 2014;9:1-8.
  28. Shen M, Hu P, Donskov F, Wang G, Liu Q, Du J. Tumor-Associated Neutrophils as a New Prognostic Factor in Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. 2014;9:1-10.
  29. Caruso RA, Bellocco R, Pagano M, Bertoli G, Rigoli L, Inferrera C. Prognostic value of intratumoral neutrophils in advanced gastric carcinoma in a high-risk area in northern Italy. *Mod Pathol.* 2002;15:831-7.
  30. Carus A, Ladekarl M, Hager H, Pilegaard H, Nielsen PS, Donskov F. Tumor-associated neutrophils and macrophages in non-small cell lung cancer: no immediate impact on patient outcome No immediate impact on patient outcome. *Lung Cancer.* 2013;81:130-7.
  31. Dumitru CA, Bankfalvi A, Gu X, Eberhardt WE, Zeidler R, Lang S, *et al.* Neutrophils activate tumoral CORTACTIN to enhance progression of oropharynx carcinoma. *Front Immunol.* 2013;4:1-11.
  32. Dumitru CA, Bankfalvi A, Gu X, Zeidler R, Brandau S, Lang S. AHNAK and Inflammatory Markers Predict Poor Survival in Laryngeal Carcinoma. *PLoS One.* 2013; 8(2): e56420. doi: 10.1371/journal.pone.0056420.
  33. Hirz T, Matera E, Chettab K, Jordheim LP. Neutrophils protect lymphoma cells against cytotoxic and targeted therapies through CD11b/ICAM-1 binding. *Oncotarget.* 2017; 8: 72818-34.
  34. Naeim F, Rao P, Song S, Phan R. Atlas of Hematopathology: Morphology, Immunophenotype, Cytogenetics, and Molecular Approaches, Second Edition. Chapter 57- Classical Hodgkin Lymphoma. Academic Press. 2018.