

Gambaran Histopatologi Jantung Tikus Putih Dengan Fibrosarcoma Pasca Viroterapi Virus *Newcastle Disease* Isolat Gianyar-1/AK/2014

(*HISTOPATHOLOGICAL VIEW OF WHITE RATS HEART WITH FIBROSARCOMA POST VIROTHERAPY NEWCASTLE DISEASE VIRUS ISOLATE GIANYAR-1/AK/2014*)

**Brigietta Vincencia Simanihuruk¹, Ida Bagus Oka Winaya^{2*},
Anak Agung Ayu Mirah Adi²**

¹Mahasiswa Sarjana Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

²Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234.

*Corresponding author email: okawinaya@gmail.com

Abstrak

Viroterapi adalah salah satu jenis terapi kanker yang memanfaatkan sifat virus untuk menghancurkan sel kanker. Terapi ini menggunakan virus onkolitik yang dapat menghancurkan sel kanker. Pada penelitian, virus onkolitik yang digunakan virus *Newcastle Disease*. Virus *Newcastle Disease* diketahui bersifat non-patogen pada mamalia sehingga virus ini dapat digunakan sebagai agen pengobatan kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran histopatologi viroterapi virus *Newcastle Disease* terhadap histologi jantung tikus putih penderita fibrosarkoma. Tikus dikelompokkan menjadi dua kelompok perlakuan, yaitu P₀ (perlakuan 0) dengan fibrosarkoma yang diberi terapi PBS dan P₁ (perlakuan 1) dengan fibrosarkoma yang diberi terapi berupa virus *Newcastle Disease* dengan dosis 0,5 ml/2⁸ HA unit. Gambaran histopatologi jantung tikus putih P₁ menunjukkan adanya lesi hemoragi, kongesti, dan edema. Hasil pemeriksaan mikroskopis kemudian dikuantitatifkan dengan cara skoring dan dianalisis dengan uji non parametrik. Hasil dari pengamatan menunjukkan viroterapi *Newcastle Disease* tidak memberi perubahan bermakna pada lesi hemoragi, kongesti dan edema (P>0,05).

Kata kunci: viroterapi; virus onkolitik; fibrosarcoma, jantung; virus *Newcastle Disease*

Abstract

Virotherapy is a type of cancer therapy that utilizes the properties of viruses to destroy cancer cells. This therapy uses an oncolytic virus can destroys cancer cells. In the study, the oncolytic virus used was the virus *Newcastle Disease*. Virus *Newcastle Disease* known to be non-pathogenic in mammals so that this virus can be used as a cancer treatment agent. This study aims to determine the histopathological description of *Newcastle Disease* virus virotherapy on the cardiac histology of white rats with fibrosarcoma. Mice were grouped into two treatment groups, namely P₀ (treatment 0) with fibrosarcoma treated with PBS and P₁ (treatment 1) with fibrosarcomas treated with a virus *Newcastle Disease* at a dose of 0,5 ml/2⁸ HA units. Histopathological view of the heart of P₁ white rats shows hemorrhagic lesions, congestion, and edema. The results of the microscopic examination were then quantified by scoring and analyzed using non-parametric tests. The results of the observation showed that *Newcastle Disease* virotherapy did not give significant changes in hemorrhagic lesions, congestion and edema (P>0,05).

Keywords: virotherapy, oncolytic virus, fibrosarcoma, heart, *Newcastle Disease* virus

PENDAHULUAN

Sel kanker atau fibrosarcoma adalah tumor ganas yang berasal dari sel-sel mesenkim, yang terdiri dari sel-sel fibroblas ganas dengan latar belakang kolagen, ditandai dengan fibroblas immatur yang proliferasif atau sel spindle anaplastik yang tidak berdiferensiasi. Tumor tersebut berasal dari jaringan ikat fibrosa dan dapat terjadi sebagai massa jaringan lunak atau sebagai tumor tulang primer atau sekunder (Lukito *et al.*, 2008).

Viroterapi merupakan salah satu jenis terapi kanker yang memanfaatkan sifat virus untuk menghancurkan sel kanker. Terapi ini menggunakan virus onkolitik yang dapat menghancurkan sel kanker (Springfeld & Cattaneo, 2008). Virus onkolitik dapat melanjutkan replikasi dalam sel kanker sehingga menyebabkan penghancuran dan induksi onkolisis yang memanfaatkan kecacatan jalur interferon (Yurchenko *et al.*, 2018).

Salah satu organ yang terpengaruh pertumbuhan tumor adalah jantung. Pada jantung, sel tumor emboli memasuki vena koroner snialler melalui rute hematogen, dimana akan menyerang jantung. Metastasis tumor di organ jantung menyerupai lesi dalam hal patologi mikroskopis bercirikan kecil, keras, dan nodular serta jarang terjadi nekrosis (Hanfling, 1960).

Pada penelitian ini, penulis menggunakan salah satu virus onkolitik yaitu virus *Newcastle Disease*. *Newcastle Disease virus* (NDV) adalah anggota virus onkolitik alami yang termasuk dalam genus *Avulavirus*, famili *Paramyxoviridae*, dan menyebabkan penyakit parah pada unggas. Maka dari itu, karena virus ini bersifat non-patogen pada mamalia, maka virus ini dapat digunakan sebagai agen pengobatan kanker (Schwaiger *et al.*, 2017). Isolate virus yang digunakan pada penelitian ini menggunakan isolate Gianyar-1/AK/2014 terhadap histopatologi jantung pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Untuk mengetahui apakah isolat virus tersebut

mempengaruhi organ jantung, maka dilakukan pemeriksaan histopatologi untuk melihat perubahan pada jaringan yang diperiksa.

Jantung adalah organ yang berperan penting dalam mengatur sirkulasi tubuh. Untuk melihat pengaruh viroterapi pada jantung, lesi yang diamati adalah hemoragi, kongesti, dan edema dimana menjadi indikator adanya perubahan histopatologi dari viroterapi yang diberikan pada tikus dengan fibrosarkoma

METODE PENELITIAN

Sampel Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* terdiri dari 12 ekor tikus.

Rancangan Penelitian

Setelah tumor terbentuk, enam ekor tikus dipilih secara random sampling dan dibagi menjadi dua kelompok perlakuan: kelompok perlakuan 0 (P₀) adalah kelompok tikus yang diinjeksi dengan PBS dan kelompok perlakuan 1 (P₁) adalah kelompok tikus yang diinjeksi dengan virus *Newcastle Disease*. Pemberian virus ND dilakukan secara intratumoral dan diberikan sekali sehari selama empat hari (Yurchenko *et al.*, 2018; Sewoyo *et al.*, 2021) dengan titer virusnya 2⁸ HA unit.

Metode Pemeriksaan dan Variabel yang Diamati

Kemudian, dilakukan eutanasi dan nekropsi pada tikus setelah dua minggu pasca perlakuan terakhir. Nekropsi dilakukan dengan membuka daerah thoraks tikus. Sampel yang diambil dibersihkan terlebih dahulu dengan cairan NaCl lalu dimasukkan ke pot kecil sesegara mungkin dan direndam dalam larutan *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10%. Pengambilan sampel dilakukan di Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.

Analisis Data

Pengamatan kerusakan jaringan jantung dilakukan dengan melakukan pengamatan

terhadap preparat histopatologi tikus seluruh perlakuan yang selanjutnya dilakukan skoring. Bagian yang diamati adalah otot jantung. Variabel penilaian dilakukan secara kualitatif dengan mengamati kerusakan berupa kongesti, hemoragi, dan edema. Kemudian akan dibandingkan dengan kelompok kontrol dan perlakuan. Setelah itu, data yang diberi skoring akan diolah dengan uji non parametrik *Mann Whitney*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Pemeriksaan histopatologi pada 6 sampel organ jantung tikus menunjukkan keberadaan kongesti, hemoragi, dan edema pada otot jantung. Perubahan yang tampak diberi skoring lalu di uji Mann Whitney.

Pembahasan

Pada kelompok tikus perlakuan 0 (P0) yang diberi perlakuan injeksi PBS ditemukan adanya lesi yang secara garis besar tergolong fokal Lesi hemoragi pada kelompok kontrol tergolong kategori fokal yang ditunjukkan dengan rerata derajat keparahan senilai 1-1,2, lesi kongesti dengan kategori fokal dan normal yang ditunjukkan dengan rerata derajat keparahan senilai 0-0,4 dan lesi edema kategori fokal sampai multifokal dengan rerata derajat keparahan senilai 1,2-2,2 yang membuat jarak antar serat otot jantung melebar. Lesi pada kelompok perlakuan 0 diduga disebabkan oleh zat toksin, yaitu benzo(a)pyrene yang digunakan untuk membentuk fibrosarkoma pada tikus (Mukhtar *et al.*, 2010).

Pada jantung tikus yang diberi perlakuan 1 (P1), terlihat adanya hemoragi yang ditandai dengan sel-sel darah merah dalam jumlah sedikit yang menyebar di antara serat-serat otot jantung (Gambar B dan F). Hal ini menunjukkan data berbeda tidak nyata ($P>0,05$) pada kelompok

perlakuan 1 (P1). Pada sampel kedua (Gambar D) dari kelompok perlakuan 1 (P1) menunjukkan hemoragi yang sedikit berat dibanding sampel pertama dan ketiga dari kelompok perlakuan. Hal ini diduga dapat disebabkan oleh kondisi tikus pada sampel. Hemoragi adalah keluarnya darah dari pembuluh darah yang ditandai dengan adanya sel darah merah di luar pembuluh darah. Penyebab dari hemoragi sendiri bisa terjadi karena adanya nekrosis, trauma, atau neoplasma (tumor) (Berata *et al.*, 2020).

Kongesti pada kelompok perlakuan (P0) tergolong fokal (Gambar A, C, dan E), tidak berbeda jauh dari kelompok perlakuan (P1) (Gambar B, D, dan F) dimana kongestinya tergolong fokal. Hal ini ditunjukkan pada Tabel 2 yang menyatakan berbeda tidak nyata ($P>0,05$). Kongesti adalah suatu penimbunan darah dalam vena yang disebabkan aliran darah yang melambat atau berhenti (Berata *et al.*, 2020).

Pada kelompok perlakuan 0 (P0) edema yang terlihat tergolong lebih berat (Gambar A, C, dan E) dibanding pada kelompok perlakuan 1 (P1) (Gambar B dan F). Walaupun begitu, hasil uji Mann Whitney menyatakan berbeda tidak nyata ($P>0,05$). Pada sampel kedua kelompok perlakuan 1 (Gambar D) terlihat peningkatan keparahan edema. Edema adalah akumulasi cairan abnormal yang terdapat dalam ruang-ruang jaringan. Penyebabnya dapat disebabkan oleh tekanan hidrostatis pembuluh darah, tekanan osmotik darah dan cairan tubuh, permeabilitas kapiler, obstruksi limfatik, dan hipoproteinemia (Berata *et al.*, 2020). Selain itu, edema yang timbul diduga dapat disebabkan karena adanya virus Newcastle Disease sebagai terapi pada tikus penderita fibrosarkoma yang mempengaruhi permeabilitas kapiler (Largeau *et al.*, 2021).

Secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa virus Newcastle Disease yang digunakan sebagai viroterapi pada tikus dengan fibrosarkoma terlihat tidak memberi pengaruh yang bermakna terhadap histologi jantung tikus putih dalam mengurangi lesi hemoragi, kongesti dan edema. Meskipun begitu, beberapa lesi terlihat lebih ringan pada beberapa sampel yang diamati. Cara kerja virus Newcastle Disease dalam mengurangi keparahan lesi yaitu dengan mencegah sel menghasilkan produk tumor dan meningkatkan produksi produk virus dengan membajak sintesis protein sel. Lalu sel tumor akan lisis dan melepaskan banyak virus. Virus mempunyai efek stimulasi yang kuat pada sel-sel kekebalan yang menginfiltrasi jaringan tumor sehingga dapat mengubah lingkungan mikro tumor. Lalu, sel tumor yang terinfeksi virus mampu mengekspresikan "sinyal bahaya" (seperti sitokin), yang dapat menginduksi sel kekebalan di luar tumor untuk menginfiltrasi tumor dan mengaktifkan sel kekebalan non-spesifik. Sel tumor yang dilisis oleh virus onkolitik melepaskan sejumlah besar protein tumor yang mampu difagositosis oleh sel imun nonspesifik, dan antigen spesifik tumor tertentu dapat diekspresikan oleh sel penyaji antigen ini, menginduksi sel T untuk menyerang sel tumor yang tidak terinfeksi (Bai *et al.*, 2019).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa viroterapi virus *Newcastle Disease* isolat Gianyar-1/AK/2014 yang diberikan pada tikus penderita fibrosarkoma tidak memberi perubahan bermakna terhadap

histologi jantung tikus putih penderita fibrosarkoma.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan kepada seluruh pihak yang telah membantu kelancaran dalam menyelesaikan penelitian ini, terkhususnya teman-teman sepenelitian serta dosen-dosen pembimbing yang senantiasa membantu penulis.

DAFTAR PUSTAKA

- Bai Y, Hui P, Du X, Su X. 2019. Updates to the antitumor mechanism of oncolytic virus. *Thoracic Cancer*. 10(5): 1031–1035).
- Barnes PJ, Hansel TT. 2004. Prospects for new drugs for chronic obstructive pulmonary disease. *The Lancet*. 364(9438): 985-996.
- Berata IK, Adi AAAM, Winaya IBO, Adnyana IBW, Kardena IM. 2020. Patologi Veteriner Umum. Laboratorium Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Udayana.
- Chen NG, Szalay AA. 2011. Oncolytic Virotherapy of Cancer: Cancer Management in Man: Chemotherapy, Biological Therapy, Hyperthermia and Supporting Measures (Minev B.R., ed), Springer Dordrecht Heidelberg, London. Pp. 295 – 316.
- Hanfling SM. 1960. *Clinical Progress Metastatic Cancer to the Heart Review of the Literature and Report of 127 Cases*. <http://ahajournals.org>
- Largeau B, Cracowski JL, Lengellé C, Sautenet B, Jonville-Béra AP. 2021. Drug-induced peripheral oedema: an aetiology-based review. *British J. Clin. Pharmacol.* 87(8): 3043-3055.
- Lukito JS., Intan TK, & Trisna, C. 2008. *Profil Penderita Fibrosarkoma Di Laboratorium Patologi Anatomi*.
- Schwaiger T, Knittler MR, Grund C, Roemer-Oberdoerfer A, Kapp JF, Lerch MM, Blohm U. 2017. Newcastle disease virus mediates pancreatic tumor

rejection via NK cell activation and prevents cancer relapse by prompting adaptive immunity. *Int. J. Cancer*. 141(12): 2505-2516.

Sewoyo PS, AAAM Adi, IBO Winaya, IP Sampurna, dan AAB Bramardipa. 2021. The Potency of Virulent Newcastle Disease Virus Tabanan-1/ARP/2017 as Virotherapy Agents in Rat Fibrosarcoma Models. *J. Adv. Vet. Res.* 11(2): 64-68.

Springfield C, Cattaneo R. 2008. Oncolytic Therapy with Viruses: Encyclopedia of Cancer (Schwab M., ed), 2nd ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York. Pp. 2167 - 2170.

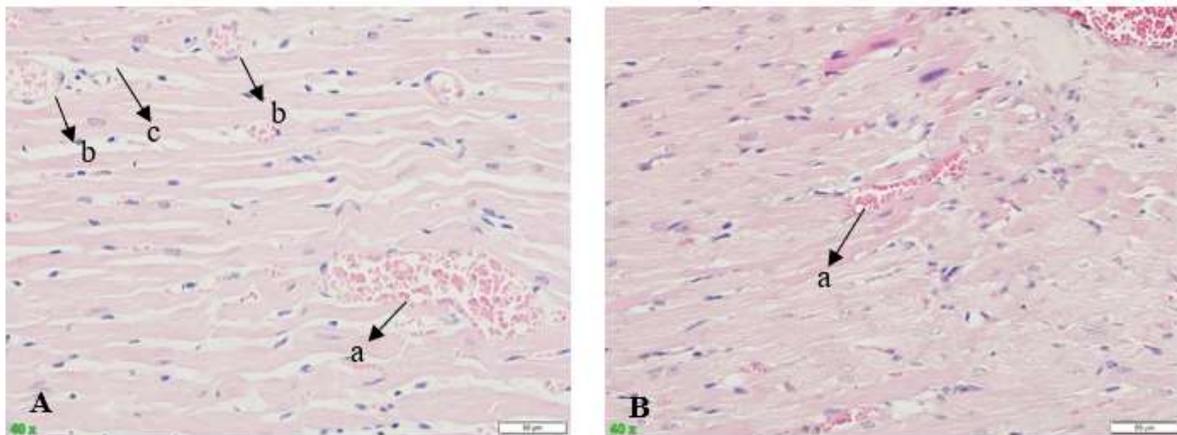
Yurchenko KS, Zhou P, Kovner AV, Zavjalov EL, Shestopalova LV, Shestopalov M. 2018. Oncolytic effect of wild-type Newcastle disease virus isolates in cancer cell lines in vitro and in vivo on xenograft model. *PLoS One*. 13(4): e0195425.

Tabel 1. Skor penilaian derajat kerusakan histopatologi jantung mencit (Hansel dan Barnes 2004)

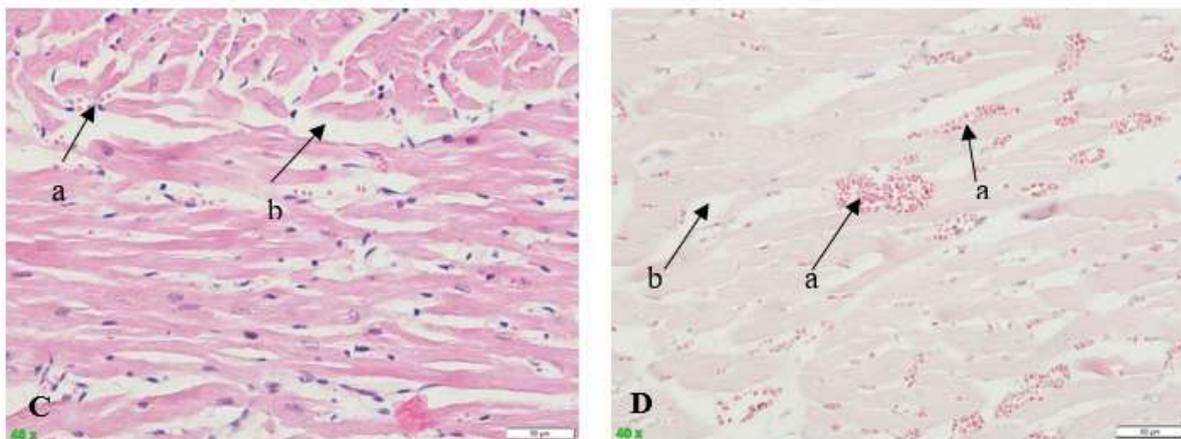
Tingkat Perubahan	Keterangan	Skor
Normal	Tidak terjadi perubahan struktur histologi	0
Fokal (ringan)	Kerusakan kurang dari sepertiga dari seluruh lapang pandang	1
Multifokal (sedang)	Kerusakan sepertiga hingga dua pertiga dari seluruh lapang pandang	2
Difusa (berat)	Kerusakan lebih dari dua pertiga dari seluruh lapang pandang	3

Tabel 2. Rerata derajat keparahan lesi yang ditemukan pada otot jantung

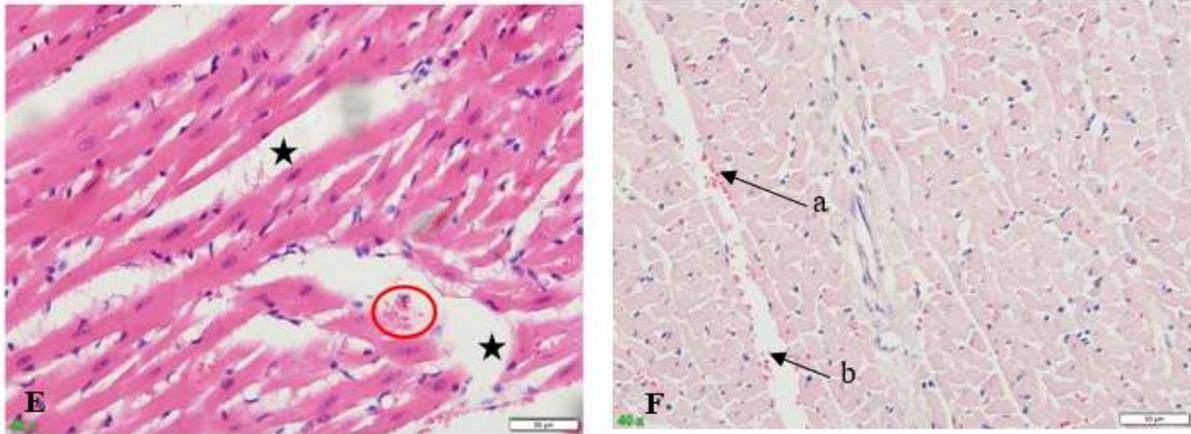
Lesi	Kelompok Perlakuan	Sampel	Rerata skoring	Jenis Lesi	Hasil Uji Mann Whitney
Hemoragi	P ₀	1	1,2±0,1	Fokal	0,814
		2	1,2±0,1	Fokal	
		3	1±0,1	Fokal	
	P ₁	1	1±0,4	Fokal	
		2	1,8±0,4	Fokal	
		3	1±0,4	Fokal	
Kongesti	P ₀	1	0,4±0,2	Fokal	0,637
		2	0±0,2	Normal	
		3	0,2±0,2	Fokal	
	P ₁	1	0±0,1	Normal	
		2	0,2±0,1	Fokal	
		3	0,2±0,1	Fokal	
Edema	P ₀	1	0,2±1,05	Fokal	0.827
		2	1,8±1,05	Fokal	
		3	2,2±1,05	Multi fokal	
	P ₁	1	0,6±1,05	Fokal	
		2	2,6±1,05	Multi fokal	
		3	1±1,05	Fokal	



Gambar 1. Perbandingan struktur histologis jantung pada tikus perlakuan 0 (P_0) dan tikus perlakuan 1 (P_1). (A) Gambaran histopatologi otot jantung tikus perlakuan 0 (P_0) ke-1 (HE, 400x). Dalam gambar tersebut terlihat adanya hemoragi (a) dan kongesti (b) pada beberapa pembuluh darah serta edema disekelilingnya (c). (B) Gambaran histopatologi tikus yang telah diberi perlakuan 1 (P_1) dengan virus Newcastle Disease isolat Gianyar-1/AK/14 (HE, 400x). Pada gambar B, terlihat adanya hemoragi (a). Tidak ditemukannya kongesti dan edema.



Gambar 2. Perbandingan struktur histologis jantung pada tikus perlakuan 0 dan tikus perlakuan 1 (P_1) ke-2. (C) Gambaran histologis otot jantung tikus perlakuan 0 (P_0) ke-2 (HE, 400x). Terlihat adanya hemoragi (a), tidak ditemukannya kongesti dan ditemukan adanya edema (b). (D) Gambaran histopatologi tikus yang telah diberi perlakuan 1 (P_1) dengan viroterapi (HE, 400x). Pada gambar tersebut, ditemukan hemoragi (a), edema (b), dan tidak ditemukan kongesti.



Gambar 3. Perbandingan struktur histologis jantung pada tikus perlakuan 0 (P_0) dan tikus perlakuan 1 (P_1) ke 3. (E) Gambaran histologis otot jantung tikus perlakuan (P_0) (HE, 400x). Terlihat adanya hemoragi yang ditemukan sedikit, ditemukannya kongesti (lingkaran merah), dan ditemukannya edema (bintang). (F) Gambaran histopatologi tikus perlakuan 1 (P_1) ke 3 dengan viroterapi (HE, 400x). Pada gambar tersebut terdapat hemoragi dengan jumlah sedikit (a), edema (b) dan tidak ditemukan kongesti.