

## Analisa Ekspresi E-cadherin dan MMP-2 pada Karsinoma Sel Skuamosa Laring

Tuti Andayani, Etty Hary Kusumastuti, Anny Setijo Rahaju

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga  
RSUD Dr. Soetomo  
Surabaya

### ABSTRAK

#### Latar belakang

Karsinoma laring merupakan keganasan kedua terbanyak pada kepala dan leher dan lebih dari 90% berupa karsinoma sel skuamosa (KSS). Penanganan kanker laring berkaitan dengan diagnostik dan terapi, terutama ketika penyakit ini terdiagnosis pada stadium lanjut dengan keterlibatan kelenjar getah bening (KGB). Metastasis KSS pada KGB melibatkan beberapa protein yang berperan dalam *adhesi* sel seperti E-cadherin dan *matrix metalloproteinase2* (MMP-2). Pada penelitian ini dilakukan analisis ekspresi E-cadherin dan MMP-2 pada KSS laring untuk menilai peran kedua protein tersebut dalam proses metastasis ke KGB leher.

#### Metode

Penelitian observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Sampel penelitian adalah blok parafin KSS laring di Departemen Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo Surabaya selama Januari 2013-Desember 2014. Tiga puluh sampel terdiri atas dua kelompok, yaitu metastasis KGB dan non metastasis KGB dan dilakukan pemeriksaan imunohistokimia dengan antibodi E-cadherin dan MMP-2. Ekspresi E-cadherin dan MMP-2 dinilai secara semi kuantitatif dan dianalisis dengan tes Mann-Whitney, sedangkan korelasi antara ekspresi E-cadherin dan MMP-2 dengan tes Spearman.

#### Hasil

Tidak terdapat korelasi yang signifikan antara ekspresi E-cadherin dan MMP-2 pada KSS laring. Tidak terdapat perbedaan ekspresi E-cadherin dan MMP-2 yang signifikan antara KSS laring metastasis dan non metastasis ke KGB leher.

#### Kesimpulan

Ekspresi E-cadherin dan MMP-2 tidak berbeda bermakna karsinoma sel skuamosa laring tanpa dan metastasis ke KGB leher. Tidak terdapat korelasi ekspresi E-cadherin dan MMP-2 pada kejadian metastasis KGB leher pada KSS laring.

**Kata kunci:** E-cadherin, karsinoma sel skuamosa laring, MMP-2.

### ABSTRACT

#### Background

Cancer of the larynx remains the second most common head and neck malignancy and more than 90% is squamous cell carcinoma (SCC). Laryngeal cancer still associated with diagnostic and therapeutic problems. Diagnostic limitations occur mainly when the disease is at an advanced stage at the time of diagnosis with cervical lymph node involvement. Metastasis laryngeal SCC involving cell adhesion protein such as E-cadherin and MMP-2. This study analyze E-cadherin and MMP 2 expression in laryngeal SCC with and without cervical lymph node metastasis.

#### Methods

This study was observational analytic with cross sectional design. The samples were paraffin blocks of laryngeal SCC in Dr. Soetomo Hospital Pathology Laboratory during Januari 2013-Desember 2014. Thirty samples consisted of two groups, metastasis and non metastasis to cervical lymph node and immunohistochemical examination with E-cadherin and MMP-2 antibody. Differences E-cadherin expression and MMP-2 were analyzed by Mann-Whitney test, and the correlation between E-cadherin and MMP-2 were tested with Spearman test.

#### Results

There were no significant difference in the expression of E-cadherin and MMP-2 in metastasis and non metastasis laryngeal SCC to cervical lymph node and there were no significant correlation between E-cadherin expression and MMP-2 in metastasis and non metastasis laryngeal SCC to cervical lymph node.

#### Conclusion

There were no significant differences between the expression of E-cadherin and MMP-2 in laryngeal SCC with and without lymph node metastasis. There were also no significant correlation between expression of E-cadherin and MMP2.

**Key words:** E-cadherin, laryngeal squamous cell carcinoma, MMP-2.

## PENDAHULUAN

Angka kejadian karsinoma laring sebanyak 2-3% dari semua jenis kanker di dunia, dengan angka kejadian 5,8 per 100.000 pria dan 1,2 per 100.000 wanita per tahun berdasarkan kasus yang didiagnosis dari 2008-2012 dari 18 wilayah geografis *Surveillance Epidemiology and Result (SIER)*.<sup>1,2</sup> *American Cancer Society* memprediksi di Amerika Serikat pada tahun 2016 akan dijumpai 13.430 kasus baru kanker laring (10.550 pada pria dan 2.880 pada wanita) dan 3.620 pasien (2890 pria dan 730 wanita) akan meninggal karena kanker laring.<sup>3</sup>

Karsinoma sel skuamosa (KSS) merupakan keganasan epitel utama yang dijumpai pada laring.<sup>4</sup> Tempat tersering terjadi metastasis KSS laring adalah kelenjar getah bening (KGB) regional, dan diikuti oleh paru.<sup>5</sup> Dijumpai metastasis KGB menentukan pengobatan dan prognosis dari pasien dengan KSS, dengan penurunan kelangsungan hidup hingga 50%, dan lebih dari 50% jika dijumpai invasi ekstrakapsul. Pasien KSS laring dengan klinis tidak dijumpai pembesaran KGB leher tidak menyingkirkan mikrometastasis pada pemeriksaan histopatologi. Data dari literatur menunjukkan bahwa 4-40% pasien dengan KSS laring yang secara klinis tidak dijumpai pembesaran KGB leher memiliki mikrometastasis sehingga perlu metode yang dapat memprediksi metastasis KGB dan invasi sel tumor.<sup>1,6</sup>

Perilaku metastasis tumor tersebut dapat diprediksi dengan pemakaian *marker* imunohistokimia (IHK) pada materi biopsi dari tumor primer. Satu *marker* tunggal tidak cukup, tapi diperlukan panel beberapa *marker* untuk evaluasi yang tepat.<sup>6</sup> Peningkatan ekspresi *Matrix metalloproteinase* (MMP) bisa dijumpai dalam beberapa pertumbuhan tumor ganas, termasuk KSS laring. Beberapa penelitian memfokuskan pada nilai prognostik ekspresi MMP pada KSS dan penyebaran ke KGB.<sup>7</sup> Faktor penting lain dalam menilai invasi tumor adalah E-cadherin. Kehilangan atau penurunan fungsi E-cadherin berhubungan dengan meningkat invasi, naik stadium T dan N serta *unfavourable* prognosis.<sup>1</sup> Penelitian ini bertujuan menganalisis ekspresi E-cadherin dan MMP-2 pada KSS laring untuk mengungkap peranan kedua protein tersebut dalam proses metastasis KGB.

## METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian yang digunakan adalah observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Populasi penelitian adalah semua penderita KSS laring metastasis dan non metastasis ke KGB leher dan sampel penelitian adalah blok parafin dari penderita KSS laring dari spesimen laringektomi dengan menyertakan KGB leher yang tersimpan di Instalasi Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo periode 1 Januari 2013-31 Desember 2014, didapatkan 30 sampel tumor primer terdiri dari kelompok metastasis dan non metastasis masing-masing kelompok sebanyak 15 sampel dan dilakukan pulasan dengan antibodi E-cadherin dan MMP-2. Ekspresi protein E-cadherin diperiksa secara imunohistokimia dengan antibodi *monoclonal* E-cadherin dari Biocare dengan dilusi 1:100 dan antibodi *polyclonal* MMP-2 dari Boster dengan perbandingan dilusi 1:150. Ekspresi E-cadherin dikatakan positif jika terpulas pada membran sel, sitoplasma atau sitoplasma dan membran dan MMP-2 dikatakan positif jika terpulas pada sitoplasma. Kemudian dihitung secara visual dengan mikroskop cahaya binokuler pembesaran 100x, 400x dan dilakukan penilaian terhadap 500 sel pada area *hot spot* kemudian nilai dinyatakan berdasarkan persentase jumlah sel tumor yang terpulas positif serta dinilai intensitas pewarnaan. Intensitas pulasan imunohistokimia E-cadherin bervariasi mulai skor 1=lemah, skor 2=sedang dan skor 3=berat. Persentase jumlah sel tumor yang terpulas E-cadherin: skor 0= sel tumor tidak terpulas, skor 1=<10% tumor sel terpulas, skor 2=10-30% tumor sel terpulas, skor 3=>30% tumor sel terpulas. Intensitas MMP-2 dinilai berdasarkan kriteria sebagai berikut: 0=tidak terpulas, 1=lemah (sel terpulas berwarna coklat terang pada sitoplasma), 2=sedang (sel terpulas berwarna coklat pada sitoplasma), 3=berat (sel terpulas berwarna coklat gelap pada sitoplasma). Analisis semikuantitatif untuk ekspresi MMP-2 memakai 4 poin berdasarkan persentase sel yang terpulas positif: 0=tidak terpulas, 1=1-10% sel positif, 2=10-50% sel positif, 3=>50% positif.

Data yang terkumpul dianalisis dengan SPSS. Perbedaan ekspresi E-cadherin dan MMP-2 pada KSS laring metastasis dan non metastasis dianalisis menggunakan uji statistik Mann-Whitney dengan nilai p bermakna jika  $p < 0,05$ . Hubungan antara E-cadherin dan MMP-

2 diuji dengan menggunakan uji statistik Spermans ( $p < 0,05$ ).

Penelitian ini telah dinyatakan memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Soetomo Surabaya dengan nomor keterangan keaifan etik: 404/Panke.KKE/V/2016.

**HASIL**

Data penderita yang diperoleh pada penelitian ini memiliki rentang usia dari 34 sampai dengan 73 tahun, dengan jumlah penderita KSS laring terbanyak pada rentang usia 50-59 tahun pada kelompok metastasis yaitu sebanyak 53,3% dan  $\geq 60$  tahun dan pada kelompok non metastasis yaitu sebanyak 60,0%. Rerata usia penderita KSS dalam penelitian ini adalah  $53,13 \pm 8,55$  tahun pada kelompok metastasis dan  $61,47 \pm 8,41$  tahun pada kelompok non metastasis. Distribusi usia dikelompokkan menjadi 4 kelompok dengan rentang 10 tahun. Data jenis kelamin yang paling banyak adalah laki-laki sebanyak 14 orang (93,3%) dan perempuan sebanyak 1 orang atau 6,7% baik pada kelompok metastasis maupun kelompok non metastasis (Tabel 1).

Tabel 1. Tabel karakteristik penderita.

Karakteristik	Kelompok		P
	Metastasis	Non metastasis	
Mean $\pm$ SD	53,13 $\pm$ 8,55	61,47 $\pm$ 8,41	0,012
Min - Maks	34-65	48-73	
Umur			
<40	1 (6,7%)	0 (0,0%)	0,021
40-49	3 (20,0%)	1 (6,7%)	
50-59	8 (53,3%)	5 (33,3%)	
60+	3 (20,0%)	9 (60,0%)	
Jenis kelamin			
Laki-Laki	14 (93,3%)	14 (93,3%)	1,000
Perempuan	1 (6,7%)	1 (6,7%)	

Derajat diferensiasi yang paling banyak dari KSS metastasis dan non metastasis adalah *well differentiated* (WD), masing-masing sebanyak 8 orang (53,3%) dan 10 orang (66,7) dan yang paling sedikit dijumpai pada kelompok metastasis adalah *poorly differentiated* (PD) sebanyak 2 orang (13,3%) dan pada kelompok non metastasis sebanyak 2 orang (13,3%) *moderately differentiated* (MD) (Tabel 2).

Tabel 2. Tabel karakteristik tumor.

Karakteristik	Kelompok		P
	Metastasis	Non metastasis	
Grade histopatologi			
WD	8 (53,3%)	10 (66,7%)	0,583
MD	5 (33,3%)	2 (13,3%)	
PD	2 (13,3%)	3 (20,0%)	

Penilaian ekspresi E-cadherin menggunakan persentase sel yang terpulsa dalam rentang skor negatif (0) hingga skor 3. Rerata ekspresi E-Cadherin pada KSS laring metastasis adalah 54,17 dan pada KSS non metastasis adalah 53,67 dengan nilai terendah 0 pada kelompok metastasis dan nilai tertinggi 95 serta nilai terendah 20 pada kelompok non metastasis dan nilai tertinggi 90 (Tabel 3).

Tabel 3. Tabel ekspresi E-cadherin hasil penghitungan Mann-Whitney

Kelompok	N	Jumlah sel mengekspresikan E-cadherin				P
		Mean	SD	Min	Maks	
Metastasis	15	54,17	30,74	0	95	0,960
Non metastasis	15	53,67	23,10	20	90	

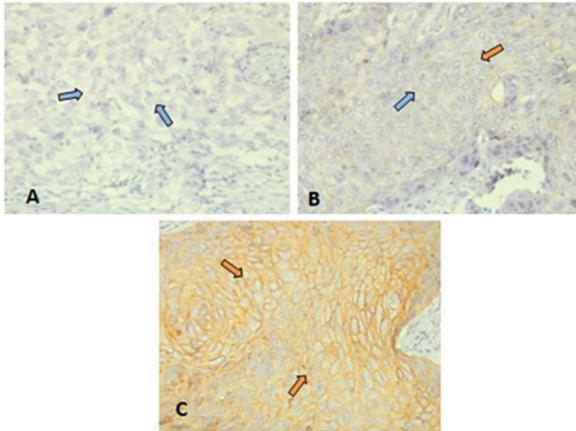
Hasil perhitungan intensitas E-cadherin pada kelompok metastasis didapatkan hasil tidak tereksresi 1 orang (6,7%), lemah 10 orang (66,7%), kuat 4 orang (26,7%) dan pada kelompok non metastasis didapatkan hasil tereksresi lemah sebanyak 12 orang (80,0%), sedang 1 (6,7%), kuat 2 (13,3%) (Tabel 4).

Tabel 4. Intensitas ekspresi E-cadherin.

Intensitas ekspresi	Kelompok		Total
	Metastasis	Non metastasis	
Tidak tereksresi	1 (6,7%)	0 (0,0%)	1 (3,3%)
Lemah	10 (66,7%)	12 (80,0%)	22 (73,3%)
Sedang	0 (0,0%)	1 (6,7%)	1 (3,3%)
Kuat	4 (26,7%)	2 (13,3%)	6 (20,0%)
Total	15 (100%)	15 (100%)	30 (100%)

Hasil perhitungan skor *Imunoreactive Scale* (IRS) ekspresi E-cadherin pada kelompok metastasis nilai minimum 0 dan maksimum 9 dan pada kelompok non metastasis nilai minimum 2 dan maksimum 9 dengan nilai  $p = 0,982$ . Hasil analisis menunjukkan tidak terdapat perbedaan ekspresi E-cadherin pada kelompok metastasis dan non metastasis ( $p > \alpha$ ). Hasil pengecatan IHC ekspresi E-cadherin pada

KSS laring metastasis dan non metastasis ke KGB leher (Gambar 1).



Gambar 1. Ekspresi E-cadherin. Anak panah orange adalah sel tumor yang terpulus E-cadherin, anak panah biru adalah sel tumor yang tidak terpulus E-cadherin; A. Skor 0, B. Skor 2, C. Skor 3 tampak tumor terpulus positif E-Cadherin pada 95 % sel tumor. Pembesaran 400x.

Rerata ekspresi MMP-2 pada kelompok metastasis adalah 88,7%, terendah 65% dan tertinggi 100% dan kelompok non metastasis rerata 80,83%, terendah 55 dan tertinggi 97,5% (Tabel 5).

Tabel 5. Ekspresi MMP-2 hasil perhitungan Mann-Whitney.

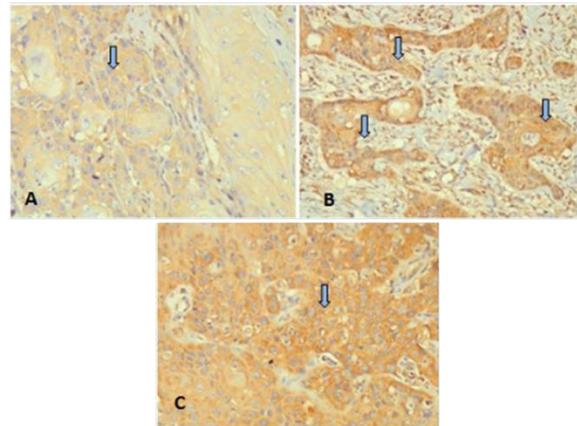
Kelompok	N	Jumlah sel mengekspresikan MMP-2				p
		Median	SD	Min	Maks	
Metastasis	15	88,17	8,68	65	100	0,081
Non metastasis	15	80,83	12,98	55	97,5	

Hasil perhitungan intensitas MMP-2 pada kelompok metastasis didapatkan hasil terekspresi lemah 5 orang (33,3%), sedang 1 orang (6,7%), kuat 9 orang (60,0%) dan pada kelompok non metastasis didapatkan hasil terekspresi lemah sebanyak 8 orang (53,3%), sedang 1 (6,7%), kuat 6 (40,0%) (Tabel 6).

Tabel 6. Intensitas ekspresi MMP-2

Intensitas ekspresi	Kelompok		Total
	Metastasis	Non metastasis	
Lemah	5 (33,3%)	8 (53,3%)	13 (43,3%)
Sedang	1 (6,7%)	1 (6,7%)	2 (6,7%)
Kuat	9 (60,0%)	6 (40,0%)	15 (50,0%)
Total	15 (100,0%)	15 (100,0%)	30 (100,0%)

Hasil perhitungan skor *Imunoreactive Scale* (IRS) ekspresi MMP-2 pada kelompok metastasis nilai minimum 3 dan maksimum 9 dan pada kelompok non metastasis nilai minimum 3 dan maksimum 9 dengan nilai  $p=0,264$ . Hasil analisis menunjukkan tidak terdapat perbedaan ekspresi MMP-2 pada kelompok metastasis dan non metastasis ( $p>\alpha$ ). Hasil pengecatan IHK ekspresi MMP-2 pada KSS laring metastasis dan non metastasis ke KGB leher (Gambar 2).



Gambar 2. Ekspresi MMP-2 positif pada sitoplasma sel tumor. Anak panah biru adalah sel tumor yang terpulus MMP-2; A. Skor +3 dengan intensitas lemah. B. Skor +3 dengan intensitas sedang C. Skor +3 dengan intensitas kuat. Pembesaran 400x.

Hubungan antara ekspresi E-cadherin dan MMP-2 pada KSS laring diuji secara statistik dengan uji korelasi Spearman (Gambar 3). Analisis data dengan korelasi *spearman* didapatkan  $r_s=0,110$  dan  $p=0,561$  ( $p>0,05$ ). Hasil analisis tersebut menunjukkan tidak ada hubungan antara ekspresi E-cadherin dan MMP-2. Hasil tersebut menunjukkan ekspresi E-cadherin tidak mempengaruhi MMP-2, begitu juga sebaliknya.

**DISKUSI**

Tipe histologik skuamous sel karsinoma dipilih karena merupakan tipe histologik terbanyak dari karsinoma laring yaitu lebih dari 90%. Pemilihan variabel metastasis dan non metastasis ke KGB leher karena metastasis merupakan faktor prognosis yang paling kuat saat ini untuk KSS laring.

Usia penderita paling banyak didapatkan pada rentang usia 50-59 tahun yaitu

sebanyak 53,3% pada kelompok metastasis dan >60 tahun yaitu sebanyak 60% pada kelompok non metastasis. Beberapa literatur menyatakan bahwa KSS adalah penyakit yang paling banyak menyerang pria pada usia dekade ke-5, 6, 7 dan hanya pada <5% kasus terdiagnosis pada usia <45 tahun. Etiologi KSS pada usia muda belum jelas, tetapi pada dewasa dapat disebabkan oleh riwayat merokok, minuman alkohol, dan kebersihan mulut yang buruk. Karsinoma laring pada orang usia muda diduga berhubungan dengan degenerasi ganas dari papiloma dan komplikasi radioterapi pada papiloma serta terpapar dengan bahan kimia seperti asbestos.<sup>8</sup>

Penelitian ini terdapat dua sampel yang berjenis kelamin perempuan, sebanyak 1 orang (6,7%) baik pada kelompok metastasis maupun non metastasis. Umur dan jenis kelamin merupakan faktor yang meningkatkan risiko KSS laring. Kanker laring empat kali lebih sering terjadi pada pria daripada wanita. Terdapat perbedaan yang signifikan antara jenis kelamin laki-laki dan perempuan, hal ini karena faktor risiko utama merokok dan penggunaan alkohol lebih sering terjadi pada pria.<sup>9</sup>

Derajat diferensiasi tumor yang paling banyak adalah tumor WD yaitu sebanyak 8 (53,3%) pada kelompok metastasis dan 10 (66,7%) pada kelompok non metastasis dan diikuti oleh tumor dengan derajat MD sebanyak 5 (33,3%) pada kelompok metastasis. Grading KSS laring dinilai berdasarkan pleiomorfik inti, aktivitas mitosis, masih adanya *intercellular bridges* dan bahan keratin. Umumnya keratin hanya dijumpai pada WD dan MD. Hasil penelitian ini tidak sesuai dengan WHO *Head and Neck* yang mengatakan bahwa KSS terbanyak adalah MD. Berdasarkan lokasi tumor dikatakan kebanyakan karsinoma pada glottis adalah WD dan MD, sedangkan di area lain terutama di subglottis adalah MD dan PD.<sup>10</sup>

E-cadherin memainkan peran kunci dalam *adhesi* antar sel epitel. Hilang atau penurunan ekspresi E-cadherin merupakan tanda invasi dan metastasis sel kanker.<sup>11</sup> E-cadherin diduga berperan dalam proses metastasis KSS laring. *Down regulasi* E-cadherin menurunkan *adhesi* antar sel.<sup>12</sup>

Hasil uji statistik ekspresi E-cadherin dengan menggunakan uji Mann-Whitney didapatkan  $p > 0,05$  menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ekspresi E-cadherin pada masing-masing kelompok.

Hasil ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menilai ekspresi E-cadherin pada KSS kepala leher primer dan mendapatkan tidak terdapat hubungan antara ukuran tumor dan metastasis KGB, namun penelitian ini signifikan dengan differensiasi tumor.<sup>13</sup> Demikian pula dengan penelitian pada sampel 37 pasien dengan KSS laring dan mendapatkan E-cadherin tidak signifikan dengan metastasis KGB.<sup>14</sup>

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian terdahulu yang mendapatkan penurunan signifikan pada sampel jaringan dengan metastasis KGB dibandingkan dengan non metastasis. Penurunan ekspresi E-cadherin ini menunjukkan peningkatan tendensi terjadi metastasis. Ekspresi E-cadherin yang kuat berhubungan dengan peningkatan differensiasi tumor dan penurunan kemampuan metastasis. Ekspresi E-cadherin dapat menjadi prediktor dalam menilai differensiasi dan metastasis KGB pada KSS laring.<sup>3</sup>

Hasil yang berbeda didapatkan pada penelitian lain yaitu penurunan ekspresi E-cadherin terutama pada KSS supraglottic berhubungan dengan differensiasi buruk dan metastasis KGB.<sup>6</sup>

KSS dengan metastasis ke KGB leher terjadi *downregulasi* E-cadherin sehingga ekspresi E-cadherin jauh lebih rendah dari pada non metastasis ke KGB. Selain *downregulasi* terjadi juga proteolisis. Degradasi E-cadherin pada sel normal terjadi pada proses internalisasi endofitik oleh proteosom atau lisosom, sedangkan pada sel kanker terjadi pada membran sel.<sup>15</sup> Peningkatan pertumbuhan tumor menyebabkan aktivitas proteolisis juga akan meningkat sehingga E-cadherin yang dihasilkan akan meningkat dan terekspresi lebih tinggi pada sel tumor. Hal ini dapat menjelaskan terjadinya peningkatan ekspresi E-cadherin pada metastasis karena pada keadaan metastasis terjadi peningkatan aktivitas proteolisis.

Perubahan ekspresi E-cadherin masih kontroversi pada KSS laring. Beberapa alasan lain dapat digunakan untuk menerangkan perbedaan tersebut seperti lokasi dan jumlah pasien yang diteliti, pemilihan tumor (stadium, *grade* tumor), perbedaan tindakan bedah dalam pengambilan KGB serta interpretasi hasil pulasan imunohistokimia. Peningkatan ekspresi E-cadherin secara imunohistokimia tidak selalu menunjukkan bahwa molekul ini aktif. Aberasi

kromosom dan ekspresi protein di satu bagian tumor dapat berbeda dibanding lainnya dan ini diduga sebagai akibat evolusi klonal, terdapat pula berbagai kemungkinan lain seperti infeksi HPV yang merupakan salah satu penyebab kanker laring. EBV terkait dengan antigen LMP yang dapat mempengaruhi ekspresi E-cadherin dan merubah kemampuan invasi tumor.<sup>6,12</sup>

Tidak terdapat standar penggunaan antibodi E-cadherin *monoclonal* dalam beberapa penelitian terdahulu atau metode IHK yang digunakan dapat menjadi salah satu alasan perbedaan hasil penelitian tersebut, begitu juga dengan jumlah sampel yang sedikit masih menjadi suatu kontroversi.<sup>3,6</sup>

Metastasis ke KGB merupakan faktor penting dalam terapi dan prognosis pada pasien KSS laring. Keberhasilan metastasis tergantung supresor dan promotor pada setiap tahapan metastasis. MMP merupakan enzim proteolitik yang merusak komponen ECM dalam kondisi patologis, selanjutnya merusak membran basal, menembus stroma dan pembuluh darah dan bermetastasis. Peningkatan produksi enzim ini merupakan faktor penting dalam memprediksi agresifitas dan prognosis pada pasien dengan tumor ganas laring.<sup>16</sup>

Hasil uji statistik dengan dua kelompok yaitu kelompok metastasis dan non metastasis didapatkan  $p > 0,05$ . Berarti tidak terdapat perbedaan ekspresi MMP-2 yang signifikan antara kelompok tumor dengan metastasis ke KGB leher dan non metastasis.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian terdahulu yaitu tidak terdapat korelasi antara ekspresi MMP-2 dan metastasis KGB. Kolagen tipe IV dan MMP-9 lebih berperan dalam menilai metastasis KGB dibandingkan MMP-2.<sup>17</sup>

Hasil ini berbeda dengan penelitian pada KSS oral yang mendapatkan peningkatan ekspresi MMP-2 dan MMP-9 berhubungan dengan kejadian metastasis KGB. Hasil yang sama juga didapatkan pada penelitian KSS laring yang mendapatkan MMP-2 terpulas pada 70,8% dari seluruh tumor dengan metastasis KGB. MMP-2 juga terpulas kuat pada sel tumor dan terpulas lemah pada sel stroma.<sup>18</sup>

Selain MMP-2 juga terdapat TIMP-2 yang berperan dalam proses metastasis. Aktivitas MMP-2 dapat dihambat oleh TIMP-2. Selain menghambat pertumbuhan tumor dan metastasis, TIMP juga mempunyai efek

stimulasi pertumbuhan tumor dan anti-apoptosis. TIMP-2 dapat berperan sebagai mekanisme pertahanan terhadap metastasis dengan menghambat kerja MMP-2, di lain sisi TIMP-2 juga dapat memicu aktivasi MMP-2 dengan perantara MT1-MMP. TIMP-2 merupakan TIMP yang dapat menghambat hampir semua MMP. Ekspresi gen TIMP ini telah diketahui bermakna pada beberapa penelitian berhubungan dengan metastasis pada karsinoma sel skuamosa kepala dan leher, serta mempengaruhi prognosis. Keseimbangan antara MMP dan TIMP penting untuk degradasi matriks ekstraseluler. Beberapa penelitian menunjukkan ada keseimbangan dari MMP dan TIMP pada jaringan yang normal untuk mempertahankan matriks ekstraseluler. Ekspresi MMP dan TIMP meningkat saat terjadi kanker. Bila TIMP tak mampu untuk menghambat kerja MMP, maka matriks ekstraseluler akan dihancurkan sehingga terjadilah invasi dan metastasis. Secara umum TIMP-2 menghambat MMP-2, tetapi perlu diingat bahwa peran TIMP-2 juga dapat bersifat menginduksi MMP-2. Penelitian ini tidak menilai ekspresi TIMP-2 sehingga tidak dapat menilai korelasi antara ekspresi MMP-2 dan ekspresi TIMP-2, dan membuktikan pengaruh TIMP-2 pada ekspresi MMP-2 pada KSS laring metastasis ke KGB leher.<sup>17</sup> Hal ini dapat menjelaskan hasil ekspresi MMP-2 pada kelompok metastasis dan non metastasis yang tidak signifikan secara statistik bisa disebabkan oleh pengaruh TIMP-2 yang menghambat ekspresi MMP-2. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yaitu peningkatan ekspresi TIMP-2 dapat menghambat pertumbuhan tumor dan fungsi MMP.<sup>17</sup>

Selain TIMP-2, jumlah sampel yang minimal diantara setiap kelompok juga merupakan salah satu keterbatasan penelitian ini yang kemungkinan mempengaruhi hasil penelitian ini. Hasil ini juga dapat disebabkan oleh adanya mikrometastasis yang tidak tampak pada pemeriksaan histopatologi, sehingga pasien yang diagnosa dengan non metastasis sebenarnya merupakan pasien dengan mikrometastasis ke KGB.

Beberapa studi menunjukkan hubungan antara ekspresi E-cadherin dan MMP. Telah terbukti bahwa *downregulasi* E-cadherin merangsang sekresi MMP-9 pada KSS kulit. Ekspresi E-cadherin mengakibatkan *downregulasi* MMP-2 di sel kanker prostat. Hal ini menunjukkan mekanisme yang mengatur inter-

aksi fungsional antara E-cadherin dan MMP tidak jelas.<sup>19</sup>

Uji korelasi Spearman yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan tidak terdapat korelasi antara ekspresi E-cadherin dan MMP-2 pada KSS laring metastasis dan non metastasis ke KGB. Hasil analisis data didapatkan  $r_s=0,110$  dan  $pp>\alpha$  yang menunjukkan tidak terdapat hubungan bermakna antara ekspresi E-cadherin dan MMP-2 pada KSS laring metastasis dan non metastasis ke KGB. Hasil tersebut menunjukkan ekspresi E-cadherin tidak mempengaruhi MMP-2, begitu juga sebaliknya.

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian terdahulu yang mendapatkan terdapat korelasi antara ekspresi MMP-2 dan E-cadherin pada KSS laring supraglottic. Kombinasi penggunaan MMP-2 dan E-cadherin dapat meningkatkan akurasi prediksi metastasis KGB pada pemeriksaan tumor primer dari KSS laring.<sup>20</sup>

#### **KESIMPULAN**

Ekspresi E-cadherin dan MMP-2 tidak berbeda bermakna pada karsinoma laring tanpa metastasis dan dengan metastasis KGB leher. Tidak terdapat korelasi ekspresi E-cadherin dan MMP-2 pada kejadian metastasis KGB leher pada KSS laring.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

1. Paksoy M, Hardal U, Caglar C. Expression of cathepsin D and E-cadherin in primary laryngeal cancer correlation with neck lymph node involvement. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2011; 137: 1371-7.
2. National cancer Institute's Surveillance Epidemiology and Result cancer statistic review. 2015.[cited2015 Feb 9];[about 26p.] Available from:<http://surveillance.cancer.gov/joinpoint>
3. Akdeniz O, Akduman D, Haksever M, Ozkarakas H, Muezzinoglu B. Relationship between clinical behavior of laryngeal squamous cell carcinoma and expression of VEGF, MMP-9 and E-cadherin. *As Pac J Cancer Prev.* 2013; 14: 5301-10.
4. Papadas TA, Naxakis SS, Mastronikolis NS, Sathas T, Karabekos NC, Tsiambas E. Determination of matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) protein expression in laryngeal squamous cell carcinoma based on digital image analysis. *JBOUN* 2013; 18: 977-81.
5. Rosai J. 2005. Larynx and Trachea in Rosai and Ackerman's Surgical pathology. 10<sup>th</sup> ed. Philadelphia; Elsevier Saunder: 2005.
6. Mittari E, Charalabopoulos A, Batistatou A. The role of E-cadherin/catenin complex in laryngeal cancer. *Exp Oncol.* 2005; 27: 257-61.
7. Uloza V, Liutkevicius V, Pangonyte D, Lesauskaite V. Characteristic of expression of Matrix Metalloproteinases (MMP-2 dan MMP-9) in glottic squamous cell carcinoma and benign focal ford lesion. *Clin Exp Othorhinolaryngol.* 2015; 8: 57-64.
8. Rutt AL dan Sataloff RT. Laryngeal cancer in patients younger than 30 years: a review of 99 cases. *Ear Nose Throat J.* 2010; 89: 189-92.
9. American Cancer Society. Laryngeal and hypopharyngeal cancer. [updates 2016 Feb 17; cited 2016 May 23]: 1-56. Available from: <http://www.cancer.org/cancer/laryngeal-and-hypopharyngeal-cancer/detailed-guide/laryngeal-and-hypopharyngeal-cancer-key-statistics>.
10. Cardesa A, Gale N, Nadai A, Zidan N. Squamous Cell Carcinoma. In: Barnes L, editors. WHO Classification of Tumor Pathology and Genetics Head and Neck Tumours. Lyon: IARC Press; 2005.
11. Andl CD, Fagnoli B, Okawa T, Bowser M, Takaoka M, Nakagawa H, *et al.* Coordinated functions of E-Cadherin and Transforming Growth Factor B Receptor II In vitro and In vivo. *Cancer Res.* 2006; 66: 9878-85.
12. Zvrko E, Mikic A, Jancic S. Relationship of E-cadherin with cervical lymph node metastasis in laryngeal cancer. 2012; 2: 119-24.
13. Mattijssen V, Peters HM, Schalkwijk L, Manni JJ, De Mulder HM, Rutter DJ. E-cadherin expression in head and neck squamous-cell carcinoma is associated with clinical outcome. *Int J Cancer.* 1993; 55: 580-5.
14. Takes RP, Baatenburg De Jong RJ, Schuurung E, Hermans J, Vis AA, Litvinov SV, *et al.* Markers for assessment of nodal metastasis in laryngeal carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1997; 123: 412-9.

15. Rodrigo JP, Dominguez F, Suarez V, Canel M, Secades P. Focal Adhesion Kinase and E-cadherin as markers for nodal metastasis in laryngeal cancer, *Arch Otolaryngeal Head and Neck Surg.* 2007; 133: 145-50.
16. Shehata W dan Salman M. Expression of nm23H1 and MMP2 in laryngeal carcinoma and its role in aggressiveness of the tumour and node metastasis. *Egypt J Otolaryngol.* 2013; 29: 86-92.
17. Jiang YI, Goldberg ID, Shi YE. Complex roles of tissue inhibitors of metalloproteinases in cancer. *Oncogene.* 2002; 21: 2245-52.
18. Gorogh T, Beier UH, Baukem J, Meyer JE, Hofmann M. Metalloproteinases and their inhibitor: influence on tumor invasiveness and metastasis formation in head and neck squamous cell carcinomas. *Wiley Interisci.* 2005: 31-8.
19. Fuchs M, Hermannsta C, Specht K. Effect of tumor-associated mutant E-cadherin variants with defects in exons 8 or 9 on matrix metalloproteinase 3. *J Cel Physiol.* 2005; 202:805-13.
20. Sun C, Xin D, Wang Y. The expression of MMP-2, E-cadherin in supraglottic carcinoma and their relationship with cervical lymph node metastasis. *J Clin Otorhinolaryngol Head Neck Surg.* 2007; 21: 834-7.