

## Eksresi E-Cadherin dan MMP-9 pada Karsinoma Nasofaring Tanpa Metastasis, dengan Metastasis Awal dan Metastasis Lanjut Kelenjar Getah Bening

Alief Yudo Astuti, Willy Sandhika

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga  
Surabaya

### ABSTRAK

#### Latar belakang

Proses metastasis pada kelenjar getah bening karsinoma nasofaring melibatkan beberapa protein, diantaranya adalah E-cadherin dan MMP-9. E-cadherin merupakan glikoprotein transmembran yang berperan dalam adhesi antarsel epitel. Penurunan E-cadherin menyebabkan ikatan antarsel menjadi renggang dan mudah lepas. MMP-9 merupakan protease yang dihasilkan oleh sel tumor dan mampu mendegradasi membran basalis dan matriks ekstraseluler. Sel kanker melepaskan dirinya dan menembus membran basalis melalui aktifitas MMP-9. E-cadherin dan MMP-9 diduga berperan dalam proses invasi dan metastasis karsinoma nasofaring. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis peran ekspresi E-cadherin dan MMP-9 pada karsinoma nasofaring tanpa metastasis, metastasis awal dan metastasis lanjut sebagai dasar terapi target untuk meningkatkan ekspresi E-cadherin dan menurunkan ekspresi MMP-9.

#### Metode

Penelitian observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Sampel penelitian adalah blok parafin biopsi karsinoma nasofaring WHO tipe 2 dan tipe 3 dengan diagnosis secara histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo mulai Januari 2012-Desember 2013. Sampel dikelompokkan menjadi 3 yaitu kelompok tanpa metastasis, metastasis awal dan metastasis lanjut. Dilakukan pemeriksaan imunohistokimia menggunakan antibody monoclonal anti E-cadherin dan anti MMP-9. Derajat ekspresi E-cadherin dan MMP-9 dinilai berdasarkan persentase sel yang tercat positif. Perbedaan ekspresi E-cadherin dan MMP-9 dianalisis menggunakan uji statistik Mann-Whitney dan Games-Howell.

#### Hasil

Didapatkan perbedaan ekspresi E-cadherin yang bermakna pada karsinoma nasofaring tanpa metastasis dan metastasis awal dengan karsinoma nasofaring metastasis lanjut ( $p < 0,05$ ). Didapatkan perbedaan ekspresi MMP-9 yang bermakna pada karsinoma nasofaring tanpa metastasis, metastasis awal dibandingkan dengan karsinoma nasofaring metastasis lanjut ( $p = 0,019$ ,  $p < 0,05$ ). Didapatkan korelasi positif yang signifikan antara ekspresi E-cadherin dan MMP-9 pada karsinoma nasofaring ( $rs = 0,552$ ,  $p = 0,002$ ,  $p < 0,05$ ).

#### Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekspresi E-cadherin dan MMP-9 sangat mungkin berperan dalam proses metastasis karsinoma nasofaring pada kelenjar getah bening.

**Kata kunci:** E-cadherin, metastasis awal, metastasis lanjut, MMP-9, tanpa metastasis.

### ABSTRACT

#### Background

Lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma involves several proteins, including E-cadherin and MMP-9. E-cadherin is a transmembrane glycoprotein that plays a role in the epithelial cells adhesion. E-cadherin reduction will cause the loosening and cell detachment. MMP-9 is a protease enzyme. The activity of MMP-9 which is produced by tumor cells may cause the cancer cells break and penetrate basement membrane. E-cadherin and MMP-9 are considered as important proteins in the invasion and lymph node metastasis of nasopharyngeal carcinoma. The purpose of the study is to analyze the role of E-cadherin and MMP-9 expression in nasopharyngeal carcinoma without metastasis, early metastasis and late lymph node metastasis of nasopharyngeal carcinoma, which could be used in targeted therapy as the basic therapy by increasing E-cadherin expression and decrease the MMP-9 expression.

#### Methods

An observational analytic design with cross sectional approach was conducted by retrieving paraffin block of nasopharyngeal carcinoma WHO type 2 and type 3 archives in Department of Anatomical Pathology Dr. Soetomo Hospital during January 1<sup>st</sup>, 2012 until December 31<sup>st</sup>, 2013. The paraffin block were grouped into no metastasis, early and late metastasis. Sample that match criteria were stained immunohistochemically using monoclonal antibodies against E-cadherin and MMP-9 protein. The expression of E-cadherin and MMP-9 were assessed by percentage of tumor cells with positive staining. The differences of E-cadherin and MMP-9 expression in no metastasis, early metastasis and late metastasis nasopharyngeal carcinoma will be analyzed using Mann-Whitney and Games Howell test.

#### Results

Statistic test results showed there were significance difference of E-cadherin expression between no metastasis, early metastasis nasopharyngeal carcinoma and late metastasis nasopharyngeal carcinoma ( $p < 0,05$ ) and there were significance difference of MMP-9 expression between no metastasis, early metastasis nasopharyngeal carcinoma and late metastasis nasopharyngeal carcinoma ( $p < 0,05$ ). There were positive correlation between the expression of E-cadherin and MMP-9 in nasopharyngeal carcinoma ( $rs = 0,552$ ,  $p = 0,002$ ,  $p < 0,005$ ).

#### Conclusion

The results suggest that E-cadherin and MMP-9 expression might play a role in lymph node metastasis of nasopharyngeal carcinoma.

**Key words :** early metastasis, E-cadherin, MMP-9, late metastasis, without metastasis.

## PENDAHULUAN

Karsinoma nasofaring (KNF) merupakan tumor ganas kepala dan leher yang terbanyak ditemukandi RSUD Dr. Soetomo Surabaya selama periode tahun 1966-2000, yaitu 887 penderita (41,90%) dari 2.119 penderita tumor ganas kepala dan leher.<sup>1</sup> Penderita KNF sebagian besar datang dengan metastasis lanjut yang berupa pembesaran kelenjar getah bening leher, yaitu sebanyak 80%.<sup>1,2</sup> Metastasis pada kelenjar getah bening merupakan kejadian yang sering terjadi pada KNF tetapi mekanismenya masih belum diketahui dengan jelas.<sup>3</sup> Diduga melibatkan berbagai macam protein, di antaranya adalah E-cadherin dan MMP-9. E-cadherin berperan pada *adheren junction*. Pada beberapa tumor ganas terjadi penurunan E-cadherin sehingga terjadi penurunan ikatan antarsel tumor.<sup>4</sup> Sel tumor akan mensekresi enzim proteolitik untuk mendegradasi matriks ekstraseluler, yaitu MMP-9. MMP-9 adalah protease yang memecah kolagen tipe IV membran basal epitel dan pembuluh darah.<sup>5</sup>

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mencoba menjelaskan metastasis pada KNF dengan menggunakan antibodi E-cadherin dan MMP-9. Penelitian-penelitian sebelumnya didapatkan hasil bahwa pada KNF terjadi penurunan E-cadherin yang mengakibatkan terjadinya invasi dan metastasis.<sup>6,7</sup> Sebaliknya, Zen Liu *et al.*<sup>8</sup> mendapatkan adanya peningkatan ekspresi MMP-9 yang tinggi pada KNF.

Berdasarkan uraian di atas, tujuan dari penulisan ini adalah untuk menganalisis peran E-cadherin dan MMP-9 pada KNF tanpa metastasis, metastasis awal dan metastasis lanjut agar penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan dalam stratifikasi penderita KNF untuk menentukan penanganan KNF.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian observasional analitik dengan menggunakan metode *cross sectional*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan antara ekspresi E-cadherin dan MMP-9 pada KNF tanpa metastasis, metastasis awal dan metastasis lanjut. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo Surabaya, menggunakan blok parafin yang telah didiagnosis secara histopatologi sebagai KNF WHO tipe 2 atau 3 di RSUD Dr. Soetomo mulai tahun 2012-2013. Karsinoma nasofaring tanpa

metastasis adalah suatu keganasan dari nasofaring dimana gambaran histopatologi sesuai dengan kriteria KNF WHO tipe 2 atau tipe 3 dengan status kelenjar getah bening (KGB) N0. Karsinoma nasofaring metastasis awal adalah suatu keganasan dari nasofaring di mana gambaran histopatologi sesuai dengan kriteria KNF WHO tipe 2 atau tipe 3 dengan status KGB N1. Karsinoma nasofaring metastasis lanjut adalah suatu keganasan dari nasofaring di mana gambaran histopatologi sesuai dengan kriteria KNF WHO tipe 2 atau tipe 3 dengan status KGB N3. Data status KGB berasal dari data rekam medis Poli Onkologi THT RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

Berdasarkan rumus, didapatkan 28 sampel, terdiri atas 7 sampel dikelompokkan dalam KNF tanpa metastasis, 7 sampel KNF dengan metastasis awal dan 14 sampel lainnya dikelompokkan pada KNF dengan metastasis lanjut. Dilakukan pencatatan keterangan klinik, berupa umur, jenis kelamin, dan jenis histopatologi.

Seluruh sampel dipulas dengan pulasan IHK E-cadherin dan MMP-9 dengan metoda LSAB Avidin Biotin Complex). Pulasan E-cadherin tercat positif berwarna coklat pada membran sel tumor, diperiksa secara IHK dengan menggunakan *rabbit* antibodi monoklonal E-cadherin (Dako) dengan pengenceran 1:100. Kontrol E-cadherin positif pada jaringan kulit tercat pada membran sel tumor dengan intensitas warna pengecatan baik lemah, sedang maupun kuat dan dihitung secara visual melalui mikroskop cahaya binokuler. E-cadherin dinyatakan negatif bila tidak terpulas pada sitoplasma sel tumor KNF. Area yang dihitung merupakan area dengan sel tumor terbanyak (*hot spot area*) dan dihitung dalam perbesaran lensa obyektif 400x dengan menggunakan *graticule*. Hasilnya dinyatakan dalam persentase dari sel tumor yang tercat, dilihat dari 100 sel pada 3 lapang pandang. Pulasan MMP-9 tercat positif berwarna coklat pada sitoplasma sel tumor pada pemulasan IHK dengan menggunakan antibodi poliklonal MMP-9 Thermo untuk *rabbit*, dengan pengenceran 1;100. Kontrol MMP-9 positif pada jaringan mamma kemudian dilakukan pembacaan hasil pulasan MMP-9 dengan cara yang sama pada pulasan E-cadherin.

Uji yang digunakan untuk mengetahui perbedaan ekspresi E-cadherin antara KNF

tanpa metastasis, metastasis awal, dengan KNF metastasis lanjut adalah uji Mann-Whitney di mana sebelumnya telah dilakukan uji normalitas *Shapiro Wilk* terlebih dulu. Uji yang digunakan untuk mengetahui perbedaan ekspresi MMP-9 antara KNF tanpa metastasis, metastasis awal dengan KNF metastasis lanjut adalah uji Games Howell dimana sebelumnya telah dilakukan uji normalitas *Shapiro Wilk*. Uji yang digunakan untuk mengetahui hubungan antara ekspresi E-cadherin dan MMP-9 adalah uji statistik Spearman (signifikan jika  $p < 0,05$ ).

**HASIL**

Berdasarkan rumus besar sampel dan kriteria inklusi didapatkan 28 sampel.

Tabel 1. Distribusi usia penderita karsinoma nasofaring.

| Usia (tahun) | Metastasis KNF |           |            | Total     |
|--------------|----------------|-----------|------------|-----------|
|              | Non metastasis | Awal      | Lanjut     |           |
| <30          | 0 (0,0%)       | 0 (0,0%)  | 2 (100%)   | 2 (100%)  |
| 30-39        | 2 (50%)        | 2 (50,0%) | 0 (0,0%)   | 4 (100%)  |
| 40-49        | 2 (22,2%)      | 2 (22,2%) | 5 (55,6%)  | 9 (100%)  |
| 50-59        | 0 (0,0%)       | 3 (33,3%) | 6 (66,7%)  | 9 (100%)  |
| ≥ 60         | 3 (75,0%)      | 0 (0,0%)  | 1 (25,0%)  | 4 (100%)  |
| Total        | 7 (25,0%)      | 7 (25,0%) | 14 (50,0%) | 28 (100%) |

Exact prob. = 0,056

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa penderita KNF berada pada rentang usia 20-73 tahun. Penderita KNF terbanyak berada pada rentang usia 40-49 tahun dan 50-59 tahun dengan rerata usia  $48 \pm 12,58$  tahun. Berdasarkan uji Exact probability, tidak didapatkan perbedaan distribusi usia antara KNF tanpa metastasis, metastasis awal dan metastasis lanjut ( $p > 0,05$ ).

Tabel 2. Distribusi jenis kelamin penderita karsinoma nasofaring.

|           | Metastasis KNF   |           |            | Total     |
|-----------|------------------|-----------|------------|-----------|
|           | Tanpa metastasis | Awal      | Lanjut     |           |
| Laki-laki | 3 (20%)          | 5 (33,3%) | 7 (46,7%)  | 15 (100%) |
| Perempuan | 4 (30,8%)        | 2 (15,4%) | 7 (53,8%)  | 13 (100%) |
| Total     | 7 (25,0%)        | 7 (25,0%) | 14 (50,0%) | 28 (100%) |

*chi-square*  $p = 0,691$

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa jumlah penderita KNF berjenis kelamin laki-laki lebih banyak daripada perempuan, yaitu sebanyak 15 orang. Pada kelompok KNF tanpa metastasis jumlah terbanyak perempuan (4 orang), Pada metastasis awal jumlah penderita terbanyak adalah laki-laki sebanyak 5 orang (33,3%),

sedangkan pada KNF metastasis lanjut menunjukkan distribusi yang sama antara laki-laki dan perempuan. Berdasarkan uji *chi-square* tidak didapatkan adanya perbedaan distribusi jenis kelamin penderita antara KNF tanpa metastasis, KNF metastasis awal dan KNF metastasis lanjut ( $p > 0,005$ ).

Tabel 3. Distribusi jenis histopatologi penderita karsinoma naofaring.

| Jenis histopatologi               | Metastasis KNF |           |            | Total     |
|-----------------------------------|----------------|-----------|------------|-----------|
|                                   | Non metastasis | Awal      | Lanjut     |           |
| <i>Undifferentiated carcinoma</i> | 7 (29,2%)      | 6 (25,0%) | 11 (45,8%) | 24 (100%) |
| Non keratinizing SCC              | 0 (0,0%)       | 1 (25,0%) | 3 (75,0%)  | 4 (100%)  |
| Total                             | 7 (25,0%)      | 7 (25,0%) | 14 (50,0)  | 28 (100%) |

*chi-square*  $p = 0,782$

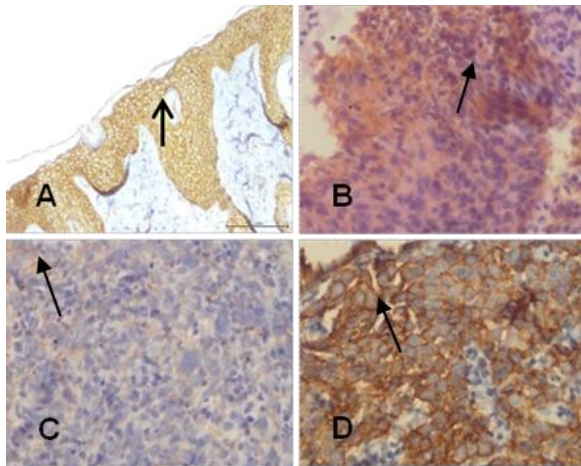
Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa jenis histopatologi terbanyak dari KNF tanpa metastasis, KNF metastasis awal dan KNF metastasis lanjut adalah *undifferentiated carcinoma*, masing-masing 7 orang, 6 orang, dan 11 orang. Pada uji *chi-square* tidak didapatkan perbedaan distribusi jenis histopatologi antara KNF tanpa metastasis, KNF metastasis awal dan KNF metastasis lanjut ( $p > 0,005$ ).

Tabel 4. Tabel rerata, standar deviasi, median, minimum, dan maksimum ekspresi E-cadherin.

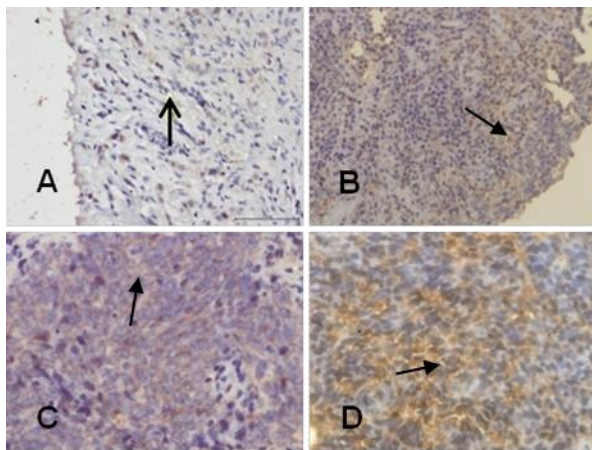
| Meta-stasis KNF | n  | Ekspresi E-cadherin (%) |       |                     |     |      | p      |
|-----------------|----|-------------------------|-------|---------------------|-----|------|--------|
|                 |    | x                       | SD    | Median              | Min | Maks |        |
| Non metastasis  | 7  | 55,00                   | 28,14 | 60,00 <sup>ab</sup> | 15  | 80   | 0,019* |
| Awal            | 7  | 36,43                   | 22,86 | 10,00 <sup>a</sup>  | 15  | 70   |        |
| Lanjut          | 14 | 69,64                   | 18,24 | 77,50 <sup>b</sup>  | 30  | 90   |        |

Keterangan: bermakna pada  $\alpha = 0,05$ , <sup>ab</sup>superscript yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan antar kelompok (berdasar uji Mann-Whitney).

Dari Tabel 4 dapat dilihat bahwa rerata ekspresi E-cadherin pada KNF tanpa metastasis adalah 55,00, pada KNF metastasis awal adalah 36,43 dan pada KNF metastasis lanjut adalah 69,64. Uji Mann-Whitney menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna terhadap ekspresi E-cadherin antara KNF metastasis awal dan KNF metastasis lanjut ( $p < 0,05$ ). Tidak didapatkan perbedaan ekspresi E-cadherin antara KNF tanpa metastasis dengan KNF metastasis awal dan antara KNF tanpa metastasis dengan KNF metastasis lanjut.



Gambar 1. Karsinoma nasofaring, E-cadherin, 400x. A. Kontrol positif; B. Tanpa metastasis; C. Metastasis awal; D. Metastasis lanjut. Anak panah adalah sel tumor yang terpulsa E-cadherin.



Gambar 2. Karsinoma nasofaring, MMP-9, 400x. A. Kontrol; B. Tanpa metastasis; C. Metastasis awal; D. Metastasis lanjut. Anak panah adalah sel tumor yang terpulsa MMP-9.

Tabel 5. Tabel rerata, standar deviasi, minimum dan maksimum ekspresi MMP-9.

| Metastasis karsinoma nasofaring | n  | Ekspresi MMP-9     |       |     |      | p     |
|---------------------------------|----|--------------------|-------|-----|------|-------|
|                                 |    | x                  | SD    | Min | Maks |       |
| Tanpa metastasis                | 7  | 50,00 <sup>a</sup> | 11,55 | 40  | 40   | 0,000 |
| Awal                            | 7  | 34,29 <sup>a</sup> | 22,99 | 0   | 60   |       |
| Lanjut                          | 14 | 80,36 <sup>b</sup> | 8,20  | 65  | 90   |       |

Keterangan: \*bermakna pada  $\alpha=0,05$ , <sup>ab</sup> *superscript* yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan antar kelompok (berdasar uji Games-Howell)

Dari Tabel di atas dapat dilihat bahwa rerata ekspresi MMP-9 pada KNF tanpa metastasis

adalah 50,00, pada KNF metastasis awal adalah 34,29 dan pada KNF metastasis lanjut adalah 80,36±8,20. Hasil uji Games Howell menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna terhadap ekspresi MMP-9 antara KNF tanpa metastasis dan KNF metastasis awal dengan KNF metastasis lanjut ( $p<0,05$ ). Tidak terdapat perbedaan ekspresi MMP-9 antara KNF tanpa metastasis dan KNF metastasis awal.

**DISKUSI**

Penderita KNF terbanyak secara keseluruhan pada rentang usia 40-49 tahun dan 50-59 tahun. Hal ini sesuai dengan WHO *Head and Neck* dan Brennan yang menyatakan bahwa angka kejadian KNF sebagian besar terjadi pada usia dewasa.<sup>9</sup> Secara spesifik angka kejadian KNF mulai meningkat pada usia lebih dari 30 tahun dan mencapai puncaknya pada umur 40-60 tahun.<sup>3</sup>

Analisis terhadap jenis kelamin (Tabel 2) menunjukkan bahwa angka kejadian KNF tanpa metastasis, KNF metastasis awal dan KNF metastasis lanjut antara laki-laki dan perempuan tidak berbeda ( $p>0,05$ ). Ini tidak sesuai dengan WHO *Head and Neck* yang menyatakan bahwa angka kejadian KNF pada laki-laki 3 kali lebih banyak daripada perempuan,<sup>3</sup> akan tetapi belum adaliteratur atau jurnal yang menjelaskan secara pasti mengapa KNF lebih banyak pada laki-laki daripada perempuan.

Jenis histopatologi KNF terbanyak pada penelitian ini adalah *undifferentiated carcinoma*, baik kelompok KNF tanpa metastasis, KNF metastasis awal maupun metastasis lanjut (Tabel 3). Ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyebutkan bahwa jenis histopatologi KNF terbanyak adalah *undifferentiated carcinoma*.<sup>9,10</sup>

**Ekspresi E-cadherin pada karsinoma nasofaring**

Berdasarkan uji Mann-Whitney, tidak didapatkan perbedaan ekspresi E-cadherin antara kelompok KNF tanpa metastasis dan KNF metastasis awal. Tabel 4 memperlihatkan rerata ekspresi E-cadherin pada KNF tanpa metastasis lebih tinggi daripada rerata ekspresi E-cadherin pada KNF metastasis awal. Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa pada KNF terjadi penurunan E-cadherin yang menyebabkan invasi dan metastasis.<sup>6,7</sup> Ekspresi E-cadherin pada kelompok KNF metastasis lanjut

secara signifikan lebih tinggi daripada kelompok KNF metastasis awal ( $\alpha=0,05$ ,  $p<0,05$ ). Rerata ekspresi E-cadherin pada KNF metastasis awal (36,4%) lebih rendah dari rerata ekspresi E-cadherin KNF metastasis lanjut. Ini artinya terdapat hubungan antara progresifitas tumor atau derajat metastasis dan ekspresi E-cadherin pada KNF, di mana semakin tinggi derajat metastasis KNF maka semakin tinggi pula ekspresi E-cadherin pada sel-sel KNF. Hasil penelitian ini tidak sesuai dengan penelitian terdahulu yang mengemukakan adanya penurunan ekspresi E-cadherin yang menyebabkan penurunan kemampuan adhesi sel dan meningkatkan kemampuan sel untuk bermigrasi dan berinvasi.<sup>6,11,12</sup>

Ketidaksesuaian ini bisa dijelaskan sebagai berikut. Pada KNF metastasis awal terjadi *down* regulasi E-cadherin sehingga ekspresi E-cadherin lebih rendah daripada KNF tanpa metastasis. Selain *down* regulasi, terjadi juga proses proteolisis. *Down* regulasi E-cadherin akan memudahkan sel-sel tumor untuk memisahkan diri dari tumor primer. Meskipun *down* regulasi E-cadherin diperlukan untuk invasi, namun pada beberapa kasus keganasan, E-cadherin tetap dipertahankan. E-cadherin terdiri dari domain ekstraselular yang banyak, segmen transmembran, dan domain sitoplasma. E-cadherin dapat mengalami proteolisis dan melepaskan *membrane protein fragments* yang disebut *ectodomain shedding*. E-cadherin mengalami pembelahan pada bagian tertentu. Pembelahan ini menghasilkan fragmen-fragmen yang mempunyai sifat onkogenik yang berbeda. *Mature* E-cadherin 120-kDa terbagi menjadi suatu fragmen ekstraseluler N-terminal 80-kDa oleh  $\alpha$ -secretase dan fragmen C-terminal 38-kDa. Fragmen ektodomain (disebut *soluble E-cadherin/sE-cad*) dilepaskan dari membran plasma dan tersebar secara difus pada area ekstraseluler dan sebagian masuk pembuluh darah sebagai suatu *paracrine/autocrine signaling molecule*. Sedangkan fragmen intraseluler C-terminal (*E-cad/CTF1*) tertahan pada membran plasma sampai timbul pembelahan pada sisi intraseluler oleh  $\gamma$ -secretase. Hal ini akan merusak *adheren junction* dan melepas fragmen intraseluler 33-kDa (*E-cad/CTF2*) ke dalam sitosol dan berfungsi sebagai *intraseluler signaling*. Fragmen-fragmen E-cadherin bersifat onkogen. *sE-cad* mengurangi jumlah *full-length E-cadherin* pada membran plasma, hal ini akan

merusak *adherens junction* yang sudah ada dan menyebabkan sel terlepas antara sel satu dengan sel lain. Hal ini akan memudahkan sel mengadakan invasi. Selain itu *sE-cad* mengaktivasi ekspresi MMP untuk meningkatkan peluruhan *sE-cad (ectodomain shedding)* dan mengaktivasi *EGFR pathway*. *E-cad/CTF2* mengaktivasi sinyal jalur *Wnt/ $\beta$ -catenin*.<sup>18</sup>

Proses proteolisis E-cadherin pada KNF metastasis awal tidak sebanyak atau setinggi pada KNF metastasis lanjut sehingga fragmen E-cadherin yang dihasilkan tidak sebanyak fragmen E-cadherin yang dihasilkan pada proteolisis E-cadherin KNF metastasis lanjut. Seiring dengan perkembangan tumor, proses proteolisis akan meningkat. Hal ini menyebabkan meningkatnya fragmen-fragmen E-cadherin. Baik fragmen E-cadherin maupun *full length* E-cadherin akan terpulas pada pemulasan dengan antibodi E-cadherin sehingga ekspresi E-cadherin pada KNF metastasis lanjut lebih tinggi daripada ekspresi E-cadherin pada KNF metastasis awal. Ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang mengemukakan bahwa terdapat korelasi antara tingginya kadar *sEcad* pada urin, serum, dan tumor dan *grading* histopatologik, metastasis, dan penurunan *survival*.<sup>13</sup> Hasil penelitian ini juga sesuai dengan hasil penelitian yang mengemukakan adanya kenaikan kadar *sE-cad* yang bermakna pada serum dan tumor pada berbagai tipe tumor dan adanya hubungan antara kenaikan *sE-cad* dan invasif dan prognosis yang buruk.<sup>14,15</sup>

#### Eksresi MMP-9 pada karsinoma nasofaring

Dari hasil penelitian, didapatkan adanya peningkatan ekspresi MMP-9 pada KNF metastasis lanjut dibandingkan dengan ekspresi MMP-9 pada KNF metastasis awal dan KNF tanpa metastasis ( $p<0,05$ ). Selain itu, didapatkan juga peningkatan ekspresi MMP-9 pada KNF metastasis lanjut dibandingkan dengan ekspresi MMP-9 pada KNF tanpa metastasis dan peningkatan ekspresi MMP-9 pada KNF metastasis lanjut dibandingkan dengan ekspresi MMP-9 pada KNF metastasis awal. Artinya, terdapat hubungan antara progresifitas tumor atau derajat metastasis dan ekspresi MMP-9 pada KNF, dimana semakin tinggi derajat metastasis pada KNF maka semakin tinggi pula ekspresi MMP-9 pada sel-sel tumor KNF. Adanya perbedaan ekspresi MMP-9 antara KNF tanpa metastasis dan KNF metastasis awal dengan

KNF metastasis lanjut ini sesuai dengan penelitian Zhen Liu *et al.* (2010) yang mengemukakan adanya peningkatan ekspresi MMP-9 secara signifikan pada KNF dan adanya hubungan dengan status keganasan. Penelitian lain menjelaskan bahwa *overexpression* MMP-9 pada KNF secara signifikan berhubungan dengan klasifikasi T (besar tumor), klasifikasi N (metastasis pada kelenjar getah bening), dan klinis dari penderita KNF.<sup>8</sup> Horikawa *et al.* (2000) mengemukakan bahwa ekspresi MMP-9 tidak berhubungan dengan jenis histologi, jenis kelamin, umur, klasifikasi T, atau penggolongan *staging* tetapi berhubungan dengan metastasis pada kelenjar getah bening.

Berdasarkan uji statistik, tidak didapatkan perbedaan yang bermakna pada ekspresi MMP-9 antara KNF non metastasis dan KNF metastasis awal. Hal ini bisa disebabkan oleh adanya mikrometastasis yang tidak teraba pada pemeriksaan secara klinis. Sehingga, KNF dengan status KGB tanpa metastasis seharusnya merupakan KNF metastasis awal dan bukan merupakan KNF tanpa metastasis. Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang mengemukakan bahwa sebanyak 80% penderita datang dengan keluhan pembesaran kelenjar getah bening pada leher.<sup>1,2</sup>

Ekspresi MMP-9 berhubungan dengan LMP-1 di mana LMP-1 merupakan protein yang dihasilkan oleh virus Epstein Barr pada fase laten KNF. LMP-1 yang terekspresi pada KNF mempunyai dua domain signal penting yang terletak pada carboxy terminus, yaitu CTAR-1 dan CTAR-2. LMP-1 menginduksi promotor MMP-9 melalui jalur MAPK. Fosforilasi pada ERKs protein melalui jalur Ras/Mek/ERK *cascade* akan menginduksi nuclear faktor NF- $\kappa$ B. NF- $\kappa$ B akan mengaktifkan promotor MMP-9. Promotor MMP-9 yang aktif dan aktifitas MMP-9 yang terinduksi akan meningkatkan ekspresi MMP-9 yang selanjutnya akan meningkatkan kemampuan sel untuk menembus membran basalis dan matriks ekstraseluler untuk dapat melakukan metastasis.<sup>16,17</sup>

#### Hubungan antara ekspresi E-cadherin dan MMP-9 pada karsinoma nasofaring

Hasil analisis data menggunakan uji korelasi Spearman menunjukkan adanya korelasi antara ekspresi E-cadherin dan MMP-9 pada KNF dengan  $r_s=0,552$  dan  $p=0,002$  ( $p<0,05$ ). Pada penelitian ini didapatkan peningkatan ekspresi

E-cadherin dan MMP-9 pada KNF. Peningkatan ekspresi E-cadherin melalui jalur proteolisis. Salah satu fragmen E-cadherin yang dihasilkan dari hasil proteolisis adalah *sE-cad*. *SE-cad* bersifat merusak adhesi sel-sel, meningkatkan migrasi sel-sel, dan mengaktifkan ekspresi MMP-9. *SE-cad* menyebabkan peningkatan ekspresi MMP-9. Selain berperan pada proses invasi, MMP-9 juga mampu memecah *full length* E-cadherin menjadi *sE-cad* sehingga kadar *sE-cad* meningkat. Peningkatan *sE-cad* akan meningkatkan penguraian *adherent junction*. Hal ini menyebabkan sel tumor menjadi lebih invasif. MMP-9 merupakan lingkaran dengan umpan balik positif untuk menghasilkan *sE-cad*, demikian pula sebaliknya. Sehingga peningkatan *sE-cad* akan diikuti dengan peningkatan MMP-9.<sup>18</sup>

#### KESIMPULAN

Ekspresi E-cadherin pada kelompok metastasis lanjut lebih tinggi dibandingkan ekspresi E-Cadherin pada metastasis awal dan KNF tanpa metastasis. Ekspresi MMP-9 pada kelompok KNF metastasis lanjut lebih tinggi daripada ekspresi MMP-9 pada KNF metastasis awal dan KNF tanpa metastasis. Didapatkan korelasi antara ekspresi E-cadherin dan MMP-9 pada KNF. Peningkatan ekspresi E-cadherin akan diikuti peningkatan ekspresi MMP-9, demikian sebaliknya LMP-1 merupakan suatu protein yang mampu mengaktifkan beberapa *signaling-pathway* pada pathogenesis KNF. Maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang E-cadherin, MMP-9, LMP-1 dengan analisis molecular pada KNF agar diperoleh anti LMP-1 yang dapat berfungsi untuk mencegah progresivitas KNF.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Kentjono WA. Perkembangan terkini penatalaksanaan karsinoma nasofaring. *Majalah Kedokteran Tropis Indonesia*. 2003;14:1-39.
2. Cummings CW. Nasopharyngeal carcinoma. *Cummings Otolaryngology Head and Neck*. 4<sup>th</sup> ed. USA: Mosby; 2005. p1-13.
3. Chan JKC, Pilch BZ, Kuo TT, Wenig BM, Lee AWM. Tumours of the nasopharynx: introduction. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, editors. *Pathology and Genetic of Head and Neck Tumours*. Lyon: IARC Press; 2005.

4. Kremer M, Martinez LQ, Fuchs M, Domingues AG, Haye S, Kaltoff H. Influence of tumor-associated E-cadherin mutations on tumorigenicity and metastasis. *Carcinogen*. 2003; 24: 1879-86.
5. Stricker TP, Kumar V. Robin and Cotran, Pathologic Basic of Disease. 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Elsevier; 2010.
6. Ruiz HG, Rios MJ, Campora RG, Miguel Md, Carmona MI, Moreno AM. The cadherin-catenin complex in nasopharyngeal carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2011; 268:1335-41.
7. Tay JK, Jeevanandam M, Petersson F, Kwok-Seng Loh. Immunohistochemical expression of E-cadherin, survivin and VEGF in nasopharyngeal carcinoma. *Otolaryngol-Head Neck Surg*. 2013; 149: 175.
8. Liu Z, Li L, Yang Z, Luo W, Li X, Yang H, *et al*. Increased expression of MMP-9 is correlated with poor prognosis of nasopharyngeal carcinoma. *Bio Med Central Cancer*. 2010; 10: 270.
9. Horikawa T, Yoshizaki T, Sheen TS, Lee SY, Furukawa M. Association of latent membrane protein 1 and matrix metalloproteinase 9 with metastasis in nasopharyngeal carcinoma. 2000; 89; 715-23.
10. Brennan B. Nasopharyngeal carcinoma. *Orphanet J Rare Disease*. 2006; 1: 1-23.
11. Du ZM. Biomarkers in nasopharyngeal carcinoma. Karolinska Instituted. Stockholm. 2012.
12. Tsai CN, Tsai CL, Tse KP, Chang HY, Chang YS. The Epstein-Barr virus oncogene product, latent membrane protein 1, induces the downregulation of E-cadherin gene expression via activation of DNA methyltransferases. *Proc of The National Academy of Sciences*. 2002; 99: 10084-9.
13. Lo KW, Tsai Wah Tsao SW, Wok HL, Hui JWY, To KF, Hayward SD. Epstein-Barr virus infection altered celluler signal cascade in human nasopharyngeal epithelial cells. *Neoplasia*, 2006;8: 173-80.
14. Brouxhoun SM, Kyrkanides S, Teng X, Athar M, Ghazideh S, Simon M, *et al*. Soluble E-cadherin: a critical oncogen modulating reseptor tyrosine kinase, MAPK, and P<sub>13</sub>K/Akt/mTOR signaling. *Oncogene*. 2014; 33:225-35.
15. De Wever O, Dericke L, Hendric A, De Meerleer G, Godeau F, Depypere H. Soluble cadherins as cancer biomarkers. *Clin Exp Metastasis*. 2007; 24: 685-97.
16. Kuefer R, Hofer MD, Gschwend JE, Pienta KJ, Sanda, MG, Chinnaiyan AM. The role of an 80 k Da fragment of E-cadherin in the metastatic progression of prostate cancer. *AACR J*. 2003; 9: 6447-52.
17. Takeshita H, Yoshizaki T, Miller WE, Sato H, Furukawa M, Pagano JS. Matrix metalloproteinases 9 expresion is induced by epstein-barrvirus latent membrane protein 1 c-terminal activation region 1 and 2. *J Virol*. 1999; 73: 5548.
18. Tulamamba W, Jan Vilisri T. Nasopharyngeal carcinoma signaling pathway: an update on molecular biomarkers, review article. *Int J Cell Biol*. 2012; Article ID 594681, 1-10.
19. David JM, Rajasekaran AK. Dishonorable discharge: The oncogenic roles of cleaved E-cadherin fragments. *Am Ass Cancer Res*. 2012; 72: 1-7.