

## Tampilan Pulasan Imunohistokimia *Matrix Metalloproteinase-9* (MMP-9) Pada *Undifferentiated Carcinoma* Nasofaring Tipe Regaud dan Tipe Schmincke

Herza Piasiska, H.M. Nadjib D. Lubis, Soekimin

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara  
Medan

### ABSTRAK

#### Latar belakang

Pola pertumbuhan *undifferentiated* karsinoma nasofaring ada 2 tipe yaitu tipe Regaud, dengan sel-sel neoplastik berkelompok dan berbatas tegas dikelilingi jaringan ikat berisi sedikit limfosit, dan tipe Schmincke dengan sel-sel neoplastik tumbuh difus dan bercampur sel-sel radang. *Matrix Metalloproteinase-9* (MMP-9) merupakan enzim proteolitik yang berperan dalam perkembangan karsinoma nasofaring, termasuk invasi sel tumor dan metastasis.

#### Tujuan

Tujuan penelitian ini untuk membedakan tampilan MMP-9 pada *undifferentiated* karsinoma nasofaring tipe Regaud dan tipe Schmincke.

#### Metoda

Rancangan penelitian berupa penelitian deskriptif analitik dengan pendekatan secara *cross sectional*. Sampel penelitian sebanyak 53 berasal dari biopsi nasofaring, yang sebelumnya telah didiagnosa sebagai karsinoma nasofaring. Hasil penelitian diuji menggunakan *Chi Square*.

#### Hasil

Tipe Regaud menunjukkan proporsi jumlah sel yang terwarnai adalah: < 25% (57.7%), 25-75% (11.5%), >75% (30.8%); tampilan warna lemah (57.7%), sedang (23.1%), kuat (19.2%) dan interpretasi intensitas warna lemah (92.4%), sedang (3.8%), kuat (3.8%). Tipe Schmincke menunjukkan proporsi jumlah sel yang terwarnai adalah <25% (51.9%), 25-75% (18.5%), >75% (29.6%); tampilan lemah (51.9%), sedang (25.9%), kuat 22.2%); Interpretasi intensitas warna lemah (81.5%), sedang (14.8%), kuat 3.7%). Uji Chi-square menunjukkan hasil yang tidak berbeda bermakna.

#### Kesimpulan

Tampilan MMP-9 pada *undifferentiated* karsinoma nasofaring tipe Regaud dan tipe Schmincke menunjukkan hasil yang hampir sama.

**Kata kunci** : *Matrix Metalloproteinase-9*, *undifferentiated* karsinoma nasofaring, tipe Regaud, tipe Schmincke, pulasan Imunohistokimia.

### ABSTRACT

#### Background

The growth pattern of undifferentiated carcinoma nasopharyngeal are Regaud type and Schmincke type. Regaud type consists of well defined aggregate of neoplastic epithelial cells surrounded by fibrous tissue and inflammatory cells; while Schmincke type, the neoplastic epithelial cells growth diffusely and are closely intermingled with inflammatory cells. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) is proteolytic enzyme plays significant roles in nasopharyngeal carcinoma progression, including tumor invasion and metastasis.

#### Objective

The purpose of this research is to distinctive MMP-9 expression on undifferentiated nasopharyngeal carcinoma Regaud type and Schmincke type.

#### Methods

This research constitute analytic descriptive research with cross sectional design. Sample contain of 53 nasopharyngeal biopsy, that have been diagnosed as undifferentiated nasopharyngeal carcinoma. The result is test by Chi Square.

#### Result

Regaud type showed proportion amount of staining cells are: < 25% (57.7%), 25-75% (11.5%), >75% (30.8%); expression are: weak (57.7%), moderate (23.1%), strength (19.2%); interpretation color are: weak (92.4%), moderate (3.8%), strength (3.8%). Schmincke type showed proportion amount of staining cells are: <25% (51.9%), 25-75% (18.5%), >75% (29.6%); expression are: weak (51.9%), moderate (25.9%), strength 22.2%); Interpretation color intensity are: weak (81.5%), moderate (14.8%), strength (3.7%). Chi-square test showed no significant differences.

#### Conclusion

Expression MMP-9 on undifferentiated nasopharyngeal carcinoma Regaud type and Schmincke type showed nearly the same result.

**Key word** : Matrix Metalloproteinase-9, Undifferentiated nasopharyngeal carcinoma, Regaud type, Schmincke type, Immunohistochemistry.

**PENDAHULUAN**

Karsinoma nasofaring adalah tumor ganas yang berasal dari sel epitelial nasofaring.<sup>1,2</sup> Angka kejadian karsinoma nasofaring di Indonesia cukup tinggi, yakni 4.7 kasus baru per tahun per 100.000 penduduk.<sup>3</sup> Di RSCM ditemukan 3.9 kasus baru (511 orang penderita), dengan perbandingan pria lebih banyak daripada wanita;<sup>4</sup> sedang di RSUP H. Adam Malik, Medan ditemukan 130 orang penderita (tahun 1998-2000), dan 79 orang penderita (tahun 2006).<sup>3,4</sup> Catatan dari berbagai rumah sakit menunjukkan bahwa karsinoma nasofaring menduduki urutan ke empat setelah kanker leher rahim, kanker payudara dan kanker kulit. Tetapi, seluruh bagian Telinga Hidung dan Tenggorokan (THT) di Indonesia sepakat menempatkan karsinoma nasofaring pada peringkat pertama penyakit kanker pada daerah THT.<sup>3</sup>

Klasifikasi WHO tahun 2005 membagi karsinoma nasofaring menjadi: (1) *Keratinizing squamous cell carcinoma*; (2) *Nonkeratinizing squamous cell carcinoma* yang terdiri dari *differentiated type* dan *undifferentiated type* dan (3) *Basaloid squamous cell carcinoma*.<sup>2,5</sup> Gambaran mikroskopik *Undifferentiated carcinoma* nasofaring menunjukkan sel-sel yang uniform dengan inti vesikuler, anak inti mencolok dan batas sel tidak jelas sehingga membentuk pola pertumbuhan *syncytial* dengan stroma diinfiltrasi sel-sel radang terutama limfosit. Terdapat dua bentuk pola pertumbuhan tipe *undifferentiated carcinoma* yaitu tipe Regaud, terdiri dari kelompokan sel-sel epitelial neoplastik yang berbatas jelas dikelilingi oleh jaringan ikat dan sebaran sel-sel limfosit. Yang kedua ialah tipe Schmincke, terdiri dari sel-sel epitelial neoplastik yang tumbuh difus dan bercampur dengan sel-sel radang.<sup>1,6,7</sup> *Nonkeratinizing squamous cell carcinoma*, *differentiated type* dan *undifferentiated carcinoma* merupakan tipe karsinoma nasofaring yang disebabkan oleh infeksi virus Epstein Barr.<sup>2,8</sup>

*Matrix metalloproteinases* (*matrix metalloproteinases*, MMPs) atau *matrixin* adalah *zinc dependent endopeptidase*, merupakan protein utama yang berperan dalam degradasi matriks ekstraselular.<sup>9</sup> MMP-9/92-Kd *Type IV collagenase/gelatinase B*, merupakan komponen utama matriks ekstraselular, yang berfungsi mendegradasi kolagen tipe IV dan berperan dalam invasi dan metastasis sel-sel tumor.<sup>10</sup> MMP-9 dapat diinduksi oleh berbagai faktor pada

lingkungan tumor, salah satunya adalah *Latent membrane protein 1*, yang merupakan onkoprotein virus Epstein Barr.<sup>10</sup> Peneliti sebelumnya melaporkan bahwa MMP-9 memegang peranan dalam progresivitas karsinoma nasofaring, termasuk invasi tumor dan metastasis.<sup>11</sup> Penelitian ini bertujuan untuk membedakan tampilan MMP-9 pada *undifferentiated carcinoma* nasofaring tipe Regaud dan tipe Schmincke.

**METODE PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif analitik dengan rancangan cross sectional yang dilakukan selama bulan Juli 2010 sampai April 2011. Sampel berasal dari biopsi jaringan nasofaring dengan pemeriksaan histopatologik dilakukan di Sentra Diagnosis Patologi Anatomik Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Instalasi Patologi Anatomik Rumah Sakit H. Adam Malik Medan dan beberapa laboratorium Patologi Anatomik Swasta dan Pribadi di kota Medan mulai Januari 2009 sampai Maret 2011. Kriteria inklusi sampel adalah sediaan jaringan nasofaring yang dipulas dengan Hematoksin Eosin (HE) dan didiagnosa sebagai *undifferentiated carcinoma* nasofaring tipe Regaud dan tipe Schmincke. Kriteria eksklusi sampel adalah sediaan jaringan nasofaring yang didiagnosa sebagai *keratinizing squamous cell carcinoma*, *differentiated type nonkeratinizing squamous cell carcinoma* dan *basaloid squamous cell carcinoma* serta sediaan jaringan *undifferentiated carcinoma* yang tidak bisa dibedakan tipenya. Hal ini juga terjadi pada sediaan jaringan yang rusak yang tidak dapat diproses lebih lanjut dengan pulasan imunohistokimia terhadap MMP-9. Pada penelitian ini, didapat 53 sampel terdiri dari 27 kasus *undifferentiated carcinoma* nasofaring tipe Regaud dan 26 kasus *undifferentiated carcinoma* tipe Schmincke. Untuk menentukan tipe tumor (berdasarkan pada klasifikasi WHO tahun 2005),<sup>2</sup> dilakukan pembacaan ulang sediaan mikroskopik oleh dua orang ahli patologi dan peneliti. Setelah itu *undifferentiated carcinoma* nasofaring dipisahkan kembali menjadi tipe Regaud dan tipe Schmincke (menurut pembagian Rosai dan Ackerman's).<sup>6</sup> Kemudian, dilakukan pemotongan ulang pada blok parafin, pulasan imunohistokimia menggunakan MMP-9 dengan teknik 2 langkah (*The EnVision+ Dual Link System kit*). Antibodi primer yang diguna-

kan adalah Rabbit Polyclonal Hu-antibody MMP-9 dengan pengenceran 1 : 100.

Penilaian terhadap pulasan imunohistokimia MMP-9 adalah sebagai berikut: kontrol positif berasal dari jaringan yang telah diketahui positif terhadap MMP-9, yaitu limfoma; sedang kontrol negatif adalah *omit primary antibody*. Tampilan MMP-9 positif, apabila warna coklat tertampil pada sitoplasma sel epitel maupun stroma. Skor 1: intensitas warna lemah; skor 2: intensitas warna sedang dan skor 3: intensitas warna kuat. Skor jumlah sel yang terwarnai: skor 0: tidak ada sel yang terwarnai, skor 1: jumlah

sel yang terwarnai kurang dari 25%; skor 2: jumlah sel yang terwarnai antara 25%-75%; skor 3: jumlah sel yang terwarnai lebih dari 75%. Intensitas warna yang merupakan hasil perkalian dari skor jumlah sel yang terwarnai dan skor tampilan warna. Interpretasi intensitas warna sbb positif lemah: hasil perkaliannya 1 sampai 3; positif sedang: hasil perkaliannya 4 sampai 6 dan positif kuat: hasil perkaliannya 7 sampai 9. Adapun cara menginterpretasikan tampilan imunohistokimia tersebut di atas adalah modifikasi dari Q score.<sup>12</sup>

**HASIL**

Tabel 1. Proporsi *Undifferentiated* karsinoma Nasofaring tipe Schmincke dan Regaud dengan Skor Jumlah Sel yang Terwarnai

Jumlah sel yang terwarnai	Tipe <i>Undifferentiated Carcinoma</i> Nasofaring		Jumlah	X <sup>2</sup>	p value
	Schmincke	Regaud			
<25%	15 (57,7%)	14 (51,9%)	29 (54,7%)	0,516	0,773
25%-75%	3 (11,5%)	5 (18,5%)	8 (15,1%)		
>75%	8 (30,8%)	8 (29,6%)	16 (30,2%)		
Jumlah	26 (100,0%)	27 (100,0%)	53 (100,0%)		

Tabel 2. Proporsi *Undifferentiated* karsinoma Nasofaring tipe Schmincke dan Regaud dengan Skor Tampilan Warna.

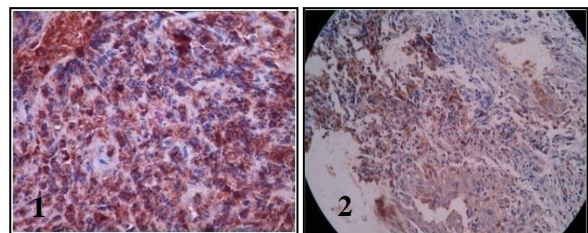
Tampilan warna	Tipe <i>Undifferentiated Carcinoma</i> Nasofaring		Jumlah	X <sup>2</sup>	p value
	Schmincke	Regaud			
Lemah	15 (57,7%)	14 (51,9%)	29 (54,7%)	0,184	0,912
Sedang	6 (23,1%)	7 (25,9%)	13 (24,5%)		
Kuat	5 (19,2%)	6 (22,2%)	11 (20,8%)		
Jumlah	26 (100,0%)	27 (100,0%)	53 (100,0%)		

Tabel 3. Proporsi *Undifferentiated* karsinoma Nasofaring Tipe Schmincke dan Tipe Regaud dengan Interpretasi Intensitas Warna

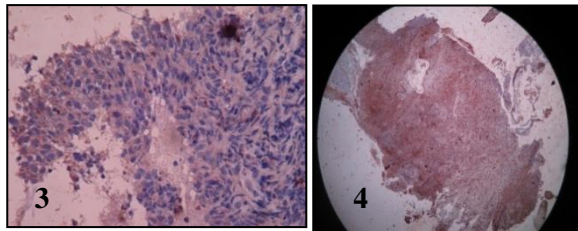
Tampilan warna	Tipe <i>Undifferentiated Carcinoma</i> Nasofaring		Jumlah	X <sup>2</sup>	p value
	Schmincke	Regaud			
Lemah	24 (92,4%)	22 (81,5%)	46 (86,8 %)	1,869	0,393
Sedang	1 (3,8%)	4 (14,8%)	5 (9,4%)		
Kuat	1 (3,8%)	1 (3,7%)	2 (3,8%)		
Jumlah	26 (100,0%)	27 (100,0%)	53 (100,0%)		

Keterangan : X<sup>2</sup> = *Chi Square*

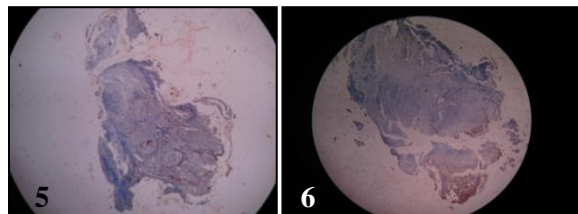
Uji statistik *Chi Square* pada *undifferentiated* karsinoma nasofaring tipe Regaud dan Schmincke antara skor jumlah sel yang terwarnai, skor tampilan warna dan intensitas warna, menunjukkan adanya perbedaan tidak bermakna pada *p* > 0.05.



**Gambar 1.** Jaringan *undifferentiated carcinoma* nasofaring dengan pewarnaan imunohistokimia MMP-9 tampilan kuat. Pembesaran 200x. **Gambar 2.** Jaringan *undifferentiated carcinoma* nasofaring dengan pewarnaan imunohistokimia MMP-9 tampilan sedang. Pembesaran 100x.



**Gambar 3.** Jaringan *undifferentiated carcinoma nasofaring* dengan pewarnaan imunohistokimia MMP-9 tampilan lemah. Pembesaran 200x. **Gambar 4.** Jaringan *undifferentiated carcinoma nasofaring* dengan pewarnaan imunohistokimia MMP-9 jumlah sel yang terwarnai > 75%. Pembesaran 40X.



**Gambar 5.** Jaringan *undifferentiated carcinoma nasofaring* dengan pewarnaan imunohistokimia MMP-9 jumlah sel yang terwarnai antara 25%-75%. Pembesaran 40x. **Gambar 6.** Jaringan *undifferentiated carcinoma nasofaring* dengan pewarnaan imunohistokimia MMP-9 jumlah sel yang terwarnai <75%. Pembesaran 40x.

**DISKUSI**

Tabel 1,2,3 menunjukkan bahwa hasil pulasan MMP-9 pada *undifferentiated* karsinoma nasofaring tipe Regaud dan tipe Schmincke pada jumlah sel yang terwarnai, tampilan warna dan interpretasi intensitas warna menunjukkan skor hampir sama. Hal ini diduga karena pasien dengan tampilan MMP-9 menunjukkan adanya degradasi kolagen tipe IV, yang berperan dalam proses invasi dan metastasis. Hasil penelitian ini sesuai dengan peneliti terdahulu yang menyatakan bahwa pasien dengan tampilan MMP-9 yang tinggi memiliki angka ketahanan hidup yang lebih rendah;<sup>11</sup> sehingga mudah terjadi invasi dan metastasis.<sup>9,10,11</sup> Uji Chi-square pada ke dua tipe menunjukkan hasil yang tidak berberda bermakna (p>0.05). Namun, hal ini belum dapat dijadikan dasar bahwa tidak dijumpai perbedaan prognosis dari kedua tipe ini karena masih ada faktor-faktor lain yang mempengaruhi prognosis seperti proliferasi pembuluh darah dan jumlah mitosis.<sup>6</sup> Untuk kepentingan diagnosis, pencantuman tipe

Regaud dan Schmincke pada *undifferentiated* karsinoma nasofaring dapat dilakukan karena adanya perbedaan morfologi.

Pada penelitian ini, kedua tipe menunjukkan gambaran mikroskopik yang mirip, yaitu adanya sel epitel neoplastik dan sebulan sel radang. Hal ini diduga karena MMP-9 merupakan onkoprotein dari virus Epstein Barr. Hasil penelitian ini sesuai dengan peneliti terdahulu yang menyatakan bahwa karsinoma nasofaring disebabkan oleh infeksi virus Epstein Barr.<sup>2,8,10</sup>

**KESIMPULAN**

Tampilan MMP-9 pada *undifferentiated* karsinoma nasofaring antara tipe Regaud dan tipe Schmincke menunjukkan hasil yang hampir sama.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Brennan B, Nasopharyngeal Carcinoma Review in Orphanet J. Rare Disease, Biomed Central; 2006
2. Chan, et al. Nasopharyngeal carcinoma. In :Barnes L. et all, editors Pathology and Genetic of Tumours of Head and Neck Tumours WHO Classification of Tumours, IARC Press; 2005:82- 97.
3. Susworo R. Kanker Nasofaring Epidemiologi dan Pengobatan Mutakhir. Cermin Dunia Kedokteran.2004;144:16-9.
4. Farhat. Vaskular Endotelial Growth Faktor pada Karsinoma nasofaring. Majalah Kedokteran Nusantara.2009;42:59-65.
5. Thomson L, Update On Nasopharyngeal Carcinoma, Head and Neck Pathol 2007;9: 81-6
6. Rosai J. Rosai and Ackermans Surgical Pathology, Vol. I, Philadelphia: Mosby, 2004: 311-5.
7. Mills, SE. et al. Nasopharynx In Mills, SE. et all Editors Stenbergs Diagnostic Surgical Pathology. Lippicolt William&Wilkins; 2004 (4): 975-7.
8. Kumar V, Abbas AK. Fausto N. Pathologic Basis of Disease, Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005:785.
9. Anonymous, Summary for MMP-9. [cited on, 2010 July, 27]. Available from: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MMP-9>
10. Horikawa T, Yoshizaki T, Sheen TS, Lee SY, Furukawa M, Association of Latent Membrane Protein 1 and Matrix Metallo-

- proteinase-9 with Metastasis in Nasopharyngeal Carcinoma. *CANCER*; 2000;89: 715-22
11. Liu Z et al. Increase expression of MMP9 is correlated with poor prognosis of nasopharyngeal carcinoma. *BMC Cancer*; 2010;10:396-9
12. Shaw. Breast cancer hormone receptor scoring [internet]. 2010 [cited 2011 April 07]. Available from: <http://www.theeffectivetruth.info/hormonerecept.html>. 16