

Laporan Penelitian**Ekspresi E-cadherin pada metastasis karsinoma nasofaring****Taufiqurrahman*, Camelia Herdini*, Bambang Hariwiyanto*, Harijadi****

*Departemen Telinga Hidung Tenggorok - Bedah Kepala Leher Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada/Rumah Sakit Dr. Sardjito Yogyakarta

ABSTRAK

Latar belakang: Karsinoma Nasofaring (KNF) adalah keganasan dengan distribusi etnis dan geografis yang khas. KNF memiliki karakteristik yang berbeda dari kanker kepala dan leher lainnya, seperti perilaku pertumbuhan yang cepat, kecenderungan yang tinggi untuk bermetastasis ke kelenjar getah bening (KGB) regional dan organ jauh. E-cadherin memainkan peran penting dalam pemeliharaan adhesi antar sel-sel epitel. Perubahan molekul adhesi sel E-cadherin yang dimediasi oleh sel-sel kanker berkontribusi untuk peningkatan penyebaran sel tumor dan pembentukan metastasis. **Tujuan:** Untuk mengetahui perbedaan ekspresi E-cadherin pada KNF yang telah bermetastasis dengan KNF yang belum bermetastasis. **Metode:** Desain penelitian adalah studi kasus-kontrol. Subjek penelitian adalah blok parafin dari pasien KNF yang telah menjalani biopsi. Blok dari pasien KNF yang telah bermetastasis dikategorikan sebagai kelompok kasus, sementara yang tidak bermetastasis sebagai kelompok kontrol. Sampel dari kedua kelompok diperiksa dengan metode imunohistokimia (IHK) menggunakan antibodi E-cadherin. **Hasil:** Sampel 48 blok parafin, masing-masing kelompok terdiri dari 24 blok. Terdapat perbedaan yang signifikan ekspresi E-cadherin dengan $p < 0,001$ dan *Odds Ratio* (OR) 87,4 (95% interval kepercayaan 10,15-2653,26). Terdapat pula hubungan yang signifikan antara penurunan ekspresi E-cadherin dengan status KGB leher ($p < 0,001$), metastasis jauh ($p = 0,001$), dan stadium penyakit ($p = 0,001$). **Kesimpulan:** Terdapat perbedaan yang signifikan antara ekspresi E-cadherin pada kelompok KNF yang telah bermetastasis dibandingkan kelompok KNF yang belum bermetastasis.

Kata kunci: Karsinoma nasofaring, ekspresi E-cadherin, metastasis**ABSTRACT**

Background: *Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is a malignancy with distinct ethnic and geographical distribution. NPC has different characteristics from other head and neck cancers, such as rapid growth behavior, high propensity to metastasize to regional lymph nodes and distant organs. E-cadherin plays an important role in the maintenance of cell adhesion between epithelial cells. Changes in the cell adhesion molecule E-cadherin mediated by cancer cells contributes to increase in the spread of tumor cells and the formation of metastasis.* **Purpose:** *To determine the difference in the expression of E-cadherin between NPC that has metastasized and NPC that has not metastasized.* **Method:** *A case-control study. Subjects were paraffin blocks from NPC patients who had undergone biopsy. Blocks from NPC patients who had metastasized categorized as a group of cases, while not metastasized as a control group. Samples from both groups were examined using immunohistochemistry method (IHC) with antibody E-cadherin.* **Result:** *Samples were 48 paraffin blocks, each group consisted of 24 blocks. There was a significant difference between the expression of E-cadherin with $p < 0.001$ and Odds Ratio (RO) 87.4 (95% confidence interval 10.15 to 2653.26). There was also a significant correlation between reduced expression of E-cadherin with neck lymph node status ($p < 0.001$), distant metastasis ($p = 0.001$), and stage of disease ($p = 0.001$).* **Conclusion:** *There was a significant difference between the expressions of E-cadherin in NPC that had metastasized with the NPC that had not metastasized.*

Keywords: *Nasopharyngeal carcinoma, E-cadherin expression, metastasis***Alamat korespondensi:** Camelia Herdini, Bagian IK. THT-KL Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, email: camelia_herdini@yahoo.com

PENDAHULUAN

Karsinoma Nasofaring (KNF) merupakan subtype yang berbeda dari Kanker Kepala Leher (KKL) dalam hal epidemiologi, karakteristik klinis, etiologi, dan histopatologi. Etiologi KNF sangat kompleks, mencakup faktor genetik, infeksi *Epstein-Barr Virus* (EBV), dan lingkungan.^{1,2}

Insidens KNF di Indonesia diperkirakan 6.2/100.000 atau sekitar 12000 kasus baru setiap tahunnya.³ Dari data rekam medik poliklinik Telinga Hidung Tenggorok - Kepala dan Leher Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Sardjito Yogyakarta, dalam tiga tahun terakhir didapatkan jumlah pasien yang terdiagnosis KNF pada tahun 2010 sebanyak 87 pasien, tahun 2011 ada 97 pasien, sedangkan pada tahun 2012 sebanyak 117 pasien. Data tersebut menunjukkan peningkatan jumlah pasien KNF dalam tiga tahun terakhir.

Metastasis merupakan penyebab kematian 90% dari semua kanker dan menimbulkan gejala klinis yang berbeda.⁴ Metastasis menunjukkan proses yang terkoordinasi, memiliki tahapan-tahapan, meliputi pemisahan sel dari tumor primer untuk berkembang menjadi lesi baru di organ jauh.⁵

Berbeda dengan Karsinoma Sel Skuamosa (KSS) kepala leher lainnya, pertumbuhan tumor yang cepat menyebabkan KNF memiliki kecenderungan yang tinggi untuk menginvasi daerah yang berdekatan, bermetastasis ke kelenjar getah bening (KGB) regional dan organ jauh.⁶ Lebih dari 60% pasien KNF yang datang, terdiagnosis dengan metastasis. Jika telah terjadi metastasis, maka prognosis penyakit menjadi jelek dan menyebabkan tingkat kegagalan terapi yang tinggi. Oleh karena itu, pemahaman yang lebih baik tentang mekanisme molekuler metastasis KNF sangat penting untuk memperbaiki prognosis pasien.^{2,7}

Adhesi antarsel memainkan peran penting dalam pemeliharaan integritas sel dan jaringan.⁸ Beberapa molekul adhesi diakui sebagai penanda untuk potensi kejadian metastasis tumor padat.⁹ E-cadherin adalah salah satu glikoprotein transmembran yang penting dalam adhesi sel, *tumor suppression*, diferensiasi sel, dan migrasi sel. Penelitian terbaru dari protein ini menunjukkan bahwa penurunan ekspresi E-cadherin memainkan peran dalam perkembangan dan metastasis tumor. Perubahan interaksi antar sel dan sel dengan matriks memberikan kemampuan sel kanker untuk melewati batas jaringan normal dan bermetastasis. Adanya perubahan kualitatif dan kuantitatif dalam ekspresi dan fungsi molekul adhesi sel yang dimediasi oleh E-cadherin merupakan penanda penting adanya potensi metastasis beberapa kanker seperti kanker lambung, kanker kolorektal, KSS kulit, dan kanker payudara.^{10,11} Namun demikian, penggunaan E-cadherin sebagai penanda pada KNF belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan perbedaan ekspresi E-cadherin antara KNF yang sudah bermetastasis dengan KNF yang belum bermetastasis dan mengevaluasi pemanfaatan E-cadherin sebagai penanda metastasis pada KNF.

METODE

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *case-control study* (kasus-kontrol), dengan sampel penelitian adalah blok parafin pasien KNF yang telah menjalani biopsi baik yang mengalami metastasis (kelompok kasus) maupun tidak mengalami metastasis (kelompok kontrol).

Sebagai luaran (*outcome*) pada penelitian ini adalah metastasis baik ke KGB regional maupun organ jauh yang didapat dari rekam medis. Ekspresi E-cadherin merupakan variabel bebas yang mempengaruhi terjadinya metastasis pada KNF. Penilaian ekspresi E-cadherin

dilakukan secara imunohistokimia (IHK) oleh ahli patologi anatomi.

Sampel pada penelitian ini adalah pasien KNF yang menjalankan biopsi di poliklinik THT-KL RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta dengan perhitungan sampel didapatkan 48 pasien dibagi masing-masing kelompok berjumlah 24 pasien.

Kriteria inklusi penelitian ini adalah pasien yang terdiagnosis KNF, memiliki data lengkap dan terdokumentasi pada rekam medis (hasil interpretasi biopsi, *CT scan*, Rontgen toraks, USG abdomen, dan *bone survey*, serta belum pernah menjalani radioterapi dan kemoterapi. Kriteria eksklusi adalah pasien KNF dengan blok parafin yang rusak sehingga tidak dapat dilakukan pemeriksaan IHK.

Jaringan hasil biopsi difiksasi dengan formalin kemudian disimpan dalam blok parafin. Kurang lebih dua sampai lima potong jaringan dengan tebal 5-6 μm diletakkan di *deck glass* dan dikeringkan pada suhu 37° C selama satu malam, kemudian dicuci untuk menghilangkan residu parafin dengan menggunakan *xylene* dua kali selama 30 menit pada suhu 37° C, dilanjutkan dengan

dehidrasi menggunakan larutan etanol 70%, 80%, dan 90%. Sebelum pengecatan, *deck glass* dicuci menggunakan buffer PBS. Pengecatan masing-masing sediaan sampel menggunakan antibodi E-cadherin. Ekspresi E-cadherin dinilai dengan hasil positif atau negatif. Tingkat imunoreaktivitas E-cadherin dinilai secara semikuantitatif berdasarkan intensitas pewarnaan dan proporsi sel tumor yang positif. Di bawah mikroskop dengan pembesaran 400, lapang pandang dipilih secara acak di lima tempat (100 sel per lapang pandang). Ekspresi E-cadherin positif terlihat pada membran maupun pada sitoplasma sel tumor yang berwarna kecoklatan. Penilaian IHK dilakukan seperti yang dilakukan oleh Del Muro et al,¹² ekspresi E-cadherin positif jika rerata persentase ekspresi E-cadherin >20% sel tumor, sedangkan negatif jika rerata persentase ekspresi E-cadherin <20%.

HASIL

Karakteristik subjek penelitian ini meliputi jenis kelamin, umur, jenis histopatologi, dan stadium penyakit. Homogenitas subjek penelitian tercantum pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian

| Karakteristik subjek | Kasus n (%) | Kontrol n(%) | Total n(%) | Nilai <i>p</i> |
|-------------------------------|----------------|-----------------|---------------|----------------|
| 1. Jenis kelamin | | | | |
| Laki-laki | 17 (35,4) | 16(33,3) | 33 (68,7) | 0,755 |
| Perempuan | 7(14,6) | 8(16,7) | 15(31,3) | |
| 2. Umur | | | | |
| ≤50 tahun | 11(22,9) | 15(31,3) | 26(58,3) | 0,247 |
| >50 tahun | 13(27,1) | 9(18,7) | 22(41,7) | |
| 3. Jenis histopatologi | | | | |
| WHO tipe I | 0 | 0 | 0 | 0,296 |
| WHO tipe II | 2(6,2) | 1(2,1) | 4(8,3) | |
| WHO tipe III | 21(43,8) | 23(47,9) | 44(91,7) | |
| 4. Stadium | | | | |
| Stadium I | 0 | 1(2,1) | 1(2,1) | 0,113 |
| Stadium II | 2(4,2) | 7(14,5) | 9(18,7) | |
| Stadium III | 7(14,6) | 8(16,7) | 15(31,2) | |
| Stadium IV | 15(31,2) | 8(16,7) | 23(47,9) | |

X^2 test bermakna $p < 0,05$

Dari tabel 1, terlihat jumlah pasien KNF berjenis kelamin laki-laki lebih banyak daripada perempuan, yaitu laki-laki sebanyak 33 orang (68,7%) sedangkan perempuan 15 orang (31,3%) dengan rasio laki-laki : perempuan sebesar 2,2:1. Dengan menggunakan χ^2 test, tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada jenis kelamin antara kelompok kasus dan kelompok kontrol dengan nilai $p=0,755$.

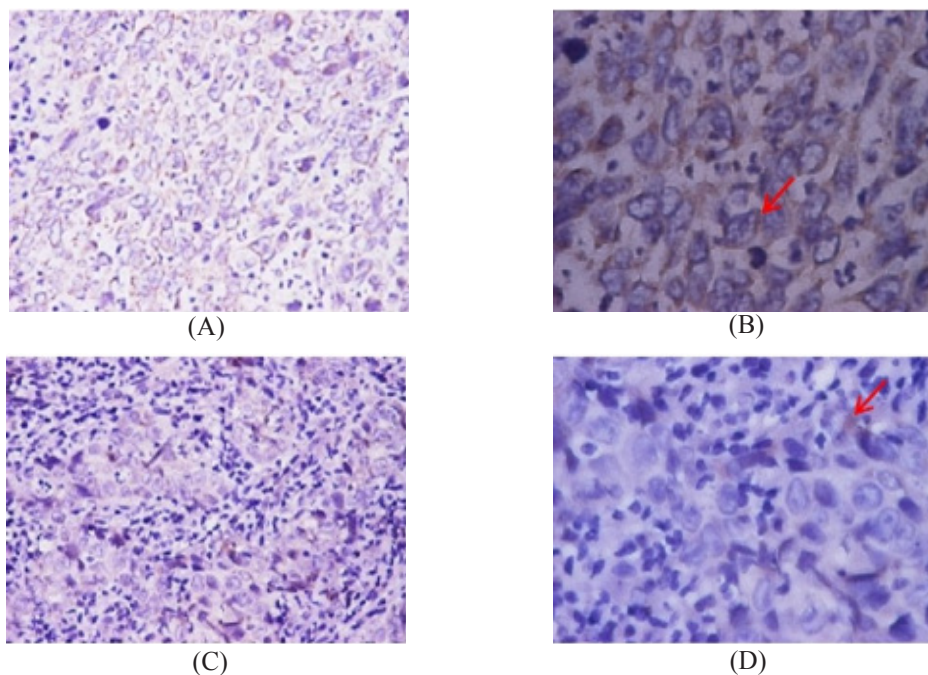
Umur subjek penelitian termuda adalah 24 tahun dan yang tertua adalah 81 tahun dengan rata-rata umur 50 tahun. Kelompok umur terbanyak adalah 41-50 tahun sebanyak 16 orang (33,3%). Dengan χ^2 test tidak didapatkan perbedaan yang signifikan pada umur antara kelompok kasus dengan kelompok kontrol ($p=0,247$).

Jenis histopatologi yang terbanyak pada penelitian ini adalah WHO tipe III (*undifferentiated carcinoma*), yaitu sebanyak 44 pasien (91,7%), sedangkan WHO tipe II (*non-keratinizing squamous cell carcinoma*) sebanyak 4 pasien (8,3%) dan tidak didapatkan jenis histopatologi

WHO tipe I (*keratinizing squamous cell carcinoma*). Hasil χ^2 test menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan pada jenis histopatologi antara kedua kelompok dengan nilai $p=0,296$.

Berdasarkan stadium penyakit pada tabel 1, didapatkan 1 pasien (2,1%) terdiagnosis KNF pada stadium I, 9 pasien (18,7%) stadium II, 15 pasien (31,2%) stadium III, dan 23 pasien (47,9%) stadium IV. Kebanyakan pasien (71,9%) pada penelitian ini datang ke poliklinik THT-KL RSUP Dr. Sardjito terdiagnosis pada stadium lanjut. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada stadium penyakit antara kelompok kasus dengan kelompok kontrol dengan nilai $p=0,113$.

Penilaian ekspresi E-cadherin dilakukan oleh seorang ahli Patologi Anatomi dengan melakukan pemeriksaan IHK menggunakan antibodi E-cadherin, ekspresi E-cadherin positif terlihat pada membran maupun pada sitoplasma sel tumor yang berwarna kecoklatan (gambar 1).



Gambar 1. Ekspresi E-cadherin pada jaringan biopsi nasofaring. A dan B, ekspresi E-cadherin (panah warna merah) terlihat pada hampir semua sel tumor (>20%), masing-masing pada pembesaran 100x dan 400x. C dan D, (panah warna merah) ekspresi E-cadherin terlihat hanya pada sebagian kecil sel tumor (<20%), masing-masing pada pembesaran 100x dan 400x.

Rerata persentase sel tumor yang terekspresi dihitung dari lima lapang pandang besar (pembesaran 400x) yang dipilih secara acak per 100 sel tumor. Subjek penelitian dengan rerata persentase sel tumor yang

terekspresi >20% dikategorikan sebagai ekspresi E-cadherin positif, sedangkan yang <20% dikategorikan sebagai ekspresi E-cadherin negatif.

Tabel 2. Analisis ekspresi E-cadherin terhadap kelompok kasus dan kontrol

| Ekspresi E-cadherin | Kasus n (%) | Kontrol n (%) | Nilai p | Odd Ratio (IK 95%) |
|---------------------|----------------|------------------|---------|-----------------------|
| Negatif | 19 (79,2%) | 1 (4,2%) | <0,001* | 87,4 (10, 15-2653,26) |
| Positif | 5(20,8%) | 23 (95,8%) | | |

*bermakna $p < 0,05$

Pada tabel 2, ekspresi E-cadherin positif ditemukan pada 28 blok parafin dan ekspresi E-cadherin negatif sebanyak 20 blok parafin yang terbagi menjadi 2 kelompok. Pada kelompok kasus, sebanyak 19 blok parafin (79,2%) yang dinilai sebagai ekspresi negatif dan 5 blok parafin (20,8%) yang dinilai ekspresi positif, sedangkan pada kelompok kontrol hampir semua blok parafin 23 (95,8%) yang dinilai sebagai ekspresi

E-cadherin positif dan hanya 1 (4,2%) yang dinilai sebagai E-cadherin negatif.

Untuk mengetahui hubungan penurunan ekspresi E-cadherin dengan beberapa gambaran klinis KNF seperti jenis kelamin, umur, jenis histopatologi, ukuran tumor, status KGB, metastasis jauh, dan stadium penyakit dilakukan dengan analisis χ^2 test komparatif kategorik tidak berpasangan (tabel 3).

Tabel 3. Hubungan ekspresi E-cadherin dengan beberapa gambaran klinis KNF

| | Ekspresi E-cadherin positif n (%) | Ekspresi E-cadherin negatif n (%) | Nilai p |
|----------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---------|
| Jenis kelamin | | | |
| Laki-laki | 19 (39,6) | 14 (29,2) | 0,784 |
| Perempuan | 8 (16,6) | 7 (14,6) | |
| Umur | | | |
| ≤50 tahun | 17 (35,4) | 10 (20,8) | 0,288 |
| >50 tahun | 10 (20,8) | 11 (22,9) | |
| Jenis histopatologi | | | |
| WHO tipe II | 1 (2,1) | 3 (6,2) | 0,188 |
| WHO tipe III | 26 (54,2) | 18 (37,5) | |
| Ukuran tumor | | | |
| T1-T2 | 11 (22,9) | 9 (18,8) | 0,883 |
| T3-T4 | 16 (33,3) | 12 (25) | |
| Status KGB | | | |
| N0-N1 | 25 (52,1) | 3 (6,2) | <0,001* |
| N2-N3 | 2 (4,2) | 18 (37,5) | |
| Metastasis jauh | | | |
| M0 | 27 (56,2) | 14 (29,2) | 0,001* |
| M1 | 0 (0) | 7 (14,6) | |
| Stadium penyakit | | | |
| Stadium I-II | 10 (20,8) | 0 (0) | 0,001* |
| Stadium III-IV | 16 (33,3) | 22 (45,8) | |

* χ^2 test bermakna $p < 0,05$

DISKUSI

Berdasarkan karakteristik subjek penelitian, didapatkan hasil bahwa jumlah pasien KNF dengan jenis kelamin laki-laki ditemukan lebih banyak daripada perempuan. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Adham et al¹³ yang mendapatkan 70,4% pasien KNF berjenis kelamin laki-laki dan 29,6% perempuan dengan rasio 2,4:1. Umur subyek penelitian ini termuda adalah 24 tahun dan tertua 81 tahun dengan rata-rata umur adalah 50 tahun.

Beberapa literatur melaporkan bahwa di daerah endemik KNF ditemukan 90-100% pasien KNF berhubungan dengan infeksi EBV dengan jenis histopatologi WHO tipe III dan dalam jumlah sedikit WHO tipe II. Nurhantari et al¹³ mendeteksi gen EBV dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada 55 dari 56 sampel pasien KNF. Hal ini menunjukkan bahwa 98% dari pasien KNF memiliki hubungan dengan infeksi EBV, sedangkan LMP1 ditemukan 100% dari sampel EBV positif. Penelitian lain yang dilakukan oleh Loet et al¹⁴ menyebutkan jenis histopatologi pada daerah endemik terutama Cina Selatan dan Asia Tenggara ditemukan 97% pasien KNF adalah WHO tipe III. Sharma et al¹⁵ mendapatkan jenis histopatologi pasien KNF yang terjadi di India Timur yang paling banyak adalah WHO tipe III (75,0%), diikuti tipe II (15,0%), dan WHO tipe I (10,0%). Jenis histopatologi WHO tipe III pada KNF berbeda dengan karsinoma epidermoid lainnya pada *Upper Aerodigestive Tract* (UADT) dari gambaran histopatologi dan secara epidemiologi tidak berkaitan dengan alkohol maupun merokok tetapi berhubungan langsung dengan infeksi EBV.^{13,16}

KNF pada stadium awal sulit didiagnosis secara klinis karena lokasinya tersembunyi, kurangnya pengetahuan pasien mengenai tanda dan gejala awal KNF, serta keadaan ekonomi yang terbatas sehingga menunda pasien untuk datang dan mendapat

pelayanan kesehatan. Di sisi lain, dokter juga berkontribusi terhadap keterlambatan diagnosis karena kekeliruan diagnosis dengan infeksi saluran nafas atas lainnya yang memiliki gejala yang mirip dengan KNF.³ Hasil penelitian ini mendukung penelitian Wildeman et al¹⁷ yang melaporkan 90% pasien KNF terdiagnosis pada stadium lanjut (stadium III-IV).

Banyak studi yang mempelajari tentang keterlibatan E-cadherin dalam perkembangan kanker. Mayoritas kanker pada manusia (80-90%) berasal dari sel epitel.¹⁸ Hilangnya ekspresi E-cadherin merupakan peristiwa yang sering terjadi dalam berbagai jenis karsinoma.¹⁹ Hal ini dapat terjadi karena beberapa mekanisme, tapi yang utama adalah mutasi gen CDH1 yang telah diidentifikasi dalam kasus kanker lambung. Penyimpangan pada gen ini mempengaruhi terjadinya perkembangan keganasan.²⁰ Namun, pada beberapa jenis kanker sering terjadi perubahan ekspresi E-cadherin, tetapi jarang atau tidak terdapat sama sekali terjadi mutasi CDH1. Mekanisme epigenetik diusulkan sebagai mekanisme terjadinya kehilangan ekspresi E-cadherin.¹⁹ *Chromatin rearrangement*, *hypermethylation*, dan hilangnya *transcription-factor binding* sering menyebabkan penekanan aktivitas E-cadherin dan mendorong dalam aktivitas invasi sel karsinoma.²⁰

Infeksi EBV pada epitel nasofaring telah diketahui sebagai penyebab serta berperan dalam karsinogenesis KNF. Penurunan ekspresi E-cadherin baru-baru ini terbukti berhubungan dengan *Latent Membran Protein 1* (LMP1) melalui aktivasi DNA *methyltransferase* (DNMT).²¹ LMP1 adalah protein transmembran yang dikodekan oleh gen LMP1 yang merupakan salah satu gen laten EBV. Meskipun EBV 90% berhubungan dengan KNF, dilaporkan bahwa ekspresi LMP1 terjadi pada 50-80% kasus KNF.²² *Epstein-Barr Virus* menginfeksi sel B dan mengubahnya menjadi

proliferatinglymphoblastoid cell secara terus menerus dengan mengekspresikan 9 protein *latent virus*, yaitu 6 *nuclear antigen* (*Epstein-Barr Nuclear Antigen* (EBNA)-1,-2,-3A, -3B,-3C, dan-LP) dan 3 protein membran(LMP-1,-2A, dan 2B).²³

LMP1 merupakan protein membran yang terdiri dari domain pendek NH₂-terminal, enam domain transmembran, dan 200 asam amino domain COOH-terminal. Kebanyakan *signal* LMP1 dibatasi COOH-Terminal Activation Region (CTAR), yang kemudian dibagi lagi menjadi dua domain utama, CTAR1 dan CTAR2. CTAR1 berhubungan dengan *Tumor Necrosis Factor* (TNF) *Receptor Associated Factor Proteins* (TRAF), sedangkan CTAR2 berinteraksi dengan TNF *Receptor Associated Death Domain Protein* (TRADD). CTAR1 dan CTAR2 memediasi jalur NF κ B dan p38/*Mitogen Activated Protein Kinase*(MAPK). Pada CTAR2, khususnya asam amino 3 terakhir (YYD), merupakan lokasi kunci LMP1 memicu aktivitas AP-1 melalui jalur *c-Jun* NH₂-terminal kinase (JNK).²⁴

Kemampuan migrasi LMP1 yang tinggi berhubungan dengan ekspresi E-cadherin yang merupakan molekul adhesi antar sel yang sering hilang pada berbagai kanker termasuk KNF.²⁴ Hipermetilasi gen E-cadherin menyebabkan ekspresi E-cadherin menurun dengan memacu aktivasi DNMT oleh LMP1.²¹ DNMT mengubah struktur kromatin dengan menambahkan gugus metil pada sitosin CpG *dinucleotides*. Metilasi CpG *islands* yang terletak di dalam promoter dan proksimal ekson gen menyebabkan terjadinya perekrutan faktor protein tambahan seperti *methyl-CpG binding proteins* dan *transcriptional repressors*, sehingga gen sulit mengakses faktor transkripsi, dan akhirnya terjadi *gene silencing*. Regulasi daerah transkripsi DNMT terdiri dari 4 promoter (P1, P2, P3, dan P4). P1 adalah promotor utama yang terletak pada CG-rich.²⁴

Metilasi DNA memainkan peran penting dalam pengaturan berbagai sel dan proses perkembangan sel. Namun, penyimpanan pola metilasi merupakan ciri dari kanker pada manusia, hipermetilasi pada CpG *islands* menyebabkan gen tersebut bertindak sebagai *gene suppressor* yang kuat.²⁴

Sel epitel yang mengekspresikan LMP1 menunjukkan bahwa sel tersebut memiliki kemampuan invasif yang tinggi dan berhubungan dengan penurunan ekspresi molekul adhesi antar sel (E-cadherin). Penekanan E-cadherin disebabkan oleh hipermetilasi gen E-cadherin yang diinduksi oleh LMP1 melalui aktivasi DNMT, khususnya DNMT1, DNMT3a, dan DNMT3b.²⁴

Pada tabel 2 menunjukkan adanya hubungan terbalik antara ekspresi E-cadherin dengan kejadian metastasis. Ekspresi E-cadherin negatif memiliki hubungan yang signifikan dengan kejadian metastasis pada pasien KNF dengan nilai $p < 0,001$. Hal ini menunjukkan bahwa gangguan adhesi antar sel yang dimediasi oleh E-cadherin dapat menyebabkan lepasnya sel-sel tumor dari tumor primer yang semula diikat oleh E-cadherin sehingga dapat menyebabkan metastasis.

Pasien KNF dengan ekspresi E-cadherin negatif memiliki risiko 87,4 kali untuk terjadi metastasis dibandingkan dengan pasien KNF dengan ekspresi E-cadherin positif. Temuan ini menunjukkan bahwa pasien KNF yang memiliki ekspresi E-cadherin positif memiliki E-cadherin yang cukup stabil yang dibuktikan dengan belum terjadinya metastasis baik ke KGB regional maupun organ jauh. E-cadherin berperan sebagai tumor supresor, sehingga dapat menekan proses invasi dan metastasis sel-sel kanker.²⁵

Dari tabel 3 dapat diketahui tidak terdapat hubungan yang signifikan antara penurunan ekspresi E-cadherin dengan jenis kelamin ($p=0,784$), umur ($p=0,288$), dan

jenis histopatologi ($p=0,188$). Sebaliknya, terdapat hubungan yang signifikan antara penurunan ekspresi E-cadherin dengan status KGB leher ($p=<0,001$), metastasis jauh ($p=0,001$), dan stadium penyakit ($p=0,001$).

Xu et al²⁶ mendapatkan pasien KNF dengan ekspresi E-cadherin negatif dan telah terjadi metastasis ke KGB sebanyak 65 pasien (65%) dan yang belum mengalami metastasis 17 pasien (35,5%). Sementara, pasien KNF dengan ekspresi E-cadherin positif dan telah terjadi metastasis sebanyak 35 pasien (35%) dan yang belum bermetastasis sebanyak 31 pasien (64,6%). Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa KNF yang sudah bermetastasis ke KGB menunjukkan ekspresi E-cadherin yang lebih rendah dibandingkan dengan KNF yang belum bermetastasis ke KGB leher dengan $p=0,001$.

Niemhom et al²¹ menyebutkan hipermetilasi gen E-cadherin lebih sering terdeteksi pada KNF stadium lanjut (stadium III-IV) dibandingkan dengan KNF stadium awal (stadium I-II). Dari total 29 pasien dengan stadium lanjut, hipermetilasi E-cadherin terdeteksi pada 24 dari 29 (82,8%) pasien, tetapi hanya 4 dari 9 (44,4%) pasien dengan stadium awal. Perbedaan signifikan secara statistik ditemukan antara hipermetilasi E-cadherin pada KNF stadium III-IV dan KNF stadium I-II.

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah terdapat perbedaan yang signifikan antara ekspresi E-cadherin pada kelompok KNF yang telah bermetastasis dibandingkan kelompok KNF yang belum bermetastasis. Pasien KNF dengan ekspresi E-cadherin negatif memiliki risiko yang lebih besar untuk terjadi metastasis dibandingkan dengan pasien KNF dengan ekspresi E-cadherin positif. Gangguan adhesi sel yang dimediasi oleh E-cadherin menyebabkan sel tumor dapat terpisah dari tumor primer sehingga berpotensi terjadi metastasis. Oleh karena itu, pasien KNF yang

belum terjadi metastasis disarankan untuk dilakukan pemeriksaan IHC dengan antibodi E-cadherin, jika terbukti negatif, maka pasien tersebut sebaiknya diprioritaskan untuk mendapatkan terapi karena berisiko tinggi untuk terjadi metastasis, sehingga diharapkan prognosis penyakit menjadi lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Razak ARA, Siu LL, Liu FF, Ito E, O'Sullivan B, Chan K. Nasopharyngeal carcinoma: The next challenges. *Eur J Cancer*. 2010; 46: 1967-78.
2. Yu L, Lu J, Zhang B, Liu X, Wang L, Li SY, et al. miR-26a inhibits invasion and metastasis of nasopharyngeal cancer by targeting EZH2. *Oncology Letters*. 2013; 1234-88.
3. Adham M, Kurniawan AN, Muhtadi AI, Roezin A, Hermani B, Gondhowiardjo S, et al. Nasopharyngeal Carcinoma in Indonesia: epidemiology, incidence, sign and symptoms at presentation. *Chin J Cancer*. 2012;31(4):185-96.
4. Yilmaz M, Christofori G, Lehembre F. Distinct mechanisms of tumor invasion and metastasis. *Mol Med Today*. 2007;13(12):535-41.
5. Beavon IRG. Regulation of E-cadherin: does hypoxia initiate the metastatic cascade? *J Clin Pathol Mol Pathol*. 1999;52:179-88.
6. Cao X, He LR, Xie FY, Chen YF, Wen ZS. Factors determining the survival of nasopharyngeal carcinoma with lung metastasis alone: does combined modality treatment benefit?. *BMC Cancer*. 2011;11(370):1-9.
7. Chen CH, Shiu LY, Su LJ, Huang CYF, Huang SC, Huang CC, et al. FLJ10540 is associated with tumor progression in nasopharyngeal carcinomas and contributes to nasopharyngeal cell proliferation, and metastasis via osteopontin/CD44 pathway. *Journal of Translational Medicine* 2012;10(93):1-12.
8. Kim CH, Kim JH, Kahng H, Choi EC. Change of E Cadherin by Hepatocyte Growth Factor and Effects on the Prognosis

- of Hypopharyngeal Carcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2007;14(5):1565-74.
9. Tsao SW, Liu Y, Wang X, Yuen PW, Leung SY, Yuen ST, et al. The association of E-cadherin expression and the methylation status of the E-cadherin gene in nasopharyngeal carcinoma cells. *Euro J Cancer.* 2003; 39: 524-31.
 10. Shnayder Y, Kuriakose A, Yee H, Chen FA, DeLacure MD, Xue XN, et al. Adhesion Molecules as Prognostic Factors in Nasopharyngeal Carcinoma. *Laryngoscope.* 2011;111:1842-6.
 11. Huang GW, Mo WN, Kuang GQ, Nong HT, Wei MY, Sunagawa M, et al. Expression of p16, nm23-H1, E-cadherin, and CD44 Gene Products and Their Significance in Nasopharyngeal Carcinoma. *Laryngoscope.* 2011; 111: 1465-71.
 12. del Muro XG, Torregrosa A, Munoz J, Castellsague X, Condom E, Vignes F, et al. Prognostic value of the expression of E-cadherin and b catenin in bladder cancer. *Euro J Cancer.* 2000; 36: 357-62.
 13. Nurhantari Y, Emoto N, Rahayu P, Matsuo M. Nasopharyngeal carcinoma in Indonesia has a low prevalence of the 30-base pair deletion of Epstein Barr virus latent membrane protein 1. *Southeast Asian J. Trop Med. Public Health.* 2003;34(1):98-105.
 14. Lo KW, To KF, Huang DP. Focus on nasopharyngeal carcinoma. *Cancer cell.* 2004;5:423-8.
 15. Sharma, TD, Singh TD, Laishram RS, Sharma LD, Sunita AK, Imchen LT. Nasopharyngeal carcinoma-a clinic-pathological study in regional cancer center of northeastern India. *Asian pac J cancer prev.* 2011;12(6): 1583-7.
 16. Bensouda Y, Kaikania W, Ahbeddoua N, Rahhalia R, Jabrib M, Mrabtia H, Bousenc H, Errihani H. Treatment for metastatic nasopharyngeal carcinoma. *European annals of otorhinolaryngology, Head and Neck disease.* 2011; 128:79-85.
 17. Wildeman MA, Fles R, Herdini C, Indrasari SR, Vincent AD, Tjokronagoro M, Stoker S, Kurnianda J, Karakullukcu B, Taroen-Hariadi KW, Hamming-Vrieze O, Hariwiyanto B, Haryana SM, Tan IB. Primary treatment result of nasopharyngeal carcinoma (NPC) in Yogyakarta, Indonesia. *PlosOne.* 2013;8(5): e63706.
 18. Christofori G and Semb H. The role of the cell-adhesion molecule E-cadherin as a tumour-suppressor gene. *Trends Biochem Sci.* 1999; 24(2): 73-7.
 19. Hajra KH and Fearon ER. Cadherin And Catenin Alterations In Human Cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2002;34:255–68.
 20. Semb H and Christofori G. The Tumor-Suppressor Function of E-Cadherin. *Am J Hum Genet.* 1998;63:1588-93.
 21. Niemhom S, Kitazawa S, Kitazawa R, Maeda S, Leopairat J. Hypermethylation of epithelial-cadherin gene promoter is associated with Epstein-Barr virus in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Detect Prev.* 2008; 32: 127-34.
 22. Zhao Y, Wang Y, Zeng S, Hu X. LMP1 expression is positively associated with metastasis of nasopharyngeal carcinoma: evidence from a meta-analysis. *J Clin Pathol.* 2012; 65: 41-5.
 23. Ocheni S, Olusina DB, Oyekunle AA, Ibegbulam OG, Kröger N, Bacher U, et al. EBV-Associated Malignancies. *The Open Infectious Diseases Journal* 2010;4:101-12.
 24. Tsai CL, Li HP, Lu YJ, Hsueh C, Liang Y, Chen CL. Activation of DNA Methyltransferase 1 by EBV LMP1 Involves c-Jun NH2-Terminal Kinase Signaling. *Cancer Res.* 2006;66:11668-76.
 25. Ruiz HG, Rios MJ, Campora RG, de Miguel M, Carmona MI, Moreno AM, et al. The cadherin–catenin complex in nasopharyngeal carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2011; 268: 1335–41.
 26. Xu L, Jiang Y, Zheng J, Xie G, Li J, Shi L, et al. Aberrant expression of β -catenin and E-cadherin is correlated with poor prognosis of nasopharyngeal cancer. *Hum Pathol.* 2013;44:1357-64.