

Laporan Penelitian**Hubungan ekspresi p53, Bcl-2, c-Myc dan MMP-9 dengan gambaran klinikopatologi karsinoma sel skuamosa kepala-leher****Azwar^{*}, Sofia Mubarika^{**}, Agus Surono^{***}**

^{*}Departemen Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok - Bedah Kepala Leher
Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala/
Rumah Sakit Dr. Zainoel Abidin Banda Aceh

^{**}Departemen Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada

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

ABSTRAK

Latar belakang: Karsinoma sel skuamosa kepala dan leher merupakan salah satu kanker tersering di seluruh dunia. Pendekatan pengobatan agresif dan multidisiplin telah dilakukan, namun belum ada peningkatan yang signifikan dalam kelangsungan hidup 5 tahun, selama 20 tahun terakhir. Kegagalan pengobatan terjadi dalam bentuk kekambuhan lokoregional, metastasis jauh, dan/atau tumor primer kedua. Berbagai penanda molekular tumor telah diteliti untuk mengetahui potensinya dalam memprediksi hasil penyakit atau respon terhadap terapi. **Tujuan:** Mengetahui hubungan ekspresi protein p53, Bcl-2, c-Myc, dan MMP-9 berdasarkan gambaran klinikopatologis karsinoma sel skuamosa kepala dan leher di Rumah Sakit dr. Zainoel Abidin. **Metode:** Studi menggunakan desain *cross sectional*. Sampel terdiri dari 60 blok parafin karsinoma sel skuamosa kepala dan leher. Prosedur pewarnaan imunohistokimia dilakukan dengan menggunakan antibodi monoklonal terhadap p53, Bcl-2, c-Myc, dan MMP-9. Ekspresi protein p53, Bcl-2, c-Myc, dan MMP-9 dianalisis secara imunohistokimia pada karsinoma sel skuamosa kepala dan leher kemudian hasilnya dihubungkan dengan parameter klinikopatologis seperti usia, jenis kelamin, lokasi tumor, diferensiasi tumor, metastasis kelenjar getah bening dan stadium tumor, kemudian dianalisis statistik dengan *Chi square*. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan terdapat hubungan bermakna tingkat ekspresi p53 dengan metastasis lokal ($p=0,021$) dan ada hubungan bermakna tingkat ekspresi MMP-9 dengan lokasi tumor ($p=0,026$). Tidak terdapat hubungan ekspresi p53, Bcl-2, cMyc, dan MMP-9 terhadap usia, jenis kelamin, stadium tumor, diferensiasi histologi, tingkat T, N, dan metastasis jauh. **Kesimpulan:** Ada hubungan ekspresi p53 dengan metastasis kelenjar limfe regional dan ekspresi MMP-9 dengan lokasi tumor pada karsinoma sel skuamosa kepala dan leher.

Kata kunci: Karsinoma sel skuamosa kepala dan leher, p53, Bcl-2, c-Myc, MMP-9

ABSTRACT

Background: Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) is one of the most common cancers world wide. Although aggressive and multidisciplinary approach to the treatment has been done, there is no significant improvement in 5-year survival in the last 20 years. Treatment failure occurred in the form of locoregional recurrence, distant metastasis, and/or a second primary tumor. A variety of tumor molecular markers have been studied to determine their potential in predicting disease outcome or response to the therapy. **Purpose:** To investigate correlation p53, Bcl-2, c-Myc, and MMP-9 expression to clinicopathologic parameter in head and neck squamous cell carcinoma patient in dr. Zainoel Abidin hospital. **Methods:** Cross sectional design study. The sample was consisted of 60 paraffin blocks of head and neck squamous cell carcinoma. Procedure of immunohistochemical staining used monoclonal antibodies against p53, Bcl-2, c-Myc, and MMP-9. Expression of p53 protein, Bcl-2, c-Myc, and MMP-9 were analyzed by immunohistochemistry in head and neck squamous cell carcinoma. Then, the results

were linked to clinicopathologic parameters such as age, sex, tumor location, tumor differentiation, lymph node metastasis and tumor stage, and statistically analyzed with Chi square. **Results:** The results showed there were significant correlation between p53 expression level with local metastasis ($p=0,021$) and significant correlation of MMP-9 expression levels with tumor location ($p=0,026$). There were no relationship of p53, Bcl-2, cMyc and MMP-9 expressions based on age, sex, stage tumor, histologic differentiation, level of T, N, and distant metastases. **Conclusion:** There were relationships between p53 expression with local metastasis and MMP-9 expression with tumor location in head and neck squamous cell carcinoma.

Keywords: Head and neck squamous cell carcinoma, p53, Bcl-2, c-Myc, MMP-9

PENDAHULUAN

Kanker kepala dan leher adalah jenis kanker ke-enam tersering di seluruh dunia. Lebih dari 90% kanker kepala dan leher adalah karsinoma sel skuamosa (*head and neck squamous cell carcinoma*-HNSCC), yang timbul dari epitel yang melapisi saluran sinonasal, rongga mulut, faring, dan laring. Merokok, tembakau tanpa asap, dan penggunaan alkohol merupakan faktor risiko yang penting dan interaksi keduanya sinergis dalam terjadinya HNSCC, di samping infeksi *human papillomavirus* (HPV).¹

Sepuluh pasien karsinoma sel skuamosa kepala dan leher sudah dalam stadium lanjut pada saat diagnosis, dengan tingkat kelangsungan hidup 5 tahun sebesar 10-40%. Meskipun pengobatan berupa operasi, radioterapi, dan/atau kemoterapi telah mengalami kemajuan, namun kelangsungan hidup jangka panjang keseluruhan masih rendah karena penyakit persisten atau berulang.²

Karsinoma sel skuamosa kepala dan leher yang diobati berdasarkan lokasi, stadium penyakit, dan pertimbangan klinikopatologi dianggap masih terbatas kemampuannya dalam memprediksi hasil terapi secara tepat. Kegagalan pengobatan dapat berupa kekambuhan lokoregional, metastasis jauh, dan risiko mengalami keganasan primer kedua.³ Penderita juga mengalami morbiditas akibat pengobatan, kegagalan pengobatan, kekambuhan penyakit, dan metastasis meskipun banyak pilihan pengobatan tersedia untuk mengobati karsinoma sel skuamosa

kepala dan leher. Kegagalan pengobatan bahkan untuk lesi stadium dini, menunjukkan perlunya faktor tambahan dalam memilih terapi yang lebih komprehensif serta mampu memprediksi hasil terapi dengan tepat.⁴

Strategi diagnosis berdasarkan analisis histologik sampel biopsi, terbukti belum memadai karena tingginya frekuensi penderita dengan penyakit berulang. Pengetahuan biologi molekuler yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan sel kanker kepala dan leher sangat penting dalam menentukan biomarker deteksi dini, indikator prognosis atau luaran klinis bahkan terhadap perkembangan terapi yang memiliki target spesifik pada gen atau protein tertentu yang mendasari proses karsinogenesis.⁵

Pada tingkat sel, keseimbangan proliferasi dan apoptosis berkontribusi untuk perkembangan dan metastasis tumor. Onkogen dan gen supresor tumor telah dilaporkan berperan dalam jalur apoptosis. Diketahui bahwa p53 dan Bcl-2 mengatur apoptosis. Berbagai studi telah meneliti hubungan antara akumulasi protein-protein dan prognosis kanker kepala dan leher, tetapi hasil yang diperoleh banyak yang bertentangan. Pada penelitian ini, kami menganalisis hubungan ekspresi p53, Bcl-2, c-Myc, dan MMP-9 secara imunohistokimia pada karsinoma sel skuamosa kepala dan leher. Hasil temuan dibandingkan dengan parameter klinikopatologis seperti usia dan jenis kelamin pasien, lokalisasi tumor dan diferensiasi tumor, tingkat T, tingkat N, stadium klinis, regional dan metastasis jauh.

Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan kemampuan identifikasi lesi pra-ganas pada penderita dengan kecurigaan kanker kepala dan leher serta melakukan intervensi pada pasien sebelum berkembang menjadi stadium lanjut sehingga dapat digunakan untuk skrining tumor, diagnosis, terapi dan prognosis pasien karsinoma sel skuamosa kepala dan leher.

METODE

Penelitian dilakukan setelah mendapat persetujuan dari komite etik penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala. Penelitian menggunakan rancangan analitik yang dilakukan secara *cross sectional study* dengan sampel jaringan karsinoma sel skuamosa kepala dan leher. Populasi terjangkau penelitian adalah penderita kanker kepala dan leher yang belum menjalani kemoterapi atau radioterapi sejak Januari 2010 hingga Desember 2013. Sampel dipilih secara *non probability sampling* yaitu *consecutive sampling* sebanyak 60 buah dan telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Jaringan hasil biopsi/pembedahan yang dibuat blok parafin selanjutnya dilakukan pemeriksaan imunohistokimia di Bagian Patologi Anatomi RSUP dr. Sardjito Yogyakarta. Variabel terikat pada penelitian ini ialah usia, jenis kelamin, lokasi tumor, derajat histopatologis tumor, tingkat T dan N, stadium tumor, metastasis regional dan jauh. Variabel bebas adalah ekspresi protein p53, Bcl-2, c-Myc, dan MMP-9, pada sel tumor yang telah dilakukan pengecatan secara imunohistokimia. Interpretasi pewarnaan imunohistokimia dilakukan oleh 2 orang ahli patologi tanpa mengetahui aspek klinik sampel yang diperiksa. Dilakukan penghitungan secara kuantitatif dengan menghitung imunoreaktivitas positif menggunakan lensa obyektif 40x pada 5 lapangan pandang (*hot spot*), selanjutnya dihitung reratanya. Sel-sel tumor dengan pewarnaan inti dianggap sebagai positif untuk ekspresi c-Myc dan

p53. Sel-sel tumor dengan pewarnaan sitoplasma dianggap sebagai positif untuk protein Bcl-2 dan MMP-9. Hasil interpretasi ditetapkan dari persentase populasi sel yang terwarnai dengan p53, Bcl-2, dan c-Myc, dan MMP-9. Hubungan ekspresi protein p53, Bcl-2, c-Myc, dan MMP-9 terhadap parameter klinikopatologis (usia, jenis kelamin, tingkat T dan N, stadium tumor, lokasi tumor, diferensiasi histopatologis, metastasis regional dan jauh) pada karsinoma sel skuamosa kepala dan leher dianalisis dengan *Chi square*. Nilai $p < 0,05$ dianggap bermakna secara statistik.

HASIL

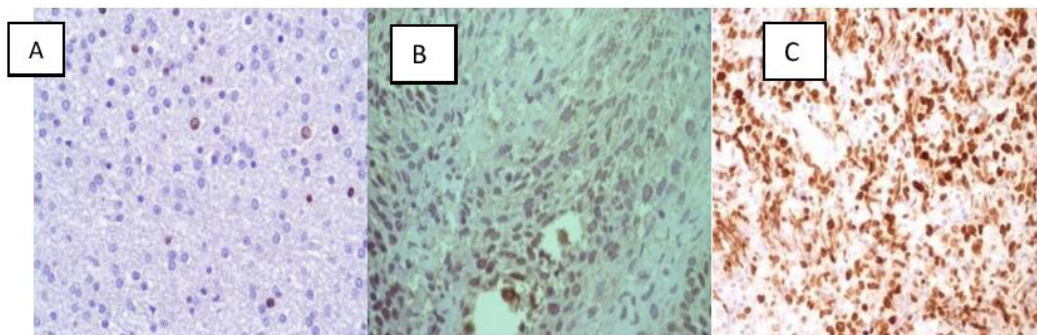
Terdapat 60 penderita karsinoma sel skuamosa kepala dan leher, terdiri dari 45 laki-laki (75%) dan 15 perempuan (25%), sehingga rasio laki-laki dan perempuan 3:1. Pada laki-laki, laring merupakan lokasi tumor terbanyak diikuti sinonasal, rongga mulut, dan orofaring. Pada perempuan, sinonasal dan rongga mulut merupakan lokasi terbanyak. Sebagian besar penderita karsinoma sel skuamosa kepala dan leher berusia ≥ 50 tahun sebanyak 41 pasien (68,3%). Pada kelompok usia < 50 tahun, sebanyak 10/19 (52,6%) karsinoma sel skuamosa kepala dan leher terjadi pada stadium lanjut. Metastasis regional di leher sebanyak 5/9 (55,6%) penderita pada kelompok usia < 50 tahun. Pada penelitian ini, pasien termuda didiagnosis pada usia 10 tahun dan paling tua pada usia 87 tahun, dengan umur rerata pasien adalah 54,8 tahun.

Karsinoma sel skuamosa kepala dan leher lebih banyak terdapat pada laring (38,33%), diikuti sinonasal (30%), kavum oris (21,7%), dan orofaring (10%). Karsinoma sel skuamosa pada laring, kavum nasi dan orofaring lebih banyak terdiagnosis pada stadium awal, sedangkan pada sinonasal sama jumlahnya antara stadium awal dan lanjut. Pembesaran

kelenjar getah bening leher lebih banyak disebabkan tumor yang berasal dari laring (44,4%) diikuti kavum oris dan orofaring. Sebanyak 30 (50%) penderita karsinoma sel skuamosa kepala dan leher berdiferensiasi baik, sisanya berdiferensiasi buruk (28,3%), dan sedang (21,7%). Sembilan pasien mengalami metastasis kelenjar getah bening leher (regional), terbanyak diferensiasi baik dan sedang.

Pewarnaan positif protein p53 terdapat pada 52 (86,7%) sampel dari 60 tumor primer

HNSCC. Frekuensi ekspresi p53 berbeda berdasarkan lokasi tumor primernya. Tumor kavum oris menunjukkan tingkat ekspresi positif p53 tertinggi diikuti laring, orofaring, dan sinonasal. Tidak ditemukan hubungan yang signifikan antara ekspresi positif p53 dengan jenis kelamin, usia, lokasi tumor, stadium, tingkat T, N, gradasi histologis, dan metastasis jauh (semuanya $p > 0,05$). Sebaliknya terdapat hubungan signifikan ($p = 0,021$) tingkat ekspresi protein p53 berdasarkan metastasis lokal.



Gambar 1. Pewarnaan imunohistokimia ekspresi protein p53. *Immunostaining* p53 pada karsinoma sel skuamosa kepala dan leher. Prosedur *immunostaining* dilakukan menggunakan antibodi monoklonal anti p53. A) Tumor dengan pewarnaan +1 (<math>< 10\%</math> sel terwarnai), B) +2 (10-50%) dan C) pewarnaan +3 (>50%).

Sebanyak 52 (86,7%) sampel tumor HNSCC, menunjukkan pewarnaan positif untuk protein Bcl-2. Imunoreaksi sitoplasma Bcl-2 positif ditemukan pada kavum oris (92,3%), laring (91,3%), orofaring (83,3%), dan sinonasal (77,8%). Ekspresi Bcl-2 ditemukan lebih tinggi pada sel tumor diferensiasi baik, peningkatan luas tumor (T), stadium lanjut dan metastasis. Tidak ada perbedaan bermakna ekspresi protein Bcl-2 berdasarkan usia, jenis kelamin, lokasi tumor, stadium tingkat T, N, diferensiasi histologis serta metastasis lokal dan jauh ($p > 0,05$).

Analisis imunohistokimia menunjukkan 93,3% HNSCC terekspresi positif protein c-Myc. Berdasarkan kelompok usia, ekspresi protein c-Myc lebih tinggi pada usia <math>< 50</math> tahun. Laki-laki lebih banyak ekspresi positif protein c-Myc dibanding perempuan. Karsinoma sel skuamosa kavum oris semuanya terekspresi

protein c-Myc, diikuti laring 95,6%. Ekspresi protein c-Myc akan meningkat dengan peningkatan T, tumor stadium lanjut dan adanya metastasis.

Terdapat 86,7% (52/60) kasus karsinoma sel skuamosa kepala dan leher dengan protein MMP-9 terwarnai positif. Protein MMP-9 terekspresi positif tinggi pada karsinoma sel skuamosa kavum oris. Makin tinggi tingkat T tampak terjadi peningkatan ekspresi positif protein MMP-9. Ekspresi protein MMP-9 makin meningkat pada stadium lanjut. Pada pasien dengan metastasis lokal dan jauh, semua sampel menunjukkan ekspresi positif protein MMP-9. Tidak ditemukan hubungan bermakna antara tingkat ekspresi MMP-9 dengan usia, jenis kelamin, stadium, tingkat T, N, gradasi histologi, serta metastasis lokal dan jauh. Terdapat hubungan signifikan antara tingkat ekspresi MMP-9 dengan lokasi tumor ($p = 0,026$).

DISKUSI

Karsinoma sel skuamosa kepala dan leher (HNSCC) biasanya mengenai pria lanjut usia (lansia) dan memiliki hubungan kuat dengan merokok dan konsumsi alkohol.⁶ Meskipun studi terbaru menunjukkan peningkatan kejadian HNSCC kalangan dewasa muda, angka kejadian HNSCC pada orang muda masih lebih rendah dari orang yang lebih tua.⁷ Pada penelitian ini hanya 31,7% pasien HNSCC berusia <50 tahun. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan penurunan rasio laki-laki dan perempuan dalam distribusi jenis kelamin pasien muda.⁸ Perubahan ini dapat disebabkan oleh tren peningkatan merokok dan/atau minum alkohol pada perempuan dan prevalensi yang lebih besar pada pria disebabkan karena mereka lebih terpapar dengan karsinogen di tempat kerja, toksin, dan faktor risiko lain seperti ganja dibandingkan dengan perempuan.⁹ Terjadinya pergeseran jenis kelamin tetap belum diketahui tetapi mungkin terkait dengan harapan hidup lebih lama pada perempuan lanjut usia dibandingkan dengan laki-laki. Dalam penelitian ini perempuan hanya 25%, mungkin mencerminkan perbedaan dalam prevalensi merokok atau minum alkohol antara laki-laki dan perempuan Aceh. Tidak adanya minuman beralkohol yang dijual bebas dan perempuan perokok masih dianggap kebiasaan yang tidak lazim di daerah yang menerapkan syariat Islam, turut menurunkan angka risiko kanker kepala dan leher. Penelitian juga menunjukkan bahwa karsinoma sel skuamosa laring secara bermakna lebih sering pada usia >50 tahun dibandingkan dengan pasien muda (<50 tahun), dan laring adalah lokasi yang paling sering HNSCC.^{10,11}

Sinonasal merupakan lokasi terbanyak terjadinya HNSCC pada kelompok usia <50 tahun, sementara penelitian lain menunjukkan lidah adalah lokasi paling sering HNSCC pada dewasa muda, sedangkan faring dan laring bersama-sama merupakan lokasi paling sering pada kelompok usia yang lebih tua.¹²

Keterlibatan kelenjar limfe hanya sebesar 15% kasus, sementara di Iran 50% pasien HNSCC pada biopsi kelenjar limfe leher menunjukkan metastasis.¹¹ Penelitian menunjukkan adanya keterlibatan kelenjar limfe leher terjadi pada usia muda. Hal ini menjelaskan perilaku agresif tumor stadium lanjut. Meskipun tidak ada perbedaan yang bermakna dalam stadium tumor antara pasien muda dan tua, namun penelitian lain menunjukkan hubungan yang kuat antara HNSCC kelompok tua dan dewasa muda.¹⁰ Pasien muda memiliki proporsi yang lebih tinggi untuk tumor berdiferensiasi baik.¹² Namun, pada penelitian ini, tumor berdiferensiasi baik lebih banyak ditemukan pada usia >50 tahun (56,7%). Pasien dengan karsinoma diferensiasi sedang/diferensiasi buruk memiliki tingkat kelangsungan hidup rendah. Kanker dengan diferensiasi buruk merupakan faktor signifikan untuk kelangsungan hidup penyakit. Karena kanker diferensiasi sedang/buruk cenderung lebih sering dengan N+ dari pada tumor berdiferensiasi baik.¹³ Hasil sedikit berbeda didapat pada penelitian ini, kanker berdiferensiasi baik/sedang mempunyai nilai yang sama untuk terjadinya metastasis kelenjar limfe leher.

Pada kelompok usia muda (<50 tahun), 52,6% tumor ada dalam stadium lanjut saat pertama diagnosis. Hal ini sesuai dengan pendapat Gawecki et al¹⁰ bahwa tumor pada orang dewasa muda secara klinis lebih lanjut dibandingkan pasien yang lebih tua, karena orang dewasa muda cenderung menunda kunjungan ke dokter, meskipun gejala klinis jelas. Kejadian HNSCC pada dewasa muda tampaknya cukup tinggi di Aceh, sehingga menjadi kewajiban untuk mengurangi faktor risiko terutama merokok tembakau. Sedangkan minuman beralkohol sangat sulit ditemukan karena Aceh sebagai daerah syariat Islam melarang penjualan minuman beralkohol. Peningkatan jumlah pasien HNSCC berusia muda, tanpa faktor risiko yang khas perlu diketahui penyebab lain

seperti diet, virus onkogenik, dan predisposisi genetik.

Ekspresi tinggi p53 secara imunohistokimia dalam sampel tumor dipertimbangkan mewakili p53 mutan, karena p53 mutan terakumulasi dalam sel, sedangkan tipe *wild* p53 cepat terdegradasi. Imunoeksresi positif p53 pada penelitian ini cukup tinggi (86,7%) dibandingkan hasil beberapa peneliti lain seperti Waitzberg et al¹⁴ sebanyak 50,7% dan Yuen et al¹⁵ sebanyak 52%. Perbedaan hasil ini dapat disebabkan beberapa faktor yaitu jumlah pasien yang berbeda dan heterogenitas sampel, jenis jaringan yang dianalisis (beku dan ditanam dalam parafin), pengobatan awal, antibodi yang digunakan, hasil positif palsu dan negatif palsu, dan kesepakatan ambang batas persentase sel terwarnai yang digunakan untuk menentukan bagian positif atau negatif.¹⁶ Tingkat ekspresi p53 positif yang tinggi dapat menyebabkan ketidakstabilan molekul dan selanjutnya terjadi ketidakseimbangan hubungan gen-gen yang terkait kanker sehingga menyebabkan onkogenesis dan metastasis. Unal et al¹⁷ mendapatkan adanya korelasi antara ekspresi p53 dengan tingkat N kelenjar. Sementara Yuen et al¹⁵ tidak menemukan hubungan bermakna antara ekspresi p53 dengan tingkat N klinis atau metastasis kelenjar. Pada penelitian ini tidak terdapat hubungan bermakna antara overeksresi p53 dan parameter klinikopatologi seperti derajat diferensiasi histologi, tingkat T, N atau stadium penyakit ($p > 0,05$). Berdasarkan hasil analisis statistik dengan *Chi square* didapatkan hubungan bermakna tingkat ekspresi protein p53 dengan metastasis lokal ($p = 0,021$). Proses dimana transisi epitel-mesenkimal (EMT) dan aktivasi protease yang mendegradasi membran basal dan matriks ekstraselular (ECM) berpengaruh dalam proses metastasis. Sel tumor yang mengalami metastasis memerlukan sejumlah besar mutasi somatik dan perubahan dalam ekspresi gen dan metabolisme. Hilangnya fungsi p53

membuat sel-sel tidak mengalami apoptosis atau program penuaan setelah terpapar stres selular, kontribusi untuk pembentukan tumor. Selanjutnya, p53 membantu dalam inisiasi dan progresi tumor sehingga tumor lebih cepat memperoleh fasilitator metastasis. Unal et al¹⁷ menyelidiki p53 positif tumor primer dan metastasis kelenjar getah bening leher pada kanker lidah dan melaporkan bahwa mutasi p53 mungkin terjadi sebelum metastasis dan memicu potensi metastasis sel neoplastik.

Muzio et al¹⁸ dalam penelitiannya pada pasien karsinoma sel skuamosa kavum oris mendapatkan 54,5% menunjukkan ekspresi positif untuk Bcl-2. Sementara Wilson et al¹⁹ hanya mendapatkan hasil positif sebanyak 12,8%. Hasil penelitian ini menunjukkan ekspresi Bcl-2 sebesar 86,7% dan sebaliknya tidak ada hubungan antara tingkat ekspresi Bcl-2 dengan umur, jenis kelamin, lokasi tumor, tingkat T dan diferensiasi tumor. Costa et al²⁰ menemukan bahwa ekspresi Bcl-2 dikaitkan dengan risiko tinggi kekambuhan dan kelangsungan hidup yang buruk pada stadium awal kanker kepala dan leher. Homma et al²¹ menemukan adanya korelasi antara tumor positif Bcl-2 dengan peningkatan kontrol lokoregional.

Ekspresi c-Myc penelitian ini cukup tinggi (93,3%), sementara hasil lebih rendah ekspresi protein c-Myc sebesar 57% dilaporkan pada pasien NPC.²² Ekspresi c-Myc lebih rendah pada karsinoma kavum oris, dibandingkan dengan laring atau karsinoma orofaring.²³ Pada penelitian ini, ekspresi protein c-Myc rendah ditemukan pada karsinoma sinonasal dan ekspresi c-Myc tidak menunjukkan hubungan dengan parameter klinikopatologis. Hayry et al²⁴ menyatakan bahwa tidak ada korelasi yang bermakna ekspresi protein c-Myc dengan prognosis pada karsinoma sel skuamosa lidah. Sedangkan Papakosta et al²⁵ menyimpulkan bahwa ekspresi protein c-Myc dan p53 pada stadium dini keganasan rongga mulut dapat digunakan untuk

deteksi dini lesi *pre-malignant*. Hasil senada dilaporkan Waitzberg et al,¹⁴ amplifikasi c-Myc merupakan penanda prognostik kuat yang dapat memperkirakan rekurensi lebih dini pada pasien kanker payudara kelenjar negatif. Tingkat kekambuhan c-Myc positif lebih rendah dibandingkan kelompok c-Myc negatif.²⁶

Ruokolainen et al²⁷ melaporkan imunoekspresi positif MMP-9 diamati pada 82% kanker kepala dan leher, sedangkan menurut Liu et al²⁸ pada penderita karsinoma nasofaring (KNF), hasil positif sebanyak 77,4%. Pada penelitian ini terdapat 86,7% (52/60) kasus karsinoma sel skuamosa kepala dan leher dengan protein MMP-9 terwarnai positif. Tidak ditemukan hubungan signifikan tingkat ekspresi MMP-9 dengan usia, jenis kelamin, ukuran tumor (klasifikasi T), stadium, status kelenjar getah bening (klasifikasi N), gradasi histologi, serta metastasis lokal dan jauh. Terdapat hubungan bermakna antara tingkat ekspresi MMP-9 dengan lokasi tumor ($p=0,026$). Pasien dengan MMP-9 positif secara bermakna lebih sering kambuh dibandingkan pasien dengan MMP-9 negatif. Pasien dengan ekspresi MMP-9 tinggi memiliki kelangsungan hidup lebih buruk dibandingkan dengan tingkat ekspresi protein MMP-9 rendah ($p=0,001$). Ekspresi berlebihan MMP-9 pada HNSCC juga dapat mempercepat pertumbuhan tumor dengan menginduksi angiogenesis dan meningkatkan invasi sel lokal dan metastasis melalui degradasi matriks ekstraselular. Karsinoma sel skuamosa kepala dan leher ditandai dengan tingginya invasi lokal dan metastasis kelenjar getah bening leher, tetapi rendah laju metastasis ke organ jauh. Pasien dengan *immunostaining* MMP-9 positif memiliki risiko relatif 11 kali lipat kematian dibanding pasien dengan MMP-9 *immunostaining* negatif. Pasien dengan ekspresi protein MMP-9, memiliki waktu kelangsungan hidup yang lebih pendek. Pencarian penanda yang dapat diandalkan untuk memprediksi respon terapi dan prognosis sangat penting. Penanda dapat

membantu mengidentifikasi penderita yang memerlukan terapi adjuvan secara intensif.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlunya pemahaman yang baik tentang biologi molekuler karsinoma sel skuamosa kepala dan leher yang akan membuka peluang penting pengembangan penanda klinis untuk pemilihan pengobatan dan prognosis pasien karsinoma sel skuamosa kepala dan leher. Pengetahuan biologi molekuler pertumbuhan dan perkembangan sel kanker kepala dan leher sangat penting dalam menentukan biomarker deteksi dini, indikator prognosis atau luaran klinis bahkan terhadap perkembangan terapi yang memiliki target spesifik pada gen atau protein tertentu yang mendasari proses karsinogenesis.

Metastasis kelenjar getah bening karsinoma sel skuamosa kepala dan leher diyakini sebagai prognosis buruk, sehingga deteksi dini tumor dengan kecenderungan invasi dan penyebaran melalui limfatik merupakan langkah penting manajemen pasien. Kemampuan memprediksi adanya metastasis jauh selama masa *follow up* dengan mendeteksi adanya protein marker tertentu, akan mempengaruhi keputusan perlakuan penderita karsinoma sel skuamosa kepala leher dini. Oleh karena itu, sangat dibutuhkan adanya penanda akurat yang bisa memprediksi metastasis jauh.

Kanker kepala dan leher merupakan salah satu penyakit kanker yang banyak ditemukan, terutama kanker laring, sinonasal, kavum oris dan orofaring. Terjadi kecenderungan usia muda sudah mengalami penyakit kanker, meskipun perbandingan prevalensi berdasarkan jenis kelamin belum tampak menonjol. Persoalan yang perlu menjadi perhatian penyelenggara pelayanan kesehatan seiring adanya peningkatan kasus serta peningkatan kesadaran masyarakat untuk memeriksakan kesehatan, adalah menyiapkan sarana dan prasarana yang mampu mendeteksi dan diagnosis dini serta melakukan terapi adekuat dengan tepat.

Rumah Sakit Umum dr. Zanoel Abidin (RSUZA) Banda Aceh sebagai rumah sakit pendidikan tipe A dan rumah sakit rujukan provinsi, belum mempunyai fasilitas diagnosis penyakit kanker yang adekuat serta belum ada fasilitas radioterapi. Sampai saat ini pasien harus mendapatkan pelayanan pengobatan ke Medan, Jakarta, bahkan Malaysia yang tentu saja memberatkan pasien dari segi biaya serta kehilangan kasus yang menarik untuk pembelajaran. Jika tersedia fasilitas pemeriksaan imunohistokimia maka akan dapat dilakukan pemeriksaan beberapa protein marker seperti p53, Bcl-2, c-Myc dan MMP-9, sehingga bisa memperkirakan kemungkinan adanya metastasis regional dan metastasis jauh karsinoma sel skuamosa kepala dan leher. Kondisi ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam meningkatkan kemampuan identifikasi lesi pra ganas dan melakukan intervensi pada pasien sebelum berkembang menjadi stadium lanjut sehingga bisa digunakan untuk skrining tumor, diagnosis, terapi, dan prognosis pasien karsinoma sel skuamosa kepala dan leher.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat hubungan bermakna tingkat ekspresi positif p53 dengan metastasis tumor pada karsinoma sel skuamosa kepala dan leher serta terdapat hubungan bermakna tingkat ekspresi positif MMP-9 dengan lokasi tumor. Tidak terdapat hubungan bermakna antara ekspresi p53, Bcl-2, cMyc, dan MMP-9 dengan usia, jenis kelamin, stadium tumor, diferensiasi histologi serta tingkat T dan N.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mehanna H, Paleri V, West CM, and Nutting C. Head and neck cancer part 1: Epidemiology, presentation, and preservation. *Clinical otolaryngology : official journal of ENT-UK; official journal of Netherlands Society for Oto-Rhino-Laryngology & Cervico-Facial Surgery*. 2010; 36, 65-68.
2. Psyrri A, Licitra L, Lacombe D, Schuurin E, Budach W, Ozsahin M, et al. Strategies to promote translational research within the European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Head and Neck Cancer Group: a report from the Translational Research Subcommittee. *Ann Oncol* . 2010; 21(10): 1952–1960.
3. Argiris A, Brockstein BE, Haraf DJ, Stenson KM, Mittal BB, et al. Competing causes of death and second primary tumors in patients with locoregionally advanced head and neck cancer treated with chemoradiotherapy. *Clin Cancer Res*. 2004; 10, 1956-62.
4. Rodrigo, Ferlito A, Suarez C, Shaha AR, Silver CE, Devaney KO, et al. New molecular diagnostic methods in head and neck cancer. *Head Neck*. 2005; 27: 995–1003.
5. Braakhuis BJM, Senft A, de Bree R, de Vries J, Ylstra B, Cloos J, et al. Expression profiling and prediction of distant metastases in head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Pathol*. 2006; 59:1254–1260.
6. Vokes EE, Weichselbaum RR, Lippman SM, Hong WK. Head and neck cancer. *N Engl J Med*. 1993; 328:184-94.
7. Llewellyn CD, Linklater K, Bell J, Johnson NW, Warnakulasuriya S. An analysis of risk factors for oral cancer in young people: a case-control study. *Oral Oncol*. 2004; 40(3):304–313.
8. Toner M, O'Regan EM. Head and neck squamous cell carcinoma in the young: a spectrum or a distinct group? Part 1. *Head Neck Pathol*. 2009; 3(3): 246–248.
9. Dahlstrom KR, Little JA, Zafereo ME, Lung M, Wei Q, Sturgis EM. Squamous cell carcinoma of the head and neck in never smoker-never drinkers: a descriptive epidemiologic study. *Head Neck*. 2008; 30, 75-84.
10. Gawecki W, Szyfter K, Szyfter W. Clinical and histopathological analysis of squamous cell carcinoma of the head and neck in young adults. *Otolaryngol Pol*. 2007; 61, 11-6.

11. Andisheh-Tadbir A, Ashrafi MJ, Jafari-Ashkavandi Z, Paknahad M, Taheri F. Head and neck squamous cell carcinoma in Southern Iran. *Iran Red Crescent Med J*. 2008; 10, 309-13.
12. O'Regan EM, Timon C, Sheils O, Codd M, O'Leary JJ, Toner M. Squamous cell carcinoma of the head and neck in young Irish adults. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2006; 44, 203-6.
13. Liao CT, Wang HM, Ng SH, Yen TC, Lee LY, Hsueh C. et al. Good tumor control and survivals of squamous cell carcinoma of buccal mucosa treated with radical surgery with or without neck dissection in Taiwan. *Oral Oncol*. 2006; 42:800-9.
14. Waitzberg AF, Nonogaki S, Nishimoto IN, Kowalski LP, Miguel RE, Brentani RR, et al. Clinical significance of c-myc and p53 expression in head and neck squamous cell carcinomas. *Cancer Detect Prev*. 2004; 28(3):178-86.
15. Yuen PW, Chow V, Choy J, Lam KY, Ho WK, Wei WI. The clinicopathologic significance of p53 and p21 expression in the surgical management of lingual squamous cell carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2001; 116:240-245.
16. Nylander K, Dabelsteen E, Hall PA. The p53 molecule and its prognostic role in squamous cell carcinomas of the head and neck. *J Oral Pathol Med*. 2000; 29:413-425.
17. Unal OF, Ayhan A, Hosal AS. Prognostic value of p53 expression and histopathologic parameters in squamous cell carcinoma of oral tongue. *J Laryngol Otol* 1999; 113:446-450.
18. Muzio LL, Farina A, Rubini C, Pezzetti F, Stabellini G, Laino G, et al. Survivin as prognostic factor in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Cancer*. 2005; Volume 225, Issue 1, Pages 27-33.
19. Wilson GD, Saunders MI, Dische S, Richman PI, Daley FM, Bentzen SM. Bcl-2 expression in head and neck cancer: an enigmatic prognostic marker. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2001; 1;49(2):435-41.
20. Costa A, Licitra L, Veneroni S, Daidone MG, Grandi C, Cavina R, et al. Biological markers as indicators of pathological response to primary chemotherapy in oral-cavity cancers. *Int J Cancer*. 1998; 79: 619-623.
21. Homann N, Nees M, Conradt C, Dietz A, Weidauer H, Majer H, et al. Overexpression of p53 in tumor-distant epithelia of head and neck cancer patients is associated with an increased incidence of second primary carcinoma *Clin Cancer Res*. 2001; 7:290-296.
22. Yu Y, Dong W, Li X, Yu E, Zhou X, Li S. Significance of c-Myc and Bcl-2 protein expression in nasopharyngeal carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003; 129:1322-1326.
23. Freier K, Bosch FX, Flechtenmacher C, Devens F, Benner A, Lichter P. et al. Distinct site-specific oncoprotein overexpression in head and neck squamous cell carcinoma: a tissue microarray analysis. *Anticancer Res*. 2003; 23(5A):3971-7.
24. Hayry V, Makinen LK, Atula T, Sariola H, Makitie A, Leivo I, et al. Bmi-1 expression predicts prognosis in squamous cell carcinoma of the tongue. *British Journal of Cancer*. 2010; 102: 892 – 897.
25. Papakosta V, Vairaktarisi E, Vylliotis A, Derka S, Nkenke E, Vassiliou S, et al. The co-expression of c-myc and p53 increases and reaches a plateau early in oral oncogenesis. *Anticancer Research*. 2006; 26: 2957-2962.
26. Shi Y, Glynn JM, Guilbert LJ. Role for c-Myc in activation-induced apoptosis cell death in T cell hybridomas. *Science*. 1992; 257:212-214.
27. Ruokolainen H, Pääkkö P, Turpeenniemi-Hujanen T. Expression of matrix metalloproteinase-9 in head and neck squamous cell carcinoma: a potential marker for prognosis. *Clin Cancer Res*. 2004; 10(9):3110-6.
28. Liu Z, Li L, Yang Z, Luo W, Li X, Yang H, et al. Increased expression of MMP9 is correlated with poor prognosis of nasopharyngeal carcinoma. *BMC Cancer*. 2010; 10:270.