

Laporan Penelitian**Ekspresi tissue inhibitor metalloproteinase-2 pada metastasis kelenjar limfe leher pada karsinoma sel skuamosa laring****Yulvina, Bambang Hermani, Lisnawati, Saptawati**

Departemen Ilmu Penyakit Telinga Hidung Tenggorok Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
Rumah sakit Dr. Cipto Mangunkusumo
Jakarta - Indonesia

ABSTRAK

Latar belakang: Angka harapan hidup pasien karsinoma laring ditentukan oleh adanya metastasis kelenjar leher. *Tissue inhibitor metalloproteinase-2* (TIMP-2) mempunyai efek ganda pada kerja matriks metalloproteinase yang merupakan salah satu penanda metastasis. TIMP-2 dapat menghambat atau menginduksi metastasis. Ekspresi TIMP-2 tergantung pada lokasi dan jenis tumor. **Tujuan:** Melaporkan ekspresi TIMP-2 pada sediaan biopsi karsinoma sel skuamosa laring dan hubungannya dengan metastasis kelenjar limfe leher. **Metode:** Ekspresi TIMP-2 diteliti pada 15 pasien karsinoma sel skuamosa laring dengan metastasis leher dan 18 pasien tanpa metastasis leher. Pemeriksaan imunohistokimia dilakukan pada jaringan biopsi yang diterima tahun 2005–2009. Imunohistokimia dilakukan sesuai dengan standar pemeriksaan di Departemen Patologi Anatomi FKUI menggunakan antibodi TIMP-2 (3A4) sc 21735 dari Santa Cruz. Penelitian bersifat analitik untuk melihat perbedaan ekspresi TIMP-2 antara karsinoma laring dengan metastasis leher dan yang tanpa metastasis leher. **Hasil:** Nilai median ekspresi TIMP-2 pada karsinoma laring dengan metastasis leher adalah 99 dan median TIMP-2 pada pasien tanpa metastasis leher adalah 97, dengan kisaran antara 0–100. Analisis statistik memperlihatkan tidak ada perbedaan bermakna pada ekspresi TIMP-2 antara kelompok karsinoma sel skuamosa laring dengan metastasis leher dan yang tanpa metastasis leher ($p=0,403$). **Kesimpulan:** Hasil penelitian ini menunjukkan ekspresi TIMP-2 tidak dapat dibedakan antara pasien yang bermetastasis leher dan yang tidak. Keseimbangan aktivitas antara matriks metalloproteinase (MMP) dan *tissue inhibitors of matrix metalloproteinase* (TIMP) berkaitan dengan destruksi patologis yang kompleks dan membutuhkan penelitian lebih lanjut. Disarankan pemeriksaan korelasi antara ekspresi TIMP-2 dan MMP2 serta dengan MT-1MMP dan hubungannya dengan metastasis kelenjar limfe leher untuk memprediksikan terapi yang lebih agresif.

Kata kunci: karsinoma sel skuamosa laring, matriks metalloproteinase, *tissue inhibitor metalloproteinase-2*

ABSTRACT

Background: Survival of laryngeal cancer cases depend on lymph nodes involvement. *Tissue inhibitor metalloproteinase-2* (TIMP-2) has double effects on matrix metalloproteinase. TIMP-2 could inhibit or induce metastasis process. Its expression depends on tumor location and histopathology. **Purpose:** To find out the presence of TIMP-2 on biopsy specimens of laryngeal squamous cell carcinoma and its relation to lymph node involvement. **Methods:** The immunoexpression of TIMP-2 was studied on biopsy specimens of 15 laryngeal carcinomas with lymph node metastasis and 18 patients without, collected between 2005–2009. Immunohistochemistry test were carried out in Pathology Department University of Indonesia using TIMP-2 (3A4) sc 21735 antibody from Santa Cruz. We used analytic-descriptive study to compare TIMP-2 expression between laryngeal squamous cell carcinoma with lymph node

metastasis and those without. **Results:** The median of TIMP-2 immunoexpression in laryngeal squamous cell carcinoma in patients with lymph node involvement was 99 and the median in patients without lymph node metastases was 97, with range between 0-100. Statistical analysis revealed no significant difference in TIMP-2 expression between groups with metastasis and without ($p=0.403$). **Conclusions:** Our results could not differentiate the TIMP-2 expression from patients with laryngeal squamous cell carcinoma with lymph node metastasis and without. However, imbalances in the extracellular activities of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases, linked to pathological tissue destruction, are more complex and need further investigation. Further study on correlation between TIMP-2 and MMP2-MT-1MMP immunoexpression is advised to determine its relationship to lymph node metastasis and to plan more aggressive treatment.

Keywords: laryngeal squamous cell carcinoma, matrix metalloproteinase, tissue inhibitor metalloproteinase-2

Alamat korespondensi: Yulvina, Departemen Ilmu Penyakit Telinga Hidung Tenggorok FKUI, Jakarta.
E-mail: yulie_dj@yahoo.com

PENDAHULUAN

Metastasis kelenjar limfe leher bermakna untuk menentukan rekurensi dan ketahanan hidup dan merupakan faktor prognostik yang terpenting pada keganasan kepala dan leher.¹⁻¹¹ Adanya metastasis kelenjar limfe leher pada saat diagnosis awal merupakan faktor prognostik utama untuk prediksi kekambuhan tumor primer yang merupakan mortalitas terbanyak pasien karsinoma laring.^{2,8} Angka harapan hidup pasien akan berkurang menjadi setengahnya bila ditemukan adanya keterlibatan pada kelenjar limfe leher.^{1,12} Pasien yang telah dioperasi dan kemudian mengalami rekurensi pada kelenjar limfe leher, maka angka harapan hidup berkurang menjadi 5%.¹³

Dalam berbagai penelitian juga diungkapkan prognosis pada masing-masing pasien pada stadium tertentu juga dapat berbeda dan hal ini dimungkinkan dengan adanya faktor biologis yang menentukan sifat agresifitas dari keganasan tersebut. Beberapa penanda yang berhubungan dengan agresifitas dan prediksi metastasis dibutuhkan untuk meramalkan luaran pada pasien dan menentukan pasien yang membutuhkan terapi yang lebih agresif.¹⁰

Angka metastasis tersamar pada karsinoma laring bervariasi dari berbagai penelitian, yaitu pada 1–65% pasien. Penanganan pasien

karsinoma laring tanpa metastasis kelenjar limfe leher (N_0) saat ini masih kontroversial dan banyak berdasarkan pada penelitian retrospektif dan pengalaman operator.¹³ Saat ini dibutuhkan penanda metastasis yang dapat dipakai untuk meramalkan adanya metastasis pada daerah leher, sehingga dapat menjadi acuan untuk menentukan dilakukannya diseksi leher selektif atau tidak pada kasus N_0 dan untuk menentukan pasien yang membutuhkan terapi tambahan.⁹

Dalam salah satu proses metastasis dikenal adanya *tissue inhibitor metalloproteinase (TIMP)*, yaitu salah satu enzim penghambat proses penghancuran matriks ekstraselular oleh *matrix metalloproteinase (MMP)* selain $\alpha 2$ makroglobulin dan glikoprotein.¹⁴ Matriks metalloproteinase adalah protein yang berfungsi untuk mendegradasi matriks ekstraselular.¹⁵ Matriks ekstraselular merupakan pertahanan utama sel tumor untuk menghambat metastasis. Pada matriks ekstraseluler terdapat protein kolagen tipe IV. Protein ini akan dilisiskan oleh matriks metalloproteinase-2 dan matriks metalloproteinase-9 yang kerjanya dihambat, salah satunya oleh TIMP-2.¹⁶ Efek TIMP pada tumor adalah multifungsi dan paradoks.¹⁴ Selain menghambat pertumbuhan tumor dan metastasis, TIMP juga mempunyai efek stimulasi pertumbuhan tumor dan anti-apoptosis.¹⁴ *Tissue*

inhibitor metalloproteinase-2 dapat berperan sebagai mekanisme pertahanan terhadap metastasis dengan menghambat kerja MMP-2, di lain sisi TIMP-2 juga dapat memicu aktivasi MMP-2 dengan perantaraan MT1-MMP (*membran type-1 matrix metalloproteinase*). *Tissue inhibitor metalloproteinase* terdiri dari 4 tipe, yaitu TIMP-1, -2, -3 dan 4. *Tissue inhibitor metalloproteinase-2* merupakan TIMP yang dapat menghambat hampir semua MMP dan berbeda dibanding TIMP-1 yang jarang bisa menghambat MT-MMP.

Ekspresi gen TIMP ini telah diketahui bermakna pada beberapa penelitian berhubungan dengan metastasis pada karsinoma sel skuamosa kepala dan leher, serta mempengaruhi prognosinya. Nilai ekspresi TIMP-2 pada karsinoma kepala dan leher memberikan hasil yang masih kontroversial. Penelitian ini akan membandingkan rerata TIMP-2 pada percontoh karsinoma sel skuamosa laring dengan metastasis kelenjar limfe leher dan tanpa metastasis kelenjar limfe leher.

METODE

Penelitian ini merupakan studi potong lintang yang bersifat analitik. Dalam penelitian ini dinilai rerata TIMP-2 pada sediaan biopsi karsinoma sel skuamosa laring dan hubungan antara rerata TIMP-2 dengan kelenjar limfe leher. Percontoh kasus adalah semua pasien karsinoma sel skuamosa laring yang datang berobat ke bagian THT FKUI/RSCM pada tahun 2005–2009 yang memenuhi syarat sebagai percontoh kasus. Jumlah percontoh minimal pada penelitian ini adalah 13 untuk pasien karsinoma sel skuamosa laring dengan metastasis leher dan 13 yang tanpa metastasis leher.

Kriteria penerimaan adalah semua pasien karsinoma sel skuamosa laring yang datang berobat ke bagian THT FKUI/RSCM dari tahun 2005–2009 yang telah dilakukan pemeriksaan histopatologi di bagian Patologi Anatomi FKUI dengan hasil karsinoma sel skuamosa dan telah dilakukan pemeriksaan *CTscan* pada pasien tersebut.

Kriteria penolakan adalah apabila data status tumor tidak lengkap atau sediaan blok parafin di bagian Patologi Anatomi tidak memadai dan tidak dapat diproses. Pemeriksaan dilakukan dengan blok parafin sediaan biopsi dilanjutkan dengan pemeriksaan imunohistokimia dengan pewarnaan imunohistokimia menggunakan antibodi TIMP-2 (3A4) sc 21735 dari Santa Cruz.

Preparat parafin dideparafinisasi dan diberikan antibodi TIMP-2 (3A4) sc 21735 dari Santa Cruz. Aktivitas endogen peroksidase dihambat dengan H₂O₂ preinkubasi dan sementara tempat yang tidak spesifik dihambat dengan *phosphate buffered saline* (PBS) 3% selama 30 menit. Potongan preparat dipanaskan dengan *citrate buffer* yang mempunyai PH 6,0 selama 5 menit pada 95°C. *Tissue inhibitor metalloproteinase-2* akan dideteksi dengan antibodi tersebut di atas yang diencerkan 3µg/mL. Potongan akan diinkubasi selama 60 menit. Imunoreaktivitas yang positif akan divisualisasi dengan DAB sebagai kromogen dan terakhir diwarnai dengan hematoksilin. Kontrol positif yang digunakan adalah dari karsinoma payudara.

Kontrol negatif yang digunakan adalah pada sediaan yang tanpa pemberian antibodi TIMP-2. Semua preparat akan dilihat tanpa pengetahuan terhadap klinis pasien.

Data penelitian diperoleh dari anamnesis, pemeriksaan fisik, pemeriksaan THT, pemeriksaan penunjang foto toraks dan *CTscan* laring, hasil biopsi tumor laring, hasil pemeriksaan laringoskopi langsung dari status pasien.

Untuk menganalisis perbedaan rerata TIMP-2 pada karsinoma laring yang bermetastasis kelenjar limfe dan tidak, antara T awal dan T akhir, dan derajat histopatologi tumor akan dilakukan uji T tidak berpasangan.

HASIL

Sejak tahun 2005–2009 didapatkan 120 pasien yang telah terdiagnosis sebagai karsinoma sel skuamosa laring. Dari kasus tersebut hanya 54 pasien yang mempunyai rekam medis yang lengkap dan terdapat pemeriksaan *CTscan* dan memenuhi kriteria inklusi pada penelitian ini.

Nilai ekspresi TIMP-2

Pada penelitian ini didapatkan nilai ekspresi TIMP-2 tidak berdistribusi normal pada pasien karsinoma sel skuamosa laring baik antara pasien yang bermetastasis leher dengan yang tidak bermetastasis leher, antara yang derajat T awal (T1 dan T2) dengan T lanjut (T3 dan T4) dan antara yang berdiferensiasi buruk dengan diferensiasi sedang dan baik. Analisis ekspresi TIMP dan hubungannya dengan klinikopatologi dilakukan dengan uji Mann-Whitney.

Ekspresi TIMP-2 dengan metastasis kelenjar limfe leher

Percontoh dengan metastasis kelenjar limfe leher mempunyai nilai median 99 dengan kisaran ekspresi antara 0–100%. Percontoh tanpa metastasis kelenjar limfe leher mempunyai nilai median adalah 97% dengan kisaran juga antara 0–100%. Antara percontoh karsinoma sel skuamosa laring yang bermetastasis leher dan yang tanpa metastasis leher tidak ditemukan adanya perbedaan yang bermakna dengan nilai $p=0,403$ (Tabel 1).

Tabel 1. Perbandingan nilai ekspresi TIMP-2 antara pasien karsinoma laring dengan dan tanpa metastasis kelenjar limfe leher

	Median TIMP-2(%)	Kisaran	P
Metastasis leher (+)	99	0-100	0,403
Metastasis leher (-)	97	0-100	

Ekspresi TIMP-2 pada derajat T awal dan T lanjut

Nilai median ekspresi nilai TIMP-2 pada percontoh karsinoma sel skuamosa laring dengan derajat T awal (T1 dan T2) adalah 97 dengan kisaran antara 0–98. Nilai median ekspresi TIMP-2 pada T lanjut (T3 dan T4) adalah 99 dengan kisaran ekspresi antara 0–100%. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara ekspresi TIMP-2 pada derajat T awal dan T lanjut (Tabel 2).

Tabel 2. Perbandingan nilai ekspresi TIMP-2 antara derajat T awal dan T lanjut

	Median TIMP-2(%)	Kisaran	P
T1 dan T2	97	0-98	0,168
T3 dan T4	99	0-100	

Ekspresi TIMP-2 pada derajat diferensiasi tumor

Nilai ekspresi TIMP-2 pada karsinoma sel skuamosa laring dengan derajat diferensiasi buruk mempunyai nilai median 49 dengan kisaran ekspresi nilai 0–98, sedang pada yang berdiferensiasi sedang dan baik nilai median adalah 99 dengan nilai kisaran antara 0–100. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara ekspresi TIMP-2 pada karsinoma sel skuamosa laring yang berdiferensiasi buruk dengan yang berdiferensiasi sedang-baik.

Tabel 3. Perbandingan nilai ekspresi TIMP-2 dengan derajat diferensiasi tumor

	Median TIMP-2(%)	Kisaran	P
KSS berdiferensiasi buruk	49	0-98	0,23
KSS berdiferensiasi sedang - baik	99	0-100	

DISKUSI

Sejak tahun 2005–2009, didapatkan 120 pasien yang telah terdiagnosis sebagai karsinoma sel skuamosa laring. Dari penghitungan percontoh dengan hipotesis dua arah dengan $Z\beta$ adalah 20%, jumlah minimal percontoh pada penelitian ini adalah 13 untuk karsinoma laring yang bermetastasis leher dan 13 yang tanpa metastasis leher. Percontoh karsinoma sel skuamosa laring dengan N+ yang mempunyai rekam medis yang lengkap adalah 17 percontoh. Bila dilakukan penghitungan dengan $Z\beta$ 10%, maka jumlah percontoh untuk masing-masing kelompok adalah 19. Oleh karena itu dilakukan pengambilan percontoh secara *total sampling* untuk karsinoma sel skuamosa laring yang bermetastasis leher

dan dilakukan pengambilan percontoh secara acak (*random sampling*) untuk pasien karsinoma sel skuamosa laring tanpa metastasis leher sebanyak 20 percontoh. Dari percontoh tersebut 4 blok parafin tidak ditemukan, sehingga jumlah percontoh pada penelitian ini adalah 15 untuk karsinoma sel skuamosa laring yang bermetastasis leher dan 18 yang tanpa metastasis leher. Berbeda dengan penelitian pada TIMP-2 lainnya, penelitian ini menggunakan data numerik TIMP-2 dan tidak menggunakan data kualitatif TIMP-2. Penelitian ini untuk melihat ekspresi TIMP-2 karsinoma sel skuamosa laring yang bermetastasis pada kelenjar limfe leher dengan yang tidak bermetastasis leher pada diagnosis awal.

Nilai ekspresi TIMP-2 pada karsinoma sel skuamosa laring dengan derajat diferensiasi buruk mempunyai nilai median 49 dengan kisaran ekspresi nilai 0–98, sedang pada yang berdiferensiasi sedang dan baik nilai median adalah 99 dengan nilai kisaran antara 0–100. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara ekspresi TIMP-2 pada karsinoma sel skuamosa laring yang berdiferensiasi buruk dengan yang berdiferensiasi sedang-baik.

Zhang,¹⁷ Hong,¹⁸ Tetu¹⁹ dalam penelitiannya juga menemukan tidak adanya perbedaan bermakna antara derajat diferensiasi sel dan ekspresi TIMP-2 dengan pemeriksaan imunohistokimia.

Ekspresi nilai TIMP-2 pada percontoh karsinoma sel skuamosa laring dengan derajat T awal (T1 dan T2) ditemukan nilai median TIMP-2 adalah 97 dengan kisaran antara 0–93. Nilai ekspresi TIMP-2 pada T lanjut (T3 dan T4) mempunyai nilai median 99 dengan kisaran ekspresi antara 0–100%. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara ekspresi TIMP-2 pada derajat T awal dan T lanjut. Zhang¹⁷ dalam penelitiannya di karsinoma gaster juga tidak menemukan adanya perbedaan ekspresi TIMP-2 pada karsinoma gaster dengan ukuran kurang dari 5 cm dan yang lebih dari 5 cm.

Pada penelitian ini didapatkan percontoh dengan metastasis kelenjar limfe leher mempunyai

nilai median 99 dengan kisaran ekspresi antara 0–100, pada percontoh tanpa metastasis kelenjar limfe leher nilai median pada 97% dengan kisaran juga antara 0–100. Antara percontoh karsinoma sel skuamosa laring yang bermetastasis leher dan yang tanpa metastasis leher tidak ditemukan adanya perbedaan yang bermakna dengan nilai $p=0,043$.

Pada penelitian Jayasooriya,²⁰ ditemukan tidak ada perbedaan antara ekspresi TIMP-2 pada pasien dengan karsinoma verukosa dengan karsinoma sel skuamosa. Karsinoma verukosa merupakan karsinoma yang jarang bermetastasis. Pada penelitiannya antara pasien sel skuamosa dan verukosa tidak terdapat perbedaan ekspresi TIMP-2.²¹

Danilewicz,²¹ menemukan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antara pasien karsinoma laring yang tanpa keterlibatan kelenjar limfe leher=11,47 (SD 9,1) dengan karsinoma laring dengan metastasis leher=11,38 (SD 7,7). Pada penelitian ini mendapatkan hasil yang selaras dengan penelitian Danilewicz, di mana juga tidak didapatkan adanya perbedaan yang bermakna antara karsinoma sel skuamosa laring yang bermetastasis dengan yang tidak bermetastasis.

Pornchai O-charoenrat,²² dengan penelitian RT-PCR menemukan tidak ada hubungan yang bermakna antara karsinoma sel skuamosa kepala dan leher yang bermetastasis leher dan tanpa metastasis leher dengan ekspresi TIMP-2.

Tetu,¹⁹ meneliti rasio MMP-2, TIMP-2 dan MMP-14 dengan prognostik karsinoma payudara. Dalam analisisnya, Tetu tidak menemukan adanya hubungan antara metastasis kelenjar limfe, tetapi cenderung untuk menentukan kesintasan pasien. Pada penelitian ini ditemukan hal yang serupa, pemeriksaan imunohistokimia TIMP-2 saja tidak dapat membedakan karsinoma laring yang bermetastasis leher dan yang tidak. Tetapi perbandingan ini tidak dapat dilakukan karena Christopoulos dalam penelitiannya mengungkapkan bahwa ekspresi TIMP-2 pada tempat lain tidak bisa digeneralisasikan dengan yang di laring.²³

Katayama,²⁴ membuktikan ekspresi TIMP-2 berkorelasi kuat dengan metastasis kelenjar limfe leher dan metastasis jauh pada karsinoma sel skuamosa oral stadium awal. Christopoulos,²³ mengungkapkan bahwa ekspresi TIMP-2 pada daerah laring tidak bisa disamakan dengan di tempat lain. Penelitian Schmalbach,⁸ menemukan salah satu gen yang bermakna untuk menentukan karsinoma oral yang bermetastasis kelenjar limfe leher dan tanpa metastasis kelenjar limfe leher adalah TIMP-1 yang ditemukan ekspresinya 3 kali lebih tinggi pada yang bermetastasis ke kelenjar limfe leher. Krecicki,¹¹ menemukan korelasi yang bermakna antara status kelenjar limfe leher dengan ekspresi TIMP-1 di karsinoma sel skuamosa laring. Peningkatan ekspresi TIMP-1 dihubungkan dengan tidak adanya metastasis leher.

Tissue inhibitor metalloproteinase-1 berbeda dengan TIMP-2 karena hanya TIMP-2 yang dapat mengaktivasi MMP-2 melalui perlekatan dengan MT1-MMP-2. Penelitian terhadap TIMP-2 menghambat bFGF yang menginduksi proliferasi mikrovaskular dan hal ini menunjukkan efek TIMP-2 langsung untuk menghambat pertumbuhan tumor tanpa keterlibatan MMP. Beberapa kepustakaan mengungkapkan peran TIMP-2 saja sebagai faktor biologi untuk prognostik membutuhkan penelitian lebih lanjut. Keseimbangan antara MMP dan TIMP penting untuk degradasi matriks ekstraseluler. Beberapa penelitian menunjukkan ada keseimbangan dari MMP dan TIMP pada jaringan yang normal untuk mempertahankan matriks ekstraseluler. Pada saat kanker terjadi, ekspresi MMP dan TIMP meningkat. Bila TIMP tak mampu untuk menghambat kerja MMP, maka matriks ekstraseluler akan dihancurkan sehingga terjadilah invasi dan metastasis. Secara umum TIMP-2 menghambat MMP-2, tetapi perlu diingat bahwa peran TIMP-2 juga dapat bersifat menginduksi MMP-2, karenanya diperlukan penelitian lebih lanjut yang meneliti tentang keseimbangan dan korelasi antara MMP-2, TIMP-2 dengan MT1-MMP.²⁴ Danilewicz juga meneliti

korelasi MMP-2 dengan TIMP-2, dan didapatkan hasil MMP-2 berhubungan dengan metastasis kelenjar limfe leher, tetapi tidak pada TIMP-2. Hal ini tidak menyimpulkan tidak ada peranan TIMP-2 dalam proses metastasis. Untuk mengetahui peranan TIMP-2 lebih lanjut dibutuhkan juga penelitian yang membandingkan ketiga enzim tersebut. Yoshizaki²⁵ telah meneliti korelasi ketiga enzim tersebut secara imunohistokimia dan korelasi ketiga nilai tersebut berhubungan dengan rekurensi lokal, rekurensi hematogenik dan prognosis yang buruk pada karsinoma oral.

Penelitian ini menyimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara ekspresi TIMP-2 pada percontoh karsinoma sel skuamosa laring yang bermetastasis leher dan tanpa metastasis leher maupun yang berdiferensiasi buruk dengan yang berdiferensiasi sedang-baik. Selain itu juga tidak terdapat perbedaan bermakna antara ekspresi nilai TIMP-2 pada percontoh karsinoma sel skuamosa laring dengan derajat T awal dan T lanjut.

Penelitian ini hendaknya dilanjutkan dengan penelitian kesintasan. Percontoh yang telah diperiksa nilai ekspresi TIMP-2 dapat diikuti dan diteliti kekambuhan lokal, regional dan kekambuhan hematogenik serta angka ketahanan hidupnya yang kemudian akan dibandingkan dengan nilai ekspresi TIMP-2 tersebut. Sebaiknya penelitian ini juga dilanjutkan dengan memeriksa ekspresi MMP-2, MT1-MMP dan mengkorelasikan nilai ekspresi dengan TIMP-2 dan diteliti lebih lanjut baik untuk dihubungkan stadium klinis dan kesintasan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Snow GB, Patel P, Leeman CR, Tiwari R. Management of cervical lymph nodes in patients with head and neck cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1992; 249:187-94.
2. Ferlito A, Rinaldo A. Selective lateral neck dissection for laryngeal cancer with limited metastatic disease: is it indicated? *J Laryngol Otol* 1998; 112:1031-3.
3. Shaha AR. Radical neck dissection. *Operative Techniques in General Surgery* 2004; 6:72-82.
4. Young Chang Lim, Eun Chang Choi, Jin Seok Lee, Bon Seok Koo, Mee Hyun Song, Hyang Ae Shin. Is

- dissection of level IV absolutely necessary in elective lateral neck dissection for clinically N0 laryngeal carcinoma? *Oral Oncol* 2006; 42:102-7.
5. Sor W, Andrew S. Treatment outcome of N3 nodal head and neck squamous cell carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2003; 129:55-60.
 6. Coskun H, Erisen L, Basut O. Selective neck dissection for clinically N₀ neck in laryngeal cancer: is dissection of level IIb necessary? *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 131:655-9.
 7. Samant S, Robbins KT. Evolution of neck dissection for improved functional outcome. *World J Surg* 2003; 27:805-10.
 8. Schmalbach CE, Chepeha DB, Giordano TJ, Rubin MA, Teknos TN, Carol R, et al. Molecular profiling and the identification of genes associated with metastatic oral cavity/pharynx squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 130:295-302.
 9. Cortesina TM. Molecular metastases markers in head and neck squamous cell carcinoma: review of the literature. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2006; 26:317-25.
 10. Ruokolainen H, Pääkkö P, Turpeenniemi-Hujanen T. Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 is prognostic in head and neck squamous cell carcinoma: comparison of the circulating and tissue immunoreactive protein. *Clin Cancer Res* 2005; 11:3257-64.
 11. Krecicki T, Fraczek M, Jelen M, Podhorska M, Szkudlarek T, Zatoski T. Expression of collagenase-1 (MMP-1), collagenase-3 (MMP-13) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) in laryngeal squamous cell carcinomas. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2003; 260(9):494-7.
 12. Harish K. Neck dissections: radical to conservative. *World J Surg Oncol* 2005; 3:21-34.
 13. March A. Radical neck dissection [cited 2008 Mei 12]. Available from: <http://www.emedicine.medscape.com/article/849895-overview>.
 14. Jiang YI, Goldberg ID, Shi YE. Complex roles of tissue inhibitors of metalloproteinases in cancer. *Oncogene* 2002; 21(14):2245-52.
 15. Verstappen J, Von den Holf JW. Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): their biological functions and involvement in oral disease. *J Dent Res* 2006; 85(12):1074-84.
 16. Handsley MM, Edwards DR. Metalloproteinases and their inhibitor in tumor angiogenesis. *Int J Cancer* 2005; 115(6):849-60.
 17. Zhang JF, Zhang YP, Hao FY, Zhang CX, Li YJ, Ji XR. DNA ploidy analysis and expression of MMP-9, TIMP-2, and E-cadherin in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2005; 11(36):5592-600.
 18. Hong Q, Jun T, Lei J, Xiling J, Tamamura R. Expression and clinical significance of matrix metalloproteinase-2 and its inhibitor TIMP-2 in oral squamous cell carcinoma. *J Hard Tissue Biol* 2006; 15(2):54-60.
 19. Tetu B, Brisson J, Wang CS, Lapointe H, Beaudry G, Blanchette C, et al. The influence of MMP-14, TIMP-2 and MMP-2 expression on breast cancer prognosis. *Breast Cancer Res* 2006; 8(3):R28.
 20. Jayasooriya AKS, Bandoh N. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of metalloproteinase -2 (TIMP-2) expression in oral verrucous and squamous cell carcinoma. *Proceedings of the Peradeniya University Research Sessions* 2007; 12:116-8.
 21. Danilewicz M, Sikorska B, Wagrowska-Danilewicz M. Prognostic significant of the immunoexpression of matrix metalloproteinase MMP2 and its inhibitor TIMP2 in laryngeal cancer. *Med Sci Monit* 2003; 9(3):42-7.
 22. O-charoenrat P, Rhys-Evans PH, Eccles SA. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors correlates with invasion and metastasis in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 127:813-20.
 23. Christopoulos TA, Papageorgakopoulou N, Ravazoula P, Mastronikolis NS, Papadas TA, Theocharis DA, Det al. Expression of metalloproteinase and their tissue inhibitors in squamous cell laryngeal carcinoma. *Oncol Rep* 2007; 18(4):855-60.
 24. Katayama A, Bandoh N, Kishibe K, Takahara M, Ogino T, Nonaka S, et al. Expressions of matrix metalloproteinases in early-stage oral squamous cell carcinoma as predictive indicators for tumor metastases and prognosis. *Clin Cancer Res* 2004; 10(2):634-40.
 25. Yoshizaki T, Maruyama M, Sato H, Furukawa M. Expression of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 correlates with activation of matrix metalloproteinase-2 and predicts poor prognosis in tongue squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2001; 95:44-50.