



Artikel Penelitian

HUBUNGAN ANTARA EKSPRESI MMP-9 DENGAN USIA PASIEN DAN KEJADIAN METASTASIS KELENJAR GETAH BENING PADA TNBC

CORRELATION BETWEEN MMP-9 EXPRESSION WITH PATIENT AGE AND LYMPH NODE METASTASIS ON TNBC

Erry Aries Afrian,^a Siti Amarwati,^b Dik Puspasari,^b Ika Pawitra Miranti,^b Awal Prasetyo,^b Devia Eka Listiana^b

^a Residen Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, Indonesia

^b Staf Pengajar Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, Indonesia

Histori Artikel

Diterima:
28 Februari 2021

Revisi:
03 Maret 2021

Terbit:
15 Juli 2021

A B S T R A K

Triple negative breast cancer (TNBC) merupakan jenis karsinoma payudara yang agresif dan prognosis yang buruk. MMP-9 memiliki kemampuan mendegradasi membran basal sehingga berhubungan dengan invasi sel tumor dan metastasis kelenjar getah bening (KGB). Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan usia pasien dan metastasis ke kelenjar getah bening. Jenis penelitian ini adalah cross sectional, menggunakan 29 sampel blok parafin tumor primer pasien. Sampel dipulih dengan pengecatan imunohistokimia MMP-9 dinilai dengan menggunakan metode Allred (Ekspresi rendah=0-3; tinggi >4). Karakteristik klinikopatologis didapatkan dari rekam medis atau arsip patologi. Uji hipotesis menggunakan uji Fisher-Exact. Korelasi antara ekspresi MMP-9 dengan metastasis dinilai dengan korelasi Pearson untuk data nominal. Hasil penelitian diperoleh umur subyek penelitian adalah $49,8 \pm 9,67$ (32-73) tahun. Usia >40 tahun 22 subyek (75,9%). Kejadian metastasis KGB 75,9%. Ekspresi MMP-9 tinggi sebanyak 23 subyek (79,3%). Hubungan antara kategori usia >40 tahun dengan kejadian metastasis tidak bermakna ($p=0,6$). Hubungan antara kategori usia >40 tahun dengan ekspresi MMP-9 tinggi tidak bermakna ($p=0,6$). Hubungan antara kejadian metastasis dengan ekspresi MMP-9 tinggi adalah bermakna ($p<0,001$; koefisien korelasi=0,8 (95% IK=0,5 s/d 1,0), rasio prevalensi 5,7 (95% IK=1,0 s/d 34,4)). Hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan metastasis KGB yang bermakna dijumpai pada usia ≤ 40 tahun ($p=0,01$) dan usia >40 tahun ($p=0,04$). Kesimpulan penelitian ini adalah ekspresi MMP-9 yang tinggi berhubungan dengan metastasis ke kelenjar getah bening pada TNBC.

Kata Kunci

Triple negative breast cancer, metastasis kelenjar getah bening, MMP-9

A B S T R A C T

Triple negative breast cancer (TNBC) is an aggressive type of breast cancer carcinoma and associated with poor outcome. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) has capacity to degrade basement membrane and associated with tumor invasion and metastases to lymph node. Objective of this study is to investigate association between MMP-9 expression with age and lymph node metastasis. A cross sectional design is used in this study on 29 formalin-fixed paraffin-embedded primary breast tumor tissue blocks was conducted on Pathology Anatomy Laboratory Dr. Kariadi Hospital. Immunohistochemical staining of MMP-9 was rated using Allred method (Low expression 0-3; High >4). Clinicopathological characteristics were obtained through medical records or pathology archives. Hypothesis testing using Fisher Exact test. Correlation between MMP-9 expression and lymph node metastasis was using Pearson's correlation for binary data. Result of this study found that average of age was 49.8 ± 9.67 (32-73) years. Age >40 years 22 subjects (75.9%). Prevalence of lymph nodes metastasis 75.9%. High expression of MMP-9 23 subjects (79.3%). Association between age >40 years with lymph nodes metastasis is not significant ($p=0.6$). Association between age >40 years with high expression MMP-9 was not significant ($p=0.6$). Association between metastasis and high expression of MMP-9 is significant ($p<0.01$); correlation coefficient = 0.8 (95% CI=0.5 to 1.0); prevalence ratio 5.7 (95% CI= 1.0 to 34.4). Association between high expression MMP-9 with lymph nodes metastasis on ≤ 40 years ($p=0.01$) and age >40 years ($p=0.04$). Conclusion of this study is high expression of MMP-9 of breast tumor tissue is associated with lymph nodes metastasis.

Korespondensi

Tel.
081311023364

Email:
pa@fk.undip.ac.id

PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan kanker yang paling sering ditemukan pada wanita di seluruh dunia. Berdasarkan data dari *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2012 terdapat sekitar 1,67 juta kasus kanker payudara baru yang terdiagnosis (25% dari seluruh kanker pada wanita). Kanker payudara menempati urutan kelima penyebab kematian akibat kanker secara keseluruhan (522.000 kematian), setelah kanker paru, hati dan kolorektal.¹

Berdasarkan estimasi GLOBOCAN, *International Agency for Research on Cancer* (IARC) pada tahun 2012, insidensi kanker pada wanita di Indonesia yaitu 134 per 100.000 penduduk dengan insidensi tertinggi adalah kanker payudara sebesar 40 per 100.000 diikuti dengan kanker leher rahim sebanyak 17 per 100.000.¹⁻³ Prevalensi kanker payudara tertinggi terdapat di Daerah Istimewa Yogyakarta sebesar 2,4%. Berdasarkan estimasi jumlah penderita kanker serviks dan kanker payudara terbanyak terdapat di Jawa Timur dan Jawa Tengah. Besarnya masalah kanker payudara di Indonesia dapat dilihat dari jumlah pasien kanker payudara yang datang untuk pengobatan, dimana 60%-70% penderita sudah dalam stadium III-IV (stadium lanjut).^{4,5}

Kanker payudara merupakan penyakit yang mewakili berbagai entitas dengan tampilan morfologi yang berbeda. Data analisis ekspresi gen berhasil mengelompokkan karsinoma payudara invasif menjadi subtipen molekular yang berkaitan dengan sel asal tumor tersebut, yaitu luminal A, luminal B, HER2 enriched, *basal-like* dan *normal-like*. *St. Gallen Consensus Conference* terbaru menyatakan pentingnya

penentuan subgrup ini. Klasifikasi ini menunjukkan perbedaan insidensi, angka ketahanan hidup dan respon terhadap terapi. Ekspresi *estrogen receptor* (ER), *progesterone receptor* (PR) dan *human epidermal growth factor receptor* 2 (HER2) saat ini merupakan pemeriksaan standar dalam pemeriksaan imunohistokimia pada pasien kanker payudara invasif yang dapat menentukan prognostik, prediktif dan penting dalam panduan pemilihan terapi.^{6,7}

Triple negative breast cancer (TNBC) merupakan subtipen kanker payudara berdasarkan imunohistokimia yang tidak mengekspresikan ER, PR dan HER2. Diperkirakan dari seluruh kanker payudara didunia sekitar 170.000 kasus adalah TNBC dan mencakup 10-20% kanker payudara invasif.⁸ TNBC sering terjadi pada perempuan usia muda, premenopause, keturunan Afrika Amerika dan pada individu dengan mutasi BRCA1. TNBC berkaitan dengan sifat tumor yang agresif dan invasif, menyebar ke kelenjar getah bening meskipun tumor primer masih kecil dan menyebabkan kekambuhan dini, metastasis jauh dan prognosis yang buruk.^{9,10} TNBC dapat dikelompokkan menjadi 2 subgrup berdasarkan asal sel kanker, yaitu kelompok yang berasal dari sel basal disebut sebagai karsinoma *basal-like* dan kelompok yang tidak berasal dari sel basal disebut sebagai karsinoma *non basal like*. Meskipun asal kedua kelompok yang berbeda menyiratkan sifat biologi yang berbeda, keduanya masih ditangani sebagai 1 entitas yang sama hingga saat ini.¹¹

Matrix metalloproteinase (MMP) atau matrixin merupakan kelompok struktur endopeptidase bebas yang mengandung MMP

zink, berperan dalam degradasi *extracellular matrix* (ECM). MMP dibagi dalam 5 sub kelompok, yaitu *gelatinase* (MMP-2, MMP-9), *matrilysin*, *collagenase* (MMP-1, MMP-13), *stromelysin* (MMP-10, MMP-12), dan *membrane-type* MMP (MT-MMP).¹²⁻¹⁷ Pengaturan MMP diatur melalui 3 tingkatan, yaitu perubahan ekspresi gen, pengaktifan *zimogen latent*, dan penghambatan oleh *tissue-inhibitor matrix metalloproteinase* (TIMP).¹⁵ Pada keadaan fisiologik ketiga faktor tersebut akan bekerjasama dalam pengaturan MMP sedangkan gangguan pengaturan pada ketiga tingkatan tersebut berhubungan dengan progresifitas sel tumor. Bila terjadi ketidakseimbangan antara MMP dan TIMP dapat mengakibatkan terjadinya metastasis tumor.¹⁷ *Gelatinase* atau *collagenase* tipe IV (MMP-2 dan MMP-9) memiliki kemampuan untuk mendegradasi *triple helix collagen* tipe IV dari lamina basalis dan remodelling jaringan melalui *extracellular matrix* (ECM) dengan degradasi membran basalis dan merangsang angiogenesis. Walaupun serupa dalam struktur dan fungsinya kedua enzim *gelatinase* ini berasal dari transkripsi mRNA yang berbeda. MMP-9 memiliki peran dalam progresifitas suatu tumor dan penyebab penting terjadinya invasi dan metastasis pada karsinoma payudara.¹²⁻¹⁷

Berbagai penelitian mengenai ekspresi MMP-9 yang tinggi dihubungkan dengan prognosis yang buruk pada TNBC dan hubungannya dengan gambaran klinikopatologi telah dilakukan. Penelitian yang dilakukan oleh Shu Zhao et al. menunjukkan hubungan bermakna antara ekspresi MMP-9 yang tinggi

dengan metastasis *lymph node*, *grading histologi*, ukuran tumor lebih dari 2cm, ekspresi ki-67 yang tinggi, tetapi tidak berkaitan dengan status kemoterapi, status menstruasi, ekspresi P53, nilai CEA dan CA153 sebelum terapi.¹⁸ Penelitian ini didukung oleh penelitian Ruo-Xi Wang, et al. Yang menunjukkan hubungan bermakna antara ekspresi MMP-9 dengan ukuran tumor \leq 2cm, 2-5cm dan $>$ 5cm, metastasis KGB, dan ki-67 tetapi ekspresi MMP-9 tidak berhubungan bermakna dengan usia, status menopause dan status tumor, invasi vaskular, grading dan adanya penurunan ekspresi MMP-9 setelah mendapat *neoadjuvant therapy*.¹⁹ Penelitian oleh Einas M Yousef, et al. menunjukkan peningkatan ekspresi MMP-9 pada TNBC, Her-2 positif dan metastasis KGB.²⁰

Penelitian mengenai ekspresi MMP-9 pada populasi khusus, seperti TNBC, masih sangat terbatas. Selain itu, penelitian mengenai TNBC secara umum di Indonesia, khususnya masih sedikit. Pada penelitian ini akan dinilai hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan usia dan metastasis kelenjar getah bening pada pasien TNBC. Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka disusun permasalahan umum penelitian yaitu apakah ekspresi MMP-9 jaringan tumor payudara berhubungan dengan usia dan metastasis ke KGB pada TNBC? Tujuan umum penelitian ini adalah untuk membuktikan hubungan antara ekspresi MMP-9 jaringan tumor payudara berhubungan dengan usia dan metastasis ke kelenjar getah bening pada pasien TNBC.

METODE

Penelitian ini merupakan studi observasional analitik dengan rancangan potong lintang (*cross sectional*) yang bertujuan untuk menilai ekspresi imunohistokimia MMP-9 jaringan tumor payudara pada pasien TNBC dan juga hubungannya dengan gambaran klinikopatologi. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Kariadi Semarang. Skema rancangan penelitian adalah sebagai berikut:

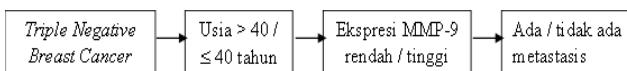


Diagram 1. Rancangan Penelitian

Populasi target pada penelitian ini adalah slide HE (Hematoxillin Eosin) dan blok parafin jaringan yang berasal dari payudara yang telah diagnosis sebagai karsinoma payudara menunjukkan ekspresi negatif terhadap imunohistokimia ER, PR dan HER2 dan termasuk kelompok TNBC. Sampel penelitian adalah slide HE dan blok parafin jaringan yang berasal dari payudara dengan diagnosis TNBC yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Sampel dipilih dengan metode *purposive sampling* yaitu preparat HE pada periode penelitian yang sesuai dengan kriteria penelitian akan digunakan sebagai sampel. Penelitian ini melibatkan 29 buah sampel blok parafin dari pasien TNBC.

Penelitian ini menggunakan pulasan imunohistokimia antibodi MMP-9 (*Mouse monoclonal antibody MMP-9* jenis *clone 7-11C*). Konsentrasi: 200 μ g/ml, pengenceran

1:100. *Produksi Santa Cruz Biotechnology ,Inc, California*. Pulasan MMP-9 pada blok parafin yang diambil dari tumor payudara jenis TNBC.

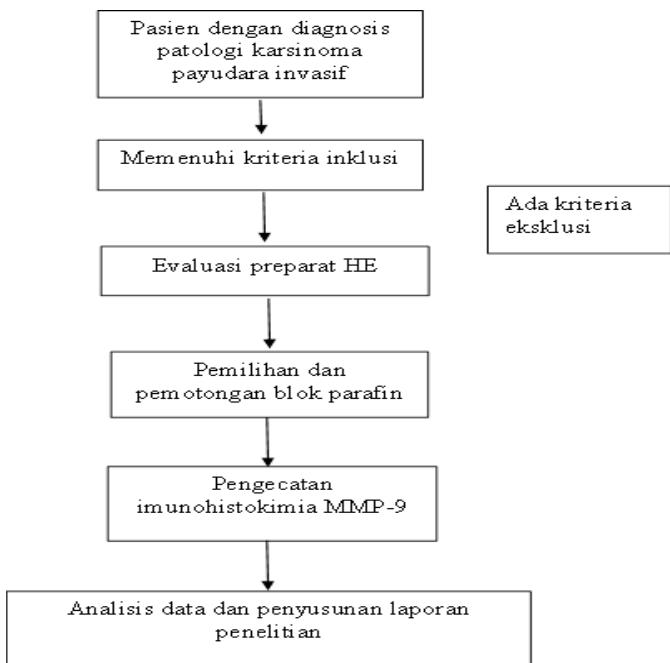


Diagram 2. Alur Kerja Penelitian

Tingkat ekspresi MMP-9 dinilai dengan menggunakan metode *Allred* yang menjumlahkan skor intensitas pulasan (negatif, 0; lemah, 1; sedang, 2; kuat, 3) dengan skor persentase sel yang terpulas (tidak ada, 0; <1%, 1; 1-10%, 2; 11-33%, 3; 34-66%, 4; 67-100%, 5). Interpretasi penjumlahan adalah sebagai berikut: Rendah, bila hasil penjumlahan didapatkan 0-3, Tinggi, bila hasil penjumlahan didapatkan ≥ 4 . Adanya metastasis adalah berdasarkan pemeriksaan histopatologis pasca operasi terdapat metastasis sel tumor payudara ke kelenjar getah bening regional. Penilaian ekspresi MMP-9 secara semikuantitatif oleh peneliti dan dua orang spesialis Patologi Anatomik secara terpisah. Penilaian 1 tidak

mengetahui hasil penilai 2 ataupun sebaliknya. Kesesuaian hasil pembacaan oleh penilai 1 dengan penilai 2 diuji dengan uji Kappa. Hasil uji kappa menunjukkan nilai kesesuaian adalah 100%.

Data yang terkumpul berupa data nominal (data kategorik). Data yang telah diperoleh akan ditabulasi dan dilakukan analisis statistik untuk mengetahui karakteristik sampel dan mengevaluasi ekspresi MMP-9 pada setiap gambaran klinikopatologi TNBC yang dijumpai. Analisis data meliputi analisis deskriptif dan uji hipotesis. Pada analisis deskriptif data yang berskala kontinyu yaitu usia pasien akan dinyatakan sebagai rerata dan simpang baku. Data berskala kategorial seperti kategori usia, kategori ekspresi MMP-9 jaringan tumor payudara dan adanya metastasi ke KGB akan dinyatakan sebagai jumlah dan persentase.

Hubungan antara kategori usia pasien dengan kejadian metastasis ke KGB, hubungan antara kategori usia dengan ekspresi MMP-9, hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan kejadian metastasis ke KGB dan hubungan antara ekspresi MMP-9 jaringan tumor payudara dengan kejadian metastasis KGB berdasarkan kategori usia pada TNBC dianalisis dengan *Fisher-exact* oleh karena dijumpai sel pada tabel dengan frekuensi harapan kurang 5 jumlahnya lebih dari 20%. Hubungan dinyatakan bermakna apabila $p < 0,05$. Koefisien korelasi dihitung berdasarkan *Pearson's R* pada tabel 2X2. Analisis data menggunakan program SPSS for Windows versi 25.

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari komisi etik penelitian Kesehatan FK Undip/RSUP Dr. Kariadi

Semarang nomor *Ethical Clearance* (EC): 510/EC/KEPK-RSDK/2020.

HASIL

Tabel 1. Deskriptif skor MMP-9 antara pembaca 1 dan 2

Pembaca	Variabel	Frekuensi	%
Pembaca 1	Skor MMP-9		
	Rendah	2	6,9
	Tinggi	27	93,1
	Total	29	100
Pembaca 2	Skor MMP-9		
	Rendah	2	6,9
	Tinggi	27	93,1
	Total	29	100

Tabel 2. Hasil uji kappa skor MMP-9 antara pembaca 1 dan 2

	Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig
Measure of Agreement Kappa	1.000	.000	5.385	.000
N of Valid Cases	29			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Berdasarkan hasil uji Kappa ekspresi MMP-9 antara pembaca 1 dan pembaca 2 didapatkan nilai Kappa = 1 = 100% (Kappa > 75%), maka dapat disimpulkan kesesuaian yang didapat dari kedua pembaca tersebut untuk Skor MMP-9 tergolong sangat baik.

Rerata umur subyek penelitian adalah $49,8 \pm 9,67$ tahun dengan umur termuda adalah 32 tahun dan tertua adalah 73 tahun. Berdasarkan kategori umur dijumpai sebagian besar adalah berusia > 40 tahun (75,9%). Hasil pemeriksaan imunohistokimia pada preparat HE jaringan tumor payudara menunjukkan ekspresi *Estrogen Receptor* (ER), *Progesteron Receptor* (PR) dan HER2 seluruhnya adalah negatif.

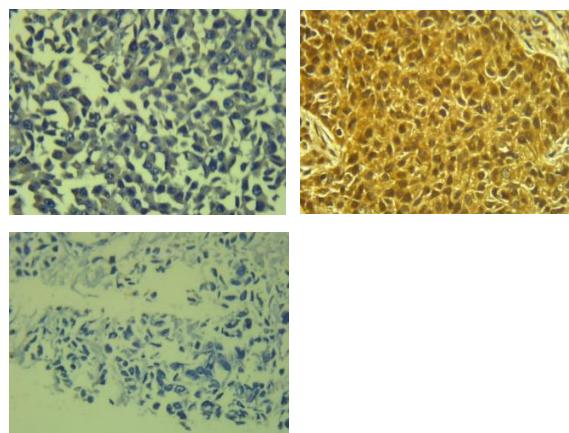
Tabel 3. Karakteristik klinis dan histopatologis subyek penelitian

Karakteristik	Rerata±SB (min – maks)	n (%)
Usia (tahun)	49,8±9,67 (32-73)	-
Kategori usia	-	
- ≤ 40 tahun	-	7 (24,1)
- > 40 tahun		22 (75,9)
Expresi ER		
- Negatif		29 (100)
- Positif		0 (0,0)
Expresi PR		
- Negatif		29 (100)
- Positif		0 (0,0)
Expresi HER2		
- Negatif		29 (100)
- Positif		0 (0,0)
Ekspresi Ki-67		
- ≤ 20%		0 (0,0)
- > 20%		29 (100)
Expresi MMP-9		
- Rendah		6 (20,7)
- Tinggi		23 (79,3)
Metastasis KGB		
- Tidak metastasis		7 (24,1)
- Metastasis		22 (75,9)

Pemeriksaan ekspresi Ki-67 menunjukkan seluruhnya adalah >20%. Ekspresi MMP-9 tinggi dijumpai pada sebagian besar subyek penelitian (79,3%). Sampel gambaran histopatologis MMP-9 ditampilkan pada gambar 3 di bawah.

Pada tabel 4 diketahui baik pada subyek usia > 40 tahun maupun ≤ 40 tahun sebagian besar ada metastasis. Pada kelompok usia > 40 tahun kejadian metastasis adalah lebih tinggi dibanding kelompok usia ≤ 40 tahun (81,8% vs 71,4%), namun hasil uji statistik menunjukkan hubungan antara kategori usia dengan kejadian metastasis adalah tidak bermakna ($p=0,6$). Korelasi antara kategori usia dengan metastasis ke KGB adalah sangat rendah ($r=1,1$; 95% IK = -0,3 s/d 0,5). Risiko terjadinya metastasis ke KGB pada kelompok usia > 40 tahun adalah 1,1 X lebih besar dibanding kelompok usia ≤ 40

tahun, namun karena 95% Interval Kepercayaan (IK) yang melingkupi angka 1 maka risiko terjadinya metastasis ke KGB pada kelompok usia > 40 tahun adalah belum dapat disimpulkan.



Gambar 3. Sampel gambaran histopatologis MMP-9 pada jaringan tumor payudara pasien TNBC (n=29). Panel A ekspresi MMP-9 rendah. Panel B ekspresi MMP-9 tinggi. Panel C tidak terekspresi MMP-9. Pembesaran 40x.

Pada tabel 5 diketahui baik pada subyek usia > 40 tahun maupun ≤ 40 tahun sebagian besar memiliki ekspresi MMP-9 yang tinggi.

Tabel 4. Hubungan antara kategori usia dengan kejadian metastasis ke KGB

Kategori usia (tahun)	Metastasis KGB		p^*
	Metastasis n (%)	Tidak metastasis n (%)	
- > 40	18 (81,8%)	4 (18,2%)	0,6
- ≤ 40	5 (71,4%)	2 (28,6%)	

*Uji Fisher-exact
Koefisien korelasi=0,1 (95% IK = -0,3 s/d 0,5)
Rasio prevalensi= 1,1 (95% IK= 0,7 s/d 1,9)

Pada kelompok usia > 40 tahun ekspresi MMP-9 yang tinggi adalah lebih besar dibanding kelompok usia ≤ 40 tahun (81,8% vs 71,4%), namun hasil uji statistik menunjukkan hubungan antara kategori usia dengan ekspresi MMP-9

jaringan tumor payudara adalah tidak bermakna ($p=0,6$).

Tabel 5. Hubungan antara kategori usia dengan ekspresi MMP-9 jaringan tumor payudara

Kategori usia (tahun)	Ekspresi MMP-9		P^*
	Tinggi n (%)	Rendah n (%)	
- > 40	18 (81,8%)	4 (18,2%)	
- ≤ 40	5 (71,4%)	2 (28,6%)	0,6

*Uji Fisher-exact
Point biserial koefisien korelasi= 1,1 (95% IK= -0,3 s/d 0,5
Rasio prevalensi= 1,1 (95% IK= 0,7 s/d 1,9)

Korelasi antara kategori usia dengan metastasis ke KGB adalah sangat rendah ($r=1,1$; 95% IK= -0,3 s/d 0,5). Risiko terjadinya metastasis ke KGB pada kelompok usia >40 tahun adalah 1,1 X lebih besar dibanding kelompok usia ≤ 40 tahun, namun karena 95% Interval Kepercayaan (IK) yang melingkupi angka 1 maka risiko terjadinya metastasis ke KGB pada kelompok usia > 40 tahun adalah belum dapat disimpulkan.

Tabel 6. Hubungan antara ekspresi MMP-9 jaringan tumor payudara dengan kejadian metastasis ke KGB

Ekspresi MMP-9	Metastasis KGB		P^*
	Metastasis n (%)	Tidak metastasis n (%)	
- Tinggi	22 (95,7%)	1 (4,3%)	
- Rendah	1 (16,7%)	5 (83,3%)	< 0,001

*Uji Fisher-exact
Koefisien korelasi= 0,8 (95% IK= 0,5 s/d 1,0)
Rasio prevalensi= 5,7 (95% IK= 1,0 s/d 34,4)

Pada tabel 6 diketahui sebagian besar subyek dengan ekspresi MMP-9 yang tinggi ada metastasis ke KGB (95,7%), sedangkan subyek

dengan ekspresi MMP-9 yang rendah sebagian besar tidak ada metastasis (83,3%). Hasil uji statistik menunjukkan hubungan antara ekspresi MMP-9 jaringan tumor payudara dengan kejadian metastasis ke KGB adalah bermakna ($p<0,001$). Hasil analisis juga menunjukkan hubungan antara ekspresi MMP-9 jaringan tumor payudara dengan kejadian metastasis ke KGB adalah berderajat sangat kuat ($r=0,8$; 95% IK= 0,5 s/d 1,1). Risiko terjadinya metastasis ke KGB pada subyek dengan ekspresi MMP-9 tinggi adalah 5,7 X lebih besar dibanding subyek dengan ekspresi MMP-9 rendah (Rasio 5,7 (95% IK= 1,0 s/d 34,4).

Tabel 5.7. Hubungan antara ekspresi MMP-9 jaringan tumor payudara dengan kejadian metastasis KGB berdasarkan kategori umur (n=29)

Kategori usia	Ekspresi MMP 9	Metastasis KGB		p^*
		Metastasis n (%)	Tidak metastasis n (%)	
- > 40 tahun	Tinggi	17 (94,4%)	1 (5,6%)	0,01
	Rendah	1 (25,0%)	3 (75,0%)	
- ≤ 40 tahun	Tinggi	5 (100%)	0 (0%)	0,04
	Rendah	0 (0%)	2 (100%)	

* Uji Fisher-exact

Pada tabel 5.7 diketahui pada kelompok usia > 40 tahun sebagian besar subyek dengan ekspresi MMP-9 tinggi ada metastasis ke KGB (94,4%). Hasil uji statistic menunjukkan hubungan tersebut adalah bermakna ($p=0,01$). Pada kelompok usia ≤ 40 tahun, seluruh subyek dengan ekspresi MMP-9 tinggi ada metastasis ke KGB (100%). Hasil uji statistik juga menunjukkan hubungan tersebut adalah bermakna ($p=0,04$).

DISKUSI

Karakteristik usia subyek penelitian

Data usia yang diperoleh pada penelitian ini adalah rata-rata usia penderita TNBC 49,8 tahun, paling muda usia 32 tahun dan yang paling tua usia 73 tahun. Rerata umur subyek penelitian ini kurang lebih sama dengan penelitian lainnya yaitu kurang lebih 46,8 tahun. Dalam penelitian tersebut TNBC berkorelasi secara bermakna dengan usia yang lebih muda saat diagnosis dan pada derajat histopatologi yang lebih berat. Mayoritas dari TNBC adalah *Invasif carcinoma mammae of no special type, high grade, medullary carcinomas and metaplastic carcinoma* dengan menyampaikan bahwa TNBC dapat terjadi di semua subtype histologis kanker payudara, dengan kemungkinan implikasi pada patogenesisnya. Studi lain menunjukkan rerata umur yang lebih tua yaitu kurang lebih usia 60 tahun (rentang 24 – 94 tahun).⁴⁶ Penelitian tersebut menyimpulkan TNBC primer pada pasien yang lebih muda, lebih sering memiliki derajat diferensiasi yang buruk dan sangat proliferatif dibandingkan dengan pasien yang lebih tua. Pada penelitian ini dijumpai sebagian besar subyek penelitian berusia lebih dari 40 tahun. Hal ini sejalan dengan penelitian lainnya yang menunjukkan bahwa TNBC lebih sering terjadi pada pasien usia lebih dari 40 tahun dibandingkan dengan pasien usia dibawah 40 tahun. Penelitian lain juga menunjukkan TNBC lebih banyak dijumpai pada kelompok usia > 40 tahun.⁶

Tingkat Ekspresi MMP-9

Pada penelitian ini dijumpai sebagian besar jaringan tumor payudara pasien memiliki ekspresi MMP-9 yang tinggi. Hasil penelitian ini

sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh Lestar pada subyek dengan tumor jenis histologis yang berbeda. Peningkatan kadar MMP-9 terdapat pada sel karsinoma *triple negative*, tumor HER2-positif dan metastasis ke kelenjar getah bening.¹¹ Tingkat ekspresi MMP-9 yang rendah terdeteksi di sitoplasma sel kanker di luminal A dan B tumor payudara. Sel stromal yang mengelilingi sel kanker di luminal A dan B hanya menunjukkan tingkat Ekspresi MMP-9 yang samar-samar. Di samping itu, peningkatan level ekspresi MMP-9 terdeteksi di stroma yang mengelilingi sel kanker di kedua *triple-negative* dan kanker payudara positif HER2. Namun demikian, levelnya dari MMP-9 dalam sitoplasma sel kanker selalu melebihi yang ditemukan di sel stroma yang berdekatan. Selanjutnya, ketika kadar MMP-9 dievaluasi dalam sitoplasma sel karsinoma, ditemukan bahwa semua sel tumor menunjukkan peningkatan level MMP-9 sedangkan sel limfositik dan stroma sekitarnya tidak mengekspresikan MMP-9. Penelitian tersebut mengkonfirmasi hubungan antara tinggi tingkat ekspresi MMP-9 (skor total > 4) dengan tumor dengan tingkat histologis tinggi (*Grade III*) termasuk baik kanker payudara HER2-positif maupun *triple-negative*.⁴⁷ Penelitian lain menjumpai bahwa ekspresi MMP-9 juga terdapat pada kanker serviks.¹² Penelitian tersebut menyimpulkan bahwa pemberian nutrisi yang mengandung nutrient seperti *lysine, proline, arginine, ascorbic acid, and epigallocatechin gallate* dapat menghambat ekspresi MMP-9.¹² Pada penelitian lain oleh Gaiotto dijumpai bahwa ekspresi MMP-2 ditemukan meningkat secara bertahap sesuai

dengan derajat neoplasia intraepitel serviks dan karsinoma serviks, studi tersebut meneliti 60 sampel jaringan serviks yang telah didiagnosis neoplasia intraepitel serviks I (CIN I), CIN II, CIN III, dan karsinoma serviks.¹³

Hasil penelitian ini juga sesuai dengan beberapa penelitian sebelumnya yaitu ekspresi MMP-9 yang tinggi berhubungan dengan prognosis yang buruk pada TNBC dan gambaran klinikopatologinya. Penelitian yang dilakukan oleh Zhao menunjukkan hubungan bermakna antara ekspresi MMP-9 yang tinggi dengan metastasis *lymph node*, ekspresi ki-67 yang tinggi, tetapi tidak berkaitan dengan status kemoterapi, status menstruasi, ekspresi P53, nilai CEA dan CA153 sebelum terapi.¹⁸ Penelitian ini juga didukung oleh penelitian Wang, yang menunjukkan adanya hubungan bermakna antara ekspresi MMP-9 dengan metastasis ke KGB, tetapi ekspresi MMP-9 tidak berhubungan dengan usia.¹⁹

Matriks metaloproteinase (MMPs) merupakan keluarga enzim proteolitik yang mengandung seng yang memecah protein matriks ekstraseluler (ECM) dalam kondisi fisiologis dan patologis. Gangguan pada kontrol ketat metabolisme MMP terjadi pada kanker, mengakibatkan kerusakan ECM yang berlebihan, neovaskularisasi, penyebaran tumor dan metastasis. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa ekspresi MMP yang berlebihan dikaitkan dengan prognosis yang buruk. Beberapa inhibitor MMP telah dikembangkan dan uji praklinis telah mengkonfirmasi penurunan penyebaran tumor dan metastasis.¹⁴

Salah satu keluarga enzim yang telah terbukti selama bertahun-tahun berperan dalam

perkembangan tumor adalah keluarga MMP. Fungsi utama MMPs, juga dikenal sebagai *matrixin*, adalah degradasi fungsi fisiologis matriks ekstraseluler yang melibatkan MMPs termasuk penyembuhan luka, resorpsi tulang dan involusi mammae. MMP juga berkontribusi pada kondisi patologis termasuk rheumatoid arthritis, penyakit arteri koroner, dan kanker. Sel tumor diyakini memanfaatkan kemampuan penurunan matriks enzim ini untuk menyebar ke tempat yang jauh. Selain itu, MMP juga dianggap meningkatkan pertumbuhan sel tumor ini setelah mereka bermetastasis. MMPs memiliki peran dalam invasi tumor, angiogenesis dan metastasis dengan penekanan khusus pada gelatinase, MMP-2 dan MMP-9.¹⁵

Hasil penelitian Li menunjukkan bahwa MMP-2 dan MMP-9 mRNA dan tingkat ekspresi protein secara signifikan lebih tinggi pada sel MDA - MB - 231 dan MCF-7 dibandingkan di sel HS578Bst.¹⁶ Ekspresi tinggi MMP-2 dan MMP-9 ditemukan masing-masing pada sebagian besar sampel jaringan kanker payudara. Ekspresi MMP-2 dan MMP-9 pada jaringan kanker payudara secara signifikan berbeda dari pada jaringan normal yang berdekatan dengan tumor. Tingkat ekspresi MMP-2 dan MMP-9 pada jaringan kanker payudara berhubungan dengan metastasis kelenjar getah bening dan stadium tumor. MMP-2 dan MMP-9 merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi prognosis kanker payudara. MMP- 2 dan MMP- 9 sangat terekspresikan dalam jaringan kanker payudara dan terkait erat dengan metastasis kelenjar getah bening dan penentuan stadium tumor. MMP- 2 dan MMP- 9 dapat digunakan sebagai indeks

referensi untuk memandu prognosis dan pengobatan kanker payudara.¹⁶

Studi lain menunjukkan bahwa Gelatinase A (MMP-2) dan gelatinase B (MMP-9) merupakan enzim proteolitik yang terlibat dalam proses invasi tumor, dan dianggap sebagai penanda tumor pada pasien kanker payudara.¹⁷ Aktivitas proMMP-2 dan proMMP-9 meningkat secara signifikan dengan setiap stadium klinis penyakit yang lanjut. Studi tersebut mendapatkan korelasi positif antara aktivitas proMMP-2 dan proMMP-9 dan ukuran tumor. Pasien dengan kanker kelenjar getah bening positif memiliki aktivitas proMMP-2 dan proMMP-9 yang lebih tinggi dibandingkan dengan kanker kelenjar getah bening negatif. Aktivitas ProMMP-2 dan proMMP-9 tidak terkait dengan ekspresi reseptor Her2 / neu, tetapi pasien dengan ekspresi berlebih Her2/neu (3+) menunjukkan peningkatan aktivitas proMMP-2. Skor reseptor steroid tidak terkait dengan aktivitas gelatinase yang ditingkatkan. Hubungan antara peningkatan aktivitas proMMP-2 dan proMMP-9 dalam ukuran serum dan tumor serta status kelenjar getah bening menunjukkan kegunaan enzim-enzim ini sebagai penanda stadium pasien kanker payudara.¹⁷

Beberapa penelitian lain telah menunjukkan bahwa ekspresi secara keseluruhan jumlah MMP meningkat seiring dengan perkembangan tumor payudara dan beberapa MMP berkorelasi dengan invasi tumor, metastasis atau hasil yang lebih buruk. Penelitian tersebut menunjukkan overekspresi MMP-1, -9, -11, -12 dan -13 pada tumor di bandingkan dengan jaringan payudara normal. MMP-9 adalah biomarker potensial, dan nya ekspresi

tinggi telah didokumentasikan dalam banyak jenis kanker, namun ekspresinya tidak konsisten di semua penelitian dilakukan pada kanker payudara. Ekspresi MMP-9 yang tinggi pada *Invasive Ductal Carcinoma* (IDC) telah terbukti menjadi biomarker potensial. MMP-9 diekspresikan di sebagian besar sampel IDC dan juga meningkat pada sebagian besar sampel IDC. Ekspresi MMP9 memiliki korelasi borderline dengan sample overall survival (OS).⁴⁷ Studi lain menjelaskan bahwa menemukan ekspresi MMP-9 oleh IHC pada sebagian besar kasus. Penelitian ini menunjukkan adanya hubungan yang bermakna antara derajat tumor dan ekspresi MMP-9. Penelitian lain juga menunjukkan korelasi yang signifikan antara ekspresi MMP-9 dan derajat tumor. Derajat tumor dan stadium tumor merupakan penanda prognostik yang telah diketahui, oleh karena itu MMP-9 membawa nilai prognostik potensial.⁴³

MMP-9 yang diproduksi oleh sel tumor meningkatkan vaskularisasi tumor dengan hanya berdampak kecil pada pertumbuhan tumor primer, dan bahwa penekanan ekspresi MMP-9 dalam sel tumor mengarah pada program transkripsi yang diubah sesuai dengan pengembalian ke fenotipe yang kurang ganas. MMP-9 paling banyak diekspresikan pada tumor basal-like dan tumor triple negatif, yang menunjukkan bahwa hal tersebut berkontribusi pada perkembangan metastasis. Penelitian ini menunjukkan bahwa MMP9 mungkin menawarkan target untuk terapi anti-metastasis untuk kanker payudara triple negatif basal-like, subtipe prognosis yang buruk dengan pilihan terapi yang ditargetkan secara molekuler.⁴⁵

Penelitian Wang menunjukkan sebagian kecil pasien mengalami respon lengkap patologis (pCR) setelah selesai dari neoadjuvant chemotherapy (NAC).¹⁹ Perubahan relatif di sMMP-9, saat baseline atau operasi memiliki nilai prediksi yang baik untuk pCR. Setiap 1 ng / ml penurunan sMMP-9 setelah NAC terbukti menghasilkan peningkatan 0,3% pada tingkat pCR. Selain itu, dalam analisis kelangsungan hidup, ekspresi hMMP-9 dalam format tumor sisa secara independen berkorelasi dengan kelangsungan hidup bebas penyakit untuk responden non-pCR. Studi ini menyimpulkan bahwa pemantauan serum MMP-9 dan deteksi histologis MMP-9 dapat membantu identifikasi pasien TNBC yang akan merespon NAC dan akan menunjukkan berbagai risiko kekambuhan penyakit. MMP-9 dapat berfungsi sebagai biomarker prediktif dan prognostik untuk menyesuaikan dan memodifikasi strategi NAC untuk TNBC.¹⁹

Penelitian lain yang membandingkan kanker payudara triple negative dengan kanker payudara non triple negative dijumpai ekspresi MMP-9 pada TNBC lebih tinggi secara bermakna dibanding non-TNBC.⁴⁸ Ekspresi MMP-9 di TNBC dikaitkan dengan stadium TNM, derajat histologis, status kelenjar getah bening, dan invasi vaskular, tetapi tidak dengan usia dan ukuran tumor. Tingkat kekambuhan dan metastasis pada ekspresi positif MMP -9 lebih tinggi daripada ekspresi negatif MMP-9 pada TNBC. Studi ini menyimpulkan bahwa Ekspresi MMP-9 di TNBC signifikan lebih tinggi dari yang non TNBC, dan ekspresinya dikaitkan dengan tingkat kekambuhan dan metastasis dalam 3 tahun.⁴⁸

Hubungan antara kategori usia dengan ekspresi MMP-9.

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa baik pada subyek usia > 40 tahun maupun < 40 tahun sebagian besar ada metastasis. Pada kelompok usia > 40 tahun kejadian metastasis adalah lebih tinggi dibanding kelompok usia < 40 tahun (81,8% vs 71,4%), namun hasil uji statistik menunjukkan hubungan antara kategori usia dengan kejadian metastasis adalah tidak bermakna ($p=0,6$).

Penelitian ini sesuai dengan penelitian lain dengan jumlah sampel sebanyak 50 penderita karsinoma duktal invasif payudara di RSUP Sardjito, Yogyakarta, didapatkan hasil bahwa tidak didapatkan hubungan bermakna antara ekspresi MMP9 dengan usia ($p: 1,000$).⁵³

Penelitian lain yang mendukung adalah penelitian pada 88 buah kasus tumor payudara primer pada yang menjalani operasi pada Clinical Hospital of Porto Alegre of the Universidade Federal do Rio Grande do Sul dari januari 2000 hingga Desember 2004. Penelitian ini menilai ekspresi MMP-9 dan VEGF dan hubungannya dengan usia, diameter tumor, tipe histologi, derajat histologi, lymph node aksila dan invasi vascular. Hasil dari penelitian tersebut menjelaskan bahwa tidak terdapat korelasi antara MMP-9 dan VEGF dengan usia pasien.⁵⁴

Penelitian lainnya menggunakan 40 blok parafin pada pasien TNBC dengan stadium I hingga IIIA diteliti dari tahun 2008 hingga 2010 di RS dr. Sardjito didapatkan hasil bahwa tidak terdapat hubungan antara usia dengan TNBC. Penelitian ini menyimpulkan bahwa pasien TNBC di Indonesia sebagian besar ditemukan pada pasien dengan ukuran tumor

yang besar, metastasis ke KGB, derajat histopatologi yang tinggi dan relatif ditemukan pada usia muda.⁵⁵

Hubungan antara kategori usia dengan kejadian metastasis ke KGB.

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa baik pada subyek usia > 40 tahun maupun < 40 tahun sebagian besar memiliki ekspresi MMP-9 yang tinggi. Pada kelompok usia > 40 tahun ekspresi MMP-9 yang tinggi adalah lebih besar dibanding kelompok usia < 40 tahun (81,8% vs 71,4%), namun hasil uji statistik menunjukkan hubungan antara kategori usia dengan ekspresi MMP-9 jaringan tumor payudara adalah tidak bermakna ($p=0,6$).

Penelitian ini berbeda dengan penelitian di *Cancer Center, Renmin Hospital of Wuhan University*, Wuhan, China yang meneliti 26863 pasien dengan TNBC primer disertai dengan metastasis jauh. Penelitian ini menjelaskan bahwa terdapat hubungan yang bermakna antara usia dengan kejadian metastasis dengan nilai $p < 0,001$. Penelitian ini menyimpulkan bahwa pasien TNBC usia tua, stadium klinis yang tinggi, dan ukuran tumor yang besar, memiliki resiko lebih besar terjadinya metastasis dan memiliki prognosis yang lebih buruk.⁵⁶

Hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan kejadian metastasis ke KGB

Pada penelitian ini didapatkan bahwa sebagian besar subyek dengan ekspresi MMP-9 yang tinggi ada metastasis ke KGB (95,7%), sedangkan subyek dengan ekspresi MMP-9 yang rendah sebagian besar tidak ada metastasis (83,3%). Hasil uji statistik menunjukkan hubungan antara ekspresi MMP-9 jaringan tumor payudara dengan kejadian metastasis ke

KGB adalah bermakna ($p < 0,001$). Hasil analisis juga menunjukkan hubungan antara ekspresi MMP-9 jaringan tumor payudara dengan kejadian metastasis ke KGB adalah berderajat sangat kuat ($r=0,8$; 95% IK= 0,5 sd 1,1).

Pada penelitian ini dijumpai adanya hubungan yang bermakna antara tingkat ekspresi MMP-9 dengan metastasis ke kelenjar getah bening. Selain itu juga diketahui ekspresi MMP-9 yang tinggi juga merupakan faktor risiko terjadinya metastasis. Dari hasil ini dapat disimpulkan ada hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan metastasis ke kelenjar getah bening dengan pada TNBC.

Hasil penelitian ini sesuai dengan beberapa studi yang menunjukkan bahwa ekspresi MMP meningkat seiring dengan perkembangan tumor payudara dan beberapa MMP berkorelasi dengan invasi tumor, metastasis atau prognosis yang lebih buruk. Studi tersebut menunjukkan over ekspresi MMP-1, -9, -11, -12 dan -13 pada tumor dibandingkan pada jaringan payudara normal. MMP-9 adalah biomarker yang potensial, dan menunjukkan ekspresi tinggi pada berbagai jenis kanker. Ekspresi MMP-9 tinggi dapat menjadi biomarker potensial untuk *Invasive Ductal Carcinoma*.⁴⁷

Studi lain juga menjelaskan bahwa over ekspresi MMP-9 juga dikaitkan dengan insiden metastasis yang tinggi. Peningkatan lekspresi MMP-9 itu terkait dengan insiden metastasis yang lebih tinggi. Ekspresi MMP-9 yang tinggi berhubungan secara bermakna dengan metastasis ke kelenjar getah bening, invasi limfovaskular dan metastasis paru dibanding pasien dengan ekspresi MMP-9 rendah.

Penelitian ini juga menunjukkan adanya hubungan antara peningkatan ekspresi ekspresi MMP-9 dengan risiko terjadinya metastasis. Hasil penelitian ini juga menunjukkan subtipe molekuler triple-negatif merupakan prediktor independen terjadinya metastasis.²⁰

MMPs berperan dalam perkembangan kanker sebagai target potensial untuk terapi kanker. MMP juga telah digunakan untuk metode diagnostik dalam deteksi tumor primer dan jaringan metastatik. MMP tertentu diekspresikan secara berlebihan untuk menindaklanjuti terapi respons.¹⁹

Kaskade metastasis terdiri dari serangkaian peristiwa biologis kompleks yang berurutan yang dimulai dengan pencapaian sel tumor dari kemampuan metastasis dalam lingkungan tumor (TME) yang memungkinkan mereka untuk melepaskan dari tumor primer dan membentuk koloni baru yang cocok di lokasi jauh. Kaskade metastasis terdiri atas Sel neoplastik yang berasal dari sel somatik atau dari *cancer stem cell* (CSC) yang berasal dari sel induk normal, sel progenitor atau dari sel epitel non-stem.³⁷

Selain kondisi lingkungan mikro tumor (TME) berubah (penurunan kadar O₂, pH, dan nutrien), sel neoplastik memperoleh karakteristik sel mesenkim melalui proses *epithelial-mesenchymal transition* (EMT). Karakteristik tersebut meliputi induksi angiogenesis dan limfangiogenesis. Metastasis sel terlepas dari tumor primer dan bermigrasi (invasi) sampai mereka mencapai pembuluh darah atau limfatik dan menembus dinding pembuluh darah (intravasasi).³⁷ Dalam rangka bertahan dari pengaruh shear stress dan

menghindari *immune surveillance, circulating tumor cells* (CTC) membentuk agregat sel dengan trombosit. Sel kanker sendiri atau di dalam cluster ditangkap di capillair bed organ yang jauh, keluar sirkulasi (ekstravasasi) dan menginfiltrasi jaringan yang lain. Sel neoplastik dapat dihancurkan oleh imun sistem, memasuki dormansi atau beradaptasi dengan lingkungan mikro baru. Sel neoplastik dapat berkembang biak membentuk mikrometastasis yang tidak terdeteksi secara klinis. Setelah beberapa saat dan pada yang tepat kondisi, akan tumbuh dan berkembang menjadi makrometastasis. Secara singkat, di sel neoplastik tumor primer di bawah faktor stres lingkungan mikro seperti hipoksia, keasaman dan inflamasi sitokin, berubah dari epitel berdiferensiasi baik sel menjadi sel mesenkim yang tidak berdiferensiasi dengan migrasi kapasitas. Proses ini dikenal sebagai *epithelial-mesenchymal transition* (EMT) memungkinkan sel untuk menginvasi jaringan sekitar sistem peredaran darah atau limfatik.⁴⁹

Sel kanker juga dapat menyebabkan pembentukan pembuluh darah baru atau pembuluh limfatik di tumor primer. Setelah itu, sel metastatik melintasi dinding pembuluh darah (intravasasi), dan bersirkulasi di dalam darah atau aliran limfatik dimana mereka perlu mengatasi tekanan sirkulasi dan menghindari kekebalan respon sampai mereka ditangkap di *capillary bed* yang jauh. Pada titik ini, sel menyerang endotel vascular (ekstravasasi) dan bermigrasi ke organ baru di mana sel kanker berubah dari *mesenchymal* to the *epithelial phenotype* (MET), dan, tergantung dari kondisi relung metastatis, mereka tetap tidak aktif atau berkembang biak membentuk koloni metastatik.

MMP secara aktif berpartisipasi dalam seluruh perjalanan metastasis sebagai konsekuensi dari fungsi biologis termasuk kapasitasnya untuk menurunkan komponen ECM dan kemampuannya untuk berinteraksi dan mengatur faktor pertumbuhan yang berbeda, sitokin dan kemokin.³⁷

MMP merupakan faktor utama di setiap tahapan kaskade metastasis. Kematian akibat kanker adalah konsekuensi dari lesi metastasis. Penelitian MMPIs sebagai penanda diagnostik dan prognostic semakin meningkat. Penghambatan fungsi MMPIs merupakan pendekatan terapeutik baru untuk mengontrol perkembangan kanker payudara. Namun, uji klinis fase III memiliki menunjukkan bahwa MMPIs tidak berguna untuk meningkatkan kelangsungan hidup. Lebih lanjut, pengobatan MMPI menghasilkan efek toksik yang membatasi dosis maksimal yang dapat ditoleransi. Selain itu, beberapa MMP adalah anti-target, dan ketika MMP ini dihambat, efek perlindungan inang akan hilang sehingga mengakibatkan timbulnya efek samping toksik, dan atau memburuk kondisi pasien.^{50,51}

Ada beberapa hal yang diperlukan untuk meningkatkan efektivitas MMPIs yaitu MMP terlibat dalam banyak fisiologis normal peristiwa yang mempertahankan homeostasis ECM, MMP mengatur molekuler proses dan jalur sel melalui metabolisme pertumbuhan faktor, protein sitoskeletal, sitokin, protein adhesi sel, dan kemokin, beberapa MMP memiliki efek perlindungan yang mencegah kanker penyebaran, sebagian besar MMPI dirancang untuk mengganggu MMP aktivitas katalitik tanpa mempertimbangkan bahwa MMPs tidak

memiliki proteolitik fungsi yang terlibat dalam perkembangan kanker serta ekspresi MMPs dan aktivitas khusus untuk tahapan kanker yang berbeda. MMP memiliki peran penting selama perkembangan penyakit secara keseluruhan. Pengetahuan tentang bagaimana peran MMP dalam setiap tahap kaskade metastasis dapat membantu mengembangkan terapi spesifik yang dapat menghambat sintesis dan fungsi MMPs sehingga kelangsungan hidup dan kualitas hidup pasien dapat ditingkatkan.⁴³

Hubungan antara ekspresi MMP-9 jaringan tumor payudara dengan kejadian mestatasis KGB berdasarkan kategori usia

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa pada kelompok usia > 40 tahun sebagian besar subyek dengan ekspresi MMP-9 tinggi ada metastasis ke KGB (94,4%). Hasil uji statistik menunjukkan hubungan tersebut adalah bermakna ($p = 0,01$). Pada kelompok usia ≤ 40 tahun, seluruh subyek dengan ekspresi MMP-9 tinggi ada metastasis ke KGB (100%). Hasil uji statistik juga menunjukkan hubungan tersebut adalah bermakna ($p=0,04$).

Penelitian ini sesuai dengan penelitian di *Cancer Center, Renmin Hospital of Wuhan University*, Wuhan, China yang meneliti 26863 pasien dengan TNBC primer disertai dengan metastasis jauh. Penelitian ini menjelaskan bahwa terdapat hubungan yang bermakna antara usia dengan kejadian metastasis dengan nilai $p < 0,001$. Penelitian ini menyimpulkan bahwa pasien TNBC usia tua, stadium klinis yang tinggi, dan ukuran tumor yang besar, memiliki resiko lebih besar terjadinya metastasis dan memiliki prognosis yang lebih buruk. Usia merupakan faktor prognostik yang sangat

penting dari kanker payudara. Beberapa laporan sebelumnya menunjukkan usia yang lebih muda terkait dengan metastasis jauh dan prognosis buruk. Sebuah studi terbaru menunjukkan bahwa pasien usia ≤ 35 tahun kali memiliki 2,51 kali risiko lebih besar dari kelangsungan hidup bebas kekambuhan, dan 2,60 kali lebih besar risiko kekambuhan jauh dibandingkan dengan pasien > 50 tahun. Namun, penelitian ini tidak secara khusus memfokuskan TNBC, dan ukuran sampel TNBC hanya 143. Studi lain merekrut 1930 pasien dengan TNBC, 15% <40 dan 85% berusia ≥ 40 tahun saat didiagnosis, dengan nilai median follow-up selama 74 bulan, tidak ada perbedaan yang signifikan pada *local recurrence* (LR) atau *disease-free survival* (DFS) antara pasien <40 dan ≥ 40 tahun. Kesimpulannya adalah “usia muda” saat diagnosis bukanlah risiko independen faktor untuk LR atau DR pada pasien dengan TNBC. Penelitian lainnya juga telah membandingkan patologis klinis karakteristik pasien TNBC < 65 dan ≥ 65 tahun. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa terjadi metastasis viseral jauh secara signifikan lebih sering daripada metastasis tulang pada kedua kelompok umur. LR, metastasis tulang dan kelenjar getah bening sekunder secara signifikan lebih sering pada pasien yang lebih muda.⁵⁶

Kelemahan Penelitian

Kelemahan penelitian ini adalah hanya dilakukan pengukuran MMP-9 namun tidak dilakukan pengukuran penanda prognostik untuk terjadinya metastasis maupun survival pasien. Selain itu pada penelitian ini tidak dibandingkan dengan sub tipe kanker payudara yang lain.

KESIMPULAN

Tingkat ekspresi MMP-9 pada TNBC sebagian besar adalah tinggi (79,3%) dan sebagian kecil tergolong rendah (20,7%). Usia pasien tidak berhubungan dengan ekspresi MMP-9 pada TNBC. Ekspresi MMP-9 yang tinggi berhubungan dengan metastasis ke kelenjar getah bening pada TNBC. Usia pasien tidak berhubungan dengan metastasis ke kelenjar getah bening pada TNBC. Ekspresi MMP-9 berhubungan dengan kejadian metastasis ke kelenjar getah bening berdasarkan kategori usia pada TNBC. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan prediktor lain serta jumlah sampel yang lebih besar. Ekspresi MMP-9 pada TNBC dapat digunakan sebagai faktor prognosis sehingga dapat diusulkan sebagai salah satu alternatif dalam pengobatan kanker payudara dengan pemberian inhibitor MMP-9 sebagai salah satu terapi dalam neoadjuvan kenoterapi.

DAFTAR REFERENSI

1. World Health Organization. Breast cancer: prevention and control. Available from: <https://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/>. Last accessed: October 12, 2019.
2. International Agency for Research on Cancer. Breast cancer: Estimated incidence, mortality and prevalence worldwide. Available from: <http://globocan.iarc.fr/old/FactSheets/cancers/breast-new.asp>. Last accessed: June 20, 2019.
3. International Association of Cancer Registries. Population fact sheet : Indonesia IARC. Avalaible from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360-indonesia-fact-sheets.pdf>. Last accessed: June 20, 2019.
4. Kementerian Kesehatan RI. InfoDatin. Jakarta: Pusat Data dan Informasi. 2015.

5. Kementerian Kesehatan RI. Hilangkan mitos tentang kanker. Available from: <http://www.depkes.go.id/article/view/201407070001/hilangkan-mitostentangkanker.html>. Last accessed: june 20, 2019.
6. Chandrika Rao JS, Kishan Prasad HL. Immunohistochemical Profile and Morphology in Triple – Negative Breast Cancers. *J Clin Diagn Res* 2013;7:1361-5.
7. Gannon LM, Cotter MB, Quinn CM. The classification of invasive carcinoma of the breast. *Expert Rev Anticancer Ther* 2013;13:941-54.
8. Aysola K, Desai A, Welch C, Xu J, Qin Y, Reddy V, et al. Triple Negative Breast Cancer - An Overview. *Hereditary Genet* 2013;2013.
9. Ismail-Khan R, Bui MM. A Review of Triple-Negative Breast Cancer. *Cancer Control* 2010;17:173-6.
10. Lester S. The Breast. In: Kumar V, Abbas AK, Aster JC, editors. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease* Philadelphia: Elsevier Health Sciences, 2015:1043-72.
11. Lesar M, Stanec M, Lesar N, Vrdoljak DV, Zore Z, Banović M, et al. Immunohistochemical differentiation of triple negative breast cancer. *Acta Clin Croat* 2016;55:3-8.
12. Roomi M, Ivanov V, Niedzwiecki A, Rath A. Suppression of MMP expression and invasion of human cervical cancer cell lines Hela and DoTc2 4510 by nutrients. Proceeding of 44th Annual Meeting of The Sosity of Toxicology New Orleans, 2005.
13. Gaiotto MAM, Focchi J, Ribalta JLC, Stávale JN, Baracat EC, Lima GR, et al. Comparative study of MMP-2 (matrix metalloproteinase 2) immune expression in normal uterine cervix, intraepithelial neoplasias, and squamous cells cervical carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:1278-82.
14. Jones L, Ghaneh P, Humphreys M, Neoptolemos JP. The matrix metalloproteinases and their inhibitors in the treatment of pancreatic cancer. *Ann N Y Acad Sci* 1999;880:288-307.
15. John A, Tuszynski G. The role of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis and tumor metastasis. *Pathol Oncol Res* 2001;7:14-23.
16. Li H, Qiu Z, Li F, Wang C. The relationship between MMP-2 and MMP-9 expression levels with breast cancer incidence and prognosis. *Oncol Lett* 2017;14:5865-70.
17. Stankovic S, Konjevic G, Gopcevic K, Jovic V, Inic M, Jurisic V. Activity of MMP-2 and MMP-9 in sera of breast cancer patients. *Pathology - Research and Practice* 2010;206:241-7.
18. Zhao S, Ma W, Zhang M, Tang D, Shi Q, Xu S, et al. High expression of CD147 and MMP-9 is correlated with poor prognosis of triple-negative breast cancer (TNBC) patients. *Med Oncol* 2012;30:335.
19. Wang R-X, Chen S, Huang L, Shao Z-M. Predictive and prognostic value of Matrix metalloproteinase (MMP) - 9 in neoadjuvant chemotherapy for triple-negative breast cancer patients. *BMC Cancer* 2018;18:909.
20. Yousef EM, Tahir MR, St-Pierre Y, Gaboury LA. MMP-9 expression varies according to molecular subtypes of breast cancer. *BMC Cancer* 2014;14:609.
21. Lakhani S, Rakha S, Simpson P, Pinder S, Shin S, Tsuda H. Special subtypes. In: Lakhani S, Ellis I, Schnitt S, Tan P, Vijver M, editors. *WHO Classification of Tumours of the Breast*. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2012:40-79.
22. Mulligan AM, O'Malley FP. The breast. In: Reisner H, editor. *Essentials of Rubin's Pathology*. Baltimore: Wolters Kluwer Health, 2013:531-42.
23. Colditz G, Chia K, Wilson R, Britton P, Morrow M, Rutgers E. Invasive breast carcinoma: introduction and general features. In: Lakhani S, Ellis I, Schnitt S, Tan P, Vijver M, editors. *WHO Classification of Tumours of the Breast*. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2012:14-7.
24. Abdulkareem I. Aetio-pathogenesis of breast cancer. *Nigerian Med J* 2013;54:371-5.
25. Mangia A, Malfettone A, Simone G, Darvishian F. Old and new concepts in histopathological characterization of familial breast cancer. *Annals of Oncology* 2011;22:i24-i30.

26. Ellis I, Collins L, Ichihara S, MacGrogan G. Invasive carcinoma of no special type. In: Lakhani S, Ellis I, Schnitt S, Tan P, Vijver M, editors. WHO Classification of Tumours of the Breast. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2012:34-8.
27. Reed AEM, Kutasovic JR, Lakhani SR, Simpson PT. Invasive lobular carcinoma of the breast: morphology, biomarkers and 'omics. *Breast Cancer Res* 2015;17:12.
28. Ramnani D. Breast carcinomas [image on the internet]. WebPathology. [cited 2020 Nov 16]. Available from: <http://www.webpathology.com/category.asp?category=52>. 2017.
29. Thomas J. Lobular carcinoma variants [image on the internet]. Edinburgh Breast Unit. 2016 [cited 2019 Oct 18]. Available from <http://www.breastpathology.info/Lobular%20Carcinoma%20Variants.html>. 2019.
30. Yersal O, Barutca S. Biological subtypes of breast cancer: Prognostic and therapeutic implications. *World J Clin Oncol* 2014;5:412-24.
31. Rosen P. Rosen's breast pathology. 3rd edition. New York: Lippincott Williams & Wilkin, 2009.
32. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer (unabridged version). *Arch Pathol Lab Med* 2010;134:e48-72.
33. Sakhdari A, Hutchinson L, Cosar E. Molecular pathology of HER family of oncogenesis in breast cancer: HER-2 evaluation and role in targeted therapy. In: Khan A, Ellis IO, Hanby AM, Cosar EF, Rakha EA, Kandil D, editors. Precision Molecular Pathology of Breast Cancer. New York: Springer New York, 2015:119-36.
34. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med* 2007;131:18-43.
35. Dyar S, Aspitia A. Triple-negative breast cancer and new treatment developments. *Clin Invest* 2011;1(8):1107-18.
36. Jiao Q, Wu A, Shao G, Peng H, Wang M, Ji S, et al. The latest progress in research on triple negative breast cancer (TNBC): risk factors, possible therapeutic targets and prognostic markers. *J Thorac Dis* 2014;6:1329-35.
37. Ostad S, Parsa M. Breast cancer from molecular point of view: pathogenesis and biomarkers. In: Gunduz M, editor. Breast cancer - focusing tumor microenvironment, stem cells and metastasis. Kroasia: Intech, 2011:103-26.
38. Dzeyk J, Yadav B, Rosengren R. Experimental Therapeutics for the Treatment of Triple Negative Breast Cancer. In: Gunduz E, editor. Breast Cancer - Current and Alternative Therapeutic Modalities. Kroasia: Intech, 2011:371-93.
39. Kandil D, Khan A. Triple-negative breast cancer: subtypes with clinical implication. In: Khan A, Ellis I, Hanby A, Cosar E, Rakha E, Kandil D, editors. Precision molecular pathology of breast cancer. New York: Springer, 2015:157-75.
40. Duffy MJ, Maguire TM, Hill A, McDermott E, O'Higgins N. Metalloproteinases: role in breast carcinogenesis, invasion and metastasis. *Breast Cancer Res* 2000;2:252.
41. Decock J, Paridaens R, Ye S. Genetic polymorphisms of matrix metalloproteinases in lung, breast and colorectal cancer. *Clinical genetics* 2008;73:197-211.
42. Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *J Cell Mol Med* 2005;9:267-85.
43. Gonzalez-Avila G, Sommer B, Mendoza-Posada DA, Ramos C, Garcia-Hernandez AA, Falfan-Valencia R. Matrix metalloproteinases participation in the metastatic process and their diagnostic and therapeutic applications in cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2019;137:57-83.
44. Bennett JH, Morgan MJ, Whawell SA, Atkin P, Roblin P, Furness J, et al. Metalloproteinase expression in normal and malignant oral keratinocytes: stimulation of MMP-2 and -9 by scatter factor. *Eur J Oral Sci* 2000;108:281-91.

45. Katari S, Pasala C, Nalamolu R, Vankadoth U, Alexander S, Pakala S, et al. Pathophysiology of matrix metalloproteinases in breast cancer progression. *J Clin Scient Res* 2019;8:145-50.
46. Tzikas AK, Nemes S, Linderholm BK. A comparison between young and old patients with triple-negative breast cancer: biology, survival and metastatic patterns. *Breast Cancer Res Treat* 2020;182:643-54.
47. Merdad A, Karim S, Schulten HJ, Dallol A, Buhmeida A, Al-Thubaity F, et al. Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) in primary human breast cancer: MMP-9 as a potential biomarker for cancer invasion and metastasis. *Anticancer Res* 2014;34:1355-66.
48. Ma L, Wu J, Jin Y, Ma X. The expression and significance of MMP-9 in triple negative breast cancer. *J Modern Oncol* 2017;22:3623-6.
49. Wu Y, Sarkissyan M, Vadgama JV. Epithelial-Mesenchymal Transition and Breast Cancer. *Journal of clinical medicine* 2016;5.
50. Owyong M, Chou J, van den Bijgaart RJE, Kong N, Efe G, Maynard C, et al. MMP9 modulates the metastatic cascade and immune landscape for breast cancer anti-metastatic therapy. *Life Sci Alliance* 2019;2:e201800226.
51. Radisky ES, Raeeszadeh-Sarmazdeh M, Radisky DC. Therapeutic Potential of Matrix Metalloproteinase Inhibition in Breast Cancer. *Journal of cellular biochemistry* 2017;118:3531-48.
52. Barillari G., Review The Impact of Matrix Metalloproteinase-9 on the Sequential Steps of the Metastatic Proces. *International Journal of Molecular Sciences* 2020, 21(12).
53. Setiyawati A., Irianiwati, Signifikansi klinikopatologis ekspresi CD44 dan MMP-9 pada karsinoma duktal invasif payudara, Tesis, Universitas Gadjah Mada, 2014.
54. Cabreira F, et al. Expression of MMP-9 and VEGF in breast cancer: correlation with other prognostic indicators. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* [online]. 2008, vol.30, n.6, pp.287-293.
55. Widodo I, Dwianingsih EK, Ayandono T, Soeripto, Clinicopathological Characteristic and Prognostic Significance of Indonesian Triple Negative Breast Cancer, *The Indonesian Biomedical Journal*, Vol.11, No.3, 2019, p.225-337.
56. Yao Y, Chu Y, Xu B, Hu Q dan Song Q, Risk factors for distant metastasis of patients with primary triple-negative breast cancer, *Bioscience Reports*, 2019.