

Validitas Pemeriksaan Imunositokimia HMGA2 dalam Penegakan Diagnosis Nodul Jinak dan Ganas Tiroid pada Sediaan Biopsi Aspirasi Jarum Halus

Yenni Wisudarma, Hasrayati Agustina, Sri Suryanti, Bethy S. Hernowo

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran

RSUP Dr. Hasan Sadikin

Bandung

ABSTRAK

Latar belakang

Tindakan biopsi aspirasi jarum halus (BAJAH) merupakan pemeriksaan preoperatif baku yang sederhana dan relatif lebih murah dalam penegakan diagnosis karsinoma tiroid, tetapi diagnosis sitologi BAJAH tersebut tidak selalu mudah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui validitas pemeriksaan imunositokimia HMGA2 dalam penegakan diagnosis sediaan BAJAH nodul tiroid jinak, ganas dan *indeterminate*.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian uji diagnostik yang dilakukan terhadap 62 kasus nodul tiroid yang terdiri dari 18 kasus karsinoma papiler, 13 kasus nodul folikular jinak dan 31 kasus *indeterminate* (27 kasus *follicular neoplasm* dan 4 kasus *suspicious for papillary carcinoma*) yang didiagnosis tahun 2011-2014 dan telah dilakukan pemeriksaan histopatologi pasca operasi sebagai konfirmasi diagnosis. Pemeriksaan imunositokimia HMGA2 dilakukan terhadap semua kasus dengan metode *cell transfer*.

Hasil

Akurasi, sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif dan nilai duga negatif pemeriksaan imunositokimia HMGA2 dalam diagnosis nodul tiroid masing-masing adalah 85,5%, 79,4%, 92,8%, 93,1% dan 78,8%. Sedangkan untuk kasus *indeterminate*, akurasi, sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif dan nilai duga negatif pemeriksaan imunositokimia HMGA2 adalah 77,4%, 68,7%, 86,7%, 84,6% dan 72,2%.

Kesimpulan

Pemeriksaan imunositokimia HMGA2 relatif spesifik dan sensitif dalam menegakkan diagnosis preoperatif nodul tiroid termasuk pada kasus *indeterminate*.

Kata kunci : biopsi aspirasi jarum halus, HMGA2, *indeterminate*, nodul tiroid.

ABSTRACT

Background

Fine needle aspiration biopsy (FNAB) is a simple and relatively cheap standard preoperative examination in the thyroid carcinoma. However, the interpretation of the FNAB is not always easy. This study aim is to determine the validity of HMGA2 immunocytochemistry examination in FNAB preparation for diagnosis confirmation of benign thyroid nodules, malignant or indeterminate.

Methods

This study is a diagnostic test performed on 62 cases of thyroid nodules consist of 18 cases of papillary carcinoma, 13 cases of benign follicular nodules and 31 indeterminate cases (27 cases of follicular neoplasm and 4 cases of suspicious for papillary carcinoma) were diagnosed in 2011-2014 which has postoperative histopathologically confirmed. HMGA2 immunocyto-chemistry examination carried out on all cases with cell transfer method.

Results

Accuracy, sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of immunocytochemistry examination, HMGA2, in the diagnosis of thyroid nodules are respectively 85.5%, 79.4%, 92.8%, 93.1% and 78.8%. As for the indeterminate cases, accuracy, sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value immunocytochemistry examination HMGA2 are 77.4%, 68.7%, 86.7%, 84.6% and 72.2%.

Conclusion

Immunocytochemistry examination of HMGA2 relatively specific and sensitive in the preoperative diagnosis of thyroid nodules, including for indeterminate cases.

Key words: fine needle aspiration biopsy, HMGA2, indeterminate, thyroid nodules.

PENDAHULUAN

Nodul tiroid merupakan kelainan yang sering terjadi. Walaupun sebagian besar merupakan lesi jinak, insidensi karsinoma tiroid akhir-akhir ini semakin meningkat.¹ Karsinoma tiroid merupakan keganasan tersering pada kelenjar endokrin.²

Dalam penatalaksanaan nodul tiroid, diagnosis preoperatif sangat penting ditegaskan dalam menentukan rencana terapi. Nodul non neoplastik pada umumnya tidak memerlukan tindakan operasi sedangkan pada nodul yang disebabkan oleh keganasan diperlukan tindakan operasi, kepastian diagnosis preoperative nodul tiroid menjadi sangat penting untuk menghindari tindakan operasi yang tidak diperlukan. Tindakan operasi memiliki resiko berupa kerusakan saraf dan hipoparatiroidism.³

Tindakan biopsi aspirasi jarum halus (BAJAH) dengan pemeriksaan sitologi merupakan pemeriksaan preoperatif baku yang sederhana dan relatif lebih murah dalam diagnosis karsinoma tiroid.¹ Validitas pemeriksaan biopsi aspirasi jarum halus pada nodul tiroid bervariasi dengan sensitivitas 65-98%, spesifisitas 55-100% dan akurasi 70-88%, tergantung pada keterampilan ahli patologi dalam pengambilan sampel dan interpretasi sediaan sitologi.⁴

Umumnya diagnosis sitologi pada BAJAH nodul tiroid diklasifikasikan berdasarkan sistem Bethesda menjadi 6 kategori yaitu jinak, ganas, *suspicious for malignancy*, *atypia of uncertain significance*, *suspicious for neoplasm/follicular neoplasm* dan non diagnostik.⁵ Penentuan diagnosis tersebut tidak selalu mudah, dan pembagian diagnosis sistem Bethesda tersebut tetap meninggalkan persoalan dalam menentukan suatu nodul jinak dan ganas tiroid. Sekitar 30% sediaan sitologi dari BAJAH merupakan nodul yang tidak dapat ditentukan jinak atau ganas (*indeterminate*, *suspicious for malignancy* dan *suspicious for neoplasm/follicular neoplasm*).⁶ Pada kasus-kasus tersebut diagnosis ditentukan setelah tindakan operasi tiroidektomi dengan pemeriksaan histopatologi.⁶

Penanda molekuler dapat mengidentifikasi dan memprediksi perilaku keganasan tiroid dan dapat digunakan untuk menghindari kesalahan dalam penatalaksanaan nodul tiroid.⁷ Salah satu teknik pemeriksaan penanda molekuler adalah pemeriksaan imunositokimia. Teknik ini dapat dilakukan di laboratorium yang

telah memiliki fasilitas imunohistokimia dan relatif lebih murah dibandingkan dengan pemeriksaan PCR.⁸

Telah banyak penelitian yang dilakukan untuk menemukan penanda molekuler untuk meningkatkan validitas pemeriksaan BAJAH terutama pada kasus yang sulit ditentukan (*indeterminate*) pada nodul tiroid.⁹ Namun demikian sampai saat ini belum ditemukan penanda molekuler yang memuaskan.

Protein *High mobility group AT-hook2* (HMGA2) merupakan suatu protein non histon yang berperan sebagai modulator struktur kromatin selama proses transkripsi.^{3,10,11} HMGA2 merupakan onkogen yang berperan dalam patogenesis karsinoma tiroid, walaupun perannya dalam patogenesis karsinoma tiroid sampai saat ini belum banyak diketahui tetapi beberapa penelitian menunjukkan adanya mekanisme regulasi terhadap proliferasi pada karsinoma tiroid terutama pada tingkat gen. HMGA2 mempunyai tiga ikatan domain DNA yang disebut sebagai *AT-hook* yang mengikat alur DNA dan *acidic C-tail* yang bertanggung jawab terhadap interaksi antara protein.¹¹ Protein HMGA2 tersebut terekspresi tinggi selama proses embriogenesis, tetapi pada jaringan dewasa normal akan terekspresi rendah atau tidak terekspresi. Protein HMGA2 terekspresi tinggi kembali pada berbagai keganasan termasuk tiroid. Kontribusi protein HMGA2 dalam tumorigenesis antara lain adalah dengan menghambat fungsi apoptosis dan deregulasi siklus sel. HMGA2 juga dapat berikatan secara langsung dengan P53 sehingga dapat menginaktivasi tumor supresor gen. Pada tumor tiroid melalui jalur RAS, terdapat ekspresi protein HMGA2 yang meningkat dengan menginduksi faktor transkripsi gen yang mengakibatkan proliferasi sel yang tidak terkontrol.¹¹ Penilaian kuantitatif penanda molekuler HMGA2 untuk diagnostik pemeriksaan biopsi nodul tiroid telah dilakukan pada beberapa penelitian dengan menggunakan PCR. Belge dkk pada tahun 2008 melakukan penelitian dengan menganalisis HMGA2 untuk membedakan antara tumor tiroid jinak dan ganas pada sediaan histopatologi dengan menggunakan PCR.¹⁰ Berdasarkan penelitian tersebut, ekspresi HMGA2 menunjukkan sensitivitas sekitar 95,9% dan spesifisitas sekitar 93,9% sehingga bisa dijadikan penanda molekuler untuk membedakan tumor jinak dan ganas pada *follicular neoplasms*.¹⁰ Penelitian ini

bertujuan untuk mengetahui validitas pemeriksaan imunositokimia HMGA2 dalam penegakan diagnosis sediaan BAJAH nodul tiroid jinak, ganas dan *indeterminate*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif analitik dengan rancangan potong lintang dan uji diagnostik terhadap sampel sitologi nodul tiroid yang diambil melalui BAJAH di Sentra Diagnostik Patologi Anatomi RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung. Kriteria inklusi sampel adalah sediaan sitologi nodul tiroid yang mengandung setidaknya 10 kelompok sel folikular dengan sedikitnya 10 sel/kelompok dan kasus tersebut telah didiagnosis secara histopatologis sebagai nodul jinak (nodular hiperplasia atau adenoma folikular) atau nodul ganas (karsinoma papiler, karsinoma folikular atau karsinoma sel Hurtle). Kriteria eksklusi adalah sampel yang rusak dan tidak dapat dilakukan pewarnaan imunositokimia HMGA2. Diagnosis sitologi, histopatologi dan imunositokimia dilakukan oleh dua orang ahli patologi. Pulasan imunositokimia dilakukan dengan metode *labeled streptavidin biotin immunoperoxide complex*, menggunakan *starr trek universal HRP detection system* (Biocare Medical). Antibodi primer yang digunakan adalah antibodi poliklonal *rabbit anti-human HMGA2* (ab 52039) (Abcam, UK) dengan pengenceran 1:80. Pemeriksaan imunositokimia HMGA2 dilakukan terhadap 62 sampel sitologi yang terdiri dari 13 kasus nodul folikular jinak, 27 kasus *follicular neoplasm*, 4 kasus *suspicious for papillary carcinoma* dan 18 kasus karsinoma papiler. Kontrol positif adalah karsinoma payudara. Imunoekspresi HMGA2 dinilai positif jika inti sel berwarna coklat dengan jumlah sel yang terpulas lebih dari 20% dari 100 sel yang dinilai. Negatif jika tidak terpulas pada inti sel (0), atau terpulas kurang dari 20%.¹² Pewarnaan imuno-histokimia sebagai pembandingan juga dilakukan terhadap 13 sampel jaringan yang terdiri atas 11 kasus karsinoma papiler, 1 kasus karsinoma folikular dan 1 kasus adenomatous goiter.

Hasil imunositokimia HMGA2 pada kasus yang secara histopatologik termasuk dalam nodul jinak dibandingkan dengan nodul ganas, adanya perbedaan imunoekspresi pada kasus tersebut dianalisis dengan uji *chi-square*. Kemaknaan hasil uji statistik ditentukan berdasarkan nilai $p < 0,05$. Uji diagnostik dilakukan dengan membandingkan hasil imunositokimia

HMGA2 pada sediaan sitologi dan diagnosis histopatologi sebagai baku emas. Validitas dinilai dalam bentuk sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif dan nilai duga negatif. Data yang diperoleh dicatat dalam formulir khusus kemudian diolah dengan program SPSS versi 21.0 for Windows.

HASIL

Tabel 1. Karakteristik gambaran jenis histopatologi (baku emas) subjek penelitian pada sediaan BAJAH nodul tiroid.

Histopatologi	Sitologi BAJAH			
	Adenomatous goiter (N=13)	Folikular neoplasm (N=27)	Karsinoma papilifer (N=18)	Suspicious for papillary carcinoma (N= 4)
Nodular hiperplasia	13	10	-	-
Adenoma folikular	-	5	-	-
Karsinoma folikular	-	5	-	-
Karsinoma papilifer	-	3	12	3
Karsinoma papilifer tipe folikular	-	4	5	-
Karsinoma papilifer tipe onkositik	-	-	1	-
Karsinoma sel hurtle	-	-	-	1

Tabel 2. BAJAH dibandingkan dengan histopatologi sebelum dilakukan pemeriksaan imunositokimia HMGA2 antara nodul jinak dan ganas tiroid.

BAJAH	Histopatologi	
	Ganas (N=34)	Jinak (N=28)
Tanpa imunositokimia HMGA2		
Nodular hiperplasia	0 (0,0%)	13 (46,4%)
Follicular neoplasm	12 (35,3%)	15 (53,6%)
Suspicious for papillary carcinoma	4 (11,8%)	0 (0,0%)
Karsinoma papilifer	18 (52,9%)	0 (0,0%)

Tabel 3. Perbedaan imunoekspresi HMGA2 antara nodul jinak dan ganas tiroid pada sediaan BAJAH.

Imunoekspresi HMGA2	Ganas (N=34)	Jinak (N=28)	Kemaknaan
Positif	27 (79,4%)	2 (7,1%)	0,0001**
Negatif	7 (20,6%)	26 (92,9%)	

Keterangan: Untuk data kategorik p dihitung berdasarkan uji statistika *chi-square* alternatif uji *Exact Fisher*. Nilai kemaknaan berdasarkan nilai $p < 0,05$. Nilai kemaknaan berdasarkan nilai $p < 0,05$. Tanda ** menunjukkan $p \text{ value} < 0,05$ artinya signifikan atau bermakna secara statistik.

Tabel 4. BAJAH dibandingkan dengan histopatologi setelah dilakukan pemeriksaan imunositokimia HMGA2 positif antara nodul jinak dan ganas tiroid.

BAJAH	Histopatologi	
	Ganas (N=27)	Jinak (N=2)
Dengan imunositokimia HMGA2 positif		
Adenomatous goiter	-	-
Follicular neoplasm	7 (26%)	2 (100%)
Suspicious for papillary carcinoma	4 (14,8%)	-
Karsinoma papilifer	16 (59,2%)	-

Tabel 5. Perbedaan imunoekspresi HMGA2 pada nodul jinak dan ganas tiroid pada kasus *suspicious for malignancy* dan *follicular neoplasm (indeterminate)*.

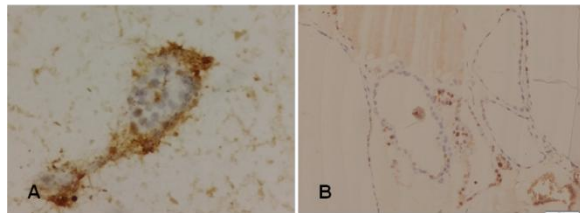
Imunoekspresi HMGA2	Ganas (N=16)	Jinak (N=15)	Kemaknaan
Positif	11 (68,7%)	2 (13,3%)	0,002**
Negatif	5 (31,3%)	13 (86,7%)	

Keterangan: Untuk data kategorik p dihitung berda-sarkan uji statistika *chi-square* alternatif uji *Exact Fisher*. Nilai kemaknaan berdasarkan nilai $p < 0,05$. Nilai kemaknaan berdasarkan nilai $p < 0,05$. Tanda ** menunjukkan *p value* $< 0,05$ artinya signifikan atau bermakna secara statistik.

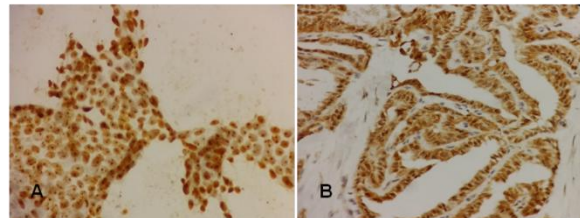
Tabel 6. Uji diagnostik imunositokimia HMGA2 dalam membedakan nodul jinak dan ganas tiroid pada sediaan sitologi BAJAH.

	Sensi-tivitas	Spesi-tivitas	NDP	NDN	Aku-rasi
Semua kasus	79,4%	92,8%	93,1%	78,8%	85,5%
<i>Indeterminate</i>	68,7%	86,7%	84,6%	72,2%	77,4%

NDP= Nilai duga positif NDN= Nilai duga negatif.



Gambar 1. A. Pulasan imunositokimia HMGA2 negatif pada nodul folikular jinak (pembesaran 200x); B. Pulasan Imunohistokimia HMGA2 (pembesaran 200x) pada pemeriksaan histopatologi adenomatous goiter pada kasus yang sama.



Gambar 2. A. Pulasan imunositokimia HMGA2 positif karsinoma papiler (pembesaran 200x). B. Pulasan Imunohistokimia HMGA2 positif (pembesaran 200x) pada pemeriksaan histopatologi karsinoma papiler pada kasus yang sama

DISKUSI

Diagnosis nodul jinak dan ganas tiroid pada penelitian ini berdasarkan gambaran histopatologi sebagai baku emas (Tabel 1) yaitu nodular hiperplasia, adenoma folikular, karsinoma papilifer dan tipenya (folikular dan onkositik), karsinoma sel hurtledan karsinoma folikular. Pada tabel 2 terdapat sebanyak 31 kasus

(50,1%) BAJAH sulit ditentukan kategorinya yaitu *follicular neoplasm* (27 kasus) dan *suspicious for papillary carcinoma thyroid* (4 kasus) Pada *follicular neoplasm* diketahui sebanyak 12 kasus di diagnosis sebagai lesi ganas pada pemeriksaan histopatologi dan 15 kasus didiagnosis sebagai lesi jinak. Sedangkan pada *suspicious for papillary carcinoma* seluruhnya di diagnosis sebagai lesi ganas. Beberapa penelitian menunjukkan sekitar 80% nodul yang di diagnosis sitologi sebagai suatu *suspicious for follicular neoplasm* adalah lesi jinak, sedangkan sekitar 70% diagnosis sitologi suatu *suspicious for papillary carcinoma* setelah dilakukan operasi adalah lesi ganas.³ Dalam menentukan jinak atau ganas nodul tiroid pada kriteria tersebut dilakukan pada saat operasi berlangsung dengan tindakan potong beku atau setelah tindakan operatif.

Jika dibandingkan dengan Tabel 2, pada Tabel 4 terdapat 7 dari 12 kasus *follicular neoplasm*, seluruh kasus *suspicious for papillary carcinoma*, dan 16 dari 18 kasus karsinoma papiliferditemukan imunoekspresi HMGA2 positif pada nodul ganas tiroid BAJAH. Hal tersebut menunjukkan pemeriksaan imunositokimia HMGA2 pada BAJAH dapat memberikan manfaat untuk dapat membantu klinisi dalam menentukan tindakan terapi dengan tepat dan cepat. Pada 7 kasus *follicular neoplasm* dengan imunoekspresi HMGA2 positif, gambaran histopatologi yang ditemukan setelah tindakan operatif adalah 2 kasus karsinoma folikular, 3 kasus karsinoma papilifer tipe folikular, dan 2 kasus karsinoma papilifer. Sedangkan 4 kasus *suspicious for papillary carcinoma*, ditemukan gambaran histopatologinya yaitu 3 kasus karsinoma papilifer, dan 1 kasus karsinoma sel hurtle.

Tabel 3 dan 5 menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara imunoekspresi HMGA2 pada sampel sitologi nodul jinak dan ganas tiroid, hal ini menjadi dasar bahwa pemeriksaan imunositokimia HMGA2 dapat digunakan untuk membedakan nodul jinak dan ganas. Imunoekspresi HMGA2 diekspresikan positif pada nodul ganas dan jarang tereksresi pada nodul jinak. Hasil ini menunjang teori yang menyatakan bahwa HMGA2 berperan sebagai onkogen penting dalam berbagai proses tumorigenesis dan diferensiasi sel tumor.¹³ Braun dkk pada tahun 2011 menyebutkan adanya hubungan antara HMGA2 dengan *down regulation* let-7

sebagai suatu *tumor-suppressive microRNA* pada karsinoma tiroid. Tidak adanya let-7 menyebabkan terjadinya progresifitas suatu karsinoma tiroid sejak awal.¹⁴

Beberapa penelitian tentang ekspresi HMGA2 pada tingkat gen sebagai penanda molekuler untuk membedakan antara nodul jinak dan ganas tiroid telah dilakukan pada beberapa penelitian sebelumnya. Belge G dkk pada tahun 2008 melakukan penelitian dengan PCR dengan RNA yang berasal dari 64 jaringan tiroid normal, jinak dan ganas. Hasilnya menunjukkan adanya ekspresi HMGA2 yang tinggi pada karsinoma tiroid dibandingkan dengan yang jinak.¹⁰ Peningkatan ekspresi HMGA2 pada karsinoma tiroid dengan sensitivitas 95,9% pada jaringan histopatologi dapat dijadikan salah satu penanda molekuler terbaik untuk dapat membedakan antara nodul jinak dan ganas tiroid pada kasus-kasus sulit.¹⁰ Perubahan genetik lain yang dideteksi dengan PCR telah diidentifikasi dan diduga mempunyai potensi dalam diagnosis karsinoma tiroid.¹⁵ Analisis ekspresi gen HMGA2 pada 115 sediaan sitologi BAJAH nodul tiroid dilakukan oleh Lappinga dkk³ tahun 2010 dengan kategori diagnosis *suspicious for follicular neoplasm*, *suspicious for hurtle cell neoplasm*, dan *suspicious for papillary*. Hasilnya menunjukkan sebanyak 71 dari 75 kasus (95%) nodul jinak ditemukan ekspresi HMGA2 negatif dan 31 dari 44 kasus (70%) nodul ganas ditemukan ekspresi HMGA2 berlebih dengan pemeriksaan PCR sitologi BAJAH. Pada tahun 2011, Jin L dkk juga melakukan analisis ekspresi HMGA2 pada sediaan sitologi dan histopatologi dengan menggunakan PCR. Hasilnya menunjukkan ekspresi HMGA2 secara signifikan lebih tinggi pada keganasan (71,6% pada sediaan histopatologi dan 79,8% pada BAJAH) dibandingkan dengan lesi jinak (4,0% pada sediaan histopatologi dan 4,3% pada sediaan BAJAH).¹⁶ Penelitian lain yang dilakukan Nagar S dkk pada tahun 2014 menunjukkan pada lesi ganas pada sediaan sitologi BAJAH, hanya karsinoma papiler tipe folikular yang menunjukkan ekspresi HMGA2 yang tinggi ($p=0,006$) melalui PCR.¹⁷ Pada tahun 2015, Jang MH dkk¹⁸ melakukan penelitian tentang kegunaan diagnostik beberapa penanda molekuler (HMGA2, Survivin, CEACAM6, SFN/14-3-3gamma) melalui PCR pada karsinoma folikular tiroid. Hasilnya menunjukkan hanya HMGA2 yang bermanfaat untuk membantu diagnosis

karsinoma folikular dibandingkan dengan penanda molekuler lainnya ($p<0,001$).¹⁸ Penelitian mengenai pemeriksaan imunositokimia HMGA2 pada sediaan sitologi BAJAH tiroid sepengetahuan penulis belum pernah dipublikasikan sebelumnya pada jurnal berbahasa Indonesia maupun Inggris. Adanya imunoekspresi HMGA2 yang tinggi pada nodul ganas tiroid sesuai dengan penelitian-penelitian sebelumnya yang telah dilakukan pada tingkat gen.

Tabel 6 menunjukkan validitas pemeriksaan imunositokimia HMGA2 pada penelitian ini yaitu sensitivitas sebesar 79,4%, spesifisitas sebesar 92,8%, dan akurasi sebesar 85,5% dalam membedakan nodul jinak dan ganas tiroid. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Jin L dkk yang melakukan pemeriksaan HMGA2 melalui PCR pada 206 sampel nodul tiroid sediaan sitologi BAJAH yang terdiri dari 143 nodul ganas dan 63 nodul jinak menunjukkan derajat sensitivitas sebesar 88,6%, spesifisitas 95,2%.¹⁶ Hasil uji diagnostik pada kasus *indeterminate (follicular neoplasm, suspicious for papillary carcinoma)* sebanyak 31 kasus pada penelitian ini menunjukkan pemeriksaan imunositokimia HMGA2 mempunyai sensitivitas 68,7%, spesifisitas 86,7%, dan akurasi sebesar 77%. Hasil penelitian ini sedikit berbeda dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Belge G dkk yang melalui PCR yang menunjukkan derajat sensitivitas sebesar 95,9%, dan spesifisitas sebesar 93,9% dalam membedakan nodul jinak dan ganas tiroid pada diagnosis *follicular neoplasm* sediaan histopatologi.¹⁰ Lappinga dkk melakukan penelitian ekspresi HMGA2 melalui PCR pada kasus *follicular neoplasm* (68 kasus) dan *suspicious for papillary carcinoma* (14 kasus). Hasilnya menunjukkan sensitivitas sebesar 76% dan 85%, spesifisitas 98% dan akurasi sebesar 91% dan 79%.³ Dari hasil penelitian ini menunjukkan selain pemeriksaan PCR, pemeriksaan imunositokimia HMGA2 merupakan metode yang cukup adekuat untuk menginvestigasi ekspresi HMGA2 pada sampel jaringan tiroid.

Teknik imunositokimia secara luas telah digunakan dalam diagnosis sampel sitologi, dan secara teoritis merupakan pemeriksaan yang cukup ideal dalam menegakan diagnosis kasus sitologi yang sulit, tetapi sulitnya mendapatkan pewarnaan yang baik dan *interobserver variability* menjadi salah satu penghambat kurang berkembangnya penelitian yang menggunakan

teknik ini. Penelitian ini mempunyai berbagai keterbatasan karena berbagai kesulitan yang dihadapi antara lain teknis dalam pewarnaan imunositokimia pada sedian sitologi BAJAH tiroid, banyaknya darah maupun koloid dapat mengganggu perhitungan sel tumor karena juga terwarnai coklat. Selain itu pada pewarnaan HMGA2 terdapat sel-sel inflamasi disekitarnya juga ikut terwarnai meskipun dapat digunakan sebagai kontrol positif internal dalam penelitian ini. Untuk mengurangi bias akibat keterbatasan tersebut, pada penelitian ini telah dilakukan pemeriksaan imunohistokimia terhadap jaringan tiroid pada 13 kasus sebagai pembanding. Pada seluruh kasus tersebut hasil imunositokimia sama dengan imunohistokimia.

Pada penelitian ini dari 34 sampel nodul ganas yang dievaluasi terdapat 7 kasus (23,5%) dengan imunoekspresi HMGA2 negatif: 4 (57,1%) diantaranya adalah karsinoma papiler, dan 3 (42,9%) kasus karsinoma folikular. Beberapa faktor dapat menyebabkan keadaan ini antara lain kegagalan antibodi untuk dapat mendeteksi antigen target yang disebabkan oleh pengaruh fiksasi/embedding, gangguan modifikasi *post* translasi/protein, afinitas antibodi yang rendah terhadap target, atau kegagalan penetrasi antibodi ke jaringan.¹⁹ Protein HMGA2 merupakan suatu protein yang terekspresi tinggi pada tumor ganas pada berbagai organ.¹¹ Pada hampir semua keganasan, protein HMGA2 diekspresikan akibat degradasi *miRNA* let-7.²⁰ Imunoekspresi HMGA2 yang negatif pada nodul ganas dalam penelitian ini mungkin disebabkan tidak terjadinya degradasi *miRNA* let-7. Terdapat juga 2 kasus imunoekspresi HMGA2 yang positif pada nodul jinak yaitu 2 kasus adenoma folikular. Mekanisme peningkatan imunoekspresi pada kedua kasus tersebut belum diketahui, tetapi peningkatan imunoekspresi HMGA2 tersebut mungkin dapat disebabkan oleh adanya gangguan/mutasi RAS pada adenoma folikular sehingga mengaktivasi *fra-1* sebagai faktor yang turut berperan sebagai faktor pertumbuhan sel dan kelangsungan hidup.²¹

Pemeriksaan imunositokimia HMGA2 memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang hampir sama dengan pemeriksaan mutasi BRAFV600E, maupun dengan beberapa pemeriksaan kombinasi berbagai mutasi somatik (BRAFV600E, NRAS, HRAS, KRAS, RET/PTC1, RET/PTC3, PAX8/PPARy) dengan derajat sensitivitas

antara 12-87% dan spesifitas antara 96-100%.¹ Walaupun demikian pemeriksaan imunositokimia HMGA2 ini belum terbukti lebih baik pada sampel yang lebih banyak.

Penelitian imunositokimia galectin-3 pada BAJAH 465 kasus *indeterminate* yang dilakukan oleh Bartolazzi dkk dengan menganalisis imunoekspresi galectin-3 menunjukkan sensitivitas sekitar 78% dan spesifisitas sekitar 93%. Galectin-3 merupakan salah satu penanda molekuler yang sensitif dan akurat pada karsinoma tiroid, walaupun pada penelitian lain ditemukan ekspresi galectin-3 juga ditemukan pada adenomatous goiter dan tiroiditis.²² Penelitian lain dengan menggunakan pemeriksaan imunositokimia HMBE1 dan cytokeratin-19 menunjukkan derajat sensitivitas sekitar 79-87% dan 76%, sedangkan spesifisitas sekitar 83-96% dan 90%.¹ Jika dibandingkan dengan dengan penelitian-penelitian tersebut, pemeriksaan imunositokimia HMGA2 mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang sedikit lebih rendah. Adanya prevalensi yang berbeda dari berbagai penelitian mungkin timbul setidaknya sebagian dari penerapan metode dengan sensitivitas yang berbeda.²³

KESIMPULAN

Pemeriksaan imunositokimia HMGA2 relatif sensitif dan spesifik dalam membantu mendiagnosis karsinoma tiroid pada BAJAH, namun penggunaannya sebagai marker tunggal tidak dianjurkan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Keutgen XM, Filicori F, Fahey JT. Molecular diagnosis for indeterminate thyroid nodules on fine needle aspiration. *Expert Rev Mol Diagn.* 2013; 13: 613-23.
2. Tomei S, Mazzanti C, Marchetti I, Rossi L, Zavaglia K, Lessi F, *et al.* c-KIT receptor expression is strictly associated with the biological behaviour of thyroid nodules. *J Transl Med.* 2012;10:7.
3. Lappinga JP, Kip SN, Jin L, Liloyd VR, Henry RM, Zhang J, *et al.* HMGA2 gene expression analysis performed on cytologic smears to distinguish benign from malignant thyroid nodules. *Cancer Cytopathol.* 2010; 25: 287-97.
4. Baldini E, Tuccilli C, Prinzi N, Sorrenti S, Bianchini M, Sordo MD, *et al.* New molecular approaches in the diagnosis and

- prognosis of thyroid cancer patients. *Global J Oncol.* 2013; 1: 20-9.
5. Ali SZ, Cibas ES. *The Bethesda System for reporting Thyroid Cytopathology.* Edisi:, New York: Springer; 2010.
 6. Tomei S, Marchetti I, Zavaglia K, Lessi F, Apollo A, Aretini P, *et al.* A molecular computational model improves the pre-operative diagnosis of thyroid. *BMC Cancer* 2012;12:396.
 7. Matthew D, Ringel. Molecular markers of aggressiveness of thyroid cancer. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2009; 16: 361-6.
 8. Capper D, Weissert S, Balss J. Characterization of R 132 H mutation-specific IDH1 antibody binding in brain tumors. *Brain Pathol.* 2010; 20: 245-54.
 9. Pusztaszeri MP, Sadow MP, Faquin CW. CD117: A novel ancillary marker for papillary thyroid carcinoma in fine-needle aspiration biopsies. *Cancer Cytopathol.* 2014;122:596-603.
 10. Belge G, Meyer A, Kiemke M, Burchardt K, Stern C, Wosnlok W, *et al.* Upregulation of HMGA2 in thyroid carcinoma: A novel molecular marker to distinguish between benign and malignant follicular neoplasias. *Genes Chromosomes Cancer.* 2008; 47: 56-63.
 11. Ozturk N, Singh I, Mehta A, Braun T, Barreto G. HMGA proteins as modulators of chromatin structure during transcriptional activation. *Front Cell Dev Biol.* 2014;2:1-9.
 12. Mahajan A, Liu Z, Gellert L, Zou X, Yang G, Lee P, *et al.* HMGA2: A biomarker significantly overexpressed in high-grade ovarian serous carcinoma. *Mod Pathol.* 2010; 23: 673-81.
 13. Hock R, Furusawa T, Ueda T, Bustin M, *et al.* HMG chromosomal proteins in developmental and disease. *Trends Cell Biol.* 2007; 2: 72-9.
 14. Braun J, Huttelmaier S. Pathogenic mechanisms of deregulated microRNA expression in thyroid carcinomas of follicular origin. *Thyroid Res.* 2011;4 Suppl 1:S1.
 15. Omur O, Baran Y. An update on molecular biology of thyroid cancers. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2014; 90: 233-52.
 16. Jin L, Lloyd V R, Nassar A, Lapingga J P, Sebo J T, Swartz K, *et al.* HMGA2 expression analysis in cytological and paraffin-embedded tissue specimens of thyroid tumors by relative quantitative RT-PCR. *Diagn Mol Pathol.* 2011; 20: 71-80.
 17. Nagar S, Ahmed S, Peeples C, Urban N, Boura J, Thibodeau B, *et al.* Evaluation of genetic biomarkers for distinguishing benign from malignant thyroid neoplasms. *Am J Surg.* 2014; 207: 596-601.
 18. Jang HM, Jung CK, Min SH. The diagnostic usefulness of HMGA2, survivin, CEACAM6, and SFN/14-3-3 gamma in follicular thyroid carcinoma. *J Pathol Transl Med.* 2015; 49: 112-7.
 19. Fritschy JM. Is my antibody-staining specific? How to deal with pitfalls of immunohisto-chemistry. *Eur J Neu Sci.* 2008; 28: 2365-70.
 20. Yu H, Lim HH, Tjokro NO, Sathiyathan P, Natarajan S, Chew W T, *et al.* Chaeroning HMGA2 protein protects stalled replication forks in stem and cancer cells. *Cell Reports.* 2014; 6: 684-97.
 21. Casalino L, Bakiri L, Talotta F, Weltzman B J, Fusco A, Yaniv A, *et al.* Fra-1 promotes growth and survival in RAS-transformed thyroid cells by controlling cyclin A transcription. *EMBO J.* 2007; 26: 1878-90.
 22. Niedziela M, Maccluch J, Korman E. Galectin-3 is not an universal marker of malignancy in thyroid nodular disease in children and adolescent. *J Clin Endocrinol Metabol.* 2002; 87: 4411-5.
 23. Sapio RM, Guerra A, Posca D, Limone PP, Deandrea M, Motta M, *et al.* Combined analysis of galectin-3 and BRAFV600E improves the accuracy of fine-needle aspiration biopsy with cytological findings suspicious for papillary thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer.* 2007; 14: 1089-97.