

## Ekspresi pRb untuk Membedakan Neoplasma Tiroid Jinak dan Ganas Dibandingkan dengan Gambaran Hsitopatologi

Laila Isra\*, Aswiyanti Asri\*, Edison\*\*

\*Bagian Patologi Anatomi, \*\*Bagian Ilmu Kesehatan Masyarakat  
Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas  
Padang

### ABSTRAK

#### Latar belakang

Neoplasma tiroid sebagai salah satu neoplasma kelenjar endokrin dibagi menjadi neoplasma jinak dan neoplasma ganas (karsinoma).<sup>1</sup> Pada pemeriksaan histopatologi tiroid rutin dengan pewarnaan HE (hematoksilin-eosin) sering ditemukan kesulitan untuk membedakan antara neoplasma jinak dengan neoplasma ganas, terutama antara adenoma folikuler dan karsinoma folikuler.<sup>2,3</sup> Cara menilai pemeriksaan histopatologi dilakukan dengan melihat invasi sel-sel tumor ke dalam kapsul.<sup>1-4</sup> Protein Rb-1 (pRb-1) merupakan petanda tumorsuppressor retinoblastoma yang berfungsi sebagai *cell cycle check points*. Peristiwa mutasi gen pRb menunjukkan bahwa sel sudah kehilangan kemampuan untuk mengontrol siklus sel, sehingga mutasi gen Rb dapat ditemukan pada sel tumor ganas.<sup>5,6,7</sup> Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara ekspresi Rb-1 dengan jenis dan gambaran histopatologik neoplasma tiroid.

#### Metode

Jenis penelitian observasional dengan *desain cross sectional* menggunakan 60 sampel neoplasma tiroid. Reevaluasi dilakukan pada preparat HE. Pada blok parafin yang telah dipotong, dilakukan pemeriksaan imunohistokimia menggunakan antibodi Rb-1. *Labelling index* dihitung dengan persentase sel yang positif <10% dan ≥10% per 500 sel. Data dianalisis dengan uji Chi-Square.

#### Hasil

Neoplasma tiroid ganas memiliki kecenderungan menunjukkan ekspresi Rb-1 ≥10% (positif) dan neoplasma tiroid jinak menunjukkan ekspresi Rb-1 <10% (negatif), Uji Fisher menunjukkan adanya hubungan bermakna ekspresi Rb-1 antara neoplasma ganas dan jinak  $p=0,016$  ( $p<0,005$ ). Namun, tidak terdapat hubungan bermakna ekspresi Rb-1 antara pemeriksaan imunohistokimia dan gambaran histopatologik.

#### Kesimpulan

Ekspresi Rb-1 dapat digunakan untuk membedakan neoplasma tiroid jinak dan ganas.

**Kata kunci** : neoplasma tiroid, jinak karsinoma tiroid, ekspresi Rb-1,

### ABSTRACT

#### Background

Thyroid neoplasm is then most common malignancy of the endocrine gland, that divides into benign and malignant.<sup>1</sup> Routine histopathology examination of thyroid (HE) showed that there is a difficulty to differentiate between follicular adenoma and follicular carcinoma.<sup>2,3</sup> An invasion into the capsule's of a cell is used to differentiate between those lesions.<sup>1-4</sup> A latter literature showed that Rb-1 protein product (pRb) is a retinoblastoma tumor suppressor protein, which function as the *cell cycle checkpoints*. The function of this gene is to regulate cell growth. The mutation of pRb gene makes loss control of cell cycle. We can find this mutation in many tumors.<sup>5,6,7</sup> This study aims to determine the correlated of Rb-1 expression to neoplasm type and histopathology features.

#### Methods

This observational cross sectional study will use 60 samples of thyroid neoplasm. Review of HE slides had done, Paraffin embedded tissue were collected and will observe for immunohistochemical evaluation with Rb-1 antibody. Labeling index for each tumor is presented as percentages of positive cells in <10% and >10% (in 500 cells). Statistical analyses will use Chi Square.

#### Results

Malignant thyroid has tendency Rb-1 expression ≥ 10% (positive) and benign thyroid has tendency Rb-1 expression <10% (negative). Fisher's analyses showed that there is a significant correlation Rb-1 expression between malignant and benign neoplasm  $p=0,016$  ( $p<0,005$ ). There is no significant correlation between expression of Rb-1 expression and histopathology features.

#### Conclusion

Expression of Rb-1 could used to differentiate between malignant and benign thyroid

**Key words** : benign thyroid neoplasm, thyroid carcinoma, Rb-1 expression,

**PENDAHULUAN**

Neoplasma tiroid merupakan tumor kelenjar endokrin yang paling sering ditemukan dan unik. Diantara semua keganasan, prognosis dan angka harapan hidup karsinoma tiroid paling baik.<sup>7,8,9</sup> Berdasarkan Klasifikasi WHO tahun 2004 neoplasma tiroid dibagi menjadi dua kelompok besar yaitu neoplasma jinak dan neoplasma ganas (karsinoma). Neoplasma tiroid juga mempunyai banyak spektrum histopatologi mulai dari yang berdiferensiasi baik seperti karsinoma papiler dan karsinoma folikuler, karsinoma berdiferensiasi buruk sampai karsinoma yang tidak berdiferensiasi (*undifferentiated /anaplastic*).<sup>1</sup>

Pemeriksaan histopatologi tiroid rutin dengan pewarnaan HE sering mengalami kesulitan dalam membedakan neoplasma jinak dengan neoplasma ganas, terutama menentukan minimal invasi antara adenoma folikuler dan karsinoma folikuler juga antara karsinoma papiler dan subtipe folikuler karena ciri-ciri keganasan seperti atipia sel tidak tampak nyata. Begitu pula ditemukan kesulitan dalam menentukan minimal invasi antara karsinoma folikuler dan lesi folikuler sebagai akibat tindakan biopsi jarum halus (FNAB).<sup>2,3,7</sup> Selama ini cara yang dipakai untuk membedakan tumor jinak dan ganas tiroid adalah dengan menilai invasi sel-sel tumor ke dalam kapsul. Contoh: pada adenoma folikuler tidak ditemukan invasi sel tumor ke dalam kapsul. Namun, jika ditemukan invasi sel tumor ke dalam kapsul maka diagnosa adalah suatu karsinoma folikuler.<sup>1</sup>

Protein retinoblastoma (pRb) adalah ekspresi dari gen tumor supresor yang terletak pada kromosom ke 13 lengan q14, yang berfungsi sebagai *cell cycle check points*, yaitu sebagai regulator negatif yang mengontrol dan menghentikan pertumbuhan sel terutama apabila sinyal pertumbuhannya abnormal. Gen dalam keadaan *Loss of Heterozygosity* (LOH) akan kehilangan fungsinya. Sel akan masuk dari fase G1 ke fase S dan selanjutnya ke fase M tanpa kontrol dan sel akan membelah terus menerus, yang merupakan awal dari karsinogenesis, sehingga hilangnya fungsi gen ini dikaitkan dengan terbentuknya beberapa tumor pada manusia.<sup>4,5,6</sup>

Secara teori karsinoma akan memberi hasil ekspresi positif karena akan terjadi ikatan antara pRb yang sudah mengalami mutasi dengan antibodi Rb-1. Dan pada suatu neo-

plasma jinak tumor supresor masih normal dan tidak terjadi ikatan dengan antibodi Rb-1.<sup>5,6</sup>

Penelitian terdahulu menyatakan bahwa ekspresi retinoblastoma menunjukkan ekspresi positif pada lesi jinak dan ekspresi negatif pada lesi ganas dan *Hurtle Cells*. Sedangkan pada karsinoma anaplastik menunjukkan 100% ekspresi positif dan pada karsinoma meduler menunjukkan 50% ekspresi positif.<sup>7</sup>

Penelitian lain menilai ekspresi protein retinoblastoma pada lesi tiroid jinak lebih tinggi dari pada lesi tiroid ganas.<sup>8</sup>

Berdasarkan latar belakang masalah diatas, penulis melakukan analisa hubungan antara ekspresi Rb-1 neoplasma tiroid secara imunohistokimia dan gambaran histopatologik.

**METODE PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan desain *cross sectional study*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas/M. Djamil Padang pada bulan Juni 2011 sampai Maret 2012. Kartu Status pasien, sediaan HE dan blok parafin dikumpulkan dan selanjutnya dilakukan pewarnaan imunohistokimia dengan antibodi Rb-1 (Usbiological R1660-07Q. Clone 9L616). Jumlah sel dilihat di bawah mikroskop dengan pembesaran kuat (400x) per 500 sel. *Labelling index* dihitung dengan persentase sel yang terwarnai bercak coklat dan terwarnai difus pada inti sel. Negatif bila <10% inti sel yang terwarnai coklat, dan positif bila ≥10% inti sel yang terwarnai coklat. Data dianalisis dengan uji Fisher.

**HASIL**

Tipe histopatologik terbanyak adalah karsinoma papiler sebanyak 24 kasus (40%). Ekspresi Rb-1 positif dijumpai pada 25 kasus (41,7%). (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian

Karakteristik	Jumlah Kasus (n)	Persentase (%)
<b>Tipe Histopatologik</b>		
Adenoma Folikuler/FA	8	13,3
Karsinoma Papiler/PCT	24	40,0
Karsinoma Folikuler/FCT	20	33,3
Poorly Diff/PDCT	2	3,3
Undifferentiated/UCT	5	8,3
Karsinoma Meduler/MCT	1	1,7
<b>Ekspresi Rb-1</b>		
<10%	35	58,3
>10%	25	41,7

Neoplasma tiroid ganas memiliki kecenderungan mempunyai ekspresi Rb-1 positif dan terdapat hubungan yang signifikan antara ekspresi Rb-1 dengan jenis neoplasma tiroid dengan uji Fisher's didapatkan nilai  $p=0.016$  ( $p < 0.05$ ). (Tabel 2)

Tabel 2. Hubungan Ekspresi Rb-1 dengan Jenis Neoplasma Tiroid

Ekspresi Rb-1	Jinak	Ganas	Total	Nilai p
< 10%	8(22,9%)	27(77,1%)	35(100%)	0,016
≥10%	0 (0%)	25(100%)	25(100%)	
Total	8(13,3%)	52(86,7%)	60(100%)	

Hubungan antara ekspresi Rb-1 dengan gambaran histopatologik neoplasma tiroid. Terlihat ekspresi Rb-1 positif lebih tinggi pada karsinoma berdiferensiasi buruk (PDCT), karsinoma tidak berdiferensiasi (anaplastik) (UDCT) dan karsinoma meduler (MDCT) dibandingkan dengan karsinoma papiler (PCT) dan karsinoma folikuler (FCT). Tetapi uji statistik tidak dapat dilanjutkan karena pada tabel 2x2 nilai E minimal harus 5 sedangkan pada penelitian ini nilai E sebesar 3,33 (Tabel 3).

Tabel 3. Hubungan Ekspresi Rb-1 dengan Gambaran Histopatologik Neoplasma Tiroid

Hasil	FA	PCT	FCT	PDCT	UCT	MCT	p
<10%	8 (100%)	15 (62,5%)	11 (55%)	0 (0%)	1 (20%)	0 (0%)	-
≥10%	0 (0%)	9 (37,5%)	9 (45%)	2 (100%)	4 (80%)	1 (100%)	
Total	8 (100%)	24 (100%)	20 (100%)	2 (100%)	5 (100%)	1 (100%)	

FA = Adenoma folikuler  
 PCT = Karsinoma papiler  
 FCT = Karsinoma folikuler

PDCT = Karsinoma berdiferensiasi buruk  
 UCT = Karsinoma anaplastik  
 MCT = Karsinoma meduler

**DISKUSI**

Klasifikasi pada diagnosa neoplasma tiroid terutama berdasarkan atas morfologi histopatologik. Tapi pada kasus tertentu terdapat kesulitan untuk menentukan klasifikasi jinak dan ganas. Beberapa pemeriksaan imunohistokimia sudah digunakan untuk membantu menentukan klasifikasi, seperti *calcitonin* dan penanda neuroendokrin untuk membedakan karsinoma meduler dan karsinoma yang berasal dari sel epitel folikel. Tapi masih sedikit antibodi yang bisa secara akurat membedakan neoplasma jinak dan ganas.

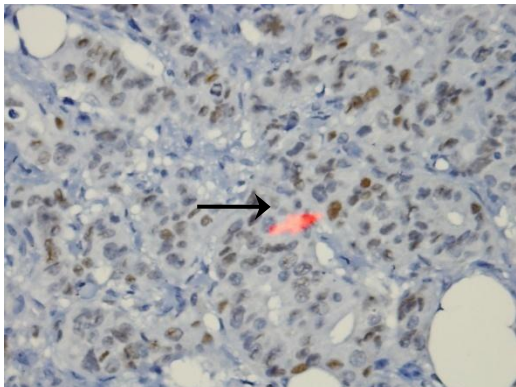
Pada penelitian ini ekspresi Rb-1 diteliti pada neoplasma tiroid jinak dan ganas dan pada enam gambaran histopatologik neoplasma tiroid yang terasing ditemukan.

Tabel 1 menunjukkan bahwa sebagian besar sampel adalah neoplasma ganas (86,7%), yaitu karsinoma papiler (40,0%) dan diikuti oleh karsinoma folikuler (33,3%). Pemeriksaan histologik karsinoma papiler dan karsinoma folikuler menunjukkan diferensiasi baik (*well differentiated*) yang dapat berkembang menjadi *poorly differentiated* atau *undifferentiated*.<sup>1,4</sup> Hal ini sesuai dengan literatur terdahulu yang menyatakan bahwa gambaran histopatologi neoplasma tiroid sangat beragam dan gambaran yang terbanyak adalah karsinoma papiler sekitar 60-85% dari seluruh karsinoma tiroid dan diikuti

oleh karsinoma folikuler berjumlah sekitar 10-15% kasus.<sup>11,12</sup>

Tabel 2 menunjukkan bahwa jumlah neoplasma ganas (86,6%) dan neoplasma jinak (13,3%). Hal ini diduga karena sampel lesi jinak adalah *true neoplasm*. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa jumlah neoplasma ganas 10% lebih banyak dibanding neoplasma jinak.<sup>1</sup> Sedangkan lesi jinak terlihat sebagai nodul-nodul yang bukan neoplasma, karena belum ada kriteria untuk menentukan ciri-ciri lesi jinak seperti hiperplasia atau adenoma.<sup>13</sup>

Rb-1 merupakan petanda tumor supresor retinoblastoma yang diekspresikan pada inti sel. Jumlah sel dilihat dibawah mikroskop dengan pembesaran kuat (400x) per 500 sel. *Labelling index* dihitung dengan persentase sel yang terwarnai bercak coklat dan terwarnai difus pada inti sel. Negatif bila <10% inti sel yang terwarnai coklat, dan positif bila ≥10% inti sel yang terwarnai coklat (Gambar 1). Terjadinya perbedaan warna coklat yang muncul kemungkinan karena perbedaan proses preanalitik, yaitu proses fiksasi dengan formalin dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Fiksasi yang baik adalah dengan formalin buffer 10%.



Gambar 1. Ekspresi Rb-1 dengan kriteria positif. IHK (400x)

Pada penelitian ini didapatkan ekspresi Rb-1 positif pada neoplasma tiroid ganas berjumlah 25 kasus (41,6%). Terdapat hubungan yang signifikan antara ekspresi Rb-1 dengan jenis neoplasma tiroid.

Tabel 3 menunjukkan bahwa adenoma folikuler 8 kasus (100%) negatif berarti tidak terjadi ikatan antigen dan antibodi antara tumor supresor retinoblastoma dengan antibodi Rb-1. Pada karsinoma papiler 9 kasus (37,5%) positif, karsinoma folikuler 9 kasus (45%) positif, karsinoma berdiferensiasi buruk 2 kasus (100%) positif, karsinoma anaplastik 4 kasus (80%) positif dan karsinoma meduler 1 kasus (100%) positif. Karsinoma berdiferensiasi buruk, karsinoma anaplastik dan karsinoma meduler kecenderungan mempunyai ekspresi Rb-1 positif lebih tinggi dibandingkan karsinoma papiler dan karsinoma folikuler (berdiferensiasi baik). Namun, tidak terdapat hubungan bermakna antara ekspresi Rb-1 dengan tipe histopatologik.

Penelitian sebelumnya menunjukkan ekspresi positif pada neoplasma tiroid jinak, seperti adenoma folikuler 100% positif dan nodular goiter 89% positif. Ekspresi negatif pada neoplasma tiroid ganas dan *Hurtle Cells* seperti karsinoma folikular 89% dan karsinoma papiler 100%.<sup>14</sup> Sedangkan ekspresi positif pada karsinoma anaplastik 100% dan pada karsinoma meduler 50%.<sup>7</sup> Penelitian lain menilai ekspresi protein retinoblastoma pada lesi tiroid jinak lebih tinggi dari pada lesi tiroid ganas.<sup>8</sup> Hasil tersebut diduga disebabkan oleh penggunaan antibodi terhadap Rb-1 *wild type* sedangkan pada penelitian ini menggunakan antibodi *mutant type*.

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya peluang pengembangan lebih lanjut antibodi Rb-1 sehingga bisa digunakan sebagai penanda yang akurat untuk membedakan neoplasma tiroid jinak dan ganas dalam penggunaan secara praktis. Terutama untuk membedakan minimal invasif antara adenoma folikuler dan karsinoma folikuler, juga antara karsinoma papiler dan subtipe folikuler. Serta untuk membedakan lesi jinak sesudah tindakan biopsi jarum halus (FNAB) dengan minimal invasif karsinoma folikuler.<sup>7</sup>

Pada penelitian ini tidak semua neoplasma ganas memberikan ekspresi pRb-1 positif. Hal ini diduga dipengaruhi oleh (1) fiksasi preanalitik; (2) *unmasking antigen* pada jaringan yang kurang sempurna; (3) antibodi sangat sensitif dan tidak biasa digunakan dalam pemeriksaan rutin; (4) pengalaman melakukan pewarnaan terhadap satu jenis antibodi tertentu.<sup>15,16</sup>

#### **KESIMPULAN**

Ekspresi Rb-1 dapat digunakan membantu membedakan neoplasma tiroid jinak dan ganas.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

1. De Lellis RA, Lyod rv, Heitz et al. Tumor of Thyroid and Parathyroid. In WHO Classification of Tumour. Pathologic and Genetic of Tumour of Endokrin Organs. Lyon; 2004.p. 50-103.
2. Ghossein R. Problems and Controversies in the Histopathology of Thyroid Carcinoma of Follicular Cell Origin. Arch Pathol Lab Med 2009; 133: 683-91.
3. Fischer A, Sylvia L. Application of Immunohistochemistry to Thyroid Neoplasms. Arch Pathol Lab Med. 2008; 132: 359-72.
4. Robbin SL, Cotran RS, Kumar V. Neoplasia. 8th edition. WB Saunders. Philadelphia; 2010.p. 298-302.
5. Arthur S. Molecular Biology of Human Cancer. An Advanced Students Textbook. Springer. Netherlands: 2006.p. 91-109.
6. Weinberg. The Rb protein and Cell Cycle Control. Cell J 1995; 81:323-30.
7. Anwar F, et all. Retinoblastoma Expression in Thyroid Neoplasms. United States and Canadian Academy of Pathology. Modern Pathol J. 2000; 1: 562-9.
8. Tavangar SM, et al. Evaluation of Retinoblastoma Expression in Benign and

- Malignant Thyroid Neoplasms. Iranian J Endocrinol and Metabolism 2008; 9: 345-50.
9. Paolo G et al. The incidence of thyroid Carcinoma in Multinodular Goiter: retrospective analysis. Acta Bio Medica Ateneo Parmense 2004; 75: 114-7.
  10. Dinda et al. Estrogen-like Effect of Thyroid Hormone on Regulation of Tumor Suppressor Protein, p53 and Retinoblastoma in Breast Cancer Cells. J Oncogene 2002; 24: 7621-8.
  11. Larijani B et al. Epidemiologic Feature of Thyroid Cancer Based on Cancer Registry Data system. Iranian J Publ Health 2005; 34: 1-7.
  12. Sakhtarin et al. Iodine deficiency, radiation dose, and the risk of thyroid cancer among children and adolescent in the Bryansk region of Russia following the Chernobyl power station accident. International Epidemiol Assocn. 2003: 584-91.
  13. Humaira. Profil Penderita Karsinoma Tiroid Primer Berdasarkan Diagnosis Biopsi Aspirasi Jarum Halus di Laboratorium Patologi Anatomi Kota Medan 2009.
  14. Stolf SB et al. Class distinction between follicular adenomas and follicular carcinomas of the Thyroid Gland on the Basis of their Signature Expression. J Cancer 2006; 106:1891-900.
  15. Jackson P, Blythe D. Immunohistochemical Techniques. In Theory and Practice of Histological Techniques. Churchill Livingstone Elsevier; 2008.p.433-72.
  16. Dabbs D. Diagnostic Immunohistochemistry 2<sup>nd</sup> edition. Churchill Livingstone Elsevier ; 2006.p. 272-3.