

## **Ekspresi Galectin-3 pada Karsinoma Papiler, Hiperplasia Noduler dan Adenoma Folikular Organ Tiroid Di Bali**

**Ni Ketut Ari Widhiasih, Herman Saputra, Luh Putu Iin Indrayani Maker**

*Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana Denpasar*

### **ABSTRAK**

#### **Latar belakang**

Karsinoma tiroid merupakan keganasan organ endokrin tersering. Lebih dari 85% kasus merupakan karsinoma papiler, yang tidak jarang menimbulkan kesulitan diagnosis, dan dapat dikelirukan dengan hiperplasia nodular dan adenoma folikular. Galectin-3 merupakan salah satu petanda yang terlibat pada mekanisme adesi sel. Protein ini mempunyai struktur pentamer unik yang berfungsi meregulasi berbagai mekanisme, antara lain kelangsungan hidup, proliferasi, transformasi, serta migrasi sel. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat apakah ekspresi galectin-3 pada karsinoma papiler lebih tinggi dibandingkan dengan hiperplasia nodular dan adenoma folikular tiroid, dan untuk melihat apakah ekspresi galectin-2 dapat digunakan sebagai petanda diagnostik.

#### **Metode**

Penelitian ini menggunakan metode analitik potong lintang. Sampel penelitian diambil dari sediaan blok parafin dari bahan operasi tiroidektomi penderita yang telah diperiksa secara histopatologik di Bagian/SMF Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah Denpasar, sejak Januari 2013 sampai Agustus 2014. Jumlah sampel adalah 42, terdiri atas 14 kasus hiperplasia nodular, 14 kasus adenoma folikular, dan 14 kasus karsinoma papiler tiroid. Selanjutnya dilakukan pulasan imunohistokimia dengan antibodi primer anti galectin-3 pada seluruh sampel. Hasil penelitian dianalisis dengan uji *chi-square*, dengan tingkat kemaknaan ( $\alpha$ ) pada  $p<0,05$ .

#### **Hasil**

Ekspresi galectin-3 lebih tinggi pada karsinoma papiler dibandingkan dengan hiperplasia nodular dan adenoma folikular ( $p=0,000$ ). Tidak terdapat perbedaan bermakna secara statistik ekspresi galectin-3 berdasarkan variabel umur ( $p=0,130$ ), dan jenis kelamin ( $p=0,581$ ).

#### **Kesimpulan**

Hasil pemeriksaan ekspresi galectin-3 kemungkinan dapat digunakan sebagai petanda diagnostik dalam menegakkan diagnosis kasus hiperplasia nodular, adenoma folikular, dan karsinoma papiler tiroid terutama pada varian folikular.

**Kata kunci:** adenoma folikular, galectin-3, hiperplasia nodular, karsinoma papiler, tiroid.

### **ABSTRACT**

#### **Background**

Thyroid carcinoma is the most common malignancy of the endocrine organs. More than 85% of cases are papillary carcinoma, especially follicular variant which often cause misdiagnostic, and may be confused with nodular hyperplasia and follicular adenoma. Galectin-3 is one of the markers that are involved in cell adhesion, and this protein had unique pentamer structure which serves to regulated a various mechanisms, such as survival, proliferation, transformation, and cell migration. The purpose of this study is to see the expression of galectin-3 in papillary carcinoma was higher compared with nodular hyperplasia and follicular adenoma of the thyroid organ, so it could be used as a diagnostic marker.

#### **Methods**

This study used is a cross-sectional analytic method. The samples were taken from paraffin embedded block archive of patient thyroidectomy operation specimens, which were examined histopathologically in Departement of Anatomical Pathology, Faculty of Medicine, University of Udayana/Sanglah General Hospital, from January 1<sup>st</sup>, 2013 to August 30<sup>th</sup>, 2014. The sample size was 42 samples, which consists of 14 nodular hyperplasia, 14 follicular adenoma, and 14 papillary carcinoma from the thyroid organ respectively, then stained with galectin-3 immunohistochemistry. The results were analyzed by *Chi-square*test with significance level ( $\alpha$ ) at  $p<0.05$ .

#### **Results**

Galectin-3 expression was higher in thyroid papillary carcinoma compared with nodular hyperplasia and follicular adenoma of the thyroid ( $p=0.000$ ). There are no statistically significant differences between the galectin-3 expression based on the age ( $p=0.130$ ) and sex variables ( $p=0.581$ ).

#### **Conclusion**

The results suggest that the expression of Galectin-3 is likely can be used as a diagnostic marker for diagnosed nodular hyperplasia, follicular adenoma, and papillary carcinoma of the thyroid especially of follicular variant.

**Key words:** follicular adenoma, galectin-3, nodular hyperplasia, papillary carcinoma, thyroid.

## PENDAHULUAN

Standar diagnosis dalam menegakkan lesi-lesi tiroid adalah melalui pemeriksaan histopatologi dari bahan blok parafin yang dipulsa dengan pewarnaan hematoksilin dan eosin (H&E).<sup>1</sup> Pada kebanyakan kasus, diagnosis dapat segera dinilai tanpa kesulitan berdasarkan kriteria sitologi dan histopatologi.<sup>2-4</sup> Pada beberapa situasi tidak jarang diagnosis sulit ditegakkan, khususnya pada kelompok nodul tiroid dengan arsitektur *follicular* ("*follicular pattern*"). Diagnosis *follicular-patterned lesions of uncertain malignant potential* pada sediaan histopatologi dapat mengakibatkan kebingungan klinisi, sehingga menghambat penatalaksanaan yang efektif terhadap lesi ini. Membedakan karsinoma papiler varian folikular dengan adenoma folikular bisa sulit bila lesi berkapsel, serta gambaran inti dari karsinoma papiler hanya tampak fokal.<sup>1,5</sup> Begitu pula hiperplasia nodular yang berbatas tegas, dan secara mikroskopis menunjukkan pola pertumbuhan papiler, dapat dikelirukan dengan karsinoma papiler tiroid.<sup>3</sup>

Beberapa laporan menyebutkan adanya variabilitas di antara para ahli patologi dalam menentukan kriteria minimal untuk mendiagnosis karsinoma papiler tiroid.<sup>5</sup> Dilaporkan adanya variasi *intraobserver* dan *interobserver* yang luas dalam mendiagnosis karsinoma papiler tiroid.<sup>5</sup> Muncul pula kekhawatiran mengenai kemungkinan *underdiagnosis* karsinoma papiler sebagai lesi jinak neoplastik atau nonneoplastik. Dasar kekhawatiran ini adalah adanya laporan kasus karsinoma papiler varian folikular yang awalnya didiagnosis sebagai adenoma folikular dan *microfollicular adenomatoid nodule*, tetapi kemudian mengalami metastasis ke organ paru-paru dan tulang. Penelitian lainnya melaporkan lesi tiroid dengan gambaran makrofolikular yang secara sitologi dan arsitektural sangat menyerupai nodular goiter ternyata telah mengalami metastasis ke kelenjar getah bening dan merupakan suatu karsinoma papiler tiroid.<sup>3,5</sup>

Dalam praktik sehari-hari juga tidak jarang ditemukan kasus-kasus seperti di atas, sehingga diagnosis sering sulit ditegakkan. Pemeriksaan tambahan, seperti imunohistokimia diperlukan untuk membantu menegakkan diagnosis. Galectin-3 merupakan salah satu *marker* imunohistokimia yang banyak diteliti dan digunakan oleh para ahli patologi dalam membedakan berbagai lesi tiroid. Protein ini menunjukkan struktur pentamer yang mampu mengikat  $\beta$ -

galactoside pada glikoprotein dan glikolipid sel, menghasilkan bentuk baru yang berperan dalam sinyal seluler dan stabilisasi reseptör. Galectin-3 diekspresikan oleh sel makrofag, netrofil, sel mast, dan sel langerhans, serta terlibat dalam beberapa proses fisiologis dan patologis, termasuk regulasi normal proliferasi sel dan inhibisi apoptosis, interaksi antar sel, dan sel dengan matriks, adesi, serta migrasi. Protein ini juga diyakini memiliki peranan dalam peradangan dan perbaikan kerusakan sel, transformasi neoplastik, dan metastasis.<sup>6-8</sup>

Galectin-3 terekspresi positif pada inti, sitoplasma, permukaan sel, dan matriks di sekitar sel. Pada sebagian besar kasus karsinoma papiler, galectin-3 terpulsa difus dan kuat pada sitoplasma.<sup>2,6,7,9</sup> Sebaliknya, imunoreaktivitas galectin-3 hanya ditemukan fokal pada sejumlah kecil kasus tumor tiroid jinak dan tidak terekspresi pada spesimen jaringan tiroid normal.<sup>8</sup>

Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan ekspresi galectin-3 lebih tinggi pada karsinoma papiler dibandingkan dengan hiperplasia nodular dan adenoma folikular pada organ tiroid, sehingga dapat digunakan sebagai *marker* diagnostik dalam membedakan lesi-lesi tiroid tersebut.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode analitik observasional potong lintang. Penelitian dilakukan di Bagian/SMF Patologi Anatomik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah, sejak tanggal 19 November sampai 31 Desember 2014. Populasi penelitian ini adalah semua sediaan blok parafin dari bahan operasi tiroidektomi penderita hiperplasia nodular, adenoma folikular, dan karsinoma papiler pada organ tiroid di Bali. Sampel penelitian berasal dari sediaan blok parafin yang telah diperiksa secara histopatologi di Bagian/SMF Patologi Anatomik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah Denpasar sejak tanggal 1 Januari 2013 sampai 30 Agustus 2014, yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, terdiri atas 14 kasus hiperplasia nodular, 14 kasus adenoma folikular, dan 14 kasus karsinoma papiler.

Kriteria inklusi adalah sampel yang didiagnosis sebagai hiperplasia nodular dengan atau tanpa tiroiditis limfositik, adenoma folikular, dan karsinoma papiler pada organ tiroid.

Sedangkan kriteria eksklusi adalah sediaan yang banyak mengandung jaringan nekrosis dan perdarahan, serta blok parafin rusak atau berjamur. Hiperplasia nodular adalah nodul tiroid nonneoplastik, tersusun atas proliferasi sel epitel folikel tiroid berbentuk kuboid, kolumnar, atau pipih yang membentuk pola papiler, pseudopapiler, atau folikular, dengan atau tanpa diliputi oleh kapsel jaringan ikat fibrus. Pada pola folikular tampak folikel tiroid dalam berbagai bentuk dan ukuran, dengan lumen folikel mengandung bahan koloid. Dapat ditemukan gambaran tambahan berupa fokus area fibrosis, perdarahan, dan kalsifikasi pada parenkim tiroid, dengan atau tanpa infiltrasi sel radang kronik (troiditis limfositik) serta hemosiderofag.<sup>3</sup> Adenoma folikular adalah neoplasma tiroid jinak diliputi oleh kapsel jaringan ikat fibrus yang utuh, tersusun atas proliferasi folikel tiroid dengan bentuk dan ukuran yang seragam. Folikel tiroid tersebut dilapisi oleh sel epitel folikel tiroid berbentuk kuboid, kolumnar, poligonal, atau dapat pula mengalami perubahan onkositik (*hurthle cell*), yang tersusun normofolikular, mikrofolikular, makrofolikular, trabekular, atau solid, dengan inti sel yang tidak menunjukkan gambaran patognomonis untuk karsinoma papiler tiroid, serta tidak ditemukan invasi pada kapsel maupun pembuluh darah.<sup>10</sup> Karsinoma papiler adalah neoplasma tiroid ganas yang menunjukkan diferensiasi sel epitel folikel, tersusun dalam pola papiler kompleks yang bercabang atau membentuk pola folikular. Sel epitel folikel tiroid berbentuk kuboid, kolumnar, atau dapat pula mengalami perubahan onkositik (*hurthle cell*), dan menunjukkan gambaran inti yang patognomonis untuk karsinoma papiler, meliputi inti yang jernih (*ground glass* atau *orphan annie eyes*), berbentuk oval dan tampak membesar, terletak saling tumpang tindih, membran inti tidak beraturan, adanya inklusi sitoplasma intranuklear, serta *nuclear grooves*.<sup>10</sup>

Preparat hasil pulasan hematoksilin dan eosin (H&E) sesuai nomor-nomor yang telah dikumpulkan, dievaluasi ulang oleh peneliti dan dua ahli patologi untuk memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kemudian dilakukan pemotongan ulang blok parafin, untuk dilakukan pengecatan imunohistokimia galectin-3 dengan menggunakan *anti-galectin-3 mouse monoclonal antibody*, clone A3A12, dari Abcam, sebagai antibodi primer, selanjutnya diamati secara kuantitatif dengan menggunakan mikroskop cahaya

*binokuler Olympus CX21* menggunakan pembesaran dari 40 kali untuk melihat distribusi sel yang terpulas positif, dan pembesaran 400 kali untuk melihat intensitas pewarnaan pada sel yang terpulas positif. Sel yang dinyatakan positif adalah sel yang terpulas coklat pada sitoplasma. Penilaian ekspresi galectin-3 dibuat dengan mengalikan distribusi sel yang tercat positif oleh galectin-3 dan reaksi intensitasnya. Distribusi sel yang tercat positif oleh galectin-3 di-*grading* sebagai berikut: *grade 0*: bila tidak ada sel yang tercat, *grade 1*: >0-<5% sel yang tercat, *grade 2*: 5%-25% sel yang tercat, *grade 3*: >25%-75% sel yang tercat, *grade 4*: >75% sel yang tercat. Reaksi intensitasnya diskor sebagai berikut: 0: negatif, 1: intensitas warna lemah, 2: intensitas warna sedang, 3: intensitas warna kuat. Skor ekspresi imunohistokimia galectin-3 hasil perkalian *grading* dan skor intensitas, dikategorikan sebagai berikut: *grade 1*: negatif (0), *grade 2*: rendah (1-3), *grade 3*: *intermediate* (4-6), *grade 4*: tinggi (>6). Selanjutnya, skor ekspresi tersebut digolongkan menjadi 2, yakni skor ekspresi rendah (*grade 1* dan *2*) serta skor ekspresi tinggi (*grade 3* dan *4*).<sup>6</sup>

Data-data penelitian disajikan dalam bentuk tabel dan deskriptif. Dalam penelitian ini data umur, jenis kelamin, dan ekspresi galectin-3, terlebih dahulu diuji normalitas dan homogenitas datanya. Perbedaan ekspresi galectin-3 pada hiperplasia nodular, adenoma folikular, dan karsinoma papiler diuji dengan analisis *chi-square*( $\chi^2$ ) dengan tingkat kemaknaan ( $\alpha$ ) ditetapkan pada  $p<0,05$ .

## HASIL

Rentang umur pasien pada penelitian ini cukup bervariasi, yaitu dari umur 18 sampai 66 tahun, dengan jumlah terbanyak pada rentang umur 40 sampai 49 tahun. Rerata umur pasien kelompok hiperplasia nodular adalah  $43,21 \pm 8,60$ , kelompok adenoma folikular adalah  $36,86 \pm 13,52$ , dan kelompok karsinoma papiler adalah  $45,07 \pm 10,25$ . Analisis kemaknaan dengan uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa rerata umur pada ketiga kelompok tidak berbeda secara bermakna, dan hasil ekspresi galectin-3 tidak dipengaruhi oleh umur pada penelitian ini ( $p=0,130$ ;  $p>0,05$ ) (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik sampel penelitian

Variabel	Kelompok			p (%)
	Hiperplasia nodular	Adenoma folikular	Karsinoma papiler	
Umur	43,21±8,60	36,86±13,52	45,07±10,25	0,130
Jenis kelamin				
Laki-laki	2	4	2	0,581
Perempuan	12	10	12	

Distribusi kasus pada penelitian ini didominasi oleh jenis kelamin perempuan sebesar 34 pasien, sedangkan pasien laki-laki sebesar delapan pasien. Pada kelompok hiperplasia nodular dan karsinoma papiler rasio kasus antara pasien laki-laki dan perempuan masing-masing adalah 1:6, dan 1:2,5 pada kelompok adenoma folikular. Uji *chi-square* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna secara statistik imunoekspresi galectin-3 pada jenis kelamin laki-laki dan perempuan ( $p=0,581$ ;  $p>0,05$ ) (Tabel 1).

Tabel 2. Distribusi pulasan galectin-3.

Distribusi pulasan galectin-3	Kelompok			Total (%)
	Hiperplasia nodular n (%)	Adenoma folikular n (%)	Karsinoma papiler n (%)	
Grade 4	0 (0)	1 (2,38)	12 (28,57)	13 (30,95)
Grade 3	0 (0)	0 (0)	1 (2,38)	1 (2,38)
Grade 2	0 (0)	0 (0)	1 (2,38)	1 (2,38)
Grade 1	4 (9,52)	7 (16,67)	0 (0)	11 (26,19)
Negatif	10 (23,81)	6 (14,29)	0 (0)	16 (38,10)
Total	14 (33,33)	14 (33,34)	14 (33,33)	42 (100)

Distribusi pulasan galectin-3 dinilai berdasarkan luasnya area yang memberikan hasil pulasan galectin-3 yang positif. Dari Tabel 2, ditemukan bahwa pulasan pada kelompok karsinoma papiler menunjukkan 12 kasus (28,57%) dengan *grade* 4 dan masing-masing satu kasus (2,38%) dengan *grade* 3 dan *grade* 2, serta tidak ditemukan adanya *grade* 0 dan 1 pada kelompok ini. Pada kelompok adenoma folikular ditemukan sebanyak enam kasus (14,29%) dengan *grade* 0, tujuh kasus (16,67%) dengan *grade* 1, tidak ada kasus yang menunjukkan *grade* 2 dan 3, dan ditemukan satu kasus (2,38%) dengan *grade* 4. Pada kelompok hiperplasia nodular tampak 10 kasus (23,81%) dengan *grade* 0, empat kasus (9,52%) dengan *grade* 1, dan tidak ada kasus dengan *grade* 2, 3, maupun 4.

Penelitian ini menunjukkan intensitas pada 14 kasus kelompok karsinoma papiler sebanyak tujuh kasus (16,67%) dengan intensitas pulasan galectin-3 yang kuat (skor 3), empat kasus (9,52%) dengan intensitas pulasan sedang (skor 2), tiga kasus (7,14%) dengan

intensitas pulasan lemah, serta tidak ada sampel yang negatif (tidak terpulas). Pada kelompok adenoma folikular ditemukan enam kasus (14,29%) memberikan hasil galectin-3 yang tidak terpulas (skor 0), lima kasus (11,90%) dengan intensitas pulasan lemah (skor 1), dua kasus (4,76%) dengan intensitas sedang, dan ditemukan satu kasus (2,38%) dengan intensitas kuat. Hasil penilaian intensitas pulasan galectin-3 pada kelompok hiperplasia nodular menunjukkan sebanyak 10 kasus (23,81%) memberikan hasil galectin-3 yang tidak terpulas (skor 0), tidak ada kasus yang menunjukkan intensitas pulasan lemah, satu kasus (2,38%) menunjukkan intensitas sedang (skor 2), dan ditemukan tiga kasus (7,14%) dengan intensitas pulasan galectin-3 yang kuat (Tabel 3).

Tabel 3. Skor intensitas pulasan galectin-3

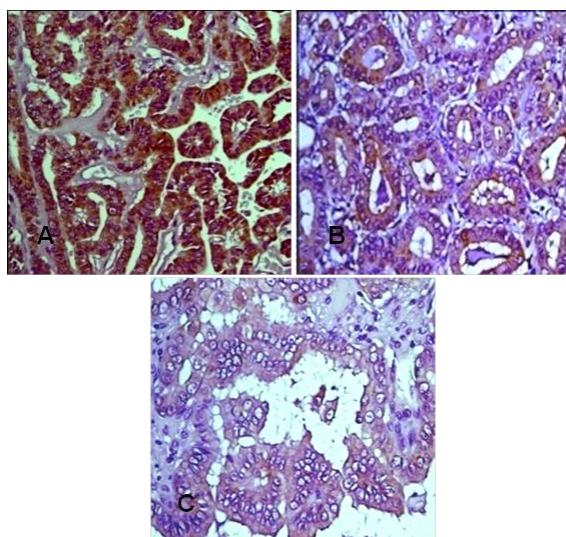
Intensitas pulasan Galectin-3	Kelompok			Total (%)
	Hiperplasia nodular n (%)	Adenoma folikular n (%)	Karsinoma papiler n (%)	
Skor 3 (kuat)	3 (7,14)	1 (2,38)	7 (16,67)	11 (26,19)
Skor 2 (sedang)	1 (2,38)	2 (4,76)	4 (9,52)	7 (16,67)
Skor 1 (lemah)	0 (0)	5 (11,90)	3 (7,14)	8 (19,04)
Negatif	10 (23,81)	6 (14,29)	0 (0)	16 (38,10)
Total	14 (33,33)	14 (33,33)	14 (33,33)	42 (100)

Tabel 4. Perbedaan ekspresi galectin-3 pada hiperplasia nodular, adenoma folikular, dan karsinoma papiler pada organ tiroid.

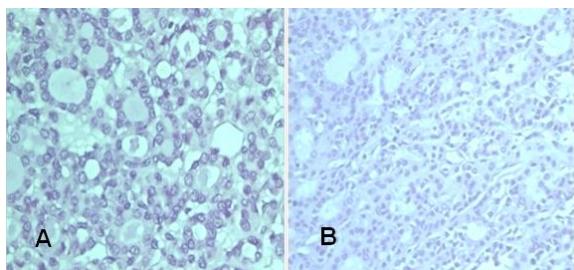
Ekspresi Galectin-3	Kelompok			p
	Hiperplasia nodular n (%)	Adenoma folikular n (%)	Karsinoma papiler n (%)	
Grade 4	0 (0)	1 (7,14)	9 (64,29)	0,000
Grade 3	0 (0)	0 (0)	5 (35,71)	
Grade 2	4 (28,57)	7 (50,00)	0 (0)	
Grade 1	10 (71,43)	6 (42,86)	0 (0)	
Total	14 (100)	14 (100)	14 (100)	

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa imunoekspresi galectin-3 pada seluruh kasus hiperplasia nodular menunjukkan skor ekspresi rendah, 13 kasus adenoma folikular menunjukkan skor ekspresi rendah, serta ditemukan satu kasus menunjukkan skor ekspresi tinggi dengan imunoekspresi *grade* 4. Pada kelompok karsinoma papiler, seluruh kasus menunjukkan skor ekspresi tinggi. Uji analisis *chi-square* menunjukkan ekspresi galectin-3 pada hiperplasia nodular tidak berbeda bermakna secara statistik dibandingkan dengan adenoma folikular ( $p=1,000$ ;  $p>0,005$ ), ekspresi galectin-3 secara bermakna lebih tinggi

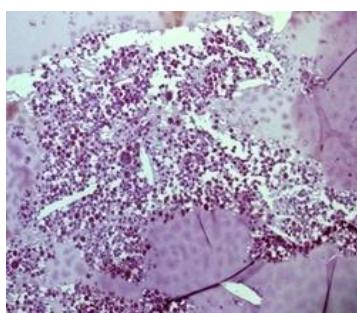
pada karsinoma papiler dibandingkan hiperplasia nodular serta adenoma folikular ( $p=0,000$ ;  $p<0,05$ ) (Tabel 4).



Gambar 1. Imunohistokimia galectin-3 pada kasus karsinoma papiler. A. Intensitas pulasan kuat. B. Intensitas pulasan sedang. C. Intensitas pulasan lemah (pembesaran 400x).



Gambar 2. Pulasan negatif imunohistokimia galectin-3. A. Kasus adenoma folikular; B. Kasus hiperplasia nodular (pembesaran 400x).



Gambar 3. Imunohistokimia galectin-3 terpulas dengan intensitas kuat pada sitoplasma sel makrofag pada kasus hiperplasia nodular (pembesaran 100x).

## DISKUSI

Pada penelitian ini ditemukan bahwa kelompok karsinoma papiler menunjukkan rerata umur penderita yang lebih tua dibandingkan dengan kelompok hiperplasia nodular dan adenoma folikular. Hal ini dapat dijelaskan karena semakin meningkatnya usia menyebabkan terjadinya akumulasi mutasi genetik yang memicu terbentuknya tumor ganas.<sup>11</sup> Rerata umur penderita karsinoma papiler menunjukkan rerata yang hampir sama dengan penelitian lainnya, yaitu pada dekade ke lima.<sup>10,12</sup> Pada penelitian ini juga didapatkan hasil yang menunjukkan bahwa rerata umur pada ketiga kelompok tidak berbeda bermakna secara statistik, dan imunoekspresi galectin-3 tidak dipengaruhi umur. Sampel penelitian ini didominasi oleh jenis kelamin perempuan. Uji *chi-square* menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna secara statistik ekspresi galectin-3 antara jenis kelamin laki-laki dibandingkan dengan perempuan ( $p=0,581$ ;  $p>0,05$ ). Hal ini serupa dengan pernyataan Zhu, *et al.* (2010) dalam penelitiannya yang menyebutkan bahwa imunoekspresi galectin-3 tidak dipengaruhi oleh umur, jenis kelamin, tiroiditis limfositik, invasi lokal, atau metastasis ke organ jauh.<sup>13</sup>

Berbagai penelitian melaporkan lesi tiroid dua hingga empat kali lebih sering ditemukan pada perempuan dibandingkan laki-laki.<sup>14</sup> Chen, *et al.* (2012), menyebutkan bahwa perbandingan kejadian karsinoma papiler pada laki-laki dibandingkan perempuan, yaitu 1:6, serupa dengan penelitian ini.<sup>15</sup> Scognamiglio, *et al.* (2006), dalam penelitiannya melaporkan perbandingan kasus adenoma folikular antara pasien laki-laki dan perempuan, yakni 1:3,5, dan dalam penelitian ini ditemukan 1:2,5.<sup>12</sup> Data epidemiologi menunjukkan puncak insiden karsinoma tiroid terjadi lebih awal pada perempuan, dan ditemukan adanya peran estrogen pada karsinogenesis tiroid. Reseptor estrogen diekspresikan oleh sel folikel, baik pada jaringan tiroid neoplastik maupun nonneoplastik, dan hormon estrogen merangsang proliferasi sel ini.<sup>15</sup> Aksi dari reseptor estrogen dalam mempengaruhi proliferasi sel folikel tiroid dimediasi melalui aktivasi jalur transduksi sinyal MAPK/ERK, *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K), regulasi siklus sel *cyclin D1*, aktivasi faktor transkripsi *c-fos*, dan jalur apoptosis Bcl2/Bax.<sup>15</sup> Adanya reseptor estrogen pada sel epitel folikel tiroid ini, dapat merupakan salah

satu penyebab insiden lesi-lesi tiroid lebih sering dijumpai pada pasien perempuan.

Galectin-3 dilaporkan terekspresi rendah pada hiperplasia nodular dan imunoekspresinya hanya ditemukan pada sejumlah neoplasma tiroid jinak.<sup>8</sup> Dilaporkan adanya penelitian yang menyebutkan bahwa galectin-3 terekspresi pada 55% kasus goiter. Sebuah studi bahkan melaporkan ekspresi galectin-3 terpulsa pada 72% kasus adenoma folikular.<sup>8</sup> Tingginya tingkat ekspresi galectin-3 pada kasus hiperplasia nodular dan adenoma folikular yang dilaporkan pada penelitian tersebut dapat disebabkan oleh penggunaan sistem deteksi *avidin-biotin peroxidase kompleks*, tanpa blokade biotin.<sup>2,7,8</sup>

Pada penelitian ini, imunoekspresi galectin-3 pada seluruh kasus hiperplasia nodular menunjukkan skor ekspresi rendah. Empat kasus menunjukkan imunoekspresi *grade 2*, dengan intensitas pulasan kuat tiga kasus, dan satu kasus terpulsa dengan intensitas sedang. Ditemukannya pulasan positif pada kasus hiperplasia nodular dapat dijelaskan melalui beberapa penelitian yang menyebutkan bahwa sel folikel tiroid pada dasarnya memiliki biotin endogen yang dapat menyebabkan hasil positif palsu.<sup>1</sup> Karena itu, penelitian yang menggunakan *avidin-based detection system* tanpa blokade terhadap biotin harus diinterpretasikan dengan hati-hati. Selain itu, reaktivitas biotin endogen dari suatu spesimen yang telah difiksasi dengan formalin dan dilakukan *paraffin embedding* dapat ditingkatkan dengan prosedur antigen *retrieval* yang diinduksi oleh panas, terutama pada tekanan yang lebih rendah dari pemanasan *microwave*. Suatu studi menemukan pewarnaan biotin yang positif pada delapan dari 12 tumor tiroid setelah penggunaan antigen *retrieval*, bahkan tanpa aplikasi *marker* antibodi.<sup>8</sup>

Hasil positif palsu dapat pula ditemukan pada nodul kistik dan lesi inflamasi, sehingga dapat menimbulkan permasalahan dalam interpretasi pulasan IHK galectin-3.<sup>16</sup> Ekspresi positif sel folikular nonneoplastik pada area inflamasi dihasilkan oleh sitokin yang disekresikan oleh sel inflamasi atau perembesan galectin-3 oleh sel limfosit ke sel folikular di sekitarnya. Hal ini ditemukan juga dalam penelitian ini. Beberapa nodul kistik yang mengandung infiltrasi sel makrofag tampak menunjukkan imunoekspresi terhadap galectin-3 (Gambar 3). Kuatnya intensitas imunoekspresi

galectin-3 pada sitoplasma sel makrofag disebabkan oleh kemampuan galectin-3 mengaktifkan makrofag dengan jalan berikatan silang dengan CD98 dan menstimulasi PI3K-dependent signals. Galectin-3 diekspresikan secara kuat oleh makrofag yang teraktivasi, dan bekerja mempengaruhi fagositosis dan kemotaksis melalui mekanisme G-protein-coupling signaling.<sup>17</sup> Penjelasan lainnya juga dapat dimungkinkan, bahwa ditemukan adanya perubahan pola monoklonal pada kelompok nodul tiroid yang sebelumnya merupakan nodul hiperplastik yang bersifat poliklonal<sup>18</sup>, yang bisa jadi menyebabkan imunoekspresi galectin-3 positif.

Pada kasus adenoma folikular dalam penelitian ini ditemukan 13 kasus menunjukkan skor ekspresi rendah, dan ditemukan satu kasus pulasan galectin-3 menunjukkan skor ekspresi tinggi, dengan imunoekspresi *grade 4*. Saleh, et al (2010), dalam penelitiannya menemukan 41,3% adenoma folikular menunjukkan imunoekspresi positif. Ditemukannya satu kasus imunoekspresi *grade 4* pada penelitian ini mengindikasikan proses awal atau *incipient carcinoma* dimana invasi kapsel dan/atau pembuluh darah belum dapat ditemukan secara histologis.<sup>1</sup> Jalur sinyal intraselular galectin-3 dapat melibatkan mutasi RAS yang juga merupakan salah satu jalur patogenesis adenoma folikular, sehingga diasumsikan dapat menjadi salah satu penyebab pulasan positif dengan imunoekspresi *grade 4* pada kasus di atas.<sup>4</sup>

Pada penelitian ini, seluruh kasus karsinoma papiler menunjukkan skor ekspresi tinggi, dengan intensitas pulasan yang ber variasi. Tiga kasus menunjukkan intensitas pulasan lemah, empat kasus dengan intensitas pulasan sedang, dan tujuh kasus lainnya menunjukkan intensitas pulasan kuat. Hal ini mungkin disebabkan perbedaan jalur patogenesis yang dialami berbagai kasus tersebut.

Pada biologi kanker, galectin-3 dapat menginduksi berbagai jalur sinyal yang mempengaruhi *microenvironment* tumor. Proses onkogenesis dan metastasis berkaitan dengan pembentukan glikan permukaan sel yang dihasilkan oleh sel kanker, stromal, dan imun pada *microenvironment* tumor. Hal ini terjadi karena adanya perubahan genetik atau epigenetik akibat aktivitas *glycosyltransferase*, *glycosidase*, atau *chaperons* yang memicu

tombol “normal” atau “off” menjadi “berubah” atau “on” pada *glycome* permukaan sel. Konsep ini salah satunya dipresentasikan oleh enzim golgi  $\beta$ 1,6 *N-acetylglucosaminyltransferase V* (Mgat-V) yang secara substansial meningkat pada proses transformasi seluler.<sup>8</sup> Adesi sel tumor dengan substratnya berhubungan kuat dengan *integrin-mediated cellular signaling*. Integrin menunjukkan beberapa *N-glycosylation site* yang merupakan target pengikatan galectin, serta mempengaruhi interaksi sel dengan matriks ekstraseluler dan reorganisasi sitoskeleton. Interaksi antara  $\alpha 5\beta 1$  integrin dengan galectin-3 eksogen mengontrol motilitas sel tumor melalui aktivasi *focal adhesion kinase* (FAK) dan PI3K serta reorganisasi *F-actin* lokal. Berbagai glikoprotein, seperti EGFR dan TGF receptor  $\beta$  mempunyai beberapa *N-glycosylation site* yang berpengaruh terhadap proliferasi dan differensiasi selular.<sup>8</sup>

Galectin-3 disebutkan pula menunjukkan efek ganda. Selain berperan pada proliferasi sel, protein ini juga beraksi sebagai regulator negatif pada progresi siklus sel. Ekspresi galectin-3 pada inti berkaitan dengan fase istirahat siklus sel, sedangkan ekspresi galectin ini pada sitoplasma berhubungan dengan proliferasi sel tumor dan progresi siklus sel, sehingga terlibat lebih menonjol pada tumorigenesis dan metastasis.<sup>8</sup> Pada penelitian ini, galectin-3 tampak terpulas pada sitoplasma dan kadang ditemukan terpulas fokal pada inti, namun yang dinilai adalah pulasan pada sitoplasma. Jalur sinyal intraseluler yang diinduksi oleh galectin-3 ketika berfungsi sebagai regulator positif pada siklus sel melibatkan peningkatan level onkogen K-RAS aktif disertai hilangnya N-RAS, dengan jalan menahan aktivitas PI3K dan menggesernya ke jalur aktivasi ERK. Efek ini juga melibatkan induksi aktivitas *cyclin D1 promoter* melalui berbagai jenis *cis-element*, termasuk SP1 dan cAMP-responsive elements.<sup>17</sup> Ekspresi yang rendah dari *inhibitor cyclin-dependent kinase p27<sup>KIP1</sup>* dan ekspresi yang tinggi dari *cyclin D1* merupakan prediktor yang kuat adanya metastasis kelenjar getah bening pada karsinoma papiler tiroid.<sup>18</sup>

Galectin-3 juga menunjukkan aktivitas antiapoptosis yang dimediasi oleh aktivasi jalur sinyal Akt. Sebuah domain fungsional pada area *COOH-terminal* menunjukkan bahwa galectin-3 terbukti homolog dengan domain BH1 *bcl-2*

*gene family* yang mengandung *apoptosis-inducing NWGR (Asp-Trp-Gly-Arg) amino acid motif*. Kemampuan antiapoptosis ini bertanggungjawab terhadap inhibisi pelepasan *cytochrome-c* dari mitokondria.<sup>17</sup>

Beberapa faktor transkripsi memainkan peranan penting pada pertumbuhan dan transformasi seluler yang dimodulasi oleh galectin. Mengenai hal ini, satu studi menyebutkan bahwa galectin-3 mengikat dua regulator sinyal Wnt, yakni  $\beta$ -catenin dan axin.<sup>17</sup> Promoter galectin-3 juga mengandung *hypoxia-responsive elements* dan menstimulasi bentuk tabung kapiler sel endotel *in vitro* serta angiogenesis secara *in vivo*. Galectin dapat mengaktifkan jalur sinyal pada *microenvironment* tumor untuk meningkatkan proliferasi, transformasi, dan kelangsungan hidup sel, meregulasi adesi serta migrasi sel, angiogenesis, dan juga menurunkan respon imun tumor.<sup>17</sup> Sehingga dapat diasumsikan bahwa lemahnya intensitas pulasan galectin-3 dapat ditemukan pada kasus karsinoma papiler tiroid yang tidak melalui berbagai jalur karsinogenesis tersebut.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa ekspresi galectin-3 lebih tinggi pada karsinoma papiler dibandingkan dengan hiperplasia nodular dan adenoma folikular, sehingga dapat digunakan sebagai petanda diagnostik dalam membedakan berbagai lesi tiroid tersebut. Mengingat bahwa morfologik varian folikular kadang sulit sehingga diperlukan pulasan khusus.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Saleh HA, Jin B, Barnwell J, Alzohaili O. Utility of Immunohistochemical Markers in Differentiating Benign from Malignant Follicular Derived Thyroid Nodules. *Diagnostic Pathology*, 5:9. 2010. Available from: URL:<http://www.diagnosticpathology.org/content/5/1/9>. Accessed January 31, 2014.
2. Fischer S, Asa SL. Application of Immunohistochemistry to Thyroid Neoplasm. *Arch Pathol Lab Med*. 2008; 132: 359-72.
3. Baloch ZW, LiVolsi VA. Pathology of Thyroid and Parathyroid Disease. In: Mills SE, editor. *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010. p. 493-527.

4. Rosai J. Thyroid Gland. In: Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 10<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Mosby Elsevier; 2010. p. 515-94.
5. Elsheikh TM, Asa SL, Chan JKC, DeLellis RA, Heffess CS, LiVolsi VA, *et al.* Interobserver and intraobserver variation among experts in the diagnosis of thyroid follicular lesions with borderline nuclear features of papillary carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 2008; 130: 736-44.
6. DeMatos PS, Ferreira AP, deOliveira FF, Assumpcao LVM, Metze K, Ward LS. Usefullness of HBME-1, cytokeratin 19 and galectin-3 immunostaining in the diagnosis of thyroid malignancy. *Histopathol.* 2005; 47: 391-401.
7. Prasad ML, Pellegata NS, Huang Y, Nagaraja HN, Chapelle A, Kloos T. Galectin-3, Fibronectin-1, CITED-1, HBME1, and cytokeratin-19 immunohistochemistry is usefull for the differential diagnosis of thyroid tumors. *Mod Pathol.* 2005; 18: 48-57.
8. Chiu CG, Strugnell SS, Griffith OL, Jones SJM, Gown AM, Walker B, *et al.* Diagnostic utility of galectin-3 in thyroid cancer. *Am J Pathol.* 2010; 176: 2067-81.
9. Cheung CC, Ezzat , Freeman JL, Rosen IB, Asa SL. Immunohistochemical diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Mod Pathol.* 2006; 14: 338-42.
10. LiVolsi VA, Saavedra JA, Asa SL, Baloch ZW, Simoes MS, Wenig B, *et al.* Papillary Carcinoma. In: DeLellis RA, Lioyd RV, Heitz PU, Eng C. editors. World Health Organization Classification of Tumours, Pathology & Genetics Tumours of Endocrine Organs. Lyon: IARC Press; 2004. p. 57-66.
11. Stricker TP, Kumar V. Neoplasia. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robins and Cotran, Pathologic Basis of Disease. 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Saunders Elseviers; 2010.
12. Scognamiglio T, Hyrek E, Kao J, Chen YT. Diagnostic Usefulness of HBME 1, Galectin-3, CK 19, and CITED 1 and Evaluation of Their Expression in Encapsulated Lesions with Questionable Features of Papillary Thyroid Carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 2006; 126:700-8.
13. Zhu X, Sun T, Lu H, Zhou X, Lu Y, Cai X. Diagnostic significance of CK 19, RET, Galectin-3, and HBME-1 expression for papillary thyroid carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 2010; 63: 786-9.
14. Santi AP, Furlanetto TW. Role of Estrogen Function and Growth Regulation. *Journal of Thyroid Research.* 2011;2:1-7. Available from: URL: <http://www.hindawi.com>. Accessed December 1, 2014.
15. Manole D, Schildknecht B, Gosnell B, Adams E, Derwahl M. 2010. Estrogen Promotes Growth of Human Thyroid Tumor Cells by Different Molecular Mechanisms. *J Clin Endocrinol Metabol.* 2010; 86: 1072-7.
16. Kovacs RB, Foldes J, Winkler G, Bodo M, Sapi Z. The Investigation of Galectin-3 in Diseases of the Thyroid Gland. *Eur J Endocrinol.* 2005; 149: 449-53.
17. Laderach DJ, Compagno D, Toscano MA, Croci DO. Dissecting the Signal Transduction Pathways Triggered by Galectin-Glycan Interactions in Physiological and Pathological Settings. *IUMBLife.* 2010; 62: 1-13.
18. Kondo T, Ezzat S, Asa SL. Pathogenetic Mechanism in Thyroid Follicular Cell Neoplasia. *Nat Pub Group.* 2006; 6: 292-303.