

CARCLIN DAN TYPHOID

KARYA AKHIR

**KORELASI EKSPRESI *CYCLIN D1*
DENGAN KEJADIAN METASTASIS
PADA KARSINOMA TIROID TIPE PAPILER**



PPDS.IB.05/10

Soe

K



Oleh :

Ariandi Setiawan, dr

Pembimbing :

Yoga Wijayahadi, dr., Sp.B.KL

Tulus Panuwun, dr.,MS , Sp.PA(K)

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-I
LABORATORIUM ILMU BEDAH FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA / RUMAH SAKIT UMUM DR.SOETOMO
SURABAYA**

2006

**KORELASI EKSPRESI *CYCLIN D1*
DENGAN KEJADIAN METASTASIS
PADA KARSINOMA TIROID TIPE PAPILER**

KARYA AKHIR

**Untuk memenuhi persyaratan
mendapatkan keahlian di bidang Ilmu Bedah
dalam Program Studi Ilmu Bedah
pada Program Pendidikan Dokter Spesialis I
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Telah diuji di hadapan
Panitia Ujian Karya Akhir
Pada hari Rabu
22 November 2006**

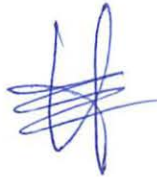
Oleh :

ARIANDI SETIAWAN

LEMBAR PENGESAHAN

**KORELASI EKSPRESI *CYCLIN D1*
DENGAN KEJADIAN METASTASIS
PADA KARSINOMA TIROID TIPE PAPILER**

Pembimbing I :



Yoga Wijayahadi, dr., Sp.B.KL

Pembimbing II :



Tulus Panuwun, dr.,MS , Sp.PA(K)

PADA KARSINOMA TIROID TPE PAPILER
DENGAN KEJADIAN METASTASIS
KORELASI EKSPRESI CYCLIN D1

Pemimbing I :



Yoga Wijayabadi, dr., Sp.B.KI.

Pemimbing II :



Titus Panuwati, dr.MS., Sp.PA(K)

Telah diuji pada Ujian Karya Akhir

Tanggal 22 November 2006

PANITIA PENGUJI KARYA AKHIR

Ketua :

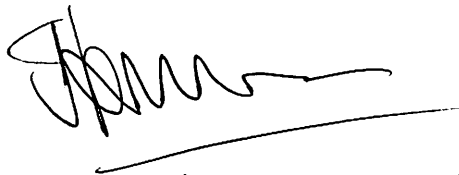


Prof. Sunarto Reksoprawiro, dr., Sp.B(K)Onk

Anggota :



Yoga Wijayahadi, dr., Sp.B.KL



Tulus Panuwun, dr., MS, Sp.PA(K)



Prof. Dr. Paul Tahalele, dr., FCTS, FINACS

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur saya panjatkan, karena atas kekuatan-Nya karya akhir yang berjudul “Korelasi Ekspresi *Cyclin D1* dengan Kejadian Metastasis pada Karsinoma Tiroid tipe Papiler” ini dapat terselesaikan pada tahun 2006.

Dalam menyelesaikan karya akhir ini, saya memperoleh bantuan dan dukungan dari banyak pihak. Oleh karena itu, saya mengucapkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat:

- Yoga Wijayahadi, dr., Sp.B.KL, sebagai pembimbing, yang ditengah kesibukan beliau, selalu memberi perhatian, bimbingan dan dukungan yang sangat berharga dalam penyelesaian karya akhir ini.
- Tulus Panuwun, dr., MS, Sp.PA(K), sebagai pembimbing, yang ditengah kesibukan beliau, selalu memberi perhatian dan bimbingan yang sangat berharga dalam penyelesaian karya akhir ini.
- Prof. Juliati Hood Alsegaff, Dr., dr., MS., SpPA (K), FIAC., sebagai pembimbing imunohistokimia, yang ditengah kesibukan beliau, selalu memberi arahan dan bimbingan yang sangat berharga dalam penyelesaian karya akhir ini.
- Prof. Sunarto Reksoprawiro, dr., Sp.B(K)Onk, sebagai Ketua Program Studi Ilmu Bedah dan sebagai penguji karya akhir, atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk menjalani pendidikan keahlian dan kemudahan, serta asupan, usulan dan arahan untuk penyempurnaan karya akhir ini.
- Prof. Dr. Paul Tahalele, dr, FCTS, FINACS, sebagai Ketua Bagian Ilmu Bedah dan sebagai penguji karya akhir, atas kesempatan yang diberikan kepada saya

untuk menjalani pendidikan keahlian dan kemudahan, serta asupan, usulan dan arahan untuk penyempurnaan karya akhir ini.

- Budiono, dr., MPH., sebagai Konsultan Biostatistika dan Metodologi Penelitian.
- Direktur RSUD Dr. Soetomo Surabaya, H. Slamet Riyadi Yuwono, dr., DTM&H., MARS.; Rektor Unair, Prof. H. Puruhito, Dr., Dr. Med., dr., Sp.B(K)TKV; Dekan Fakultas Kedokteran Unair, Prof. HMS. Wiyadi, Dr., dr., Sp.THT (K); yang telah memberikan kesempatan pada saya untuk belajar dan bekerja.
- Seluruh Staf Pengajar di Bagian Ilmu Bedah RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang tidak mengenal lelah memberikan ilmu, wawasan, serta mengajarkan ketrampilan.
- Agus Harianto, dr., Tommy Lesmana, dr. dan Sylwanus A. Soemoloe, dr., atas ide dan usulan yang membantu memulai jalannya penelitian ini.
- Djoko S, dr., beserta seluruh anggota PRABU, atas kerjasama, dukungan dan bantuannya.
- Seluruh Residen, Paramedis dan Staf Nonmedis di lingkungan FK Unair/RSUD Dr. Soetomo, atas kerjasamanya.
- Kedua orang tua saya: H. Setiono Basuki, dr., SpB(K)TKV, dan Hj. Parwati Setiono; Mertua saya: M Tamami dan alm. Nanik Koenjati; Ibu dan Bapak angkat saya: Hj. Retna Soenartojo dan alm. R. Soenartojo yang telah mengasihi, mendidik, dan selalu mendukung saya.
- Istri saya: Kartika Sri Redjeki, dr., dan kedua anak saya: Nuraina Ruwiyati dan Muhammad Devabrata Setiawan; yang telah bersabar dan dengan penuh

pengertian memahami keberadaan pendidikan saya. Karya akhir ini saya persembahkan dengan penuh cinta kasih kepada mereka bertiga.

- Semua pihak yang telah membantu saya, yang tidak bisa saya sebutkan satu-persatu.

Kepada semuanya, semoga Allah SWT. senantiasa menerima semua amal dan mengampuni segala kesalahannya.

Dengan Pengetahuan bahwa karya akhir ini masih jauh dari kesempurnaan, penulis mohon maaf atas segala kekurangan, serta mohon asupan serta perbaikan yang akan menjadikan karya ini lebih baik.

Somoga karya akhir ini bermanfaat. *Amin Ya Robbal 'Alamin*

Surabaya, 22 November 2006

Ariandi Setiawan

DAFTAR ISI

	Halaman
Lembar Judul	i
Lembar Pengesahan	iii
Kata Pengantar	v
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Lampiran	xiii
Abstract	xiv
Abstrak	xv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Permasalahan	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Teoritis	4
1.4.2 Manfaat Klinis	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Karsinoma Tiroid	6
2.1.1 Penyebab Karsinoma Tiroid	6
a. Onkogen	6
b. Radiasi Tiroid	7
c. Faktor Lain	7
2.1.2 Klasifikasi Karsinoma Tiroid	8
a. Karsinoma Papiler	8
b. Karsinoma Folikuler	9



c. Karsinoma Anaplastik	9
d. Karsinoma Meduler	10
2.1.3 Metastasis Karsinoma Tiroid Papiler	10
2.1.4 Stadium Karsinoma Tiroid	11
2.2. <i>Cyclin</i> D1	13
2.2.1 Siklus Sel	13
2.2.2 Definisi <i>Cyclin</i> D1	19
2.2.3 Peranan <i>Cyclin</i> D1	20
2.2.4 <i>Cyclin</i> D1 pada Karsinoma Tiroid	22
2.2.5 Aplikasi Klinis	23
2.2.6 Pengukuran Ekspresi <i>Cyclin</i> D1 dengan Imunohistokimia	24
BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL	26
3.1 Kerangka Konseptual	26
3.2 Hipotesis	27
BAB IV. METODE PENELITIAN	28
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	28
4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel, Teknik Pengambilan Sampel, Kriteria Inklusi dan Eksklusi	28
4.2.1 Populasi	28
4.2.2 Sampel	28
4.2.3 Besar Sampel	28
4.2.4 Pengambilan Sampel	29
4.2.5 Kriteria Inklusi	29
4.2.6 Kriteria Eksklusi	30
4.3 Variabel Penelitian	30
4.4 Definisi Operasional Variabel Penelitian	30
4.4.1 Ekspresi <i>Cyclin</i> D1	30
4.4.2 Metastasis	31
a. Metastasis Kelenjar Getah Bening Regional	31
b. Metastasis Jauh	31

4.5 Kerangka Operasional	32
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian	32
4.6.1 Lokasi Penelitian	32
4.6.2 Waktu Penelitian	32
4.7 Jadwal Penelitian	32
4.8 Tahap Penelitian	33
4.9 Analisis Data	33
4.10 Biaya Penelitian	34
BAB V. HASIL DAN ANALISIS DATA	35
5.1 Karakteristik Sampel Penelitian	35
5.2 Analisis Hasil Penelitian	40
BAB VI. PEMBAHASAN	46
6.1 Gambaran Umum Hasil Penelitian	46
6.2 Korelasi Ekspresi <i>Cyclin D1</i> dengan Metastasis Kelenjar Getah Bening Leher pada Karsinoma Tiroid Papiler	47
6.3 Korelasi Ekspresi <i>Cyclin D1</i> dengan Metastasis Jauh pada Karsinoma Tiroid Papiler	48
6.4 Korelasi Ekspresi <i>Cyclin D1</i> dengan Tipe Histologis Karsinoma Tiroid Papiler	49
6.5 Korelasi Ekspresi <i>Cyclin D1</i> dengan Invasi Karsinoma Tiroid Papiler pada Kapsul	49
BAB VII. RINGKASAN	51
BAB VIII. KESIMPULAN DAN SARAN	52
8.1 Kesimpulan	52
8.2 Saran	52
KEPUSTAKAAN	53

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Distribusi Jenis Kelamin dan Umur pada Karsinoma Tiroid Papiler	35
Tabel 5.2 Distribusi Histopatologis Karsinoma Tiroid Papiler	36
Tabel 5.3 Distribusi Metastasis Karsinoma Tiroid Papiler	36
Tabel 5.4 Distribusi Ekspresi <i>Cyclin</i> D1 dan Stadium Karsinoma Tiroid Papiler antara Laki-laki dan Perempuan	41
Tabel 5.5 Korelasi Ekspresi <i>Cyclin</i> D1 dengan Metastasis Kelenjar Getah Bening Leher	42
Tabel 5.6 Korelasi Ekspresi <i>Cyclin</i> D1 dengan Metastasis Jauh	43
Tabel 5.7 Korelasi Ekspresi <i>Cyclin</i> D1 dengan Invasi Kapsul	44
Tabel 5.8 Korelasi Ekspresi <i>Cyclin</i> D1 dengan Tipe Histologis Karsinoma Tiroid Papiler	45

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 5.1 Stadium Karsinoma Tiroid Papiler	37
Gambar 5.2 Ekspresi <i>Cyclin D1</i> pada Karsinoma Tiroid Papiler	38
Gambar 5.3 Ekspresi <i>Cyclin D1</i> 90% dengan Intensitas Kuat pada Karsinoma Tiroid Papiler dengan Metastasis Frontal (T4257/05)	38
Gambar 5.4 Ekspresi <i>Cyclin D1</i> 50% dengan Intensitas Kuat pada Karsinoma Tiroid Papiler (T3389/05)	39
Gambar 5.5 Ekspresi <i>Cyclin D1</i> 10% dengan Intensitas Kuat pada Karsinoma Tiroid Papiler (T2367/05)	39
Gambar 5.6 Kontrol Negatif Ekspresi <i>Cyclin D1</i> pada Jaringan Tiroid Normal	40

Daftar Lampiran

	Halaman
Lampiran 1. Data Penelitian	59
Lampiran 2. Teknik Pengecatan Imunohistokimia dari Sediaan Blok Parafin	60
Lampiran 3. Hasil Analisis Statistik	62

ABSTRACT

THE CORRELATION OF CYCLIN D1 EXPRESSION WITH METASTASES INCIDENCE OF PAPILLARY THYROID CARCINOMA

Ariandi Setiawan*, **Yoga Wijayahadi****, **Tulus Panuwun*****

* Dept. of Surgery, Dr. Soetomo Hospital, Surabaya

** Head and Neck Surgery Div., Dept. of Surgery, Dr. Soetomo Hospital, Surabaya

*** Dept. of Pathology, Dr. Soetomo Hospital, Surabaya

Overexpression of cyclin D1 has been associated with aggressive tumor behavior, a higher incidence of metastases, and a poorer prognosis. The role of cyclin D1 in the pathogenesis of thyroid malignancy is unknown; however, cyclin D1 expression has been reported to occur in a proportion of well differentiated thyroid carcinomas. Papillary carcinomas of the thyroid almost always behave in an indolent manner and remain quiescent. However, few carcinomas behave aggressively and metastasize early. We hypothesized that cyclin D1 might play a role in the aggressive behavior of metastasizing papillary carcinomas.

We conducted cross-sectional study on 30 patients who underwent thyroid surgery at our institution between January 2005–May 2006, reviewed the histopathology reports of them and identified 14 patients who presented with regional metastases, 1 patient who presented with distant metastases, and 2 patients who presented with regional and distant metastases from a primary papillary thyroid carcinoma. We studied these tumors for immunoreactivity to cyclin D1 on immunohistochemistry

All of the papillary thyroid carcinoma expressed cyclin D1 on immunohistochemistry. Distant metastasizing papillary carcinomas' cyclin D1 expression mean was 2.400 ± 0.520 , higher than nonmetastasizing papillary carcinomas' expression (1.567 ± 0.646 , $p=0.002$). Lymph node metastasizing papillary carcinomas' cyclin D1 expression mean was 1.838 ± 0.609 , slightly higher than nonmetastasizing papillary carcinomas' expression (1.436 ± 0.708 , $p>0.05$).

We conclude that cyclin D1 is significantly overexpressed in distant metastasizing papillary carcinomas of the thyroid.

Keywords : Cyclin D1, Papillary Thyroid Carcinoma, Metastases

ABSTRAK

KORELASI EKSPRESI *CYCLIN* D1 DENGAN KEJADIAN METASTASIS PADA KARSINOMA TIROID TIPE PAPILER

Ariandi Setiawan*, Yoga Wijayahadi**, Tulus Panuwun***

* Lab. Ilmu Bedah, FK Unair/RSUD Dr. Soetomo, Surabaya

** Divisi Bedah Kepala-Leher, Lab. Ilmu Bedah, FK Unair/RSUD Dr. Soetomo, Surabaya

*** Lab. Patologi Anatomi, FK Unair/RSUD Dr. Soetomo, Surabaya

Ekspresi berlebihan *cyclin* D1 terbukti berhubungan dengan agresivitas tumor, insidens metastasis yang lebih tinggi, dan prognosis yang lebih buruk. Peran *cyclin* D1 pada patogenesis karsinoma tiroid masih belum diketahui; meski demikian, ekspresi *cyclin* D1 juga dideteksi pada karsinoma tiroid berdiferensiasi baik. Karsinoma tiroid tipe papiler hampir selalu tumbuh secara lambat dan jarang bermetastasis jauh. Meski demikian, sebagian kecil berperilaku lebih agresif dan bermetastasis pada awal penemuan. Karena itu kami memperkirakan bahwa ekspresi *cyclin* D1 memiliki korelasi dengan kejadian metastasis pada karsinoma tiroid tipe papiler.

Kami melakukan studi *cross-sectional* pada 30 penderita yang menjalani tiroidektomi di RSUD Dr. Soetomo antara Januari 2005 – Mei 2006. Dilakukan review pada rekam medik dan laporan Patologi Anatomi. Dari 30 penderita dengan karsinoma tiroid tipe papiler, terdapat metastasis regional pada 14 penderita, metastasis jauh pada 1 penderita, dan metastasis regional dan jauh pada 2 penderita. Kami lakukan pengecatan imunohistokimia *cyclin* D1 untuk mempelajari agresivitas tumor tersebut.

Ekspresi *cyclin* D1 didapatkan pada 30 penderita karsinoma tiroid tipe papiler (100%). Rerata ekspresi *cyclin* D1 pada karsinoma tiroid papiler dengan metastasis jauh $2,400 \pm 0,520$; lebih tinggi daripada tanpa metastasis jauh ($1,567 \pm 0,646$; $p=0,002$). Rerata ekspresi *cyclin* D1 pada karsinoma tiroid papiler dengan metastasis kelenjar getah bening $1,838 \pm 0,609$; lebih tinggi daripada tanpa metastasis kelenjar getah bening ($1,436 \pm 0,708$; $p>0,05$).

Kami berkesimpulan bahwa ada korelasi bermakna antara ekspresi *cyclin* D1 dengan kejadian metastasis jauh pada karsinoma tiroid tipe papiler.

Kata Kunci: *Cyclin* D1, Karsinoma Tiroid tipe Papiler, Metastasis

BAB I

PENDAHULUAN



1.1. Permasalahan

Diperkirakan jumlah penderita kanker baru di dunia pada tahun 2002 adalah 10,9 juta, 6,7 juta meninggal karena kanker dan 26,6 juta hidup dengan kanker dalam kurun waktu 5 tahun. Kanker yang paling sering ditemukan adalah kanker paru (1,35 juta), payudara (1,15 juta) dan kolorektal (1 juta). Penyebab kematian terbanyak adalah kanker paru (1,18 juta), lambung (700.000), kanker hati (598.000). Pada kelenjar endokrin, karsinoma tiroid merupakan keganasan yang tersering, yaitu 89% dari seluruh kanker endokrin. Penderita baru karsinoma tiroid mencapai 141.000 penderita, merupakan 1,3% dari seluruh penderita baru keganasan di dunia th 2002 dan menduduki peringkat ke-20 jumlah penderita baru^(1,2).

Diantara karsinoma tiroid, yang terbanyak adalah tipe papiler (75%), dan disusul oleh tipe folikuler (15%). Keduanya diklasifikasikan sebagai karsinoma tiroid berdiferensiasi baik⁽²⁾. Penderita dengan karsinoma tiroid tipe papiler ini biasanya memiliki prognosis baik dengan angka ketahanan hidup 10 tahun di Amerika Serikat sebesar 93% pada tipe papiler dan 85% tipe folikuler^(3,4). Namun demikian, kedua tipe karsinoma ini dapat menjadi agresif pada 5-27% penderita dan mengalami kekambuhan lokoregional, menyebabkan prognosis yang buruk dan kematian⁽⁴⁾. Pada literatur lain disebutkan bahwa angka kekambuhan karsinoma tiroid tipe papiler mencapai 35% dalam kurun waktu 40 tahun. Kekambuhan ini terutama terjadi pada usia kurang dari 20 tahun dan diatas 60 tahun. Penyebaran karsinoma tiroid tipe papiler terutama melalui aliran limfe sedangkan tipe folikuler menyebar secara hematogen ke paru-paru atau tulang⁽⁵⁾.

Dalam hal ini maka faktor prognosis memegang peranan yang penting dalam menentukan langkah terapi dan pemantauan lanjutan pada karsinoma tiroid tipe papiler (3,5).

Berbagai sistem skoring telah dikembangkan untuk memprediksi prognosis penderita karsinoma tiroid tipe papiler. Salah satu sistem skoring yang dipakai adalah kriteria AMES yang merupakan singkatan dari *age*, *metastasis*, *extention*, dan *size* (6,7). Kriteria ini merupakan prediktor yang baik dalam menentukan resiko kekambuhan dan kematian pada karsinoma tiroid tipe papiler (7).

Dengan perkembangan teknik biologi molekuler dan imunohistokimia, diketahui bahwa tumor terbentuk bila protoonkogen bermutasi menjadi onkogen, yang menyebabkan terjadinya ekspresi berlebihan protein-protein yang menstimulasi proliferasi sel. Selain itu, terjadi juga mutasi pada gen-gen yang berfungsi menghentikan pembelahan sel tersebut (8).

Bukti-bukti laboratorium potensi onkogenik ini didasarkan pada pemahaman akan biologi molekuler siklus sel. Sebagaimana telah diketahui bahwa tahapan krusial pembelahan sel terjadi pada akhir fase G₁ (*Gap 1*) saat titik restriksi (*restriction point / R*) atau disebut dengan *point of no return* artinya sel harus memutuskan untuk menyelesaikan pembelahan atau tidak sama sekali. Selanjutnya dari titik restriksi (R) ini sel menuju fase S (Sintesis) dimana sel di *switch* dari "off" menjadi "on" yang diawali dengan peningkatan *cyclin D₁* dan selanjutnya *cyclin E*. Protein ini lalu membentuk kombinasi dengan enzim aktif *cyclin dependent kinases* sehingga terbentuk kompleks *cyclin D₁/CDK4/CDK 6* dan *cyclin E/CDK 2* (8,9).

Kompleks CDK-*cyclin* ini dengan bantuan ATP (*adenosine triphosphate*) akan menstimuli tumor supresor gen pRb yang berperan sebagai "the master brake" siklus sel

guna proses fosforilasi (hiperfosforilasi) protein Rb. Protein Rb yang terfosforilasi akan melepaskan ikatannya dengan E₂F yakni suatu faktor transkripsi sehingga proses transkripsi berjalan pada fase S^(8,9).

Penelitian terakhir menunjukkan bahwa hampir semua sel kanker, termasuk kanker tiroid, menunjukkan adanya gangguan pengaturan fase G₁ ke fase S siklus sel. Gangguan pengaturan ini bisa disebabkan karena adanya mutasi (*point mutation, missense mutation, frame shape mutation*) maupun hiperaktivitas satu dari empat gen yang mengatur fosforilasi pRb. Gen ini adalah Rb, CDK4, *cyclin D1* dan p16^(10,11).

Amplifikasi onkogen *cyclin D1* dan ekspresi berlebihan *cyclin D1* telah diamati terjadi pada beberapa macam keganasan, antara lain limfoma, karsinoma payudara, kandung kemih, paru, ovarium, kelenjar paratiroid, tiroid (terutama pada tipe berdiferensiasi buruk), dan hipofise^(10,11). Pada karsinoma tiroid, mekanisme terjadinya ekspresi berlebihan *cyclin D1* masih belum diketahui secara pasti. Meski demikian, ekspresi berlebihan *cyclin D1* terjadi pada 31-63% penderita karsinoma tiroid tipe papiler. Khoo dkk melaporkan terjadinya ekspresi berlebihan *cyclin D1* pada 63,2% penderita karsinoma tiroid tipe papiler, dengan insidens metastasis pada kelenjar getah bening yang lebih tinggi. Pada karsinoma tiroid *occult* tipe papiler, ekspresi tersebut hanya terjadi pada 8,8% penderita, dengan ekspresi yang mencapai lebih dari 90% penderita dengan metastasis jauh.^(12,13)

Hal ini penting karena *cyclin D1* mulai dihubungkan dengan prognosis pada beberapa macam keganasan, dan pengembangan kemoterapi kanker dengan penggunaan flavopiridol dan terapi genetik dengan antisens *cyclin D1* untuk menghambat pembelahan dan memicu apoptosis sel kanker mulai dilakukan dengan hasil yang cukup baik.^(14,15,16)

Berdasarkan uraian diatas maka pada penelitian ini akan dicari bagaimana hubungan ekspresi *cyclin D1* dengan metastasis kanker pada karsinoma tiroid tipe papiler.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah ekspresi *cyclin D1* lebih kuat pada kanker tiroid tipe papiler dengan metastasis daripada kanker tiroid tipe papiler tanpa metastasis

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui ekspresi *cyclin D1* pada kanker tiroid tipe papiler.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Mengetahui korelasi antara ekspresi *cyclin D1* pada kanker tiroid tipe papiler dengan metastasis kelenjar getah bening leher.

1.3.2.3 Mengetahui korelasi antara ekspresi *cyclin D1* pada kanker tiroid tipe papiler dengan metastasis jauh.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Pemeriksaan ekspresi *cyclin D1* dapat digunakan sebagai parameter untuk menentukan derajat agresifitas karsinoma tiroid tipe papiler.

1.4.2. Manfaat Klinis

a. Derajat ekspresi *cyclin D1* dapat digunakan sebagai faktor prognosis.

- b. Dengan mengetahui adanya hubungan antara ekspresi *cyclin* D1 dengan agresifitas karsinoma tiroid tipe papiler maka dimungkinkan dapat digunakan obat anti *cyclin* D1 sebagai salah satu modalitas terapi pada keganasan tersebut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karsinoma Tiroid

Karsinoma tiroid adalah tumor ganas yang berasal dari sel folikel atau sel parafolikuler kelenjar tiroid ^(17,18). Kanker tiroid merupakan tumor yang jarang didapat, yaitu sekitar 3-5% dari semua tumor maligna ⁽¹⁸⁾. Angka kejadiannya berkisar antara 0,5 sampai 10 kasus per 100.000 populasi ⁽¹⁹⁾. Angka kejadian tersebut lebih tinggi pada daerah gondok endemis, terutama tipe yang tidak berdiferensiasi. Kanker ini didapat pada segala usia dengan puncak pada usia muda (7-20 tahun) dan usia setengah baya (40-60 tahun) ⁽¹⁸⁾. Rasio angka kejadian pada laki-laki dibanding wanita adalah 1:2,7, tetapi rasio kematiannya adalah 1:2 yang menunjukkan bahwa karsinoma tersebut mungkin lebih agresif pada laki-laki ⁽²⁰⁾.

2.1.1 Penyebab Karsinoma Tiroid

Penyebab pasti karsinoma tiroid sampai saat ini belum diketahui, namun terdapat beberapa faktor yang dapat meningkatkan resiko timbulnya kanker tiroid.

a. Onkogen

Perkembangan biologi molekuler saat ini banyak membantu dalam pemahaman patogenesis karsinoma tiroid. Perubahan susunan domain tirosin kinase pada gen RET dan TRU ditemukan pada karsinoma tipe papiler. Perubahan ini terjadi setelah adanya paparan radiasi, yaitu pada 60-80% penderita yang terkena paparan. Selain itu juga ditemukan bahwa mutasi gen RAS merupakan petanda awal pada tumorogenesis tiroid ^(19,20).

b. Radiasi Tiroid

Radiasi merupakan salah satu faktor resiko terjadinya karsinoma tiroid yang bermakna ^(18,19,20). Paparan radiasi pada leher saat kanak-kanak meningkatkan resiko terjadinya karsinoma tiroid, terutama tipe papiler. Paparan radiasi ini dapat disebabkan oleh radiasi terapeutik, radiasi akibat ledakan bom nuklir, maupun radiasi yang terjadi karena kebocoran reaktor nuklir ^(19,20). Periode laten terpendek antara paparan dan saat diagnosis adalah 5 tahun. Resiko karsinoma tiroid selanjutnya menjadi maksimal setelah kurun waktu 20 tahun kemudian menetap selama 20 tahun dan selanjutnya resiko tersebut turun secara bertahap. Resiko ini meningkat setelah tiroid mendapat paparan radiasi rata-rata sebesar 10 cGy. Pada dosis yang lebih tinggi (sampai 1500cGy) terdapat hubungan linier antara dosis paparan dengan resiko terjadinya karsinoma, tetapi pada dosis diatas 1500 cGy, resiko karsinoma tiroid per gray justru menurun yang mungkin disebabkan karena kematian sel. Faktor resiko mayor adalah usia muda saat paparan radiasi ⁽¹⁹⁾. Kecenderungan untuk terjadinya karsinoma tiroid lebih tinggi pada paparan radiasi saat usia kurang dari 5 tahun dibandingkan anak yang lebih tua ⁽²⁰⁾. Pada anak yang terpapar radiasi dengan dosis 1 Gy maka resiko karsinoma tiroid meningkat 7,7 kali ⁽¹⁹⁾.

c. Faktor Lain

Di negara dimana asupan diet yodium tercukupi, 80% dari kanker tiroid adalah tipe papiler, sedangkan di negara dimana diet yodiumnya rendah tidak didapatkan adanya peningkatan angka kejadian karsinoma tiroid, tetapi didapatkan peningkatan relatif pada karsinoma folikuler dan anaplastik ⁽¹⁹⁾.

2.1.2 Klasifikasi Karsinoma Tiroid

Karsinoma tiroid dibagi menjadi tiga kategori yaitu ⁽¹⁷⁾:

- a. Diferensiasi baik: papiler, folikuler, sel Hurtle
- b. Berdiferensiasi jelek / anaplastik (tipe sel spindel dan sel raksasa)
- c. Meduler

a. Karsinoma Papiler

Karsinoma papiler merupakan jenis karsinoma tiroid terbanyak, yaitu sekitar 60-80% dari seluruh karsinoma tiroid ^(17,18,21). Tipe ini dapat mengenai semua usia dan tampaknya merupakan satu-satunya tipe pada karsinoma tiroid anak. Angka kejadian terbanyak terjadi pada usia antara 40-49 tahun ⁽²¹⁾. Tumor ini lebih sering menyebar melalui aliran limfe (50%) dan jarang menyebar melalui pembuluh darah (5%) ⁽¹⁷⁾.

Secara makroskopis tumor ini padat dan tidak berkapsul. Tumor dapat tumbuh di beberapa tempat pada kelenjar tiroid (multisentris) pada 20-80% kasus dan seringkali mengenai kedua lobus ^(19,21).

Berdasarkan ekstensinya, karsinoma tiroid tipe papiler dibagi menjadi *occult*, intratiroid, dan ekstratiroid. Karsinoma papiler *occult* adalah tumor dengan diameter kurang dari 1 sentimeter, karsinoma papiler intratiroid masih terbatas di dalam kelenjar tiroid, sedangkan karsinoma papiler ekstratiroid telah menembus kapsul tiroid dan menginvasi struktur sekitar seperti otot laring, trakea, esofagus ^(17,21).

Secara histologis, karsinoma papiler dibagi menjadi tipe papiler murni, tipe campuran papiler dan folikuler, dan tipe varian folikuler karsinoma papiler. Tipe campuran merupakan tipe yang tersering dan yang terjarang adalah tipe papiler murni ⁽²¹⁾.

Daya tahan hidup 5 tahun karsinoma papiler secara keseluruhan sebesar 90% ⁽¹⁷⁾.

b. Karsinoma Folikuler

Karsinoma folikuler timbul pada kelompok usia yang lebih tua, paling sering pada usia antara 50 sampai 59 tahun, dan jarang terjadi pada usia kurang dari 30 tahun. Angka kejadiannya lebih jarang dari karsinoma papiler, yaitu 10 sampai 20% dari seluruh karsinoma tiroid⁽²¹⁾.

Secara makroskopis tipe ini berupa suatu nodul tiroid tunggal dan berkapsul. Secara mikroskopis, adanya invasi tumor pada kapsul, pembuluh darah dan pembuluh limfe merupakan faktor kunci untuk membedakan karsinoma folikuler dari adenoma folikuler. Metastasis tumor terutama melalui pembuluh darah ke paru-paru atau tulang (20-30%) dan jarang menyebar ke kelenjar getah bening^(17,19,21).

Secara keseluruhan penderita dengan karsinoma folikuler memiliki daya tahan hidup 5 tahun sebesar 70%⁽¹⁷⁾.

c. Karsinoma Anaplastik

Karsinoma anaplastik didapatkan pada 10-15% karsinoma tiroid dan lebih sering terjadi pada usia tua dan jenis kelamin wanita^(17,21). Pada umumnya tumor ini berawal dari pembesaran kelenjar tiroid yang telah ada dalam waktu lama dan tiba-tiba membesar cepat disertai rasa nyeri yang menjalar ke telinga dan suara parau^(18,21). Tumor bersifat sangat agresif dan memiliki potensi metastasis yang tinggi, baik hematogen maupun limfogen^(17,21).

Secara histologis, karsinoma anaplastik tidak memiliki arsitektur yang khas dan tidak didapatkan gambaran sel tiroid normal. Berdasarkan sel yang lebih dominan, karsinoma ini dibagi menjadi 3 jenis, yaitu karsinoma sel kecil, karsinoma sel raksasa, dan karsinoma sel spindel⁽²¹⁾.

Daya tahan hidup 5 tahun penderita tidak lebih dari 5%⁽¹⁷⁾.

d. Karsinoma Meduler

Karsinoma meduler berasal dari sel parafolikuler (sel C) tiroid yang mensekresi kalsitonin, merupakan 5-10% dari karsinoma tiroid^(17,21). Karsinoma ini dapat merupakan bagian dari penyakit neoplasia endokrin multipel tipe II, sebagai penyakit familial yang bukan neoplasia endokrin multipel, atau sporadis⁽²¹⁾. Karsinoma meduler yang familial biasanya bilateral (90%) dan multifokal, sedangkan yang sporadik biasanya unifokal^(17,21). Metastasis dapat terjadi secara hematogen ke paru, hati, dan tulang, maupun limfogen. Pada umumnya prognosis karsinoma ini terletak antara karsinoma papiler dan anaplastik⁽¹⁷⁾.

2.1.3 Metastasis Karsinoma Tiroid Papiler

Karsinoma papiler 40-70% bermetastasis pada kelenjar getah bening leher, dengan jalur penyebaran sel kanker melalui sistem limfatik keluar dari tiroid, ke kompartemen kelenjar getah bening sentral dan ipsilateral sebagai eselon 1, kemudian ke kompartemen kelenjar getah bening kontralateral dan mediastinal. Hal ini sesuai dengan adanya penemuan adanya pertumbuhan pembuluh limfatik didalam tumor.^(22,24,25) Meski demikian, Machens dkk melaporkan adanya *skip* metastasis tanpa melalui kelenjar eselon 1 tersebut.⁽²³⁾

Faktor utama yang menurunkan ketahanan hidup penderita adalah ditemukannya metastasis jauh, yang terjadi pada sekitar 5% penderita karsinoma papiler. Hal tersebut berhubungan dengan kejadian invasi tumor pada pembuluh darah intra maupun ekstra tiroid (2-14%), sebagaimana dilaporkan oleh Gardner dkk; bahwa 40% penderita dengan invasi pada pembuluh darah ekstra tiroid mengalami metastasis jauh, dan 26,1% pada

penderita dengan invasi pembuluh darah intra tiroid, bila dibandingkan dengan 4% metastasis jauh pada penderita tanpa invasi tumor pada pembuluh darah. ⁽²⁵⁾

2.1.4 Stadium Karsinoma Tiroid

Saat ini, sistem untuk mengklasifikasi tumor ganas padat yang paling banyak digunakan adalah sistem TNM. Secara umum sistem ini menentukan stadium tumor ganas berdasarkan ukuran dan derajat invasi tumor, penyebaran ke kelenjar getah bening, dan metastasis jauh. Pada karsinoma tiroid, sistem ini juga memperhitungkan jenis histologi tumor dan usia penderita untuk menentukan stadiumnya ⁽⁷⁾.

Klasifikasi karsinoma tiroid berdasarkan sistem TNM adalah sebagai berikut ⁽²⁶⁾:

T: tumor primer

T0 : tidak ada tumor

T1 : tumor < 1cm, terbatas dalam kelenjar tiroid

T2 : tumor > 1cm, tetapi < 4cm, terbatas dalam kelenjar tiroid

T3 : tumor > 4cm, terbatas dalam kelenjar tiroid

T4 : tumor tumbuh keluar kapsul tiroid

N: metastasis kelenjar getah bening

N1a : metastasis kelenjar getah bening leher ipsilateral

N1b : metastasis kelenjar getah bening leher bilateral/ kontralateral/ mediastinum

M: metastasis jauh

M0 : tidak ada metastasis jauh

M1 : ada metastasis jauh

a. Tipe papiler atau folikuler

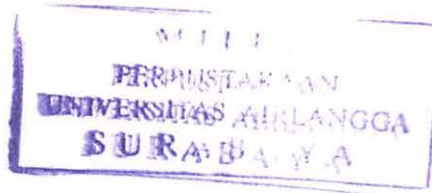
	Usia < 45 th	usia > 45 th
Stadium I	tiap T, tiap N, M0	T1 N0 M0
Stadium II	tiap T, tiap N, M1	T2,3 N0 M0
Stadium III		T4 N0 M0 tiap T N1a M0
Stadium IV		tiap T N1b M0 tiap T tiap N M1

b. Tipe meduler

Stadium I	T1 N0 M0
Stadium II	T2,3,4 N0 M0
Stadium III	tiap T N1 M0
Stadium IV	tiap T tiap N M1

c. Tipe anaplastik : selalu stadium IV

2.2 Cyclin D1



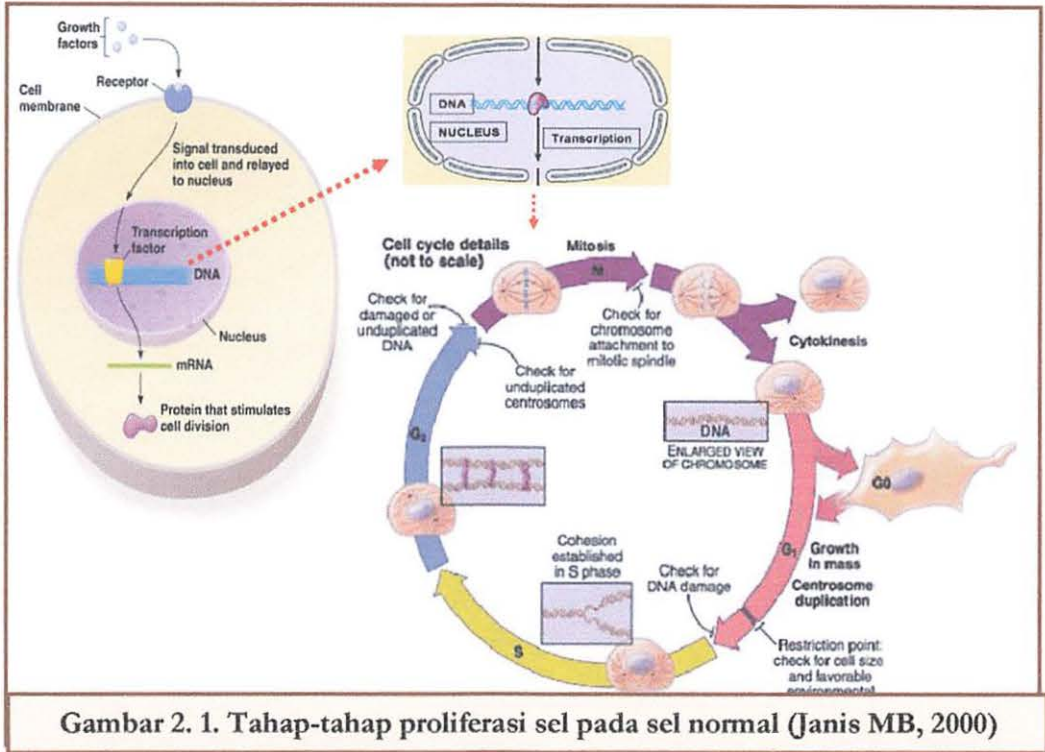
2.2.1 Siklus Sel

Semua organisme terdiri dari sel-sel yang mengadakan multiplikasi melalui pembelahan sel. Pada orang dewasa didapatkan kira-kira 100 trilyun sel yang kesemuanya berasal dari sel tunggal, dari sel telur yang dibuahi. Setelah dewasa didapatkan sejumlah besar sel yang terus membelah guna menggantikan sel-sel yang mati. Sebelum sel tersebut membelah maka ukuran sel harus bertambah, kromosom akan terduplikasi dan akhirnya kromosom akan dibagi secara tepat pada dua anak sel. Kesemua proses ini dikoordinasi pada siklus sel^(27,28).

Pertumbuhan sel sebagian besar dirangsang oleh polipeptida faktor pertumbuhan yang terdapat dalam serum atau yang dihasilkan oleh sel. Rangkaian peristiwa molekuler yang di induksi oleh faktor pertumbuhan mempunyai urutan sebagai berikut :

1. Faktor pertumbuhan berikatan dengan reseptor yang spesifik pada membran sel.
2. Aktivasi reseptor pada membran sel yang kemudian akan mengaktifasi protein-protein sinyal transduksi. Aktivasi ini sifatnya sementara, bukan berlangsung terus menerus
3. Transmisi sinyal ke nukleus melalui peran *second messenger* .
4. Induksi dan aktivasi "*nuclear regulatory factor*" yang akan menginisiasi transkripsi DNA. Peristiwa ini meliputi aktivitas gen pengatur pertumbuhan awal (misalnya c-myc, c-fos, c-jun) yang terinduksi bila tidak ada sintesis protein dan gen pengatur pertumbuhan lanjut yang beberapa diantaranya adalah protoonkogen.

5. Masuknya sel dalam tahap siklus sel yang berlanjut dengan pembelahan sel. Siklus sel sendiri di kontrol oleh serangkaian molekul kunci berupa protein regulator yang konsentrasinya naik dan turun selama siklus sel serta membentuk kompleks dengan protein kinase.



Gambar 2. 1. Tahap-tahap proliferasi sel pada sel normal (Janis MB, 2000)

Pada umumnya sel membutuhkan waktu lebih banyak untuk tumbuh dan memperbesar massa protein serta organel, daripada waktu yang dibutuhkan untuk replikasi DNA dan pembelahan. Untuk memberikan waktu yang lebih banyak ini maka terdapat fase gap pada siklus sel yaitu: G₁ dan G₂. Fase G₁ (presintesis) merupakan fase antara fase M (mitosis) dan fase S (sintesis) serta fase G₂ (premitosis) merupakan fase antara fase S dan fase M. Jadi pada sel eukariotik terbagi atas 4 fase yaitu fase G₁, S, G₂ dan M dimana fase G₁, S dan G₂ disebut dengan interfase^(29, 30).

Fase pertama G_1 merupakan persiapan proses replikasi DNA. Ditandai dengan ekspresi gen protein regulator serta sintesis enzim yang akan bekerja pada replikasi DNA. Pada fase kedua atau fase S terjadi replikasi genomik DNA dimana akan dihasilkan 2 set DNA yang kelak di bagikan pada dua sel anak pada fase mitosis. Akhir fase G_1 dan awal fase S yang dikenal sebagai titik restriksi (R) atau *point off no return* yang merupakan tahapan krusial pembelahan sel. Disini sel harus memutuskan untuk menyelesaikan pembelahan atau tidak. Siklus pembelahan di *switch* dari “off” menjadi “on”. Di fase G_2 proses sintesis spindle mitosis terjadi dan beberapa kontrol (*check point*) bekerja. Fase selanjutnya adalah fase M yaitu fase pembelahan berupa terbaginya sel ke dua sel anak (sitokinesis). Setelah semua fase ini selesai maka sel akan memasuki lagi fase G_1 atau memasuki keadaan tidak membelah atau fase G_0 ^(10,28,29, 30).

Pada semua organisme eukariotik hidup, semua fase siklus sel harus terkoordinasi dengan tepat. Setiap fase harus dilalui dengan benar dan satu fase harus diselesaikan sebelum fase selanjutnya dimulai. Kegagalan koordinasi menunjukkan adanya perubahan pada kromosom baik berupa hilangnya bagian kromosom, urutan yang tidak beraturan atau distribusi yang tidak sama pada sel anak. Perubahan kromosom seperti ini sering kali didapatkan pada sel kanker. Sehingga dapatlah di mengerti bahwa di perlukan suatu regulator kunci agar koordinasi siklus sel berlangsung dengan lancar ^(10,28,29, 30).

Tahun 2001 Leland H. Hartwell, R. Timothy (Tim) Hunt dan Paul M. Nurse dalam tulisannya tentang “*Key regulator of the cell cycle*” mencoba menjelaskan regulator kunci ini dan untuk keberhasilannya ketiga ilmuwan tersebut mendapat hadiah Nobel. Mereka berhasil mengidentifikasi molekul kunci yang meregulasi siklus sel dalam semua organisme eukariotik termasuk jamur, tanaman, binatang dan manusia.

Temuan fundamental ini memberikan pengaruh yang luar biasa pada semua aspek pembelahan sel yang salah satunya tentang siklus sel kanker. ⁽²⁸⁾

Terjadinya kanker melalui suatu proses. Sel kanker diperkirakan berasal dari sel tunggal yang telah mengalami mutasi somatik, tetapi keturunan sel kanker (*progeny*) harus mengalami perubahan-perubahan lebih lanjut dan mungkin memerlukan beberapa mutasi tambahan sebelum mereka menjadi kanker. Kelainan yang diturunkan ini dapat disebabkan oleh perubahan genetik yaitu perubahan urutan DNA atau dapat juga oleh perubahan epigenetik yaitu perubahan ekspresi gen tanpa ada perubahan urutan DNA. ^(10,20)

Sepanjang hidup manusia terjadi 10^{16} pembelahan sel dan mutasi spontan tanpa dipengaruhi agen mutan dan 10^6 mutasi per gen per pembelahan sel. Jadi sepanjang hidupnya satu gen akan mengalami mutasi 10^{10} . Diantara mutasi ini dapat diperkirakan ada yang mengenai gen yang mengatur pembelahan sel, dan sebagai konsekuensinya tidak akan mematuhi restriksi proliferasi normal. Diperlukan 3-7 kejadian mutasi secara random dan bebas untuk mengubah satu sel normal menjadi sel kanker ^(10,20)

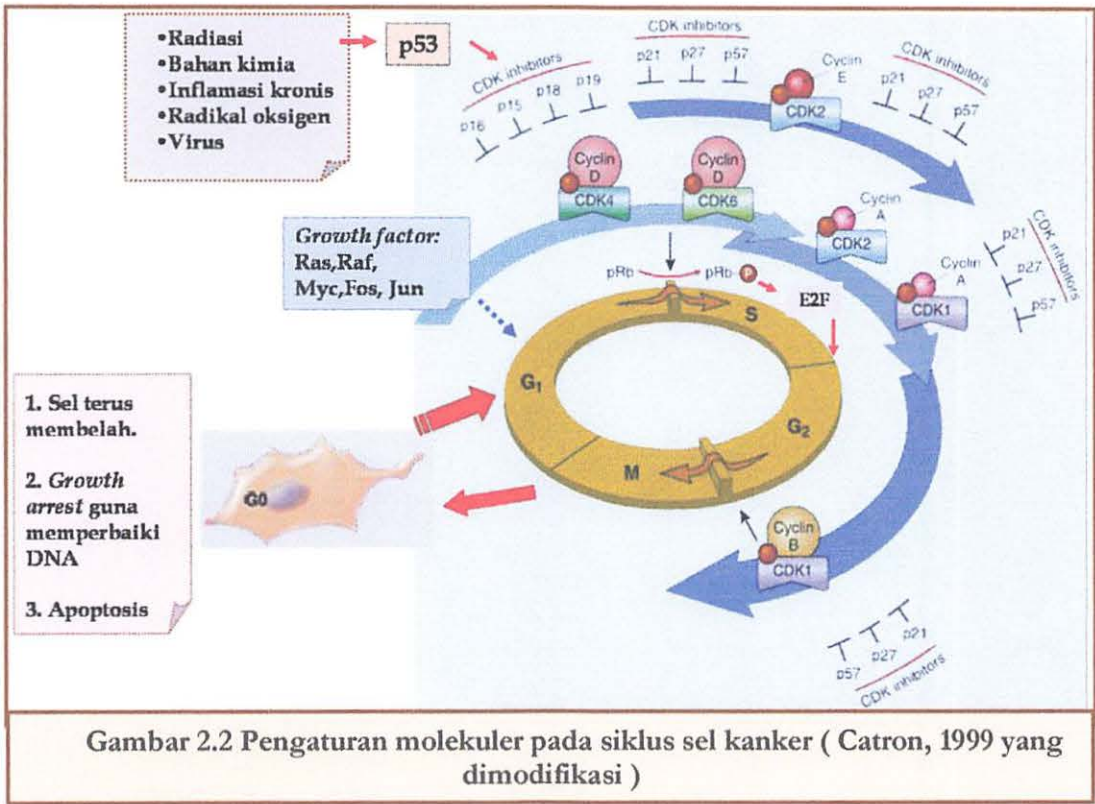
Kanker secara umum timbul melalui suatu proses yang diawali dengan populasi kecil berasal dari moyang (*ancestor*) mutan tunggal, berkembang dari buruk menjadi lebih buruk melalui siklus mutasi yang terjadi berturut-turut dan melalui seleksi alam. Pada waktu tumor terdeteksi pertama kali, tumor telah besar, dengan jumlah sel sebanyak 10^{10} atau lebih, dan berukuran diameter 1 cm ⁽²⁷⁾.

Seperti telah diuraikan diatas, sel kanker membelah diluar kontrol normal dan ini merupakan sifat utama dari sel kanker. Disamping itu sifat lainnya adalah kegagalan diferensiasi dan kemampuan untuk menyebar ke lokasi yang jauh dari tempat asalnya.

Proliferasi yang tidak terkontrol ini karena pada sel kanker terjadi mekanisme autokrin yaitu kemampuannya menghasilkan faktor pertumbuhan sendiri ^(10,31)

Pada fase G₁/S merupakan fase kritis pengendalian molekuler siklus sel dimana sel-sel seolah-olah membuat suatu kesepakatan yakni : ^(10,20,31,32)

1. Sel akan terus mengadakan pembelahan sehingga menuju fase berikutnya
2. Sel berhenti tumbuh sementara (*Growth arrest*), akan keluar dari siklus sel dan masuk ke fase G₀ untuk memperbaiki DNA yang mengalami kerusakan .
3. Jika kerusakan sel tidak dapat diperbaiki maka sel akan keluar dari siklus sel dan terjadi apoptosis atau program kematian sel. Akan tetapi jika sel yang mengalami kerusakan DNA tetap tinggal didalam siklus sel maka akan terjadi :
 - a. Mutasi dan ekspresi gen berlebihan dengan akibat proliferasi sel menjadi tidak terkontrol.
 - b. Kerusakan sistem maturasi dan diferensiasi sel.
 - c. Jika sel mengalami mutasi tersebut tidak keluar dari siklus sel maka akan mengakibatkan kerusakan pengendali sinyal ekstrasel bahkan dapat melakukan program otonom sel .



Adanya gangguan pengaturan siklus sel normal seperti yang disebutkan diatas akan memicu faktor pertumbuhan untuk mengaktivasi sinyal transduksi faktor pertumbuhan. Kondisi ini akan mengakibatkan perubahan transformasi genetik pada jalur sinyal melalui aktivasi protoonkogen fase G₁ siklus sel yang terdiri dari komponen molekul gen-gen pengatur positif jalur pRb, yakni *cyclin D1/ CDK4,6 (Cyclin Dependent Kinase)*. Jika stimulasi mutagen berlangsung terus menerus maka akan terjadi ekspresi berlebihan *cyclin D1* dan aktivitas CDK4 dan 6, yang akan memicu komponen molekuler gen-gen pengatur negatif fase G₁ baik CDKI kelompok INK4a maupun kelompok CIP1/KIP1 dengan tujuan menghambat ekspresi *cyclin D1*. Disamping itu ekspresi yang berlebihan ini akan dihambat oleh komponen molekuler gen-gen pengatur jalur p53

secara langsung oleh gen p53 dan tidak langsung oleh p21 serta akan memicu pRb dan E2F agar terbentuk ikatan pRb dan E2F pada fase G_0/G_1 ^(8,10,32).

Dengan demikian dapatlah dimengerti bahwa stimulasi mutagen yang terus menerus pada komponen molekuler gen-gen pengatur siklus sel terutama pada fase G_1/S akan menyebabkan :

1. Kerusakan DNA yang berat yang pada gilirannya akan mengakibatkan proliferasi sel yang tidak terkendali
2. Terjadi mekanisme autokrin yaitu sel akan menghasilkan faktor pertumbuhan sendiri atau terjadi ekspresi faktor pertumbuhan autokrin, aktivasi mutasi molekul sinyal transduksi, ekspresi berlebihan onkogen dan inaktivasi mutasi tumor supresor gen.

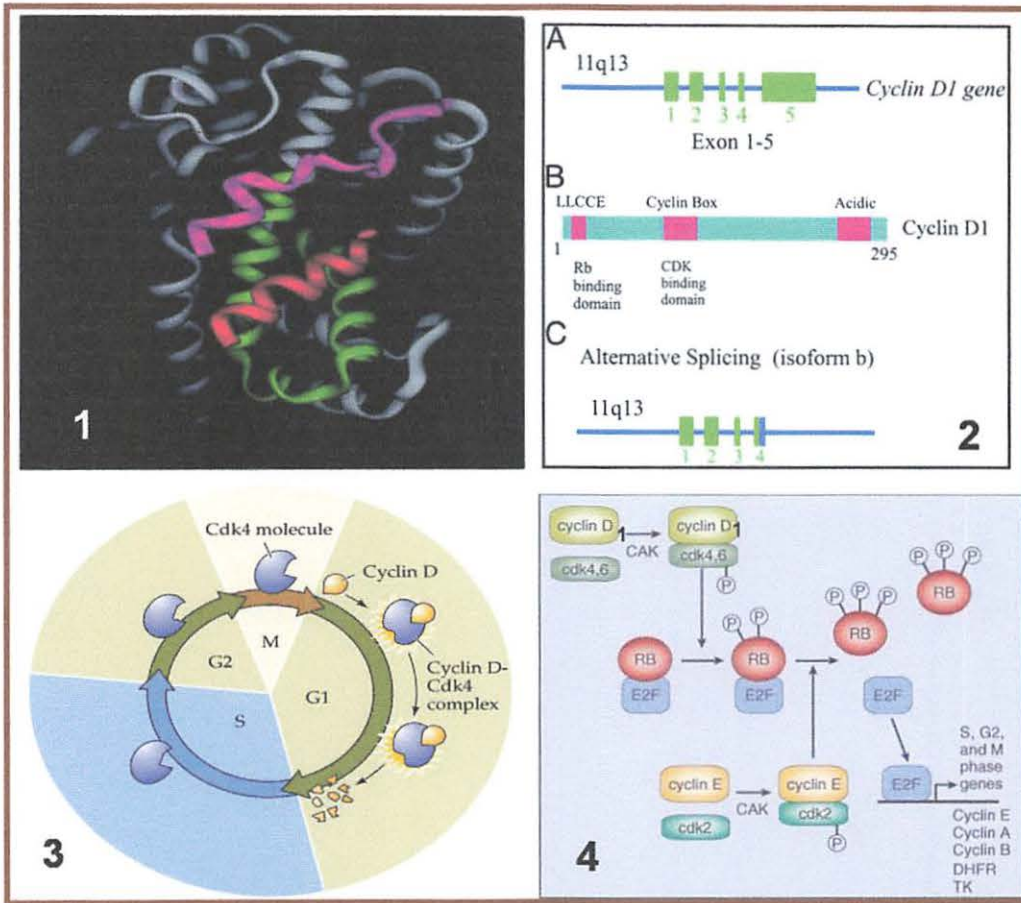
Selanjutnya gen-gen pengatur siklus sel yang berperan penting dalam perkembangan keganasan terutama pada fase G_1/S seperti gen *Cyclin D*₁, E, p53, p21, pRb, p16 dan p27 ternyata ekspresinya dapat digunakan sebagai petunjuk adanya proliferasi sel yang tidak terkendali.

2.2.2 Definisi *Cyclin D*₁

*Cyclin D*₁ merupakan protein dengan berat molekul 35 kDa, merupakan ekspresi dari 5 ekson gen PRAD1/BCL1/CCND1 yang terletak pada kromosom 11q13, mempunyai waktu paruh kurang dari 20-30 menit, berfungsi mengendalikan siklus pembelahan sel pada fase G_1 . ^(33,34)

Amplifikasi dan translokasi onkogen ini akan berakibat terjadinya ekspresi berlebihan protein *cyclin D*₁ ⁽³⁴⁾.

2.2.3 Peranan *Cyclin D1*



Gambar 2.3 Model, struktur dan skema kerja *Cyclin D1* pada siklus sel (Maofu F 2004 yang dimodifikasi).

Gen *cyclin D1* akan mengkode regulator subunit dari *holoenzym* bersama dengan *cyclin E/CDK2* sehingga terjadi fosforilasi dan inaktivitas pRb selanjutnya mempromosi progresivitas fase G_1 -S siklus sel. Dikenal tiga jenis *cyclin D* yaitu D1, D2 dan D3. Dari ketiga *cyclin* ini yang terutama berperan pada siklus sel adalah *cyclin D1* karena merupakan satu-satunya *cyclin* yang diregulasi secara langsung melalui sinyal ekstraseluler. *Cyclin D1* sulit dideteksi dengan *half life* yang sangat singkat kira-kira kurang dari 30 menit. Kadarnya dengan cepat meningkat sebagai respon rangsangan

faktor pertumbuhan dan degradasinya dikontrol melalui jalur *ubiquitin* yang dimediasi oleh proteosom^(35,36).

Pada manusia gen *cyclin D1* awalnya dikloning dari "break point" penyusunan adenoma paratiroid. Pemahaman akan perilaku *cyclin D1* ternyata sangat membantu para peneliti dalam mengetahui mekanisme kerja sintesis DNA dalam sel serta mekanisme molekuler tumorigenesis^(35,36).

Cyclin D1 bersama pasangannya yakni CDK4/CDK6 memainkan peran penting dalam memodulasi respon terhadap rangsangan ekstraseluler yang dipercaya sebagai komponen terpenting dalam perjalanan fase G₁ - S siklus sel. Untuk itu dikenal beberapa fungsi dari *cyclin D1* yakni :^(35,36,37).

1. Fungsi Biokimia meliputi : Bersama dengan CDK dependent sebagai regulator CDK 4,6, fosforilasi pRb, mengasingkan p27 dan secara tidak langsung mengaktivasi *cyclin E/CDK* Bersama dengan CDK independent berperan sebagai ko-regulator transkripsi *histone deacetylase* untuk memodulasi struktur kromatin gen yang terlibat pada regulasi proliferasi dan diferensiasi sel
2. Fungsi Biologi meliputi : Melakukan sensor dan integrasi sinyal mitogen pada fase transisi G₁-S, mempromosi proliferasi seluler, menghambat diferensiasi seluler, apoptosis seluler, migrasi seluler, metabolisme dan fungsional mitokondria dan regenerasi neural.

Peran *cyclin D1* sebagai onkogen telah dibuktikan melalui kemampuannya untuk berhubungan dengan RAS atau komplemen Adenoviral E1a onkogen pada pemeriksaan sel transformasi. Ekspresi yang berlebihan dari *cyclin D1* diketahui berkorelasi erat dengan onset awal suatu keganasan dan risiko progresivitas tumor serta metastasis suatu

keganasan. Beberapa teori yang ada mengatakan ekspresi yang berlebihan ini karena induksi sinyal onkogen tetapi temuan lain mengatakan disebabkan oleh mutasi somatik gen pembentuk *cyclin* D₁. Perubahan genetik yang tersering didapatkan adalah amplifikasi gen *cyclin* D1 pada beberapa jenis karsinoma, contohnya karsinoma payudara, esofagus, paru, dan sel skuamus kepala-leher. Ekspresi yang berlebihan ini dapat menghambat kerja pRb pada fase G₁-S siklus sel. Selain itu ada teori yang mengatakan ekspresi yang berlebihan *cyclin* D1 berperan sebagai pembawa sel melewati siklus G₀ sel, sehingga sel akan terus membelah^(13,35,36,37).

2.2.4 *Cyclin* D1 pada Karsinoma Tiroid

Ekspresi berlebihan *cyclin* D1 terjadi pada 31-63% penderita karsinoma tiroid tipe papiler. Khoo dkk melaporkan terjadinya ekspresi berlebihan *cyclin* D1 pada 63,2% penderita karsinoma tiroid tipe papiler, dengan insidens metastasis pada kelenjar getah bening yang lebih tinggi. Pada karsinoma tiroid *occult* tipe papiler, ekspresi tersebut hanya terjadi pada 8,8% penderita, dengan ekspresi yang mencapai lebih dari 90% penderita dengan metastasis jauh.^(12,13)

Mekanisme terjadinya ekspresi berlebihan *cyclin* D1 pada karsinoma tiroid masih belum diketahui secara pasti, dan peran *cyclin* D1 pada karsinoma tiroid masih belum banyak diketahui. Sel tiroid normal tidak menunjukkan reaksi pada pengecatan imunohistokimia *cyclin* D1⁽¹³⁾.

Selain pada karsinoma tiroid, ekspresi tersebut telah dideteksi terjadi pada keganasan pada paratiroid, hipofise, adrenal, ovarium, testis, mamma, sel skuamus kepala-leher, esofagus, hepar, kolo-rektal, paru, kulit, urogenital, limfoma sel mantel,

dan beberapa jenis sarkoma. Pada karsinoma sel skuamusa orofaring, *cyclin* D1 merupakan petanda prognosis yang bermakna^(33,34,36,38,39,40,41)



2.2.5 Aplikasi Klinis

Selain dapat digunakan dalam mengetahui prognosis beberapa kanker, ekspresi *cyclin* D₁ dapat digunakan untuk mengetahui keberhasilan pemberian kemoterapi pada keganasan. Saat ini telah dilakukan penelitian tentang flavopiridol. Flavopiridol merupakan derivat semisintetik rohitukin, suatu alkaloid yang diisolasi dari sejenis tumbuhan di India (*Dysoxylum binectarieferum*). Pada awalnya flavopiridol ini dianggap menghambat reseptor faktor pertumbuhan epidermal dan protein kinase A. Namun pada penelitian laboratorium mendapatkan bahwa flavopiridol ternyata menghambat proliferasi sel dengan cara :^(42,43)

1. Menghambat transisi sel pada G₂/M, dari G₁ ke S serta memperlambat progresifitas siklus sel menuju fase S.
2. Menghambat CDK dengan bekerja secara kompetitif dengan ATP saat akan terbentuk kompleks *cyclin* / CDK
3. Mengurangi *cyclin* D1 dengan cara menghambat aktivitas promotor *cyclin* D1. Penurunan *cyclin* D1 menunjukkan bahwa CDK4 kehilangan aktivitasnya.
4. Menghambat proses transkripsi dan diferensiasi siklus sel dengan menghambat regulasi tirosin dan fosforilasi treonin dari CDK.
5. Menghambat proses angiogenesis melalui pengaturan negatif *vascular endotelial growth factor* mRNA serta membatasi pembentukan model pembuluh darah.
6. Menginduksi proses apoptosis

2.2.6 Pengukuran Ekspresi *Cyclin D1* dengan Imunohistokimia

Teknik imunohistokimia relatif mudah dikerjakan, tidak memerlukan peralatan yang canggih, sehingga dapat dikerjakan pada laboratorium patologi standar. Prinsip pengecatan imunohistokimia adalah dengan menggunakan antibodi untuk mendeteksi adanya antigen jaringan. Antibodi yang digunakan sebelumnya diberi label dengan enzim tertentu. Aktivitas enzimatik akan memberikan perubahan warna pada substrat bila terjadi ikatan antigen-antibodi⁽⁴⁴⁾.

Pada awalnya teknik ini disebut dengan teknik imunofluoresensi dimana antibodi dilabel dengan golongan zat fluoresen yang ditempelkan pada lapisan tipis sel (*monolayer*) atau pada sediaan beku (*frozen section*) suatu jaringan. Sel-sel atau jaringan yang terwarnai kemudian diperiksa dengan mikroskop fluoresensi untuk mengetahui letak antibodi. Walaupun teknik ini sangat sensitif tetapi pemeriksaan dengan mikroskop fluoresensi ini kurang ideal untuk melihat jaringan yang tidak diwarnai sehingga sering sukar untuk menetapkan lokasi jaringan yang dapat di label di antara jaringan lainnya⁽⁴⁴⁾.

Dalam perkembangan selanjutnya beberapa antibodi dapat dipasangkan dengan enzim-enzim yang dapat merubah substrat yang tak berwarna dan tidak larut sehingga dapat mengendap pada posisi enzim tersebut. Dengan demikian mikroskop cahaya biasa dapat digunakan untuk melokalisasikan antibodi pada jaringan atau sel yang telah diwarnai. Cara yang paling sering dilakukan adalah menggunakan enzim peroksidase *horseradish* dan disebut teknik imunoperoksidase⁽⁴⁴⁾.

Pada semua teknik pemeriksaan mikroskopik imunohistokimia tersebut, intensitas dapat ditingkatkan dengan menggunakan teknik *sandwich*. Sebagai contoh selain

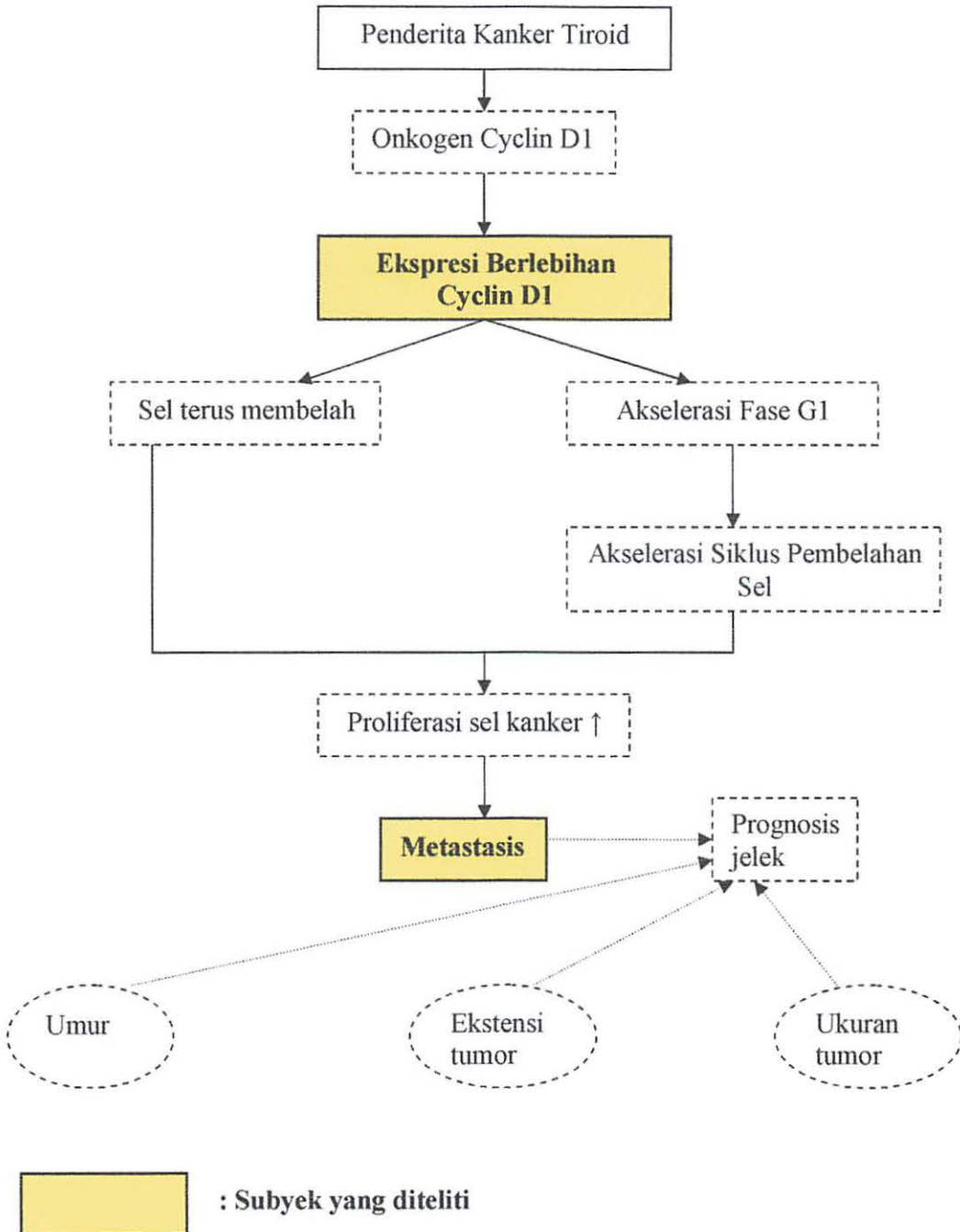
melekatkan enzim perokside *horseradish* pada antibodi spesifik pada antigen yang dituju, dapat dilekatkan pada antibodi kedua yang digunakan untuk mengikat antibodi yang pertama. Bila enzim dilekatkan langsung pada antibodi spesifik primer, metode itu disebut metode langsung, bila enzim dilekatkan pada antibodi sekunder atau tersier, disebut metode tidak langsung. Pada metode tidak langsung selain dari antibodi dapat digunakan molekul-molekul lainnya. Sebagai contoh : *avidin* yang mengikat antibodi primer yang dilabel dengan *biotin*, dapat dilekatkan pada enzim yang biasa digunakan (44).

Cara yang banyak dipakai adalah metode *avidin-biotin*. Metode ini menggunakan *biotin* yang dapat berikatan dengan antibodi membentuk *biotinylated conyugate*, dan bila ditambahkan pada suatu jaringan akan terikat dengan antigen. Sedangkan *avidin* adalah suatu glikoprotein yang mempunyai empat *binding sites* untuk biotin yang terikat dengan peroksidase. Reaksi antigen-antibodi yang terjadi akan menyebabkan perubahan warna menjadi kemerahan (44).

Cara yang dilakukan untuk melakukan pemeriksaan imunohistokimia pada sediaan yang mengandung *cyclin D1* adalah: preparat setebal 3 mikron di-*dewaxed* dengan toluen dan direhidrasi secara bertahap dengan gradasi alkohol ke air. Dilakukan blok peroksidase endogen dengan H₂O₂ 3%, antigen diketahui dengan bufer sitrat 10mM (pH6,0), blokade biotin endogen dilakukan dengan menggunakan *Avidin-biotin blocking kit*. Inkubasi antibodi primer dilakukan dengan menggunakan antibodi monoklonal *cyclin D1* mencit dengan dilusi 1:50, kemudian preparat dibilas dengan *Phosphate Buffered Saline* (PBS). Inkubasi antibodi sekunder dilakukan dengan IgG biotin diikuti streptavidin-HRP. Inkubasi imunoreaktivitas dalam *3-amino-9-ethylcarbazol* dan setelah itu dilakukan pengecatan ulang dengan hematoksilin eosin (13,45).

BAB III
KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual



3.2 Hipotesis

Pada karsinoma tiroid tipe papiler, makin kuat ekspresi *cyclin D1* maka makin besar kemungkinan terjadinya metastasis pada kelenjar getah bening dan metastasis jauh

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui korelasi ekspresi cyclin D1 dengan kejadian metastasis pada karsinoma tiroid tipe papiler.

Pengamatan dilakukan sesaat pada variabel-variabel yang peristiwanya telah terjadi. Rancangan penelitian yang digunakan adalah observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*.

4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel, Teknik Pengambilan Sampel, Kriteria Inklusi dan Eksklusi

4.2.1 Populasi

Populasi penelitian adalah semua blok parafin penderita karsinoma tiroid tipe papiler yang tersimpan di Laboratorium Patologi Anatomi yang secara histopatologis menunjukkan gambaran karsinoma tiroid tipe papiler.

4.2.2 Sampel

Sampel penelitian adalah blok parafin penderita karsinoma tiroid tipe papiler yang telah dioperasi di RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang secara histopatologis menunjukkan gambaran karsinoma tiroid tipe papiler.

4.2.3 Besar Sampel

Besarnya sampel ditentukan menurut perhitungan berdasarkan proporsi karena populasi tidak diketahui, dengan rumus sebagai berikut:

$$n = \left(\frac{Z_{1/2\alpha} + Z_{\beta}}{0,5 \ln \frac{(1+r)}{(1-r)}} \right)^2 + 3$$

$$Z_{1/2\alpha} 0,05 = 1,96$$

$$Z_{\beta} 0,20 = 0,842$$

$$r = 0,5$$

Rumus korelasi :

$$n = \left(\frac{1,96 + 0,842}{0,5 \ln \frac{(1+0,5)}{(1-0,5)}} \right)^2 + 3$$

$$n = 29,05 \text{ dibulatkan menjadi } 30$$

4.2.4 Pengambilan Sampel

Sampel diambil secara *consecutive sampling* berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi.

4.2.5 Kriteria Inklusi

1. Hasil pemeriksaan histopatologis menunjukkan karsinoma tiroid tipe papiler.
2. Tersedia lengkap blok parafin dan rekam medik penderita.

4.2.6 Kriteria Eksklusi

Penderita yang telah mendapat terapi radiasi dan atau kemoterapi sebelum operasi.

4.3 Variabel Penelitian

Pada penelitian ini variabel penelitian yang diteliti adalah:

1. Variabel independen: ekspresi *cyclin* D1.
2. Variabel dependen: metastasis.

4.4 Definisi Operasional Variabel Penelitian

4.4.1 Ekspresi *Cyclin* D1

Merupakan ekspresi protein *cyclin* D1, dimana ekspresinya dapat dilihat dengan menggunakan pemeriksaan imunohistokimia metode *Labelled Avidin Biotin (LAB)*.

Cara pengecatan: preparat setebal 3 mikron di-*dewaxed* dengan toluen dan direhidrasi secara bertahap dengan gradasi alkohol ke air. Dilakukan blok peroksidase endogen dengan H₂O₂ 3%, antigen diketahui dengan bufer sitrat 10mM (pH6,0), blokade *biotin* endogen dilakukan dengan menggunakan *Avidin-biotin blocking kit*. Inkubasi antibodi primer dilakukan dengan menggunakan antibodi monoklonal *cyclin* D1 mencit dengan dilusi 1:50, kemudian preparat dibilas dengan *Phosphate Buffered Saline (PBS)*. Inkubasi antibodi sekunder dilakukan dengan IgG *biotin* diikuti streptavidin-HRP. Inkubasi immuno-reaktivitas dalam *3-amino-9-ethylcarbazol* dan setelah itu dilakukan pengecatan ulang dengan hematoksilin eosin ⁽¹³⁾. Digunakan

kontrol internal sebagai pembanding, dimana untuk kontrol positif digunakan warna eritrosit, dan untuk kontrol negatif digunakan sel tiroid normal.

Penghitungan atau skoring dilakukan berdasarkan prosentase sel tumor yang intinya tercat positif (berwarna coklat homogen) dari 100 sel tumor dikalikan intensitas *immunostaining* (kuat : +3, sedang : +2, lemah : +1, negatif : 0).

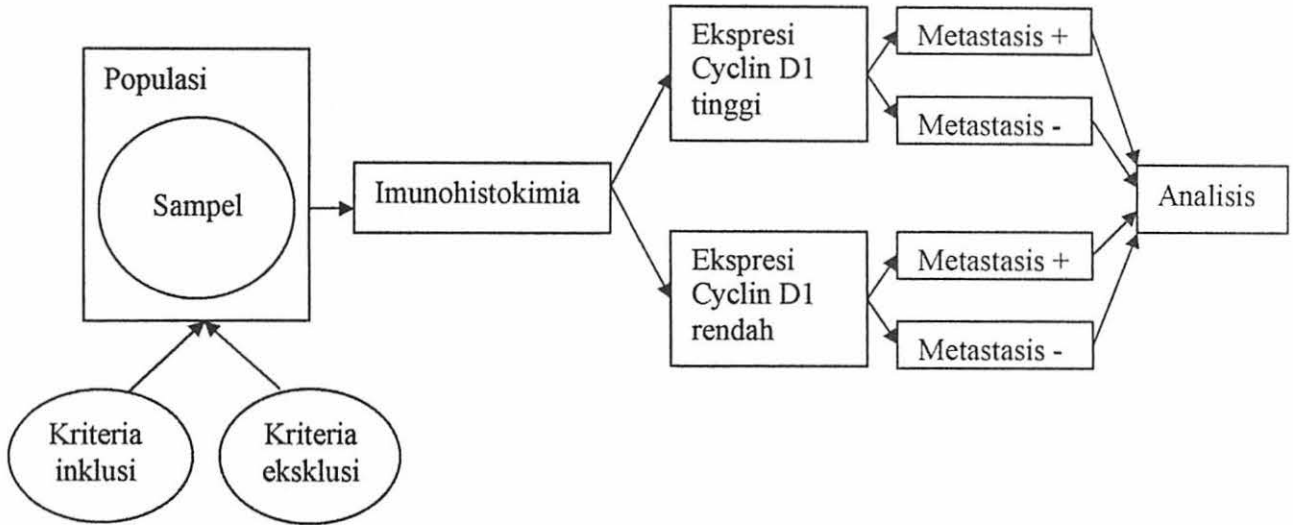
4.4.2 Metastasis

Didapatkannya anak sebar karsinoma tiroid tipe papiler pada kelenjar getah bening dan atau organ lain

- a. **Metastasis Kelenjar Getah Bening Regional** : didapatkannya anak sebar karsinoma tiroid tipe papiler pada kelenjar getah bening leher, baik ipsilateral, kontralateral, bilateral, maupun kelenjar getah bening mediastinum.
- b. **Metastasis Jauh** : Didapatkannya anak sebar karsinoma tiroid tipe papiler pada organ jauh.

Dinilai positif bila ditemukan anak sebar karsinoma tiroid papiler, dan negatif bila tidak ditemukan anak sebar karsinoma tiroid papiler.

4.5 Kerangka Operasional



4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.6.1 Lokasi Penelitian

Bagian/SMF Ilmu Bedah dan Bagian/SMF Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSU Dr Soetomo Surabaya.

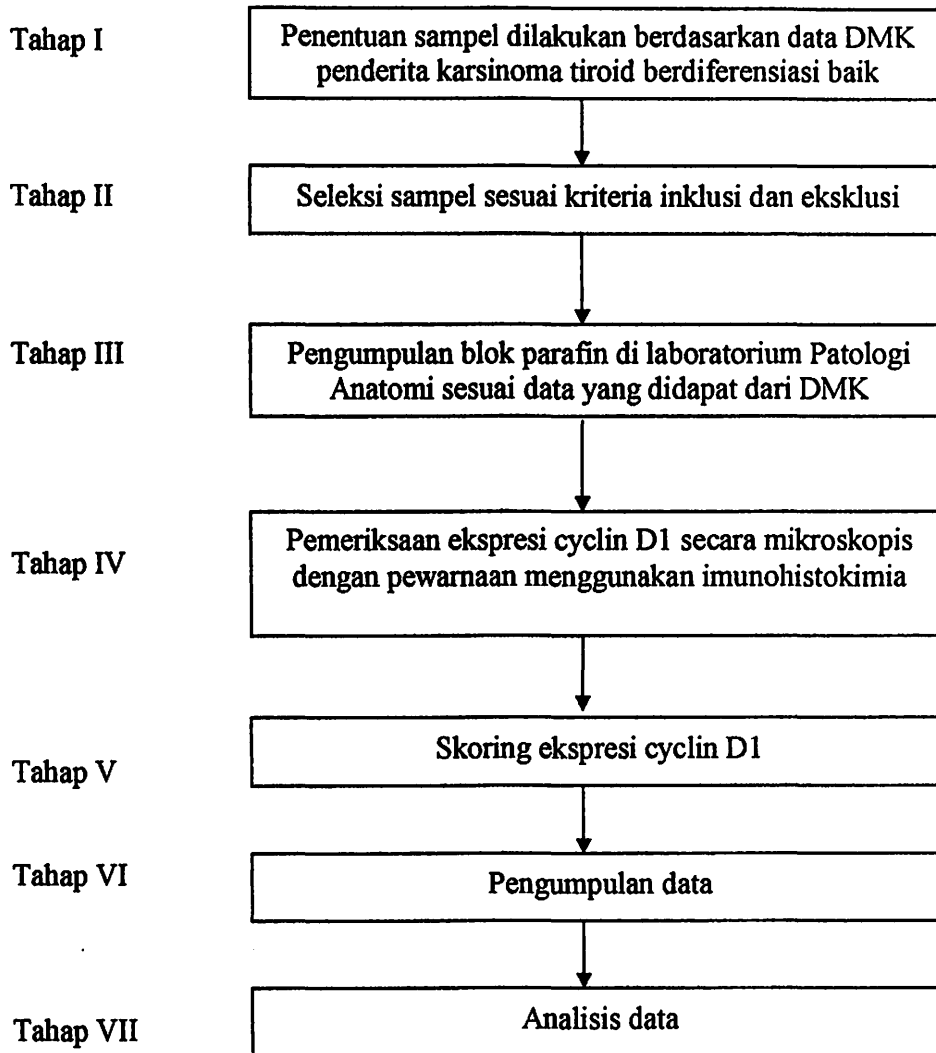
4.6.2 Waktu Penelitian

Selama 6 bulan mulai bulan Mei 2006 sampai Oktober 2006

4.7 Jadwal Penelitian

	Mei 2006	Juni 2006	Juli 2006	Ags 2006	Sept 2006	Okt 2006
Penelusuran Pustaka						
Penyusunan Proposal						
Penelusuran DMK						
Pengecatan Preparat						
Analisis Data						
Penyusunan Karya Akhir						

4.8 Tahap Penelitian



4.9 Analisis Data

Untuk mengetahui hubungan antara metastasis dengan ekspresi *cyclin D1* dilakukan uji regresi logistik sederhana oleh karena skor ekspresi *cyclin D1* merupakan skala ratio sedangkan metastasis adalah skala nominal

4.10 Biaya Penelitian

1. Alat tulis	Rp. 500.000,-
2. Biaya penelusuran kepustakaan	Rp. 500.000,-
3. Penyusunan proposal dan hasil penelitian	Rp. 1.000.000,-
4. Biaya Konsultasi statistik	Rp. 500.000,-
5. Biaya pemeriksaan imunohistokimia	Rp. 4.500.000,-
6. Biaya tak terduga	Rp. 500.000,-
Total	Rp 7.500.000,-

BAB V
HASIL DAN ANALISIS DATA

5.1 Karakteristik Sampel Penelitian

Sampel diambil secara *consecutive sampling* pada seluruh blok parafin beserta catatan medik penderita karsinoma tiroid tipe papiler di RSUD Dr. Soetomo Surabaya bulan Januari 2005 – Mei 2006 yang secara histopatologis menunjukkan kanker tiroid tipe papiler. Sampel yang memenuhi syarat terkumpul sebanyak 30. Tujuh puluh enam koma tujuh persen dari sampel penelitian adalah perempuan, 3,3 kali lebih banyak dibanding laki-laki (23,3%). Penderita kanker tiroid yang didapat meliputi hampir semua umur yaitu antara 9 – 86 tahun dengan rerata $37,7 \pm 17,42$ tahun. Hampir duapertiga penderita (63,33%) berumur 20 – 49 tahun (tabel 5.1).

Tabel 5.1 Distribusi Jenis Kelamin dan Umur pada Karsinoma Tiroid Papiler

Umur (tahun)	Jenis Kelamin		Jumlah (%)
	Laki-laki(%)	Perempuan(%)	
<20	1 (3,33)	2 (6,67)	3 (10,00)
20 – 49	3 (10,00)	16 (53,33)	19 (63,33)
50 – 69	2 (6,67)	5 (16,67)	7 (23,34)
≥ 70	1 (3,33)	0	1 (3,33)
Jumlah	7(23,33)	23(76,67)	30 (100)

Hasil pemeriksaan histopatologis menunjukkan tipe papiler murni lebih banyak (86,7%) dibanding varian/tipe folikuler (13,3%)(tabel 5.2). Hampir tiga perempat spesimen menunjukkan adanya invasi kapsul (73,3%).

Tabel 5.2 Distribusi Histopatologis Karsinoma Tiroid Papiler

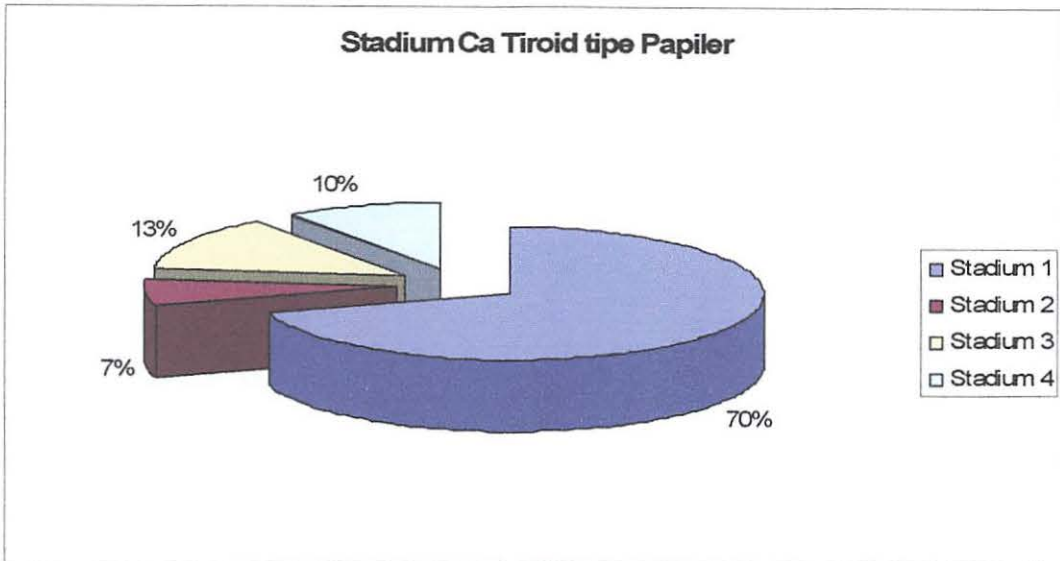
Tipe Histologis	Invasi Kapsul		Jumlah(%)
	+	-	
Papiler murni	18(60,00)	8(26,67)	26(86,67)
Tipe Folikuler	4(13,33)	0(0,00)	4(13,33)
Jumlah	22 (73,33)	8(26,67)	30(100)

Lebih dari separuh penderita telah terjadi metastasis (56,67%) baik metastasis kelenjar getah bening leher (regional) maupun metastasis jauh (tabel 5.3).

Tabel 5.3 Distribusi Metastasis Karsinoma Tiroid Papiler

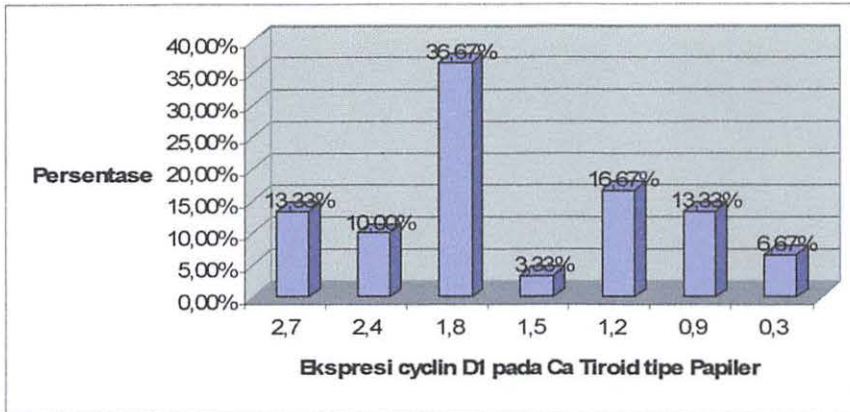
Tipe Histologis	Tanpa Metastasis (%)	Metastasis			Jumlah (%)
		Regional (%)	Jauh (%)	Regional + Jauh(%)	
Papiler murni	12(40,00)	14(46,67)	0	0	26(86,67)
Tipe Folikuler	1(3,33)	0	1(3,33)	2(6,67)	4(13,33)
Jumlah	13(43,33)	14(46,67)	1(3,33)	2(6,67)	30(100)

Stadium penyakit yang terbanyak adalah stadium I (70%), stadium II sebanyak 6,67%, stadium III sebanyak 13,33% dan penderita dengan stadium IV sebanyak 10% (gambar 5.1).

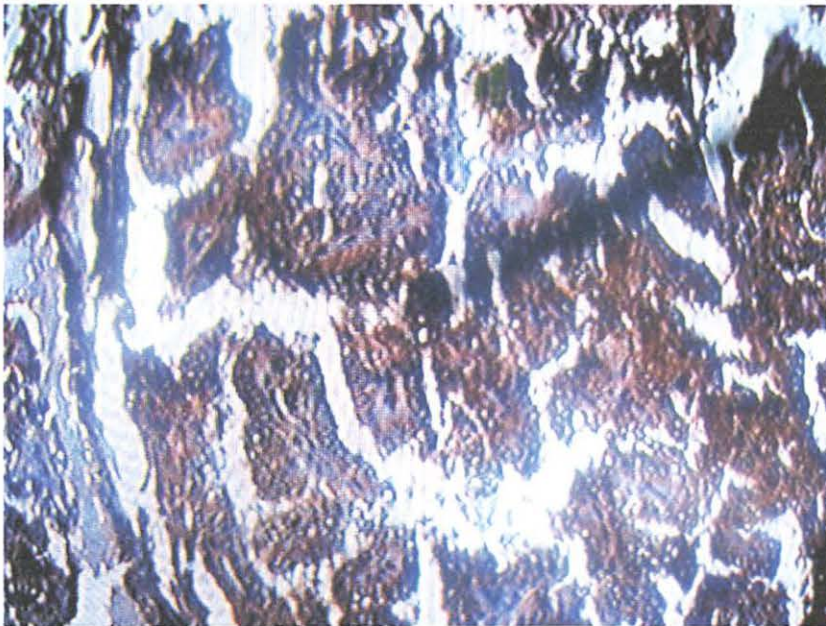


Gambar 5.1 Stadium Karsinoma Tiroid Papiler

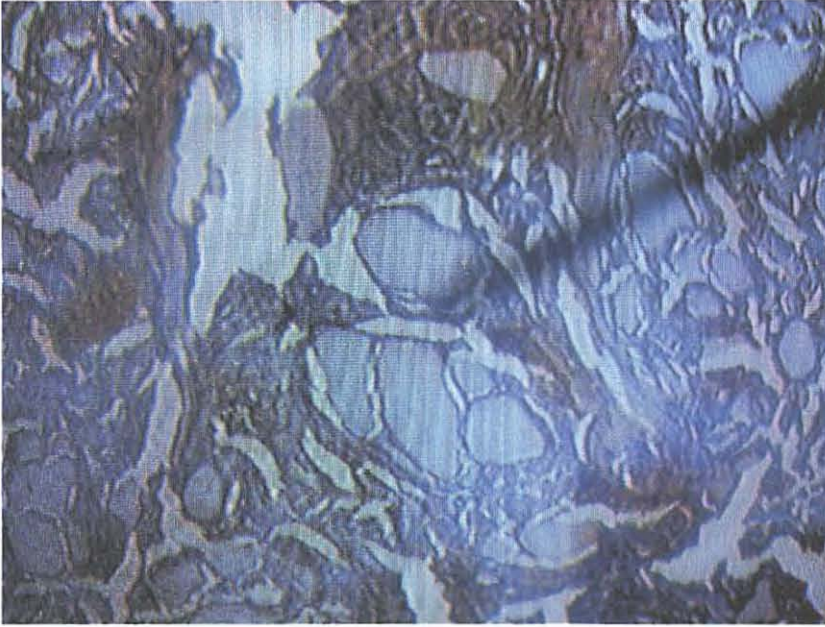
Hasil pemeriksaan ekspresi *cyclin* D1 dikelompokkan berdasar skor yang didapat dari hasil perkalian persentase ekspresi *cyclin* D1 pada sel karsinoma tiroid papiler dengan menggunakan pembesaran hitung terbesar yang dapat dilihat dengan intensitas ekspresi. Tidak didapatkan hasil negatif pada ekspresi *cyclin* D1. Hasil terbesar didapat pada ekspresi *cyclin* D1 1,8, yaitu 36,67% sediaan; sedangkan ekspresi 2,7 didapatkan pada 13,33% sediaan, ekspresi 2,4 pada 10% sediaan, ekspresi 1,5 pada 3,33% sediaan, ekspresi 1,2 pada 16,67% sediaan, ekspresi 0,9 pada 13,33% sediaan, dan ekspresi 0,3 pada 6,67% sediaan. (Gambar 5.2)



Gambar 5.2 Ekspresi *Cyclin D1* pada Karsinoma Tiroid Papiler



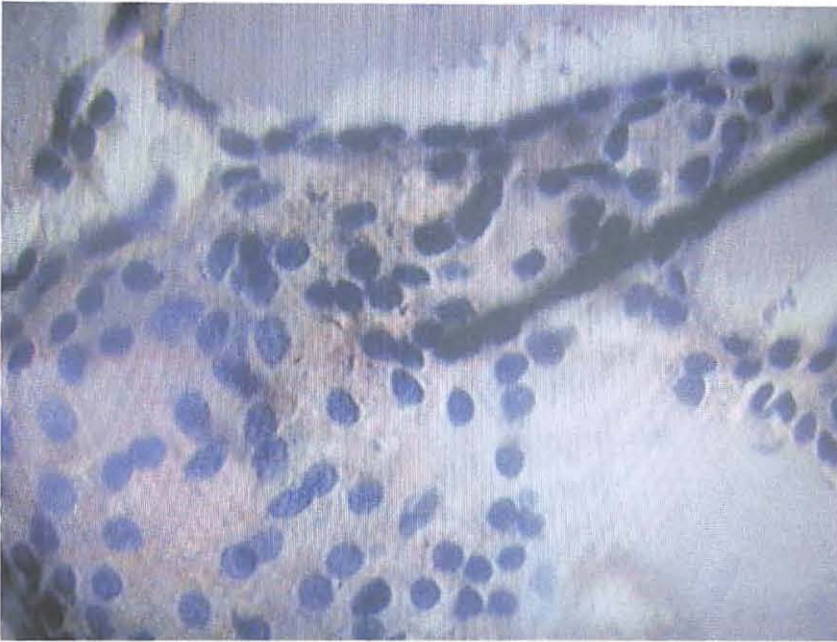
Gambar 5.3 Ekspresi *Cyclin D1* 90% dengan Intensitas Kuat pada Karsinoma Tiroid Papiler dengan Metastasis Frontal (T 4257/05)



Gambar 5.4 Ekspresi *Cyclin D1* 50% dengan Intensitas Kuat pada Karsinoma
Tiroid Papiler (T 3389/05)



Gambar 5.5 Ekspresi *Cyclin D1* 10% dengan Intensitas Kuat pada Karsinoma
Tiroid Papiler (T 2367/06)



Gambar 5.6 Kontrol Negatif Ekspresi *Cyclin* D1 pada Jaringan Tiroid Normal

5.2 Analisis Hasil Penelitian

Rerata ekspresi *cyclin* D1 pada karsinoma tiroid papiler antara laki-laki dan perempuan ternyata hampir sama. Hasil analisis statistik dengan uji t 2 sampel bebas didapatkan $p > 0,05$ yang berarti tidak ada perbedaan yang bermakna rerata ekspresi *cyclin* D1 antara laki-laki dan perempuan. Jumlah stadium IV sebanyak 10 % hanya didapatkan pada penderita perempuan dan tidak pada penderita laki-laki. Untuk mengetahui perbedaan sebaran stadium antara penderita laki-laki dan perempuan dilakukan analisis statistik dengan uji Mann-Whitney. Hasil analisis didapatkan $p > 0,05$ yang berarti tidak ada perbedaan sebaran stadium penyakit antara penderita laki-laki dan perempuan (tabel 5.4).

Tabel 5.4 Distribusi Ekspresi *Cyclin* D1 dan Stadium Karsinoma Tiroid Papiler antara Laki-laki dan Perempuan

Jenis Variabel	Jenis Kelamin		Uji Statistik	Harga p
	Laki-laki N=7	Perempuan n=23		
Ekspresi	1,714	1,630	t 2 sampel	0,780
<i>Cyclin</i> D1	±0,664	±0,694	t=-0,283	
Stadium			Mann-Whitney	0,585
I	4 (57,14%)	17 (73,91%)	Z=-0,546	
II	1 (14,29%)	1 (4,35%)		
III	2 (28,57%)	2 (8,70%)		
IV	0 (0,0%)	3 (13,04%)		

Hasil analisis korelasi didapatkan bahwa terdapat korelasi bermakna antara ekspresi *cyclin* D1 dengan ukuran tumor dengan harga $p=0,009$ dengan kuat korelasi 0,468 yang artinya makin besar ukuran tumor makin tinggi ekspresi *cyclin* D1. Tidak ada korelasi yang bermakna antara stadium tumor dengan ekspresi *cyclin* D1 ($p>0,05$)

Untuk mengetahui korelasi antara ekspresi *cyclin* D1 dengan metastasis dilakukan uji regresi logistik sederhana pada kejadian metastasis regional pada kelenjar getah bening leher dan pada kejadian metastasis jauh.

Rerata ekspresi *cyclin* D1 pada penderita yang mengalami metastasis kelenjar getah bening leher sebesar $1,838\pm 0,609$, sedangkan rerata ekspresi *cyclin* D1 pada penderita yang tidak mengalami metastasis kelenjar getah bening sebesar $1,436\pm 0,708$. Hasil uji regresi logistik sederhana didapatkan $p=0,112$ dengan kuat

korelasi 0,12 yang berarti tidak ada korelasi yang bermakna antara ekspresi *cyclin D1* dengan metastasis kelenjar getah bening leher (tabel 5.5).

Tabel 5.5 Korelasi Ekspresi *Cyclin D1* dengan Metastasis Kelenjar Getah Bening Leher

Ekspresi <i>Cyclin D1</i>	Metastasis KGB		Total n (%)
	Positif n (%)	Negatif n (%)	
2,7	3 (18,75)	1 (7,14)	4 (13,33)
2,4	2 (12,50)	1 (7,14)	3 (10,00)
1,8	6 (37,50)	5 (35,71)	11 (36,67)
1,5	1 (6,25)	0 (0,00)	1 (3,33)
1,2	2 (12,50)	3 (21,43)	5 (16,67)
0,9	2 (12,50)	2 (14,29)	4 (13,33)
0,3	0 (0,00)	2 (14,29)	2 (6,67)
Total	16 (100,0)	14 (100,0)	30 (100,0)

Rerata ekspresi *cyclin D1* pada penderita yang mengalami metastasis jauh sebesar $2,400 \pm 0,520$, yang jauh lebih tinggi dibanding penderita yang tidak mengalami metastasis jauh yaitu sebesar $1,567 \pm 0,646$. Hasil uji regresi logistik sederhana didapatkan $p=0,002$ dengan kuat korelasi 0,519 yang berarti ada korelasi yang bermakna antara ekspresi *cyclin D1* dengan metastasis jauh (tabel 5.6).

Tabel 5.6 Korelasi Ekspresi *Cyclin D1* dengan Metastasis Jauh

Ekspresi <i>Cyclin D1</i>	Metastasis jauh		Total n (%)
	Positif n (%)	Negatif n (%)	
2,7	2 (66,67)	2 (7,41)	4 (13,33)
2,4	0 (0,00)	3 (11,11)	3 (10,00)
1,8	1 (33,33)	10 (37,04)	11 (36,67)
1,5	0 (0,00)	1 (3,70)	1 (3,33)
1,2	0 (0,00)	5 (18,52)	5 (16,67)
0,9	0 (0,00)	4 (14,81)	4 (13,33)
0,3	0 (0,00)	2 (7,41)	2 (6,67)
Total	3 (100,0)	27 (100,0)	30 (100,0)

Rerata ekspresi *cyclin D1* pada gambaran histopatologis adanya invasi kapsul sebesar $1,800 \pm 0,668$, yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan tanpa adanya invasi kapsul yaitu sebesar $1,238 \pm 0,542$. Hasil uji regresi logistik sederhana didapatkan $p=0,006$ dengan kuat korelasi 0,383 yang berarti terdapat korelasi yang bermakna antara ekspresi *cyclin D1* dengan invasi kapsul (tabel 5.7).

Tabel 5.7 Korelasi Ekspresi *cyclin* D1 dengan Invasi Kapsul

Ekspresi <i>Cyclin</i> D1	Invasi Kapsul		Total n (%)
	Positif n (%)	Negatif n (%)	
2,7	4 (19,05)	0 (0,00)	4 (13,33)
2,4	3 (14,29)	0 (0,00)	3 (10,00)
1,8	8 (38,10)	3 (33,33)	11 (36,67)
1,5	1 (4,76)	0 (0,00)	1 (3,33)
1,2	2 (9,52)	3 (33,33)	5 (16,67)
0,9	2 (9,52)	2 (22,22)	4 (13,33)
0,3	1 (4,76)	1 (11,11)	2 (6,67)
Total	21 (100,0)	9 (100,0)	30 (100,0)

Rerata ekspresi *cyclin* D1 pada gambaran histopatologis varian folikuler sebesar $2,400 \pm 0,424$, yang lebih tinggi dibanding tipe papiler murni yaitu $1,535 \pm 0,637$. Hasil uji beda didapatkan $p=0,014$ yang berarti terdapat beda yang bermakna antara ekspresi *cyclin* D1 pada karsinoma tiroid papiler varian folikuler dengan karsinoma tiroid papiler murni (tabel 5.8).

Tabel 5.8. Korelasi Ekspresi *Cyclin D1* dengan Tipe Histologis Karsinoma Tiroid

Papiler

Ekspresi <i>Cyclin D1</i>	Tipe Histologis		Total n (%)
	Varian Folikuler n (%)	Papiler murni n (%)	
2,7	2 (50,00)	2 (7,69)	4 (13,33)
2,4	1 (25,00)	2 (7,69)	3 (10,00)
1,8	1 (25,00)	10 (38,46)	11 (36,67)
1,5	0 (0,00)	1 (3,85)	1 (3,33)
1,2	0 (0,00)	5 (19,23)	5 (16,67)
0,9	0 (0,00)	4 (15,38)	4 (13,33)
0,3	0 (0,00)	2 (7,69)	2 (6,67)
Total	4 (100,0)	26 (100,0)	30 (100,0)

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Gambaran Umum Hasil Penelitian

Dari 30 blok parafin karsinoma tiroid papiler yang diperiksa pada penelitian ini, didapatkan tipe papiler murni dan varian folikuler masing-masing sebanyak 26 (86,67%) dan 4 (13,33%). Hal ini berbeda dengan kepustakaan yang menyatakan bahwa karsinoma tiroid tipe campuran merupakan jenis terbanyak karsinoma tiroid papiler, disusul oleh varian folikuler, dan yang paling sedikit adalah tipe papiler⁽²¹⁾ Usia penderita yang terbanyak pada penelitian ini yaitu kelompok rentang usia 20-49 tahun (63,33%). Didapatkan 3 penderita (10%) yang berusia <20 tahun.

Dari jenis kelamin, karsinoma tiroid papiler didapatkan lebih banyak pada wanita (73,3%) daripada laki-laki (26,7%). Hal ini sesuai dengan kepustakaan yang menyebutkan bahwa wanita lebih banyak menderita karsinoma tiroid, khususnya disebabkan oleh karena faktor hormonal yang merupakan salah satu faktor penyebab terjadinya karsinoma tiroid^(18,20).

Dari 30 penderita yang diteliti, didapatkan metastasis pada 17 orang (57%). Hal ini sesuai dengan kepustakaan bahwa kanker tiroid tipe papiler lebih sering memberikan metastasis dan 63-80% dari pasien kanker tiroid tipe papiler telah mengalami mikrometastasis saat ditemukan.^(12,13)

Didapatkan 3 penderita dengan metastasis jauh, dimana ketiganya merupakan karsinoma tiroid papiler tipe atau varian folikuler. Hal ini sesuai dengan kepustakaan bahwa karsinoma tiroid papiler tipe folikuler mempunyai agresivitas yang lebih besar dibandingkan kanker tiroid tipe papiler murni.^(12,15)

Pemeriksaan ekspresi *cyclin* D1 dilakukan pada seluruh blok parafin dengan menggunakan teknik imunohistokimia dan didapatkan hasil ekspresi 2,7 sebanyak 4(13,33%), ekspresi 2,4 sebanyak 3(10%), ekspresi 1,8 sebanyak 11(36,67%), ekspresi 1,5 sebanyak 1(3,33%), ekspresi 1,2 sebanyak 5(16,67%), ekspresi 0,9 sebanyak 4(13,33%) dan ekspresi 0,3 sebanyak 2(6,67%). Hal ini menunjukkan bahwa pada semua karsinoma tiroid papiler terjadi ekspresi *cyclin* D1 yang mengakibatkan pembelahan sel karsinoma tiroid menjadi lebih cepat dan melewati fase istirahat pada pembelahan (G_0). Ekspresi *cyclin* D1 memegang peranan dalam proses karsinogenesis karsinoma tiroid^(13,14).

6.2. Korelasi Ekspresi *Cyclin* D1 dengan Metastasis Kelenjar Getah Bening Leher pada Karsinoma Tiroid Papiler.

Pada penelitian ini didapatkan 16 pasien(53,33%) mengalami metastase kelenjar getah bening leher. Dari penelitian ini didapatkan pada 3 kasus (18,75%) menunjukkan ekspresi *cyclin* D1 2,7; 2 kasus (12,50%) menunjukkan ekspresi *cyclin* D1 2,4; 6 kasus (37,50%) menunjukkan ekspresi *cyclin* D1 1,8; 1 kasus (6,25%) menunjukkan ekspresi *cyclin* D1 1,5; 2 kasus (12,50%) menunjukkan ekspresi *cyclin* D1 1,2; dan 2 kasus (12,50%) menunjukkan ekspresi *cyclin* D1 0,9.

Rerata ekspresi *cyclin* D1 pada penderita yang mengalami metastasis kelenjar getah bening leher sebesar $1,838 \pm 0,609$, sedangkan rerata ekspresi *cyclin* D1 pada penderita yang tidak mengalami metastasis kelenjar getah bening sebesar $1,436 \pm 0,708$. Hasil uji regresi logistik sederhana didapatkan $p=0,112$ dengan kuat korelasi 0,12 yang

berarti tidak ada korelasi yang bermakna antara ekspresi *cyclin* D1 dengan metastasis kelenjar getah bening leher.

Hal ini menunjukkan bahwa walaupun ekspresi *cyclin* D1 semakin tinggi tidak berarti insiden terjadinya metastasis kelenjar getah bening leher akan semakin tinggi pula. Hasil ini berbeda dengan penelitian Khoo dkk^(12,13) yang melaporkan terjadinya ekspresi berlebihan *cyclin* D1 pada 63,2% penderita karsinoma tiroid tipe papiler, dengan insidens metastasis pada kelenjar getah bening yang lebih tinggi, tetapi sesuai dengan penelitian yang dilakukan Temmim dkk⁽⁴⁶⁾ yang menyatakan bahwa tidak ada korelasi bermakna ekspresi *cyclin* D1 dengan metastasis kelenjar getah bening leher. Hal ini sesuai dengan masih adanya perbedaan pendapat di dunia mengenai peranan *cyclin* D1 pada metastasis^(12,13,46).

Pengaruh prognostik dari metastasis kelenjar getah bening leher hingga saat ini masih belum jelas. Beberapa penelitian mengatakan bahwa metastasis kelenjar getah bening leher tidak mempengaruhi angka ketahanan hidup namun berpengaruh terhadap angka rekurensi tumor⁽¹⁶⁾.

6.3. Korelasi Ekspresi *Cyclin* D1 dengan Metastasis Jauh pada Karsinoma Tiroid Papiler

Pada penelitian ini didapatkan 3 pasien(10%) yang mengalami metastase jauh pada organ lain, yaitu pada paru (1 pasien) dan tulang frontal (2 pasien). Ketiga penderita yang mengalami metastasis merupakan penderita dengan karsinoma tiroid papiler tipe folikuler (100%).

Rerata ekspresi *cyclin* D1 pada penderita yang mengalami metastasis jauh sebesar $2,400 \pm 0,520$, yang jauh lebih tinggi dibanding penderita yang tidak mengalami

metastasis jauh yaitu sebesar $1,567 \pm 0,646$. Hasil uji regresi logistik sederhana didapatkan $p=0,002$ dengan kuat korelasi $0,519$ yang berarti ada korelasi yang bermakna antara ekspresi *cyclin D1* dengan metastasis jauh. Hasil ini berarti makin tinggi ekspresi *cyclin D1*, makin besar kemungkinan mengalami metastasis jauh. Hal ini sesuai dengan penelitian Khoo dkk yang menyatakan ekspresi *cyclin D1* mencapai lebih dari 90% penderita karsinoma tiroid papiler dengan metastasis jauh. ⁽¹³⁾

6.4 Korelasi Ekspresi *Cyclin D1* dengan Tipe Histologis Karsinoma Tiroid Papiler

Pada penelitian ini didapatkan 26 penderita (86,67%) karsinoma tiroid tipe papiler murni dan 4 penderita (13,33%) varian folikuler. Rerata ekspresi *cyclin D1* pada gambaran histopatologis varian folikuler sebesar $2,400 \pm 0,424$, yang lebih tinggi dibanding tipe papiler murni yaitu $1,535 \pm 0,637$. Hasil uji beda didapatkan $p=0,014$ yang berarti terdapat beda yang bermakna antara ekspresi *cyclin D1* pada karsinoma tiroid papiler varian folikuler dengan karsinoma tiroid papiler murni. Hal ini sesuai dengan kepustakaan bahwa ekspresi *cyclin D1* akan makin tinggi pada karsinoma dengan derajat keganasan yang lebih tinggi ^(12,13,34,35,36).

6.5 Korelasi Ekspresi *Cyclin D1* dengan Invasi Karsinoma Tiroid Papiler pada Kapsul.

Adanya ekstensi tumor keluar dari kapsul tiroid menunjukkan agresivitas yang tinggi dari tumor tersebut, oleh karena itu invasi keluar kapsul mempengaruhi prognosis terhadap penderita karsinoma tiroid berdiferensiasi baik. Invasi keluar kapsul ini akan

lebih bermakna apabila tumor juga melakukan invasi terhadap pembuluh darah (angioinvasi).⁽³⁾

Pada penelitian ini didapatkan tumor dari 21 penderita(70%) telah mengalami invasi kapsul. Rerata ekspresi *cyclin* D1 pada gambaran histopatologis adanya invasi kapsul sebesar $1,800 \pm 0,668$, yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan tanpa adanya invasi kapsul yaitu sebesar $1,238 \pm 0,542$. Hasil uji regresi logistik sederhana didapatkan $p=0,006$ dengan kuat korelasi 0,383 yang berarti terdapat korelasi yang bermakna antara ekspresi *cyclin* D1 dengan invasi kapsul. Hal ini berarti makin tinggi ekspresi *cyclin* D1, kemungkinan terjadinya invasi pada kapsul akan makin besar, sebagaimana penelitian Khoo dkk dan Temmim dkk^(12,13,46).

BAB VII

RINGKASAN

- Ekspresi *cyclin* D1 didapatkan pada karsinoma tiroid papiler, tetapi tidak pada jaringan tiroid normal.
- Tidak ada korelasi yang bermakna antara ekspresi *cyclin* D1 dengan metastasis kelenjar getah bening leher karsinoma tiroid papiler.
- Terdapat korelasi yang bermakna antara ekspresi *cyclin* D1 dengan metastasis jauh karsinoma tiroid papiler. Hasil ini berarti makin tinggi ekspresi *cyclin* D1, makin besar kemungkinan karsinoma tiroid papiler mengalami metastasis jauh.
- Pada pemeriksaan dengan uji beda, terdapat beda yang bermakna antara ekspresi *cyclin* D1 pada karsinoma tiroid papiler varian folikuler dengan karsinoma tiroid papiler mumi.
- Terdapat korelasi yang bermakna antara ekspresi *cyclin* D1 dengan invasi kapsul. Hal ini berarti makin tinggi ekspresi *cyclin* D1, kemungkinan terjadinya invasi karsinoma tiroid papiler pada kapsul akan makin besar.

BAB VIII

KESIMPULAN DAN SARAN

8.1. Kesimpulan

Pada karsinoma tiroid tipe papiler, makin kuat ekspresi *cyclin* D1, makin besar kemungkinan terjadinya metastasis jauh.

8.2. Saran

- Diharapkan adanya penelitian mengenai korelasi ekspresi *cyclin* D1 dan kejadian metastasis jauh karsinoma tiroid tipe papiler dengan jumlah sampel yang lebih besar.
- Diharapkan ada penelitian mengenai hubungan ekspresi *cyclin* D1 dari sediaan/spesimen baru/*fresh* hasil operasi dan terjadinya metastasis pada karsinoma tiroid tipe papiler.

KEPUSTAKAAN

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global Cancer Statistics. *CA Cancer J Clin.* 2005. 55: pp.74-108
2. Norton JA. Neoplasms of the Endocrine System in: Blandki, Dlayjm, Karakouses CP(eds). *Surgical Oncology Contemporary Principle and Practice.* NewYork: Mac Graw-Hill. 2003. pp.1055-67.
3. Mazzaferri EL, Kloos RT. Clinical Review 128: Current Approaches to Primary Therapy for Papillary and Follicular Thyroid Cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001. 86: pp.1447-63.
4. Rouxel A, Hejblum G, Bernier MO, et al.: Prognosis Factors Associated with the Survival of Patients Developing Loco-Regional Recurrences of Differentiated Thyroid Carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004. 89: pp.5362-8.
5. Ye C, Feng C, Wang S, et al.: Antiangiogenic and Antitumor Effects of Endosatin on Follicular Thyroid Carcinoma. *Endocrinol.* 2002. 143: pp.3522-8.
6. Sanders LE, Cady B. Differentiated Thyroid Cancer: Reexamination of Risk Groups and Outcome of Treatment. *Arch Surg.* 1998. 133: pp.419-24.
7. Dean DS, Hay ID. Prognostic Indicators in Differentiated Thyroid Carcinoma. *Cancer Control.* 2000. 7: pp.229-39.
8. Weinberg RA. How Cancer Arises. *Scientific Am.* 1996. Sept: pp.62-70
9. Alt JR, Cleveland JL, Hannink M, Diehl JA. Phosphorylation-Dependent Regulation of *Cyclin* D1 Nuclear Export and *Cyclin* D1-Dependent Cellular Transformation. *Genes & Development.* 2000. 14: pp.3102-14

10. Sherr CJ. The Pezcoller Lecture. Cancer Cell Cycle. Revisited Cancer Res. 2000. 60 : pp.3689-95
11. Sandal T. Molecular Aspect of The Mammalian Cell Cycle and Cancer. The Oncologist. 2002. 7 : pp.73-81
12. Khoo MCL, Beasley NJP, Ezzat S, Freeman JL, Asa SL. Overexpression of *Cyclin D1* and Underexpression of p27 Predict Lymph Node Metastases in Papillary Thyroid Cacinoma. J Clin Endocrinol Metab. 2002. 87: pp.1814-8.
13. Khoo MCL, Ezzat S, Freeman JL, Asa SL. *Cyclin D1* Protein Expression Predicts Metastatic Behavior in Thyroid Papillary Microcarcinomas But is not Associated with Gene Amplification. J Clin Endocrinol Metab. 2002. 87: pp.1810-3.
14. Elsayed Y. Selected Novel anticancer Treatments Targeting Cell Signaling Proteins. The Oncologist. 2001. Dec; 6 (6): pp.517-37.
15. Senderowicz. The Cell Cycle as a Target for Cancer Therapy : Basic and Clinical Finding with the Small Molecule Inhibitors Flavopiridol and UCN-01. The Oncologist. 2002. Aug; 7 (3): pp.1-14.
16. Sauter ER, Nesbitt M, Litwin S, Klein-Szanto AJP, Cheffetz S, Herlyn M. Antisense *Cyclin D1* Induces Apoptosis and Tumor Shrinkage in Human Squamous Carcinomas. Ca Res. 1999. Oct (1): pp.4876-81.
17. Reksoprawiro S. Karsinoma Tiroid. Deteksi Dini dan Penanganannya. Warta Ikabi. 1997. 10: pp.140-54.
18. Sjamsuhidajat R, Jong DJ. Buku-Ajar Ilmu Bedah. EGC; Jakarta. 1997. pp.936-41.

19. Schlumberger MJ. Papillary and Follicular Thyroid Carcinoma. *NEJM*. 1998. 333: pp.297-306.
20. Weigel RJ. Thyroid in: Norton JA, Bollinger R, Chang AE, et al.(eds). *Surgery. Basic Science and Clinical Evidence*. Springer; New York. 2001. pp.885-92.
21. Watkinson JC, Gaze MN, Wilson JA. *Stell & Marans. Head & Neck Surgery*. 4th ed. Butterworth-Heinemann; Oxford. 2000. pp.478-95.
22. Lebolleaux S, Rubino C, Baudin E, Caillou B, Hartl DM, Bidart JM, Travagli JP, Schlumberger M. Prognostic Factors for Persistent or Recurrent Disease of Papillary Thyroid Carcinoma with Neck Lymph Node Metastase and/or Tumor Extension beyond the Thyroid Capsule at Initial Diagnosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005. 90: pp.5723-9.
23. Machens A, Holzhausen HJ, Dralle H. Skip Metastases in Thyroid Cancer Leaping the Central Lymph Node Compartment. *Arch Surg*. 2004. 139: pp.43-5.
24. Hall FT, Freeman JL, Asa SL, Jackson DG, Beasley NJ. Intratumoral Lymphatics and Lymph Node Metastases in Papillary Thyroid Carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003. 129: pp. 716-9.
25. Gardner RE, Tuttle RM, Burman KD, Haddady S, Truman C, Sparling YH, Wartofsky L, Sessions RB, Ringel MD. Prognostic Importance of Vascular Invasion in Papillary thyroid Carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2000. 126: pp.309-12.
26. Thyroid. In: American Joint Committee on Cancer.: *AJCC Cancer Staging Manual*. 6th ed. Springer; New York. 2002. pp.77-87.

27. Sukardja IDG. *Onkologi Klinik*. Airlangga University Press. Surabaya. 1996. pp.13-45
28. Press Release: The 2001 Nobel Prize in Physiology or Medicine. <http://nobelprize.org/medicine/laureates/2001/press.html>
29. Cotran RS, Kumar V, Collins T. *Neoplasia : Robbins Pathologic Basis of Disease* 6th edition. WB Sounder Co; Philadelphia. 1999. pp.260 – 327
30. Burt JM. Signaling gone wrong-cancer. *Cell Physiology*. 2000. November. 7: pp.1-7
31. Agus P. Analisis Molekuler Patogenesis Karsinoma Sel Skuamosa Rongga Mulut berdasarkan pola mutasi Gen P53 dan P16. Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga (Disertasi Doktor). 2004.
32. Israels ED, Israels LG. The cell cycle. *The oncologist*. 2000. 5: pp.503-10.
33. Pestell RG, Albanese C, Reutens AT, Seagall JE, Lee RJ, Arnold A. The *Cyclins* and *Cyclin*-Dependent Kinase Inhibitors in Hormonal Regulation of Proliferation and Differention. *Endocrine Reviews*. 1999. 20 (4): pp.501-34.
34. Hsi ED, Zukerberg LR, Yang W, Arnold A. *Cyclin* D1/PRAD1 Expression in Parathyroid Adenomas: an Immunohistochemical Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996. 81: pp.1736-9.
35. Maofu F, Chenguang W, Zhiping L, Toshiyuki S, Richard G P. Minireview: *Cyclin* D1 : Normal and Abnormal Functions. *Endocrinology*. 2004. 145(12): pp.5439-47.
36. Diehl JA. Cycling to Cancer with *cyclin* D1. *Cancer Biology & Therapy*. 2002. 1(3): pp.226-31.

37. Young Tae Kim, Min Zhao. Abberant cell cycle regulation in cervical carcinoma. *Yonsei Med J.* 2005. 46(6): pp.596-610.
38. Donellan R, Chetty R. Rev: *Cyclin D1* and Human Neoplasia. *J Clin Pathol: Mol Pathol.* 1998. 51: pp.1-7
39. de Jong JS, van Diest PJ, Michalides RJAM, Baak JPA. Concerted Overexpression of the Genes Encoding p21 and *Cyclin D1* is Associated with Growth Inhibition and Differentiation in Various Carcinomas. *J Clin Pathol: Mol Pathol.* 1999. 52: pp.78-83.
40. Hibberts NA, Simpson DJ, Bicknell JE, Broome JC, Hoban PR, Clayton RN, Farrell WE. Analysis of *Cyclin D1* (CCND1) Allelic Imbalance and Overexpression in Sporadic Human Pituitary Tumors. *Clin Cancer Res.* 1999. 5: pp. 2133-9
41. Yu Z, Weinberger PM, Haffty BG, Sski C, Zerillo C, Joe J, Kowalsky D, Dziura J, Camp RL, Rimm DL, Psyrri A. *Cyclin D1* is a Valuable Prognostic Marker in Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2005. 11: pp.1160-6
42. Elsayed Y. Selected Novel Anticancer Treatments Targeting Cell Signaling Proteins. *The Oncologist.* 2001. 6 (6): pp.517-37
43. Senderowicz. The Cell Cycle as a Target for Cancer Therapy : Basic and Clinical Finding with the Small Molecule Inhibitors Flavopiridol and UCN-01. *The Oncologist.* 2002. 7 (3): pp.1-14
44. Brattheuer GL, Adam LR. Immunohistochemistry: Antigen Detection in Tissue in Advanced Laboratory Methds in Histology and Pathology, Armed Forces Institute of Pathology. 1994. 1: pp.1-40.

45. Monoclonal Mouse Anti-Human Cyclin D1 Clone DSC-6. DakoCytomation. Denmark. M7155/EFG/SUA/25.03.03. pp. 1-4
46. Temmim L, Ebraheem AK, Baker H, Sinowatz F. Cyclin D1 Protein Expression in Human Thyroid Gland and Thyroid Cancer. *Anat Histol Embryol.* 2006. 35: pp. 125-9

Lampiran 1. Data Penelitian

No	Nama	Sex	Age	Reg	Tgl Op	Diagnosis	No PA	Φ	Ekst	T	N	M	Stg	Cyclin	Ints	Skor	Note
1	Kamilah	P	46	10435601	25/04/2005	Ca T Pap tipe Fol	T 1749/05	6x3,5cm	+	4	+	+	4c	90%	3	2,7	mfrontal
2	Imam Sayuti	L	40	10594188	28/04/2006	Ca Tiroid Pap	T 2230/06	7x4cm	+	3	+	-	1	90%	3	2,7	
3	Wasih	P	36	10491609	08/07/2005	Ca Tiroid Pap	T 3059/05	4x4cm	+	2	+	-	1	90%	3	2,7	
4	Yanah	P	53	10477041	14/09/2005	Ca T Pap tipe Fol	T 4257/05	5x5cm	+	4	-	+	4c	90%	3	2,7	mfrontal
5	Putut P	L	28	10433259	05/01/2005	Ca Tiroid Pap	T 035/05	5x5cm	+	3	+	-	1	80%	3	2,4	
6	Nur Fadilah	P	27	10429177	28/01/2005	Ca Tiroid Pap	T 401/05	3,5X3cm	+	2	+	-	1	80%	3	2,4	
7	Umiyati	P	65	10445814	09/03/2005	Ca Tiroid Pap	T 987/05	6x3,5cm	+	3	+	-	3	60%	3	1,8	
8	Solichah	P	67	10227961	30/03/2005	Ca T Pap tipe Fol	T 1349/05	12x7cm	+	4	+	+	4c	60%	3	1,8	mparu
9	Iman Mukari	L	86	10485458	30/05/2005	Ca Tiroid Pap	T 2363/05	4,5x4cm	+	3	+	-	3	60%	3	1,8	
10	Anis Setyorini	P	24	10522899	04/10/2005	Ca Tiroid Pap	T 4629/05	1x1cm	+	1	+	-	1	60%	3	1,8	
11	Muhyi	L	51	10574005	02/03/2006	Ca Tiroid Pap	T 1154/06	3x2,5cm	+	2	+	-	2	60%	3	1,8	
12	Misitun	P	26	10551162	12/01/2006	Ca Tiroid Pap	T 215/06	2x2cm	-	1	+	-	1	60%	3	1,8	
13	Suyati	P	55	10492895	28/07/2005	Ca Tiroid Pap	T 3389/05	8x7cm	+	3	+	-	3	50%	3	1,5	
14	Ponisri	P	33	10458632	31/03/2005	Ca Tiroid Pap	T 1364/05	4x4cm	+	2	+	-	1	40%	3	1,2	
15	Tulus Raharjo	L	52	10516365	25/08/2005	Ca Tiroid Pap	T 3897/05	2,5x2cm	+	2	+	-	3	40%	3	1,2	
16	Imam S	L	9	17788470	14/01/2005	Ca Tiroid Pap	T 174/05	5x5cm	+	3	+	-	1	30%	3	0,9	
17	Umi Salamah	P	23	10443632	25/01/2005	Ca Tiroid Pap	T 341/05	3,5X3cm	-	2	+	-	1	30%	3	0,9	
18	Indayani	P	25	10495234	18/07/2005	Ca T Pap tipe Fol	T 3183/05	3x3cm	+	2	-	-	1	80%	3	2,4	
19	Lianah	P	35	10362037	19/04/2005	Ca Tiroid Pap	T 1702/05	1,5x1cm	-	1	-	-	1	60%	3	1,8	
20	Wiwik	P	28	10305705	13/09/2005	Ca Tiroid Pap	T 4225/05	4x3cm	+	2	-	-	1	60%	3	1,8	
21	Sari	P	34	10520306	25/10/2005	Ca Tiroid Pap	T 5006/05	6x4cm	-	3	-	-	1	60%	3	1,8	
22	Siti Munawaroh	P	36	10562398	26/01/2006	Ca Tiroid Pap	T 499/06	1x1cm	+	1	-	-	1	60%	3	1,8	
23	Mukhayaroh	P	46	10472331	10/05/2005	Ca Tiroid Pap	T 2018/05	2,5x2cm	+	2	-	-	2	60%	3	1,8	
24	Aris Maria L	P	27	10462087	31/03/2005	Ca Tiroid Pap	T 1363/05	2x2cm	+	1	-	-	1	40%	3	1,2	
25	Suharsono	L	38	10584439	24/04/2006	Ca Tiroid Pap	T 2118/06	3x3cm	-	2	-	-	1	40%	3	1,2	
26	Jumiatin	P	42	10524658	30/12/2005	Ca Tiroid Pap	T 6184/05	1x1cm	-	1	-	-	1	40%	3	1,2	
27	Anita Rahman	P	20	10434808	17/01/2005	Ca Tiroid Pap	T 193/05	3x2cm	-	2	-	-	1	30%	3	0,9	
28	Meriyatul L	P	9	10447306	21/02/2005	Ca Tiroid Pap	T 705/05	1x1cm	+	1	-	-	1	30%	3	0,9	
29	Nurmaisah	P	17	10481114	07/06/2005	Ca Tiroid Pap	T 2530/05	2x2cm	+	1	-	-	1	10%	3	0,3	
30	Theresa Budi R	P	53	10588690	05/05/2006	Ca Tiroid Pap	T 2367/06	2x2cm	-	1	-	-	1	10%	3	0,3	

Lampiran 2. Teknik Pengecatan Imunohistokimia dari Sediaan Blok Parafin

1. Slide ditempatkan dalam rak pengecatan dan dilakukan dewax (deparanifikasi) dengan xylol sebanyak 3 kali, masing-masing selama 3 menit.
2. Hidrasi dengan:
 - a. Alkohol absolut 100% selama 3 menit
 - b. Alkohol 96% selama 3 menit
 - c. Alkohol 70% selama 3 menit
3. Cuci dengan Tris HCl buffer pH 7,6 sebanyak 2 kali, masing-masing selama 3 menit.
4. Dilakukan tahap mikrowave selama 10 menit dengan buffer sitrat pH 6.
5. Dilakukan blok peroksidase endogen dengan H₂O₂ 3%. Bilas dengan buffer sitrat 10mM, pH 6,0.
6. Dilakukan blokade biotin Endogen dengan menggunakan *Avidin-Biotin blocking kit* (Dako Corp.), inkubasi selama 5 sampai 10 menit, dicuci dengan Tris HCl buffer pH 7,6 sebanyak 2 kali, masing-masing selama 3 menit.
7. Ditetesi *primary antibody* menggunakan antibodi monoklonal *cyclin D1* mencit (Dako Corp.) dengan dilusi 1:50, inkubasi selama 1 jam, dibilas dengan *Phosphate Buffered Saline* sebanyak 2 kali, masing-masing selama 3 menit.
8. Ditetesi IgG *Biotin* diikuti *Streptavidin-HRP*, inkubasi selama 30 menit, dicuci dengan buffer sitrat pH 6,0 sebanyak 2 kali, masing-masing selama 3 menit.
9. Inkubasi dalam *3-amino-9-ethylcarbazol* selama 5 sampai 10 menit, dicuci dengan aquades sebanyak 2 kali, masing-masing selama 3 menit.

10. Dilakukan *counterstain* dengan Meyer Hematoxillin sebanyak 2 kali, masing-masing selama 5 menit, dicuci *aquadest*, kemudian dilanjutkan ke air mengalir sebanyak 2 kali, masing-masing selama 5 menit.

Lampiran 3. Hasil Analisis Statistika

SEX

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid L	7	23.3	23.3	23.3
P	23	76.7	76.7	100.0
Total	30	100.0	100.0	

Dx

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid papiler	26	86.7	86.7	86.7
Folikuler	4	13.3	13.3	100.0
Total	30	100.0	100.0	

Ekstensi tumor

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid +	22	73.3	73.3	73.3
-	8	26.7	26.7	100.0
Total	30	100.0	100.0	

Tumor primer

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 1	9	30.0	30.0	30.0
2	11	36.7	36.7	66.7
3	7	23.3	23.3	90.0
4	3	10.0	10.0	100.0
Total	30	100.0	100.0	

Metastasis regional

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid +	16	53.3	53.3	53.3
-	14	46.7	46.7	100.0
Total	30	100.0	100.0	

Metastasis jauh

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid +	3	10.0	10.0	10.0
-	27	90.0	90.0	100.0
Total	30	100.0	100.0	

STAGE

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 1	21	70.0	70.0	70.0
2	2	6.7	6.7	76.7
3	4	13.3	13.3	90.0
4c	3	10.0	10.0	100.0
Total	30	100.0	100.0	

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Skor Cyclin D1	UMUR
N		30	30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1.6500	37.7000
	Std. Deviation	.6766	17.4240
Most Extreme Differences	Absolute	.188	.111
	Positive	.179	.111
	Negative	-.188	-.066
Kolmogorov-Smirnov Z		1.028	.609
Asymp. Sig. (2-tailed)		.241	.853

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Correlations

Correlations

		UMUR	Skor Cyclin D1
UMUR	Pearson Correlation	1.000	.244
	Sig. (2-tailed)	.	.193
	N	30	30
Skor Cyclin D1	Pearson Correlation	.244	1.000
	Sig. (2-tailed)	.193	.
	N	30	30

Nonparametric Correlations

Correlations

			Skor Cyclin D1	SIZE	Tumor primer	STADIUM
Spearman's rho	Skor Cyclin D1	Correlation Coefficient	1.000	.468**	.461*	.282
		Sig. (2-tailed)	.	.009	.010	.130
		N	30	30	30	30
SIZE	SIZE	Correlation Coefficient	.468**	1.000	.878**	.437*
		Sig. (2-tailed)	.009	.	.000	.016
		N	30	30	30	30
Tumor primer	Tumor primer	Correlation Coefficient	.461*	.878**	1.000	.623**
		Sig. (2-tailed)	.010	.000	.	.000
		N	30	30	30	30
STADIUM	STADIUM	Correlation Coefficient	.282	.437*	.623**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.130	.016	.000	.
		N	30	30	30	30

** . Correlation is significant at the .01 level (2-tailed).

* . Correlation is significant at the .05 level (2-tailed).

T-Test

Group Statistics

	SEX	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Skor Cyclin D1	L	7	1.7143	.6644	.2511
	P	23	1.6304	.6938	.1447

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Skor Cyclin D1	Equal variances assumed	.012	.913	.283	28	.780	8.385E-02	.2968	-.5241	.6918
	Equal variances not assumed			.289	10.332	.778	8.385E-02	.2898	-.5591	.7268

T-Test

Group Statistics

Dx	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Skor Cyclin D1 papiler	26	1.5346	.6368	.1249
Folikuler	4	2.4000	.4243	.2121

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
Skor Cyclin D1	Equal variances assumed	1.347	.256	-2.609	28	.014	-.8654	.3317	-1.5448	-.1860
	Equal variances not assumed			-3.615	5.383	.015	-.8654	.2482	-1.4855	-.2453

STADIUM * SEX Crosstabulation

		SEX		Total
		L	P	
STADIUM I	Count	4	17	21
	% within SEX	57.1%	73.9%	70.0%
II	Count	1	1	2
	% within SEX	14.3%	4.3%	6.7%
III	Count	2	2	4
	% within SEX	28.6%	8.7%	13.3%
IV	Count		3	3
	% within SEX		13.0%	10.0%
Total	Count	7	23	30
	% within SEX	100.0%	100.0%	100.0%

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

SEX	N	Mean Rank	Sum of Ranks
STADIUM L	7	16.79	117.50
P	23	15.11	347.50
Total	30		

Test Statistics^b

	STADIUM
Mann-Whitney U	71.500
Wilcoxon W	347.500
Z	-.546
Asymp. Sig. (2-tailed)	.585
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.666 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: SEX

Metastasis regional

Descriptives

Skor Cyclin D1

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
-	14	1.4357	.7078	.30	2.70
+	16	1.8375	.6087	.90	2.70
Total	30	1.6500	.6766	.30	2.70

Metastasis jauh

Descriptives

Skor Cyclin D1

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
-	27	1.5667	.6463	.30	2.70
+	3	2.4000	.5196	1.80	2.70
Total	30	1.6500	.6766	.30	2.70

Metastasis total

Descriptives

Skor Cyclin D1

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
-	13	1.3385	.6318	.30	2.40
+	17	1.8882	.6254	.90	2.70
Total	30	1.6500	.6766	.30	2.70

Ekstensi tumor

Descriptives

Skor Cyclin D1

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
-	8	1.2375	.5423	.30	1.80
+	22	1.8000	.6676	.30	2.70
Total	30	1.6500	.6766	.30	2.70

Stadium

Descriptives

Skor Cyclin D1

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
I	21	1.5429	.7243	.30	2.70
II	2	1.8000	.0000	1.80	1.80
III	4	1.5750	.2872	1.20	1.80
IV	3	2.4000	.5196	1.80	2.70
Total	30	1.6500	.6766	.30	2.70

Logistic Regression

Case Processing Summary

Unweighted Cases ^a		N	Percent
Selected Cases	Included in Analysis	30	100.0
	Missing Cases	0	.0
	Total	30	100.0
Unselected Cases		0	.0
Total		30	100.0

a. If weight is in effect, see classification table for the total number of cases.

Dependent Variable Encoding

Original Value	Internal Value
-	0
+	1

Classification Table^{a,b}

Observed			Predicted		Percentage Correct
			Metastasis regional		
			-	+	
Step 0	Metastasis regional	-	0	14	.0
		+	0	16	100.0
Overall Percentage					53.3

a. Constant is included in the model.

b. The cut value is .500

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 0 Constant	.134	.366	.133	1	.715	1.143

Variables not in the Equation

	Score	df	Sig.
Step 0 Variables SKOR	2.724	1	.099
Overall Statistics	2.724	1	.099

Omnibus Tests of Model Coefficients

		Chi-square	df	Sig.
Step 1	Step	2.825	1	.093
	Block	2.825	1	.093
	Model	2.825	1	.093

Model Summary

Step	-2 Log likelihood	Cox & Snell R Square	Nagelkerke R Square
1	38.631	.090	.120

Classification Table^a

Observed		Predicted		
		Metastasis regional		Percentage Correct
		-	+	
Step 1	Metastasis regional	-	+	
		7	7	50.0
		5	11	68.8
	Overall Percentage			60.0

a. The cut value is .500

Variables in the Equation

Step		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 1	SKOR	.979	.617	2.520	1	.112	2.661
	Constant	-1.470	1.076	1.868	1	.172	.230

a. Variable(s) entered on step 1: SKOR.

Logistic Regression

Case Processing Summary

Unweighted Cases ^a		N	Percent
Selected Cases	Included in Analysis	30	100.0
	Missing Cases	0	.0
	Total	30	100.0
Unselected Cases		0	.0
Total		30	100.0

a. If weight is in effect, see classification table for the total number of cases.

Dependent Variable Encoding

Original Value	Internal Value
-	0
+	1

Classification Table^{a,b,c}

Observed			Predicted		Percentage Correct
			Metastasis jauh		
			-	+	
Step 0	Metastasis jauh	-	0	27	.0
		+	0	3	100.0
Overall Percentage					10.0

a. No terms in the model.

b. Initial Log-likelihood Function: -2 Log Likelihood = 41.589

c. The cut value is .500

Variables not in the Equation

			Score	df	Sig.
Step 0	Variables	SKOR	12.975	1	.000
Overall Statistics			12.975	1	.000

Omnibus Tests of Model Coefficients

		Chi-square	df	Sig.
Step 1	Step	14.802	1	.000
	Block	14.802	1	.000
	Model	14.802	1	.000

Model Summary

Step	-2 Log likelihood	Cox & Snell R Square	Nagelkerke R Square
1	26.787	.389	.519

Classification Table^a

Observed		Predicted			
		Metastasis jauh		Percentage Correct	
		-	+		
Step 1	Metastasis jauh	-	27	0	100.0
		+	3	0	.0
Overall Percentage					90.0

a. The cut value is .500

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 1 ^a SKOR	-.984	.318	9.611	1	.002	.374

a. Variable(s) entered on step 1: SKOR.

Logistic Regression

Case Processing Summary

Unweighted Cases ^a		N	Percent
Selected Cases	Included in Analysis	30	100.0
	Missing Cases	0	.0
	Total	30	100.0
Unselected Cases		0	.0
Total		30	100.0

a. If weight is in effect, see classification table for the total number of cases.

Dependent Variable Encoding

Original Value	Internal Value
-	0
+	1

Classification Table^{a,b}

Observed			Predicted		
			Metastasis total		Percentage Correct
			-	+	
Step 0	Metastasis total	-	0	13	.0
		+	0	17	100.0
Overall Percentage					56.7

a. Constant is included in the model.

b. The cut value is .500

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 0 Constant	.268	.368	.530	1	.467	1.308

Variables not in the Equation

	Score	df	Sig.
Step 0 Variables SKOR	5.032	1	.025
Overall Statistics	5.032	1	.025

Omnibus Tests of Model Coefficients

		Chi-square	df	Sig.
Step 1	Step	5.398	1	.020
	Block	5.398	1	.020
	Model	5.398	1	.020

Model Summary

Step	-2 Log likelihood	Cox & Snell R Square	Nagelkerke R Square
1	35.656	.165	.221

Classification Table^a

Observed			Predicted		
			Metastasis total		Percentage Correct
			-	+	
Step 1	Metastasis total	-	7	6	53.8
		+	4	13	76.5
	Overall Percentage				66.7

a. The cut value is .500

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 1	SKOR	1.442	.695	4.300	1	.038	4.229
	Constant	-2.062	1.178	3.066	1	.080	.127

a. Variable(s) entered on step 1: SKOR.

Logistic Regression

Case Processing Summary

Unweighted Cases ^a		N	Percent
Selected Cases	Included in Analysis	30	100.0
	Missing Cases	0	.0
	Total	30	100.0
Unselected Cases		0	.0
Total		30	100.0

a. If weight is in effect, see classification table for the total number of cases.

Dependent Variable Encoding

Original Value	Internal Value
-	0
+	1

Classification Table^{a,b,c}

Observed			Predicted		Percentage Correct
			Ekstensi tumor		
			-	+	
Step 0	Ekstensi tumor	-	0	8	.0
		+	0	22	100.0
Overall Percentage					73.3

- a. No terms in the model.
- b. Initial Log-likelihood Function: $-2 \text{ Log Likelihood} = 41.589$
- c. The cut value is .500

Variables not in the Equation

			Score	df	Sig.
Step 0	Variables	SKOR	9.290	1	.002
Overall Statistics			9.290	1	.002

Omnibus Tests of Model Coefficients

		Chi-square	df	Sig.
Step 1	Step	10.144	1	.001
	Block	10.144	1	.001
	Model	10.144	1	.001

Model Summary

Step	-2 Log likelihood	Cox & Snell R Square	Nagelkerke R Square
1	31.445	.287	.383

Classification Table^a

Observed			Predicted		
			Ekstensi tumor		Percentage Correct
			-	+	
Step 1	Ekstensi tumor	-	0	8	.0
		+	0	22	100.0
	Overall Percentage				73.3

a. The cut value is .500

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 1 ^a SKOR	.753	.272	7.680	1	.006	2.123

a. Variable(s) entered on step 1: SKOR.