



UNIVERSITAS INDONESIA

**POTENSI EKSPRESI IMUNOSITOCHIMIA GLUT-1 PADA SEL
ATIPIK CAIRAN RONGGA TUBUH SEBAGAI PENANDA
DIAGNOSTIK**

TESIS

**JULIAN CHENDRASARI
1306491885**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS
DEPARTEMEN PATOLOGI ANATOMIK
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA
JAKARTA
JULI 2018**



UNIVERSITAS INDONESIA

**POTENSI EKSPRESI IMUNOSITOCHIMIA GLUT-1 PADA SEL
ATIPIK CAIRAN RONGGA TUBUH SEBAGAI PENANDA
DIAGNOSTIK**

TESIS

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Spesialis Patologi
Anatomik**

**JULIAN CHENDRASARI
1306491885**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS
DEPARTEMEN PATOLOGI ANATOMIK
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA
JAKARTA
JULI 2018**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun yang dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Julian Chendrasari

NPM : 1306491885

Tanda Tangan:



Tanggal : 2 Juli 2018

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh:

Nama : Julian Chendrasari
NPM : 1306491885
Program Studi : Patologi Anatomik
Judul tesis : Potensi Ekspresi Imunositokimia GLUT-1 pada Sel Atipik
Cairan Rongga Tubuh sebagai Penanda Diagnostik

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Spesialis Patologi Anatomik pada Program Studi Patologi Anatomik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

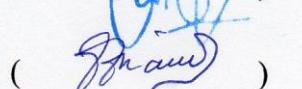
Pembimbing : dr. Rahmiati, SpPA(K) ()

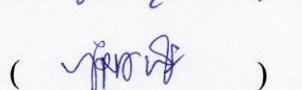
Pembimbing : Dr. Drs. Kusmardi, MS ()

Penguji : Dr. dr. Lisnawati, SpPA(K) ()

Penguji : Dr. dr. Diah Rini Handjari, SpPA(K) ()

Penguji : dr. Tantri Hellyanti, SpPA ()

Penguji : dr. Marini Stephanie, SpPA ()

Penguji : dr. Nur Rahadiani, PhD, SpPA ()

Ditetapkan di : Jakarta

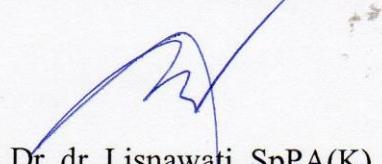
Tanggal : 2 Juli 2018

Ketua Program Studi
Patologi Anatomik FKUI



Dr. dr. Diah Rini Handjari, SpPA(K)

Ketua Departemen
Patologi Anatomik FKUI


Dr. dr. Lisnawati, SpPA(K)

KATA PENGANTAR

Puji syukur dan hormat kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan kasih karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Potensi Ekspresi Imunositokimia GLUT-1 pada Sel Atipik Cairan Rongga Tubuh sebagai Penanda Diagnostik”. Tesis ini merupakan salah satu persyaratan dalam menyelesaikan Program Pendidikan Spesialis I Program Studi Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Ucapan terima kasih saya sampaikan dengan segala kerendahan dan ketulusan hati kepada dr. Rahmiati, SpPA(K) dan Dr. Drs. Kusmardi, MS selaku pembimbing tesis yang senantiasa memberikan bimbingan dan masukan bagi saya di tengah kesibukan yang padat. Saya mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya atas kesabaran, perhatian, nasehat dan dukungan dalam penyelesaian tesis ini.

Ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya juga saya sampaikan kepada Dr. dr. Lisnawati, SpPA(K) selaku Kepala Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM dan dosen penguji serta dr. Marini Stephanie, SpPA selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan-masukan yang berharga bagi tesis ini dan sudah banyak meluangkan waktu dan perhatian untuk memberikan bimbingan dan dukungan untuk saya.

Saya juga mengucapkan terima kasih kepada Dr. dr. Diah Rini Handjari, SpPA(K) sebagai Ketua Program Studi Pendidikan Spesialis I Patologi Anatomi, dr. Tantri Hellyanti, SpPA sebagai Sekretaris Program Studi Pendidikan Spesialis I Patologi Anatomi dan dr. Nur Rahadiani, PhD, SpPA sebagai koordinator penelitian yang telah banyak memberikan masukan-masukan yang berharga bagi penyempurnaan tesis ini dan bimbingan selama pendidikan.

Ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya saya sampaikan kepada Dr. dr. Primariadewi Rustamadjji, MM, SpPA(K) selaku pembimbing akademik yang selalu memberikan bimbingan, dukungan dan motivasi selama pendidikan.

Saya juga mengucapkan terima kasih kepada seluruh guru besar, supervisor, staf, karyawan dan teknisi Departemen Patologi Anatomi yang telah membimbing

dan membantu saya selama masa pendidikan. Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada dr. Mieke Marindawati, SpPA untuk konsultasinya yang telah memberikan masukan selama penyelesaian tesis ini. Serta tidak lupa saya ucapkan terima kasih kepada seluruh rekan-rekan PPDS Patologi Anatomik FKUI yang telah memberikan dukungan dan bantuannya selama ini, khususnya untuk dr. Reni Angeline, dr. Cesilia Pipit Utami, dr. Jessie Theresia Caroline, dr. Florinda Ilona, dr. Aina Angelina, dr. Miranda Monik Ediana, dr. Fitria Rahmitasari, dr. Shirley Kristina Jamidi, dr. Amelia Manatar, dan dr. David Sitinjak.

Ucapan terima kasih dan rasa sayang yang tak terhingga saya ucapkan kepada kedua orang tua saya Tjhun Wie Shin dan Ijan Kurniawati, yang telah mendidik dan membesarkan saya dengan penuh kasih sayang. Terima kasih atas segala doa yang tak pernah putus, pengertian dan kesabaran yang luar biasa sehingga saya mampu menyelesaikan pendidikan ini. Terima kasih juga saya ucapkan kepada kedua saudara saya Chendra Irawan dan Andy Wijaya atas doa, kasih sayang dan dukungannya. Saya juga mengucapkan terima kasih kepada keluarga besar yang senantiasa memberi dukungan dan doa sehingga memudahkan langkah saya dalam menyelesaikan tesis ini. Akhir kata, saya mohon maaf apabila dalam penulisan ini terdapat kesalahan yang mungkin tidak sengaja dilakukan.

Jakarta, 2 Juli 2018

Penulis

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Julian Chendrasari
NPM : 1306491885
Program Studi : Program Pendidikan Spesialis I Patologi Anatomi
Departemen : Patologi Anatomi
Fakultas : Kedokteran
Jenis karya : Tesis

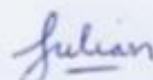
Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non-exclusive Royalty-Free Right)** atas karya saya yang berjudul:

Potensi Ekspresi Imunositokimia GLUT-1 pada Sel Atipik Cairan Rongga Tubuh sebagai Penanda Diagnostik

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini, Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmediakan/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/ pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta
Pada tanggal : 2 Juli 2018
Yang menyatakan,



Julian Chendrasari

ABSTRAK

Nama : Julian Chendrasari
Program studi : Program Pendidikan Dokter Spesialis I Patologi Anatomik
Judul : Potensi Ekspresi Imunositokimia GLUT-1 pada Sel Atipik Cairan Rongga Tubuh sebagai Penanda Diagnostik
Pembimbing : 1. dr. Rahmiati, SpPA(K)
2. Dr. Drs. Kusmardi, MS.

Latar belakang: Efusi serosa merupakan komplikasi yang sering dari tumor jinak dan ganas, serta dapat menjadi gejala klinis pertama yang terlihat. Efusi jinak dan ganas penting untuk dibedakan karena menentukan pengobatan dan prognosis. Sitologi merupakan metode standar untuk mendiagnosis spesimen cairan rongga tubuh, tetapi pemeriksaan ini memiliki beberapa keterbatasan seperti jumlah sel tumor yang sedikit dan kesulitan dalam membedakan sel ganas dengan atipia ringan dari sel mesotel reaktif. GLUT-1 adalah protein transmembran yang berfungsi untuk difusi terfasilitasi glukosa melewati membran. Pada sel kanker terjadi pemakaian glukosa yang meningkat sehingga dipikirkan kemungkinan bahwa ekspresi GLUT-1 sebagai transporter glukosa akan meningkat pula. GLUT-1 dioverekspresso pada berbagai tumor, yaitu karsinoma hepar, pankreas, payudara, esofagus, otak, ginjal, paru-paru, kulit, kolorektal, endometrium, ovarium, dan serviks.

Bahan dan cara: Penelitian ini menggunakan desain potong lintang. Sampel terdiri atas 45 kasus sitologi cairan rongga tubuh dengan diagnosis negatif, atipik, dan ganas di RSCM dari Januari 2016 sampai September 2017. Dilakukan pulasan GLUT-1 dan dinilai ekspresinya berdasarkan titik potong.

Hasil: Dari 45 sampel yang diteliti, terdapat 23 kasus dengan ekspresi GLUT-1 positif, yang terdiri atas 21 kasus ganas dan 2 kasus tidak ganas. Sedangkan 22 kasus yang menunjukkan ekspresi GLUT-1 positif lemah/negatif terdiri atas 20 kasus tidak ganas dan 2 kasus ganas. Titik potong ekspresi GLUT-1 didapatkan sebesar 53,5% dengan sensitivitas 91,3%, spesifitas 90,9%, nilai prediksi positif 91,3%, nilai prediksi negatif 90,9%, dan akurasi diagnostik 91,1%. Terdapat hubungan bermakna antara positivitas GLUT-1 dengan efusi jinak dan ganas cairan rongga tubuh ($p < 0,001$).

Kesimpulan: Pulasan GLUT-1 pada sediaan cairan rongga tubuh bermanfaat sebagai penanda diagnostik untuk membedakan efusi ganas dan jinak di cairan rongga tubuh.

Kata kunci: efusi serosa, GLUT-1, metastasis karsinoma, sel mesotel reaktif

ABSTRACT

Name : Julian Chendrasari
Study Program : Anatomical Pathology, Faculty of medicine, Universitas Indonesia
Title : The Potency of GLUT-1 Immunocytochemistry Expression in Atypic Cells of Body Cavity Fluid as a Diagnostic Marker

Background: Serous effusion is a frequent complication of benign and malignant tumors, and may be the first detected clinical symptom. It is important to differentiate benign and malignant effusions because it determines treatment and prognosis. Cytology is a standard method for diagnosing specimen of body cavity fluid, but this examination has some limitations such as lack of tumor cells and difficulty in differentiating malignant cells with mild atypia from reactive mesothelial cells. GLUT-1 is a transmembrane protein that serves to facilitate diffusion of glucose through the membrane. There is an increased of glucose usage in cancer cells so it is thought that GLUT-1 expression as a glucose transporter will increase as well. GLUT-1 is expressed in various tumors, such as hepatic, pancreas, breast, esophagus, brain, kidney, lung, skin, colorectal, endometrium, ovary, and cervical cancer.

Materials and methods: This was a cross-sectional study with 45 cases of body cavity fluid specimens consist of negative, atypical, and malignant diagnosis at Ciptomangunkusumo hospital from January 2016 to September 2017. All cases were stained by GLUT-1 antibody and the expressions were evaluated by cut-off point.

Results: Of 45 samples observed, there were 23 cases with positive GLUT-1 expression, consisting of 21 malignant cases and 2 non-malignant cases. While 22 cases showing weakly positive/negative GLUT-1 expression consisted of 20 non-malignant cases and 2 malignant cases. The cutoff point of GLUT-1 expression was 53.5% with 91.3% sensitivity, 90.9% specificity, 91.3% positive predictive value, 90.9% negative predictive value, and 91.1% diagnostic accuracy. There was a significant association between GLUT-1 positivity with benign and malignant effusion in body cavity fluid ($p < 0.001$).

Conclusions: GLUT-1 staining performed in body cavity fluid specimens is useful as a diagnostic marker for distinguishing malignant and benign effusions in body cavity fluid.

Key words: GLUT-1, metastatic carcinoma, reactive mesothelial cell, serous effusion

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Identifikasi Masalah	2
1.3. Pertanyaan Penelitian	3
1.4. Tujuan Penelitian	3
1.5. Rumusan Hipotesis	4
1.6. Manfaat Penelitian	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Anatomi dan Fisiologi Cairan Rongga Tubuh	5
2.2. Efusi Serosa	6
2.2.1. Epidemiologi	6
2.2.2. Jenis-Jenis Efusi	6
2.2.3. Patofisiologi	7
2.2.4. Patofisiologi Efusi Pleura Ganas	8
2.2.5. Patofisiologi Asites Ganas	8
2.2.6. Tatalaksana dan Prognosis.....	9
2.3. Sitologi Cairan Rongga Tubuh	10
2.3.1. Sel Mesotel.....	10
2.3.2. Makrofag (Histiosit)	10
2.3.3. Eritrosit.....	11
2.3.4. Limfosit.....	11
2.3.5. Granulosit.....	11
2.3.6. Metastasis Karsinoma.....	11
2.3.7. Hiperplasia Mesotel Reaktif dan Metastasis Karsinoma.....	12
2.4. Metabolisme Glukosa.....	13
2.5. Perbedaan Metabolisme Glukosa pada Sel Normal dan Sel Kanker.....	15
2.6. <i>Glucose Transporter-1 (GLUT-1)</i>	16
2.6.1. Struktur Molekuler dan Fungsi GLUT-1.....	16
2.6.2. GLUT-1 sebagai Penanda Keganasan Epitelial.....	17

2.7. Kerangka Teori.....	20
2.8. Kerangka Konsep.....	21
3. METODE PENELITIAN	22
3.1. Desain Penelitian	22
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.3. Sampel Penelitian	22
3.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	23
3.4.1. Kriteria Inklusi.....	23
3.4.2. Kriteria Eksklusi.....	23
3.5. Variabel Penelitian	23
3.5.1. Variabel bebas.....	23
3.5.2. Variabel tergantung.....	23
3.6. Definisi Operasional	24
3.7. Alur Penelitian	25
3.8. Bahan dan Cara Kerja	25
3.8.1. Prosedur pulasan imunositokimia	25
3.8.2. Penilaian ekspresi imunositokimia	26
3.8.3. Pengolahan Data	26
4. HASIL PENELITIAN	28
4.1. Karakteristik sampel	28
4.2. Ekspresi Imunositokimia GLUT-1	29
4.3. Penentuan Titik Potong GLUT-1	32
4.4. Imunoekspresi GLUT-1	33
5. PEMBAHASAN	35
5.1. Karakteristik sampel	35
5.2. Ekspresi GLUT-1	35
5.3. Kelemahan dan Keterbatasan Penelitian.....	38
6. KESIMPULAN DAN SARAN	39
6.1. Kesimpulan	39
6.2. Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Karakteristik sampel penelitian	28
Tabel 4.2 Distribusi etiologi efusi pada 45 pasien	29
Tabel 4.3 Distribusi diagnosis sitologi cairan serosa terhadap ekspresi GLUT-1	33
Tabel 4.4 Ekspresi GLUT-1 pada sediaan sitologi (atipik) berdasarkan hasil histopatologi/riwayat klinis	34
Tabel 4.5 Ekspresi GLUT-1 berdasarkan hasil histopatologi/riwayat klinis	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Anatomi keempat rongga tubuh utama.....	5
Gambar 2.2 Morfologi sel mesotel	10
Gambar 2.3 Morfologi sel adenokarsinoma	12
Gambar 2.4 Tahapan metabolisme glukosa.....	14
Gambar 2.5 Perbedaan metabolisme antara sel normal dan sel kanker	15
Gambar 2.6 Struktur GLUT-1 yang terdiri atas 12 domain transmembran.....	17
Gambar 2.7 Ekspresi imunositokimia GLUT-1	18
Gambar 4.1 Sel mesotel reaktif pada cairan asites yang disebabkan sirosis hepatis	30
Gambar 4.2 Sel mesotel reaktif pada cairan pleura dengan penyakit ginjal kronik ..	30
Gambar 4.3 Kelompokan sel atipik pada cairan pleura yang disebabkan pneumonia	30
Gambar 4.4 Kelompokan sel atipik pada cairan asites dengan karsinoma sel skuamosa serviks	31
Gambar 4.5 Kelompokan sel adenokarsinoma pada cairan pleura yang disebabkan karsinoma payudara	31
Gambar 4.6 Efusi pleura yang disebabkan karsinoma payudara.....	32
Gambar 4.7 Kurva ROC dan diagram titik potong GLUT-1.....	33

DAFTAR SINGKATAN

asetil KoA	asetil koenzim A
ATP	adenosine triphosphate
AUC	area under the curve
bFGF	basic fibroblast growth factor
DAB	diamino benzidine
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EMA	epithelial membrane antigen
FADH2	flavin adenine dinucleotide
GLUT-1	glucose transporter-1
HK	hexokinase
LDH	laktat dehidrogenase
MFS	major facilitator superfamily
NADH	nicotinamide adenine dinucleotide
PBS	phosphate buffer saline
PDH	pyruvate dehydrogenase
PFK	phosphofructokinase
PK	pyruvate kinase
ROC	receiver operating characteristic
TCA	tricarboxylic acid
VEGF	vascular endothelial growth factor
XIAP	x-linked inhibitor of apoptosis protein

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Induk Sampel Penelitian	44
Lampiran 2. Tabel deskriptif karakteristik sampel berdasarkan jenis kelamin	47
Lampiran 3. Tabel deskriptif karakteristik sampel berdasarkan jenis usia	47
Lampiran 4. Tabel deskriptif karakteristik sampel berdasarkan asal cairan	47
Lampiran 5. Tabel deskriptif asal tumor primer efusi ganas.....	47
Lampiran 6. Tabel deskriptif etiologi efusi jinak	48
Lampiran 7. Penghitungan nilai titik potong GLUT-1 menggunakan kurva ROC ...	48
Lampiran 8. Uji kemaknaan pemeriksaan GLUT-1 pada diagnosis sitologi positif, atipik, dan negatif (N=45)	51
Lampiran 9. Uji kemaknaan pemeriksaan GLUT-1 terhadap efusi jinak dan ganas (N=45)	52
Lampiran 10. Surat Ijin Pelaksanaan Penelitian (SIPP)	53
Lampiran 11. Surat Keterangan Lolos Kaji Etik	54
Lampiran 12. Daftar Riwayat Hidup	55

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sitologi merupakan metode standar untuk mendiagnosis spesimen cairan rongga tubuh, tetapi pemeriksaan ini memiliki beberapa keterbatasan seperti jumlah sel tumor yang sedikit pada cairan rongga tubuh dan kesulitan dalam membedakan sel ganas dengan atipia ringan dari sel mesotel reaktif.¹ Oleh karena itu, perbedaan sitomorfologi sel mesotel dan sel ganas pada sitologi cairan rongga tubuh dapat menjadi tantangan diagnostik.

Dikarenakan spektrum yang luas dari morfologi sel mesotel, diagnosis keganasan yang berlebihan adalah masalah tersering pada sitologi cairan rongga tubuh. Diagnosis yang lebih rendah dari keganasan biasanya akan menyebabkan pengambilan sampel ulang atau pemeriksaan lain seperti biopsi untuk menegakkan diagnosis.²

Sensitivitas pemeriksaan sitologi konvensional adalah lebih kurang 50-60% dan spesifitas 89%. Beberapa studi melaporkan nilai duga positif dan negatif untuk mendeteksi keganasan dengan pemeriksaan sitologi adalah 89,3% dan 69,4%.^{3,4} Angka negatif palsu sebesar 31,5% dan hal ini disebabkan oleh *sampling error* pada 71% kasus. Selain itu, daerah abu-abu akan selalu ada dimana sitopatologis menghadapi kesulitan dalam menentukan apakah suatu sel itu reaktif, atipik, atau ganas. Oleh karena itu, metode diagnostik tambahan diperlukan untuk meningkatkan akurasi sitologi konvensional.⁴

Efusi adalah keluarnya cairan dari pembuluh darah atau limfe dan kemudian masuk ke jaringan atau rongga tubuh. Efusi biasanya merupakan masalah yang sering terjadi pada pasien kanker. Semua jenis kanker dapat bermetastasis ke rongga tubuh dan mengakibatkan efusi ganas.⁵

Efusi serosa adalah komplikasi yang sering dari tumor jinak dan ganas. Efusi dapat menjadi gejala klinis pertama yang terlihat pada pasien dengan tumor ganas atau manifestasi metastasisnya. Efusi jinak dan ganas penting untuk dibedakan karena

menentukan pengobatan dan prognosis. Pada 33% pasien dengan efusi ganas, tanda keganasan pertama diidentifikasi oleh pemeriksaan sitologi efusi rutin.¹

Efusi menandakan adanya sel ganas di rongga tubuh dan merupakan tanda prognosis yang buruk. Tumor yang menyebabkan efusi biasanya sekunder berasal dari ovarium, kolorektal, pankreas, uterus, limfoma, paru, dan payudara. Ketahanan hidup pada pasien dengan asites ganas biasanya buruk, sekitar 20 minggu dari saat diagnosis.⁶

Membedakan sel mesotel reaktif dan metastasis adenokarsinoma pada membran serosa seringkali sulit. Meskipun pulasan histokimia seperti *mucicarmine*, *periodic acid-Schiff*, dan *alcian blue* dapat bermanfaat, tetapi kegunaannya masih terbatas karena kurangnya sensitivitas dan spesifisitas. Pemeriksaan imunositokimia merupakan teknik yang paling sering dipakai dan biasanya menggunakan beberapa antibodi, salah satunya adalah *glucose transporter-1* (GLUT-1).⁴

GLUT-1 adalah protein transmembran yang berfungsi untuk difusi terfasilitasi glukosa melewati membran.⁷ Pemakaian glukosa yang meningkat pada sel tumor dapat membantu suplai energi yang diperlukan untuk proliferasi dan menggambarkan adaptasi sel tumor terhadap lingkungannya. GLUT-1 ini mengalami overekspresi pada berbagai keganasan epitelial, seperti karsinoma paru, payudara, kolorektal, endometrium, ovarium, dan serviks.¹ Positivitas imunohistokimia GLUT-1 pada sel ganas menunjukkan peningkatan aktivitas proliferasi, kebutuhan energi, dan perilaku agresif.⁸

Ekspresi GLUT-1 merupakan penanda baru yang menjanjikan untuk membedakan lesi ganas dari hiperplasia mesotel reaktif. Meskipun pulasan GLUT-1 telah banyak digunakan pada jaringan, pemakaiannya pada sediaan sitologi masih terbatas. Beberapa studi yang menggunakan sediaan sitologi dengan pulasan GLUT-1 telah berhasil membedakan sel ganas dari sel mesotel reaktif sehingga ekspresi GLUT-1 merupakan penanda keganasan yang dapat diandalkan.¹

1.2. Identifikasi Masalah

Efusi serosa merupakan komplikasi yang sering ditemukan pada tumor dan dapat menjadi gejala klinis yang terlihat pertama kali. Efusi jinak dan ganas penting

untuk dibedakan karena menentukan pengobatan dan prognosis. Tanda keganasan pertama dapat diidentifikasi oleh pemeriksaan sitologi efusi rutin pada 33% pasien dengan efusi ganas. Pemeriksaan sitologi memiliki beberapa keterbatasan jika jumlah sel tumor sedikit pada cairan efusi dan kesulitan dalam membedakan sel ganas dengan atipia ringan dari sel mesotel reaktif. Oleh karena itu, diagnosis keganasan yang berlebihan merupakan masalah yang sering pada pemeriksaan sitologi cairan efusi serosa. Diagnosis yang lebih rendah dari keganasan biasanya akan menyebabkan pengambilan sampel ulang atau pemeriksaan lain seperti biopsi untuk menegakkan diagnosis. Metode diagnostik tambahan seperti imunositokimia diperlukan untuk meningkatkan akurasi sitologi konvensional.

Pada sebagian besar sel kanker, terjadi pemakaian glukosa yang meningkat yang diperlukan untuk proliferasi sel tumor. GLUT-1 adalah protein transmembran yang berfungsi untuk mengatur *uptake* glukosa pada sel. Adanya pemakaian glukosa yang meningkat dipikirkan kemungkinan bahwa ekspresi GLUT-1 sebagai transporter glukosa akan meningkat pula dan ini dapat memiliki peran diagnostik dalam membedakan sel ganas dari sel jinak. Penggunaan pulasan imunositokimia GLUT-1 sebagai penunjang diagnostik pada sediaan sitologi cairan tubuh belum pernah dilakukan di Indonesia.

1.3. Pertanyaan Penelitian

- 1.3.1. Apakah terdapat perbedaan ekspresi imunositokimia GLUT-1 pada sel mesotel, sel atipik, dan sel ganas pada sediaan sitologi cairan rongga tubuh?

1.4. Tujuan Penelitian

- 1.4.1. Tujuan umum

Meningkatkan akurasi diagnosis sel atipik pada sediaan cairan rongga tubuh.

- 1.4.2. Tujuan khusus

- Untuk mengetahui perbedaan ekspresi imunositokimia GLUT-1 pada sel mesotel, sel atipik, dan sel ganas pada sediaan sitologi cairan rongga tubuh.

1.5. Hipotesis

- 1.5.1. Ekspresi imunositokimia GLUT-1 berbeda pada sel mesotel, sel atipik, dan sel ganas di cairan rongga tubuh.

1.6. Manfaat Penelitian

- 1.6.1. Dalam bidang akademis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang nilai diagnostik pemeriksaan imunositokimia GLUT-1 pada spesimen sitologi cairan rongga tubuh.

- 1.6.2. Dalam bidang profesi

- Memberikan informasi mengenai GLUT-1 sebagai penanda sel epitelial jinak atau ganas pada spesimen sitologi cairan rongga tubuh.
- Dapat digunakan sebagai salah satu pilihan pemeriksaan penunjang pada spesimen sitologi cairan rongga tubuh dengan hasil inkonklusif atau sel atipik.

- 1.6.3. Dalam bidang pelayanan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu meningkatkan akurasi diagnosis spesimen sitologi cairan rongga tubuh sehingga dapat bermanfaat dalam menentukan penatalaksanaan yang tepat bagi pasien.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

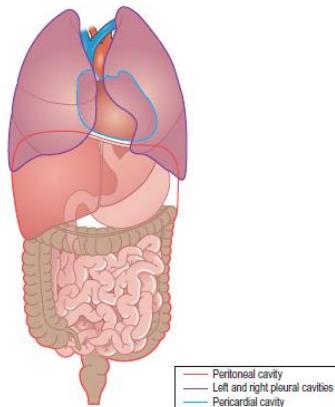
2.1. Anatomi dan Fisiologi Cairan Rongga Tubuh

Rongga serosa tubuh terdiri atas rongga peritoneum, perikardium, dan dua rongga pleura (Gambar 1). Rongga ini merupakan ruang tertutup yang diliputi oleh lapisan membran parietal dan viseral. Dalam kondisi fisiologis, rongga tubuh ini hanya berisi sedikit cairan yang berfungsi untuk lubrikasi. Akumulasi cairan di dalam rongga serosa ini dinamakan efusi. Efusi serosa ini merupakan keadaan patologis.⁹

Jumlah cairan pleura pada keadaan fisiologis lebih kurang 5 ml.¹⁰ Sedangkan jumlah cairan intraperitoneal pada laki-laki normal sedikit sekali dan perempuan normal dapat memiliki cairan intraperitoneal hingga 20 ml tergantung fase siklus menstruasi.¹¹

Rongga serosa dilapisi oleh selapis sel mesotel yang disokong oleh jaringan ikat yang kaya akan pembuluh kapiler dan limfe. Cairan di dalam rongga ini secara konstan dihasilkan oleh sel mesotel dan diserap kembali melalui celah antar sel mesotel yang mempunyai mikrovili.^{2,9}

Keseimbangan jumlah cairan di rongga serosa ini diatur oleh beberapa faktor: tekanan hidrostatik dan onkotik dalam sirkulasi, tekanan negatif di rongga serosa, permeabilitas kapiler pada membran, dan kemampuan absorpsi limfatik.⁹



Gambar 2.1. Anatomi keempat rongga tubuh utama.²

2.2. Efusi Serosa

2.2.1. Epidemiologi

Efusi serosa merupakan temuan yang sering pada pasien dengan penyakit sistemik.⁹ Secara umum diperkirakan 3.000 orang terdiagnosis efusi pleura setiap satu juta orang di dunia.¹² Di Amerika Serikat, ditemukan 1,5 juta individu yang mengalami efusi pleura setiap tahunnya. Sebagian besar efusi yang terdeteksi secara klinis mengenai orang dewasa dan anak-anak, serta berhubungan dengan kondisi reaktif.⁹

Di negara maju, efusi pleura terutama disebabkan oleh gagal jantung kongestif, keganasan, dan pneumonia bakteri, sedangkan di negara berkembang, seperti Indonesia, biasanya disebabkan oleh infeksi tuberkulosis.¹²

Penyebab asites tersering adalah sirosis hepatis dan keganasan merupakan penyebab asites kedua tersering, terhitung sebanyak 10% dari semua kasus asites. Telaah yang melibatkan 209 pasien menunjukkan bahwa asites ganas lebih sering pada perempuan (67%:33%), kemungkinan dikarenakan prevalensi asites yang tinggi pada kanker ovarium. Kanker yang sering menyebabkan asites berasal dari ovarium (37%), pankreato-bilier (21%), gaster (18%), esofagus (4%), kolorektal (4%), dan payudara (3%).⁵

2.2.2. Jenis-Jenis Efusi

Efusi diklasifikasikan secara klinis menjadi transudat atau eksudat. Transudat berasal dari ketidakseimbangan tekanan hidrostatik dan onkotik. Penyebab yang sering adalah gagal jantung kongestif, sirosis, dan sindrom nefrotik. Transudat mengandung laktat dehidrogenase (LDH) dan konsentrasi protein yang rendah.¹³ Eksudat dihasilkan dari peningkatan permeabilitas kapiler, obstruksi pembuluh limfe, dan jejas pada mesotel, seperti yang terjadi pada keganasan, pneumonia, lupus, infark paru, atau trauma. Eksudat mengandung LDH dan konsentrasi protein yang tinggi. Tumor ganas sering menyebabkan eksudat karena tumor ganas sering bermetastasis ke permukaan serosa.^{9,13}

2.2.3. Patofisiologi

Dalam keadaan normal, sejumlah cairan dihasilkan di rongga pleura dan abdomen. Keseimbangan cairan ini diatur oleh proses produksi dan absorpsi limfatis yang seimbang. Setiap proses patologis yang meningkatkan produksi cairan dan mengurangi absorpsinya akan menyebabkan asites dan efusi pleura. Efusi pleura dan asites ganas merupakan komplikasi yang sering dari tumor ganas. Mekanisme pasti pembentukan cairan efusi ganas ini belum sepenuhnya dimengerti. Dua mekanisme yang telah terbukti menyebabkan pembentukan efusi ini adalah: 1). Sel tumor mensekresikan *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan sitokin-sitokin yang meningkatkan permeabilitas kapiler dan mempercepat angiogenesis tumor. 2). Sel kanker menyumbat aliran limfatis sehingga terjadi peningkatan tekanan hidrostatik dan terjadi penumpukan cairan di rongga tubuh.¹⁴

Efusi serosa adalah keadaan patologis yang sebagian besar disebabkan keadaan reaktif, berisi campuran sel mesotel dan sel radang non-spesifik. Efusi yang mengandung sel ganas dapat menjadi tanda keganasan pada pasien dengan riwayat kanker. Namun, efusi pada pasien kanker dapat merupakan keadaan reaktif tanpa sel tumor.²

Akumulasi cairan efusi dapat disebabkan oleh berbagai jejas yang terjadi pada membran serosa. Sebagian besar efusi berasal dari proses yang berhubungan dengan tumor atau inflamasi di membran serosa, dan juga obstruksi yang mengganggu sirkulasi darah dan limfatis.⁵

Patogenesis efusi ganas memiliki mekanisme umum yang ditentukan oleh kemampuan sel ganas untuk lepas dari permukaan tumor dan menempel pada membran serosa. Kemudian, sel tumor akan menghasilkan substansi-substansi seperti VEGF yang memediasi neoangiogenesis sehingga terjadi gangguan permeabilitas kapiler. Selain itu, efusi ganas dapat disebabkan oleh gangguan fungsi reabsorpsi cairan oleh membran serosa akibat diseminasi tumor. Pertumbuhan tumor di sekitar pembuluh darah atau duktus limfatis dapat menginduksi efusi hemoragik atau *chylous*.⁵

2.2.4. Patofisiologi Efusi Pleura Ganas

Pleura memiliki jaringan seluler kompleks yang berhubungan dengan parenkim paru. Pleura berfungsi sebagai pelindung yang menjaga rongga pleura. Inflamasi dan perubahan homeostasis di rongga pleura dapat disebabkan oleh invasi sel ganas, protein, mikroba, darah, udara, dan juga kerusakan mekanik pada lapisan mesotel.⁵

Invasi sel tumor pada mesotel pleura ditentukan oleh banyak faktor, yang mendukung penetrasi sel tumor ke rongga pleura. Interaksi sel tumor dengan sel mesotel berlangsung melalui interaksi dengan hialuronan di permukaan sel mesotel dan reseptornya CD44 yang diekspresikan sel tumor. Hialuronan merupakan polimer makromolekul yang dihasilkan oleh sel mesotel. Kompleks hialuronan-CD44 kemudian akan difagositosis oleh sel tumor sehingga membantu penetrasi sel tumor ke pleura.⁵

Sel tumor yang diam di pleura akan menghasilkan VEGF dan bFGF yang menstimulasi angiogenesis dan peningkatan permeabilitas vaskular. Proses invasi juga melibatkan proteolisis matriks ekstraseluler sehingga memungkinkan proliferasi dan migrasi sel endotel membentuk neovaskularisasi untuk sirkulasi sel tumor yang adekuat. Pembentukan pembuluh darah baru ini akan meningkatkan filtrasi kapiler-cairan yang dapat menyebabkan efusi.⁵

Adanya sel tumor di lapisan pleura ini akan memicu respons imun sehingga terjadi peningkatan permeabilitas kapiler dan menghasilkan eksudat. Tumor ganas dapat secara tidak langsung menghasilkan efusi melalui obstruksi limfatik, atelektasis paru, atau peningkatan tekanan onkontik plasma akibat kakeksia tumor.⁵

2.2.5. Patofisiologi Asites Ganas

Asites disebabkan oleh ketidakseimbangan antara produksi dan resorpsi cairan di rongga peritoneum.¹⁵ Akumulasi cairan tergantung pada tekanan porta dan tekanan onkotik plasma, keseimbangan cairan dan elektrolit, produksi cairan limfe oleh hati, dan permeabilitas kapiler.^{5,15} Biasanya 2/3 cairan peritoneum diabsorpsi melalui duktus limfatik diafragma akibat tekanan negatif rongga dada.⁵

Patofisiologi asites ganas adalah multifaktorial. Faktor utama penyebab asites ganas adalah peningkatan permeabilitas kapiler akibat mikrovaskularisasi tumor. Pada pasien asites ganas terutama kanker ovarium, jumlah cairan asites berhubungan dengan jumlah neovaskularisasi. Glikoprotein dapat membantu meningkatkan permeabilitas pembuluh darah kecil dan ditemukan meningkat jumlahnya pada cairan asites. VEGF juga berperan penting pada metastasis tumor. VEGF berikatan dengan reseptor spesifiknya di sel endotel. Angiogenesis yang diinduksi oleh VEGF berhubungan dengan akumulasi cairan akibat invasi tumor ke peritoneum. Cairan asites pada pasien kanker gaster, kolon, dan ovarium mengandung konsentrasi VEGF yang lebih tinggi dibandingkan pada pasien sirosis. Selain itu, obstruksi duktus limfatis juga merupakan faktor yang penting pada asites ganas. Bila tumor melibatkan duktus limfatis torasik, maka akan terbentuk asites *chylous*.⁵

2.2.6. Tatalaksana dan Prognosis

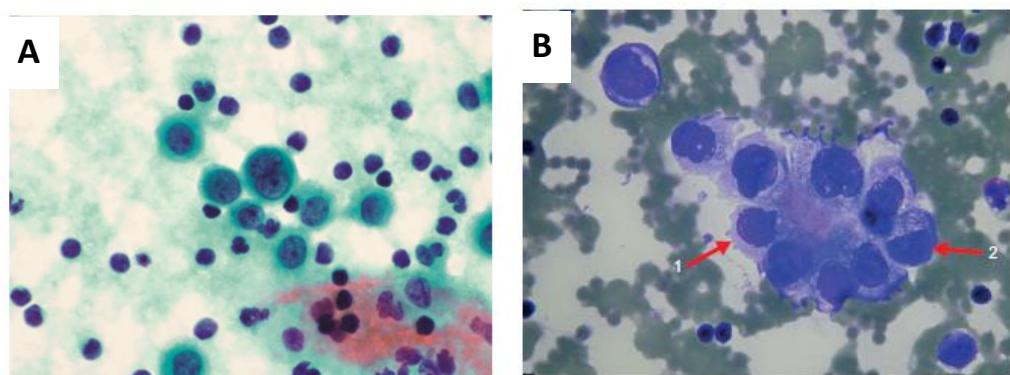
Tatalaksana efusi serosa ganas saat ini terdiri atas terapi lokal dan sistemik. Terapi lokal saat ini termasuk punksi cairan, parasentesis dan kemoterapi intrakavitas.^{14,16} Punksi cairan dapat mengurangi gejala sementara tetapi dapat menyebabkan kehilangan elektrolit dan berisiko terkena infeksi. Parasentesis dan kemoterapi intrakavitas merupakan cara yang paling sering dipakai saat ini. Pengobatan sistemik berupa kemoterapi yang sensitif tumor.¹⁴

Asites dan efusi pleura ganas sering menyebabkan sesak napas, distensi abdomen, anoreksia, dan cepat lelah. Asites dan efusi pleura masif dapat mempengaruhi kualitas hidup pasien dan memperpendek kesintasan.¹⁴ Bila efusi serosa mengandung sel ganas, kesintasan rata-rata adalah kurang dari 20 minggu. Terutama bila efusi tersebut berhubungan dengan tumor-tumor gastrointestinal, kesintasan berkurang menjadi 12-20 minggu.¹⁷ Secara umum, efusi pleura dan asites ganas berhubungan dengan prognosis yang buruk dengan kesintasan rata-rata berturut-turut adalah 4 dan 5,7 bulan.¹⁴

2.3. Sitologi Cairan Rongga Tubuh

2.3.1. Sel Mesotel

Pada cairan, sel mesotel dapat berkelompok dan membentuk agregat dengan berbagai perubahan reaktif. Sel mesotel memiliki gambaran sel epitel atau dapat memiliki fungsi seperti makrofag, menyerap cairan melalui pinositosis. Sel mesotel dalam bentuk lembaran dapat terlihat pada bilasan peritoneum dengan *window* di antara sel yang memiliki mikrovili. Sel mesotel berbentuk bulat dengan ukuran bervariasi. Inti besar, hiperkromatik, dapat lebih dari satu dan biasanya terletak di tengah tetapi dapat irregular pada keadaan reaktif (Gambar 2). Inti sel mesotel reaktif dapat memiliki satu atau dua anak inti besar. Bila inti terdapat lebih dari satu (binuklear atau multinuklear), inti tampak relatif seragam. Sitoplasma banyak, dapat bervakuol dan terwarnai *two-zone* (area lebih gelap di sekitar inti).²



Gambar 2.2. Morfologi sel mesotel. A. Sel mesotel dengan inti bulat dan ada yang binuklear. B. Sel mesotel reaktif dengan (1). inti pleomorfik, sitoplasma bervakuol, (2). inti eksentrik.²

2.3.2. Makrofag (Histiosit)

Makrofag biasanya terlihat sebagai sel berinti satu atau dua dan berukuran sama dengan sel mesotel. Sel ini biasanya tampak tersebar individual atau berkelompok longgar dan tidak menunjukkan *window*. Makrofag ditandai oleh sitoplasma *foamy*, berisi vakuol-vakuol berukuran kecil atau partikel yang difagosit. Batas sel dengan *background* biasanya tidak jelas, berbeda dengan sel mesotel yang mempunyai batas jelas. Sitoplasma makrofag dapat terisi penuh oleh vakuol besar, jernih.¹⁸

Inti biasanya terletak di tepi sel dan kadang terpulas lebih padat daripada sel mesotel. Inti berbentuk ginjal dengan kromatin granular halus dan kadang disertai anak inti kecil. Aktivitas fagositik dan lisosomal merupakan fungsi makrofag yang khas. Fungsi ini dapat digunakan untuk identifikasi makrofag pada mikroskop cahaya. Partikel atau pigmen yang difagosit oleh makrofag dapat terlihat.¹⁸

2.3.3. Eritrosit

Adanya sel darah merah pada cairan tubuh biasanya disebabkan oleh trauma saat pengambilan. Pada efusi hemoragik, eritrosit yang degeneratif biasanya terlihat dengan latar belakang fibrin.¹⁸

2.3.4. Limfosit

Leukosit pada efusi seringkali terlihat. Pada efusi kronik, limfosit dapat merupakan populasi leukosit yang dominan. Jika limfosit banyak dan tidak ditemukan leukosit lainnya, maka perlu dipikirkan kemungkinan efusi *chylous* yang disebabkan oleh leukemia atau limfoma.¹⁸

2.3.5. Granulosit

Leukosit neutrofil menandakan adanya proses radang, yang dapat sekunder terhadap infeksi atau keganasan. Eosinofil dapat terlihat pada efusi pleura. Sel ini sering terlihat pada tuberkulosis dan limfoma Hodgkin.¹⁸

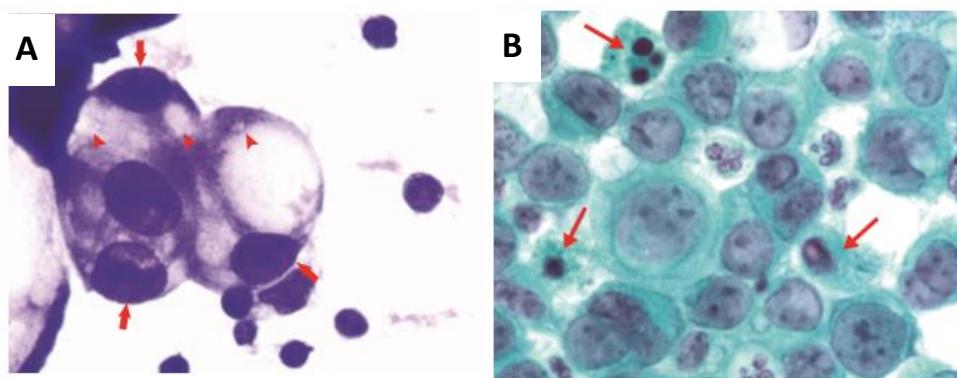
2.3.6. Metastasis Karsinoma

Metastasis karsinoma adalah penyebab tersering dari efusi ganas. Asal tumor primer seringkali sudah diketahui tetapi sel pada efusi dapat berbeda dari asalnya dikarenakan efek cairan. Sel karsinoma pada cairan cenderung memiliki morfologi yang tumpang tindih sehingga sulit untuk menentukan asalnya tanpa pulasan tambahan.²

Sel karsinoma biasanya seukuran dengan sel mesotel, dengan beberapa gambaran inti dan sitoplasma yang mirip. Sel karsinoma biasanya menunjukkan inti

yang menyentuh membran sel, sedangkan sel mesotel memiliki batas yang memisahkan inti dari membran sel. Penentuan jenis karsinoma dapat ditentukan oleh pemeriksaan imunositokimia serta data klinis.²

Adanya kohesi interseluler menyebabkan sel membentuk kelompok, dapat menjadi bola besar. Struktur glandular, asinus dan papiler sering terlihat pada beberapa adenokarsinoma berdiferensiasi baik. Sel tunggal yang tersebar dengan sedikit atau tanpa sel mesotel, dapat terlihat pada karsinoma sel kecil. Sitoplasma sel ganas tidak menunjukkan gambaran *two-zone* seperti pada sel mesotel. Vakuol musin pada sitoplasma dapat mendorong inti (*signet ring cell*). Keratinisasi pada karsinoma sel skuamosa dapat terlihat dengan pulasan giemsa. Badan psammoma diantara struktur papiler dapat terlihat pada karsinoma ovarium dan tiroid. Gambaran inti sel karsinoma adalah inti membesar irreguler, hiperkromatik dengan anak inti nyata. Inti adenokarsinoma cenderung mendorong membran sel. Mitosis sering terlihat dan dapat atipik. Badan apoptotik dapat terlihat (Gambar 3).²



Gambar 2.3. Morfologi sel adenokarsinoma. A. Vakuol musin (karsinoma payudara) pada cairan serosa (kepala panah) dan inti yang menyentuh membran sel (panah). B. Gambaran inti ganas dan sugestif neoplasma glandular, gambaran badan apoptotik (panah).²

2.3.7. Hiperplasia Mesotel Reaktif dan Metastasis Karsinoma

Membedakan proliferasi mesotel reaktif dari metastasis karsinoma dapat menjadi sulit pada beberapa kasus dikarenakan gambaran atipik pada sel mesotel reaktif dan beberapa karsinoma dengan atipia ringan. Pola dan detail sel harus dinilai bersama-sama. Sel pada proliferasi mesotel reaktif biasanya mirip satu sama lain, dan sel mesotel reaktif yang paling atipik sekalipun biasanya masih memiliki

karakteristiknya. Adanya populasi sel ganda merupakan temuan yang menandakan metastasis karsinoma pada efusi serosa. Kecuali jika semua sel adalah ganas, sel karsinoma berbeda dengan sel mesotel.⁹

Inti sel mesotel biasanya terletak di sentral atau parasentral dengan kromatin dan kontur inti halus. Anak inti dapat nyata tetapi masih regular. Adenokarsinoma memiliki inti eksentrik dengan gambaran keganasan, meskipun sitoplasmanya halus. Inti adenokarsinoma yang hiperkromatik terlihat kontras dibandingkan sitoplasmanya. Berbeda dengan sitoplasma sel mesotel yang padat dengan tonjolan mikrovili. Inti sel mesotel dapat hiperkromatik tetapi tidak terlihat kontras dengan sitoplasmanya. Vakuol sekretorik dapat terlihat pada adenokarsinoma dan mendorong inti ke tepi. Vakuol hidropik dapat mengisi seluruh sitoplasma sel mesotel tetapi tidak sampai mendorong inti dan inti terlihat jinak. Vakuol pada sel mesotel tidak mengandung musin.⁹

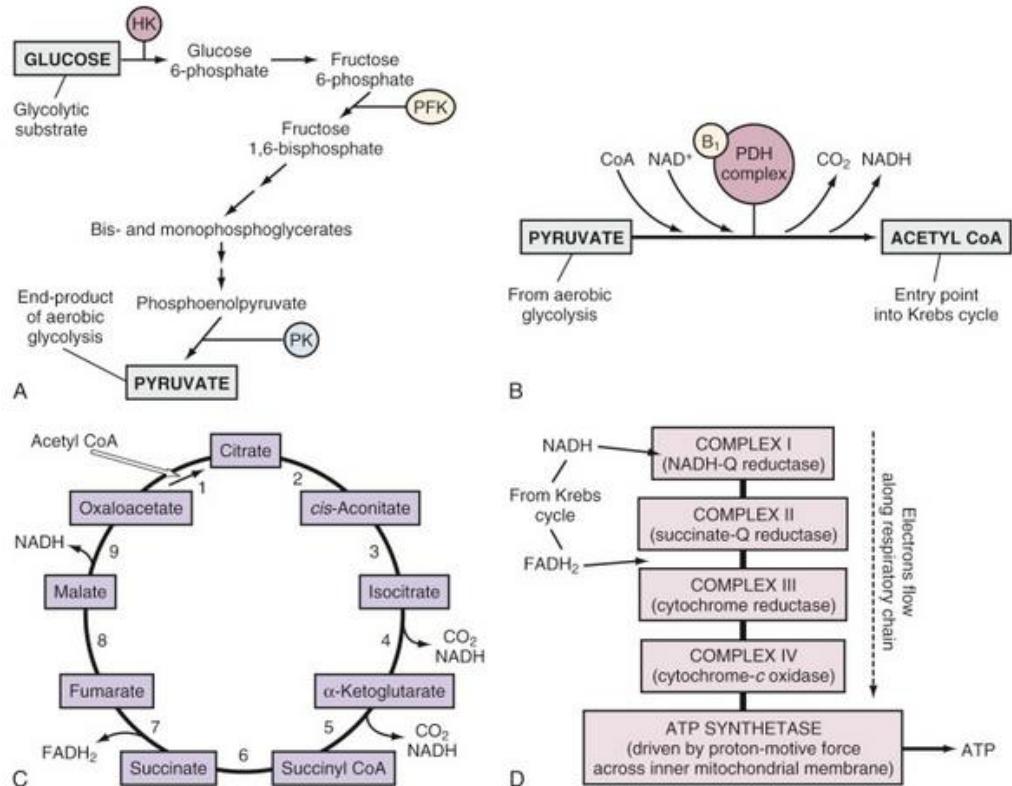
Sel mesotel membentuk kelompokan longgar. *Window* interseluler, susunan sel dalam sel dan kontur tepi yang bertonjol-tonjol merupakan ciri khas kelompokan sel mesotel. Berbeda dengan adenokarsinoma yang membentuk kelompokan padat dengan tepi seperti bola atau papil.⁹

2.4. Metabolisme Glukosa

Glikolisis adalah jalur utama metabolisme glukosa (Gambar 4) dan terjadi di sitoplasma dengan hasil akhir 2 *adenosine triphosphate* (ATP) dan 2 piruvat. Berdasarkan ada tidaknya oksigen, piruvat memilih salah satu jalur metabolisme. Pada keadaan aerobik, piruvat dan *nicotinamide adenine dinucleotide* (NADH) masuk ke mitokondria, dimana oksidasi keduanya melalui siklus *tricarboxylic acid* (TCA) dan rantai pernapasan akan menghasilkan sejumlah besar ATP.¹⁹

Piruvat masuk ke dalam matriks mitokondria dan mengalami oksidasi pada siklus TCA menjadi karbodioksida dan air. Piruvat dikonversi menjadi asetil koenzim A (asetil KoA) oleh piruvat dehidrogenase. Asetil KoA masuk ke siklus TCA, dimana tahap pertama asetil KoA dikondensasi bersama oksaloasetat menjadi sitrat. Kemudian, sitrat diisomerisasi dan dekarboksilasi secara oksidatif menghasilkan α -ketoglutarat, yang didekarboksilasi membentuk suksinal. Tahap selanjutnya

melibatkan regenerasi oksaloasetat dari suksinat. Pada setiap siklus, 2 atom karbon masuk sebagai asetil KoA dan 2 atom karbon keluar sebagai CO₂. Siklus ini menghasilkan 3 molekul NADH dan 1 *flavin adenine dinucleotide* (FADH₂). NADH dan FADH₂ tersebut akan digunakan oleh mitokondria untuk menghasilkan ATP oleh proses fosforilasi oksidatif.¹⁹



Hexokinase (HK), pyruvate kinase (PK), phosphofructokinase (PFK), pyruvate dehydrogenase (PDH)

Gambar 2.4. Tahapan metabolisme glukosa. A. Tahap 1, glikolisis aerobik. B. Tahap 2, sintesis asetil KoA. C. Tahap 3, Siklus Krebs (TCA). D. Tahap 4, Fosforilasi oksidatif yang menghasilkan energi dalam bentuk ATP.¹⁹

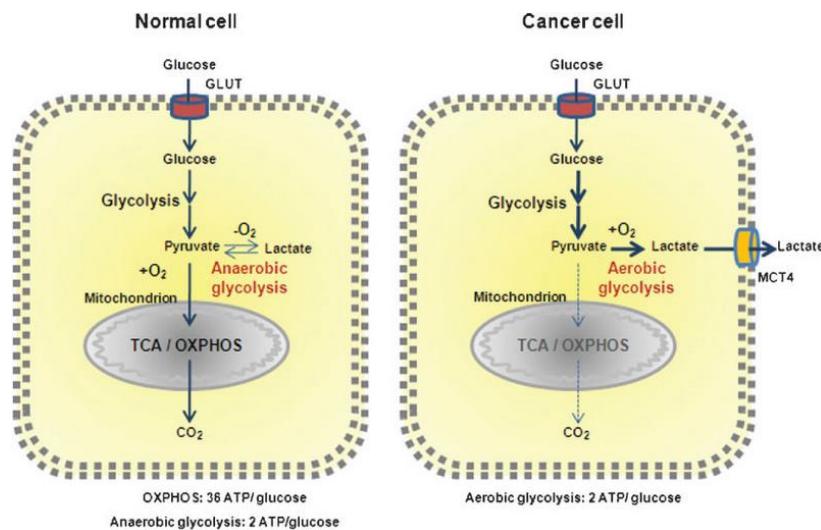
Pada keadaan tidak ada oksigen, oksidasi NADH melalui rantai pernapasan tidak dapat berlangsung dan sebagai gantinya piruvat akan direduksi menjadi laktat oleh laktat dehidrogenase. Dengan menghasilkan laktat daripada piruvat, glikolisis anaerobik hanya menghasilkan 2 ATP karena laktat merupakan produk metabolisme akhir. Dengan menjumlahkan energi yang dihasilkan dari setiap tahap metabolisme

glukosa, dapat dilihat bahwa 1 molekul glukosa yang mengalami oksidasi sempurna akan menghasilkan 38 molekul ATP, sebagian besar berasal dari fosforilasi oksidatif.¹⁹

2.5. Perbedaan Metabolisme Glukosa pada Sel Normal dan Sel Kanker

Metabolisme glukosa memiliki banyak fungsi karena oksidasi glukosa dapat menghasilkan sumber utama energi metabolismik dalam sel eukariot.⁸ Metabolisme glukosa menghasilkan energi dalam bentuk ATP melalui oksidasi pada ikatan karbon. Pada mamalia, produk akhir metabolisme glukosa dapat berupa laktat atau karbodioksida. Pada tumor dan sel yang sedang aktif proliferasi, kecepatan *uptake* glukosa meningkat signifikan dan laktat dihasilkan, bahkan dalam keadaan banyak oksigen dan fungsi mitokondria baik.²⁰

Pada sebagian besar sel kanker, kecepatan *uptake* glukosa lebih tinggi daripada sel normal. Efek ini pertama kali diamati oleh Otto Warburg pada tahun 1929 dan disebut glikolisis aerobik atau efek Warburg. Proses ini menguntungkan sel tumor dengan meningkatkan proliferasinya. Glikolisis aerobik adalah salah satu perubahan metabolismik yang penting pada sel kanker (Gambar 5).¹



Gambar 2.5. Perbedaan metabolisme antara sel normal dan sel kanker.²¹

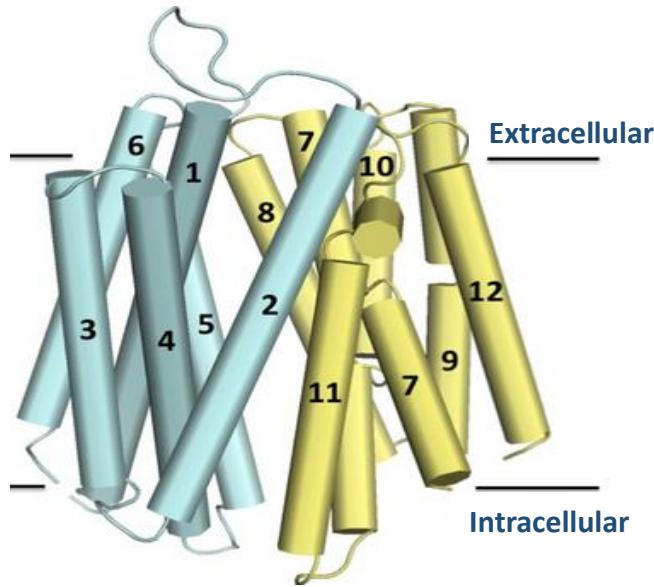
Glikolisis aerobik merupakan cara yang kurang efisien untuk menghasilkan ATP dari setiap unit glukosa, dibandingkan dengan jumlah ATP yang dihasilkan oleh respirasi mitokondria. Akan tetapi, kecepatan metabolisme glukosa melalui glikolisis aerobik lebih cepat 10-100 kali daripada oksidasi glukosa di mitokondria.²⁰ Selain itu peningkatan produksi intermediet glikolisis dapat digunakan untuk pembuatan nukleosida dan asam amino yang diperlukan untuk proliferasi sel.²²

Metabolisme glukosa penting untuk menyokong semua kehidupan.²⁰ Secara tidak langsung, glukosa mengatur aktivitas enzimatik, sekresi hormon, dan aktivitas neuron. Fungsi-fungsi ini bergantung pada *uptake* glukosa yang diatur oleh *glucose transporter family*. Transporter glukosa ini memediasi aliran glukosa antara intra- dan ekstraseluler. Ekspresi dan pengaturan transporter ini dapat dipengaruhi oleh onkogen dan *growth factor*. Transpor glukosa dipengaruhi oleh gradien antara eksternal dan internal membran plasma. *Uptake* glukosa pada hampir semua sel dimediasi oleh GLUT. Hipoksia merupakan keadaan yang sering terjadi pada kanker sehingga meningkatkan ekspresi GLUT.⁸

2.6. *Glucose Transporter-1 (GLUT-1)*

2.6.1. Struktur Molekuler dan Fungsi GLUT-1

GLUT-1 termasuk ke dalam *major facilitator superfamily* (MFS) yang merupakan famili protein transmembran yang bertanggung jawab dalam pergerakan transmembran molekul organik kecil. Famili ini memiliki 12 heliks transmembran (Gambar 6). Baik terminal amino maupun karboksil terpapar ke sitoplasma sel. GLUT-1 terdiri atas 492 residu asam amino dan glikosilasi *N-linked* terjadi pada Asn 45.⁷

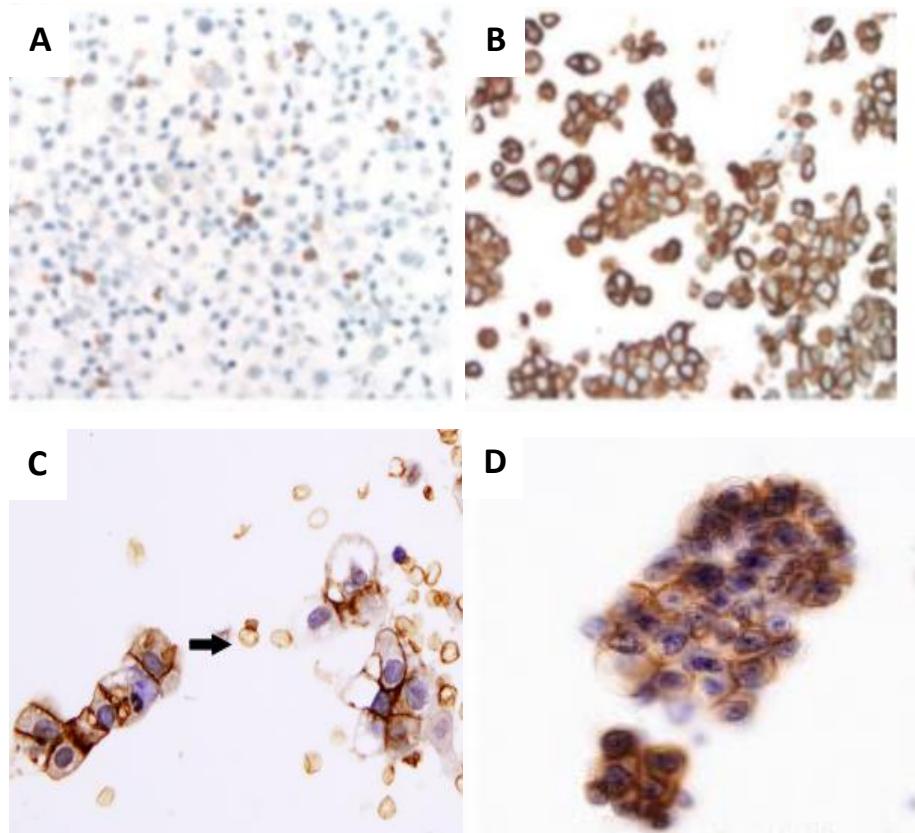


Gambar 2.6. Struktur GLUT-1 yang terdiri atas 12 domain transmembran.²³

2.6.2. GLUT-1 sebagai Penanda Keganasan Epitelial

Banyak analisis imunositokimia yang telah digunakan pada sediaan efusi. Sebagian besar antibodi ini berguna dalam membedakan metastasis adenokarsinoma dari mesotelioma. Namun, antibodi yang berguna dalam membedakan sel ganas dari mesotel reaktif masih sedikit jumlahnya. Beberapa studi melaporkan bahwa GLUT-1 merupakan penanda yang baik untuk membedakan sel ganas dari sel jinak.²⁴

Ada 14 anggota GLUT, dimana GLUT-1 yang diidentifikasi pertama kali, telah banyak diteliti.²⁵ GLUT-1 tidak terdeteksi pada sel epitel normal atau tumor epitelial jinak¹, tetapi dionversipresikan pada berbagai tumor, yaitu karsinoma hepar, pankreas, payudara, esofagus, otak, ginjal, paru-paru, kulit, kolorektal, endometrium, ovarium, dan serviks (Gambar 7). Positivitas imunohistokimia GLUT-1 pada sel ganas menunjukkan peningkatan aktivitas proliferasi, kebutuhan energi, dan perilaku agresif.²⁵



Gambar 2.7. Ekspresi imunositokimia GLUT-1. A. Ekspresi negatif pada sel mesotel reaktif.²⁶ B,D,E. Ekspresi positif pada kasus mesotelioma, karsinoma payudara, dan adenokarsinoma paru.^{1,24,26}

Penelitian yang dilakukan oleh Ikeda et al menggunakan sediaan yang diproses oleh *cytospin* menunjukkan bahwa GLUT-1 merupakan penanda yang berguna dalam membedakan sel ganas dari sel jinak pada cairan efusi. Namun, GLUT-1 tidak dapat digunakan untuk membedakan mesotelioma ganas dari adenokarsinoma. GLUT-1 yang dikombinasikan dengan *epithelial membrane antigen* (EMA) sangat bermanfaat dalam membantu diagnosis keganasan pada cairan pleura dan asites.²⁴

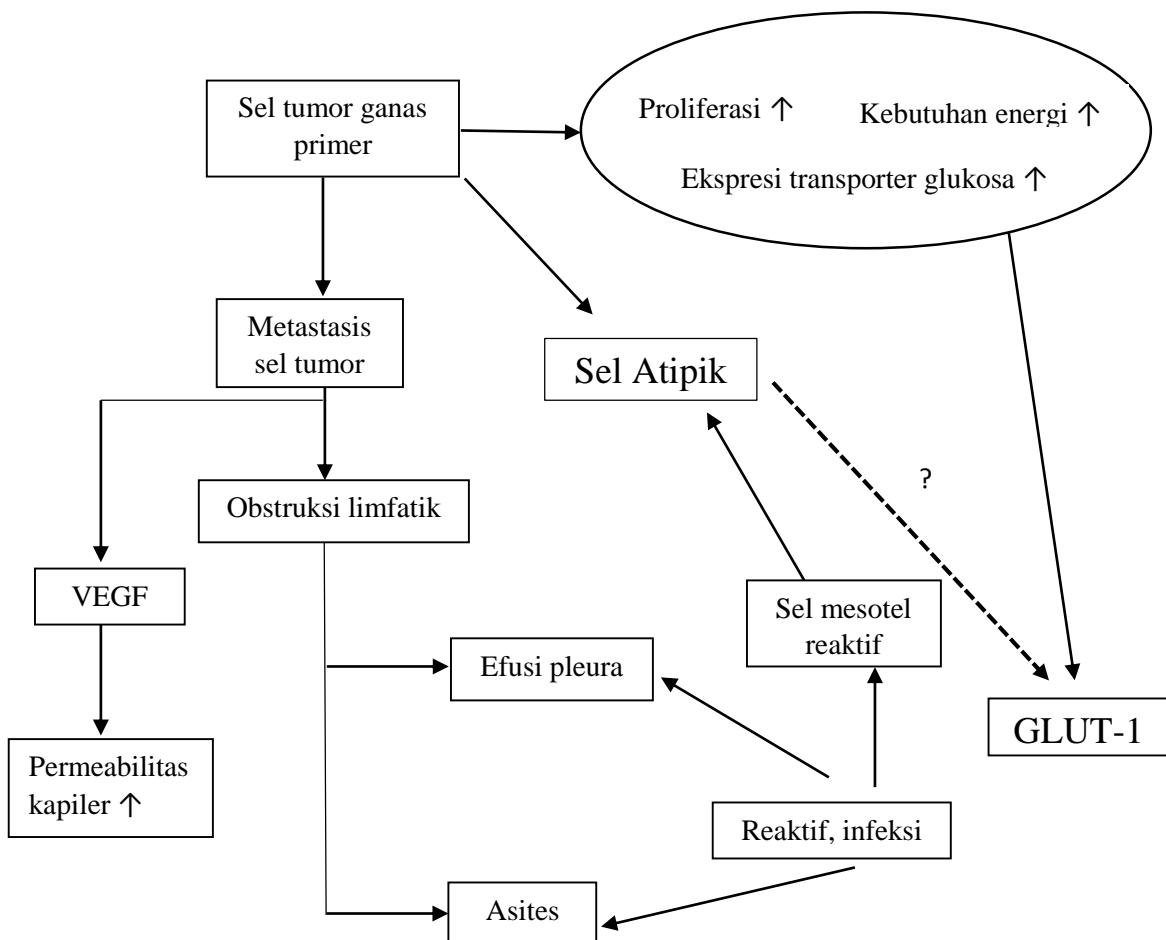
Carvalho et al menunjukkan bahwa GLUT-1 diekspresikan pada berbagai jenis tumor, seperti adenokarsinoma (prostat, tiroid, gaster, payudara) dan karsinoma sel skuamosa (kepala-leher, serviks). Adenokarsinoma menunjukkan positivitas di sitoplasma sedangkan karsinoma sel skuamosa pada membran sel. GLUT-1 tidak terekspresikan pada sarkoma dan limfoma sehingga dipikirkan kemungkinan adanya GLUT lain yang memediasi jalur glikolitik pada tumor ini.⁸

Sejumlah studi telah menunjukkan peningkatan ekspresi GLUT-1 pada beberapa jenis kanker seperti kolorektal, serviks, paru-paru, hepar, dan pankreas.^{27,28,29,30,31} Studi yang dilakukan oleh Chandan et al dan Weiner et al menyatakan bahwa pulasan GLUT-1 berguna dalam membedakan lesi skuamosa ganas dari lesi skuamosa jinak pada sampel biopsi aspirasi kepala-leher.^{32,33} Overekspresi GLUT-1 telah dilaporkan berhubungan dengan metastasis kelenjar getah bening dan prognosis yang buruk pada kanker kepala-leher.^{34,35}

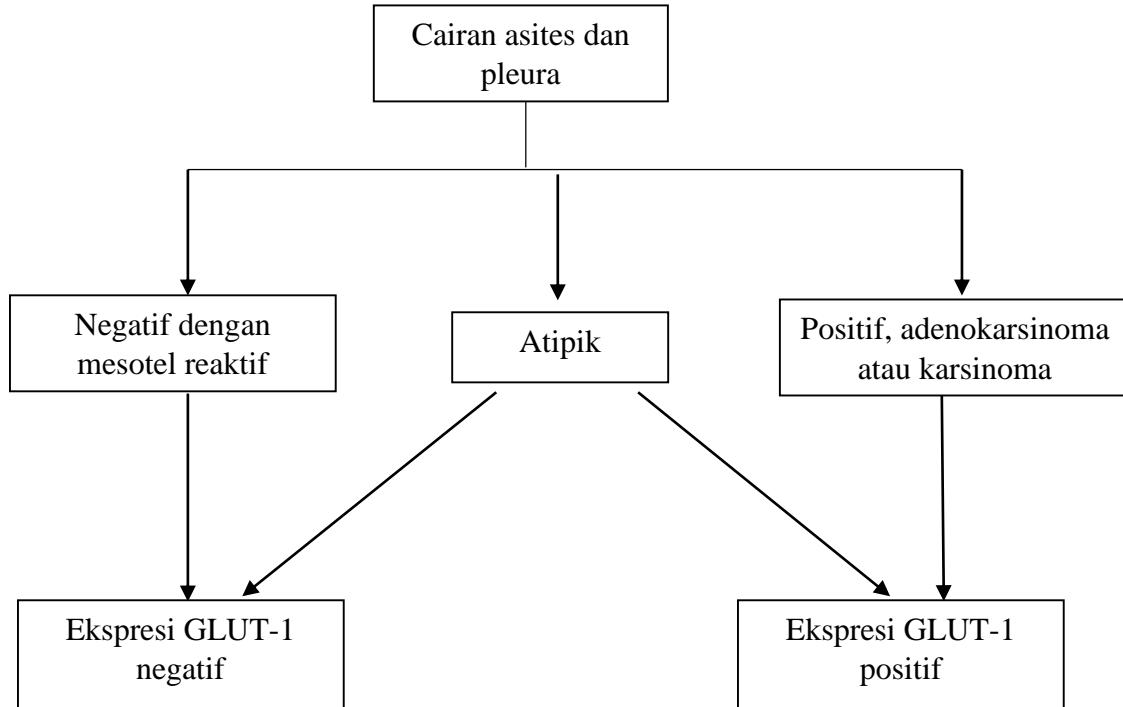
Banyak antibodi yang telah digunakan untuk membedakan sel mesotel reaktif dari mesotelioma. Sebelumnya, kedua sel ini dibedakan dari gambaran morfologik seperti atipia inti, susunan sel dalam sel, anak inti besar eosinofilik, struktur bola besar, dan sel multinuklear.³⁶ EMA, *X-linked inhibitor of apoptosis protein* (XIAP), dan GLUT-1 telah dilaporkan bermanfaat dalam membedakan sel mesotel reaktif dari mesotelioma.^{37,38}

Selain itu, ekspresi GLUT-1 juga telah dilaporkan berhubungan dengan resistensi terapi dan prognosis yang buruk pada kanker. Studi meta-analisis yang dilakukan oleh Yu et al dan Wang et al menyatakan bahwa overekspresi GLUT-1 berhubungan angka kesintasan yang rendah, diferensiasi tumor yang buruk, metastasis kelenjar getah bening, dan ukuran tumor yang besar.^{39,40}

2.7. Kerangka Teori



2.8. Kerangka Konsep



BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik menggunakan desain potong lintang. Penelitian dimulai dengan mencari formulir dan slaid pemeriksaan sitologi dan histopatologi dari arsip Departemen Patologi Anatomik FKUI/RSCM tahun Januari 2016 – September 2017. Sediaan yang memenuhi kriteria inklusi dilakukan pewarnaan imunositokimia GLUT-1.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Rekam Medik dan Departemen Medik Patologi Anatomik FKUI/ RSCM pada bulan Februari 2018 sampai dengan Juni 2018.

3.3. Sampel Penelitian

Kasus sitologi cairan asites dan pleura yang didiagnosis negatif, atipik, dan positif (ganas) di Departemen Medik Patologi Anatomik FKUI/RSCM antara tahun 2016-2017. Pemilihan sampel dilakukan secara konsektif yang memenuhi kriteria inklusi.

Perkiraan besar sampel dihitung dengan rumus:

$$\begin{aligned} N1 = N2 = N3 &= \frac{(Z\alpha + Z\beta)S}{X1-X2}^2 \\ &= \frac{(1,96 + 0,84)4,2}{3}^2 \\ &= 15,3 \sim 15 \end{aligned}$$

Keterangan:

N = jumlah kasus untuk tiap kelompok

$Z\alpha$ = nilai standar distribusi normal, pada $\alpha = 0,05$ maka $Z\alpha=1,96$

Power (β) = 80% sehingga $Z\beta = 0,84$

X_1-X_2 = selisih minimal rerata yang dianggap bermakna (*clinical judgement*) = 3

S = simpang baku gabungan penelitian sebelumnya

Dari perhitungan di atas didapat $N_1 = N_2 = N_3 = 15$ sampel, sehingga jumlah sampel minimal yang diperlukan untuk 3 kelompok sebesar 45 kasus.

3.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

3.4.1. Kriteria inklusi

- Kasus cairan asites dan pleura dengan diagnosis sitologi negatif yang tidak memiliki keganasan berdasarkan riwayat klinis atau memiliki diagnosis histopatologi tumor jinak epitelial.
- Kasus cairan asites dan pleura dengan diagnosis sitologi positif (tumor ganas epitelial) yang mempunyai diagnosis histopatologi tumor ganas jenis epitelial.
- Kasus cairan asites dan pleura dengan diagnosis inkonklusif (atipik) yang tidak memiliki keganasan berdasarkan riwayat klinis atau memiliki diagnosis histopatologi tumor jinak epitelial.
- Kasus cairan asites dan pleura dengan diagnosis inkonklusif (atipik) yang memiliki diagnosis histopatologi tumor ganas epitelial.
- Sediaan sitologi yang memenuhi jumlah sel adekuat serta pewarnaan Papaniculaou dalam kondisi baik.

3.4.2. Kriteria eksklusi

- Spesimen tidak dapat dianalisa.
- Spesimen tertutup eritrosit atau leukosit padat.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1. Variabel bebas: efusi jinak, atipik, dan ganas

3.5.2. Variabel tergantung: ekspresi GLUT-1

3.6. Definisi Operasional^{1,2,13,18,24}

Variabel	Definisi operasional	Alat ukur	Cara ukur	Hasil ukur	Skala ukur
Efusi jinak	Cairan yang mengandung sel mesotel reaktif, tidak mengandung sel ganas secara sitologi	Parasentesis	Pemeriksaan sitologi cairan	Negatif	Kategorik
Efusi ganas	Cairan yang mengandung sel ganas, inti pleomorfik, hiperkromatik, anak inti nyata, sitoplasma bervakuol	Parasentesis	Pemeriksaan sitologi cairan	Positif, adenokarsinoma	Kategorik
	Cairan yang mengandung sel ganas, inti pleomorfik, hiperkromatik, sitoplasma padat			Positif, karsinoma	
Atipik	Cairan yang mengandung sel atipik	Parasentesis	Pemeriksaan sitologi cairan	Inkonklusif, sel atipik	Kategorik
Ekspresi GLUT-1	Ekspresi imunositokimia GLUT-1 pada membran dan/atau sitoplasma sel	Imunositokimia	Ekspresi imunositokimia GLUT-1	Persentase	Numerik
				Persentase	

3.7. Alur Penelitian

Pencarian dan pengumpulan slaid dan formulir pemeriksaan sitologi dan histopatologi dari arsip Departemen Patologi Anatomik FKUI/RSCM tahun 2016-2017 sesuai kriteria inklusi



Pemilihan *slaid* yang dipulas Papaniculaou dan pemberian tanda pada sel yang akan dipulas imunositokimia



Persiapan *slaid* untuk dilakukan pulasan imunositokimia GLUT-1 sesuai prosedur pada sediaan sitologi



Penilaian hasil pulasan dilakukan secara bersama-sama antara peneliti dan pembimbing



Analisis hasil

3.8. Bahan dan Cara Kerja

3.8.1. Prosedur pulasan imunositokimia

Slaid yang akan dipulas imunositokimia ditandai dengan menggunakan pensil *diamond* pada bagian belakang *slaid*. Sediaan direndam dengan xylol 3-5 hari untuk melepaskan *cover glass* dan menghilangkan entelan. Dilanjutkan rehidrasi dengan alkohol bertingkat (alkohol absolut, 96% dan 80%) @5 menit, kemudian cuci dengan air mengalir 5 menit. Dilakukan *blocking* peroksidase endogen 0,5% selama 30 menit, selanjutnya dibilas dengan air mengalir selama 3 menit. Dilakukan *antigen retrieval* (10 menit) dalam Tris EDTA (ET) pH 9,0 dengan menggunakan *decloaking chamber*. Lalu didinginkan di suhu ruang, dicuci menggunakan *phosphate buffer saline* (PBS)

pH 7,4. Dilakukan *blocking* dengan *super block* selama 15 menit. Diinkubasi dengan antibodi primer GLUT-1 dengan dilusi 1:500 selama 60 menit, kemudian dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 2 menit. Selanjutnya diberi antibodi sekunder selama 15 menit dan dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 2 menit. Diinkubasi dengan *ultratek HRP* selama 15 menit pada suhu ruang. Langkah selanjutnya adalah pencucian dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit. Dilakukan inkubasi dengan *diamino benzidine* (DAB) selama 30 detik, kemudian dicuci dengan air mengalir 2 menit. Kemudian dilakukan *counter stain* dengan *Hematoxillin Mayer* sebagai *counter stain* selama 1-2 menit, dicuci dengan air mengalir 5 menit, dilanjutkan dengan lithium karbonat 10 detik, lalu dicuci dengan air mengalir 5 menit. Selanjutnya dehidrasi dengan alkohol bertingkat (alkohol 80%, 96% ethanol) masing-masing 5 menit selanjutnya dilakukan *clearing* dengan xylol I-II-III masing-masing 4 menit. Selanjutnya dilakukan *mounting* dengan cairan penutup (*aqueous mounting media*) dan ditutup dengan *cover glass*. Kontrol positif yang digunakan adalah jaringan adenokarsinoma kolon.

3.8.2. Penilaian ekspresi imunositokimia

Setelah dilakukan pemotretan pada fokus sel pembesaran 400x selanjutnya dilakukan penilaian dengan menghitung persentase sel yang terpulas dibandingkan jumlah keseluruhan sel (minimal 20 sel), dengan menggunakan *Image J*. Pulasan GLUT-1 dinyatakan positif jika sel tumor terwarnai coklat pada membran dan/atau sitoplasma. Penghitungan ekspresi dilakukan secara bersama oleh peneliti dan pembimbing. Setelah penghitungan ditentukan titik potong untuk mengelompokkan skor GLUT-1 menjadi positif/negatif dengan menggunakan kurva *Receiver Operating Characteristic* (ROC). Penilaian dilakukan secara tersamar (*blind*) tanpa melihat diagnosis klinis, sitologi dan histopatologi sebagai baku emas.

3.9. Pengolahan Data

Pengolahan data menggunakan program SPSS 22.0. Data yang dianalisis adalah data hasil ekspresi GLUT-1 positif dan negatif dihubungkan dengan diagnosis sitologi yang telah dikonfirmasi oleh riwayat klinis atau diagnosis histopatologi

sebagai baku emas. Data yang diperoleh mempunyai sebaran yang normal. Pengujian data menggunakan statistik *Chi-square*. Jika data tidak memenuhi syarat, digunakan uji *Fisher's exact*.

BAB 4

HASIL PENELITIAN

4.1 Karakteristik Sampel

Sampel diambil dari arsip Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM dengan kode topografi C38.4 dan C76.2. Pemilihan sampel dilakukan secara *consecutive sampling*. Sampel penelitian adalah sampel yang memenuhi kriteria inklusi, yaitu kasus sitologi cairan yang memiliki data histopatologi atau riwayat klinis lengkap selama Januari 2016 sampai September 2017. Sampel berjumlah 45 kasus yang terdiri atas lesi jinak, atipik, dan ganas. Sampel berasal dari cairan pleura sebanyak 27 kasus dan cairan asites sebanyak 18 kasus (Tabel 4.1).

Tabel 4.1. Karakteristik sampel penelitian

Variabel	Jumlah	Persentase
Jenis Kelamin		
Laki-laki	15	33
Perempuan	30	67
Usia (rentang 23-89 tahun)		
< 50 tahun	14	31
≥ 50 tahun	31	69
Asal Cairan		
Pleura	27	60
Asites	18	40

Karakteristik umum subyek penelitian berdasarkan jenis kelamin menunjukkan populasi terbanyak adalah perempuan yaitu sebanyak 30 kasus (67%) dan laki-laki sebanyak 15 kasus (33%). Subyek penelitian dengan kelompok usia 50 tahun atau lebih sebanyak 31 kasus (69%), sedangkan kelompok usia di bawah 50 tahun sebanyak 14 kasus (31%). Rerata usia 55 tahun, usia termuda 23 tahun dan usia tertua 89 tahun.

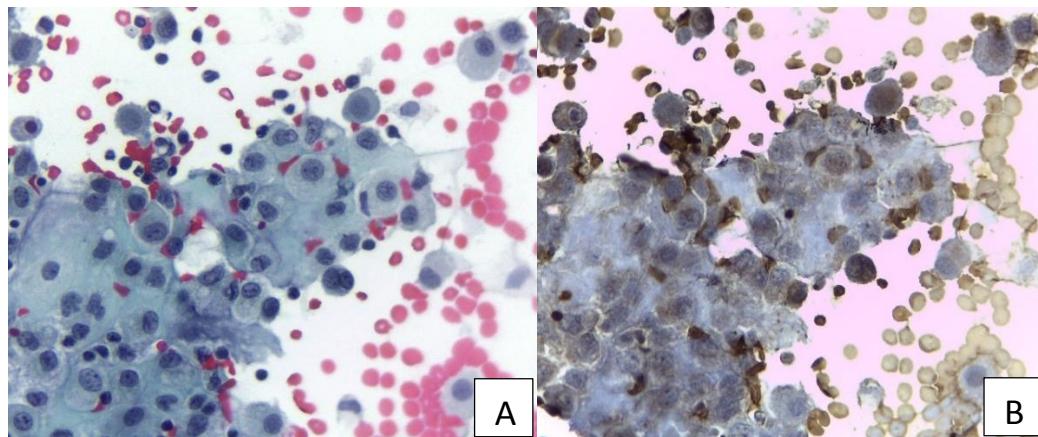
Penyebab efusi ganas yang terbanyak adalah berasal dari payudara (4 kasus) pada cairan pleura dan ovarium (5 kasus) pada cairan asites. Sedangkan efusi jinak tersering disebabkan oleh tuberkulosis dan pneumonia (5 kasus) pada efusi pleura serta sirosis hepatis (5 kasus) pada asites (Tabel 4.2).

Tabel 4.2. Distribusi etiologi efusi pada 45 pasien

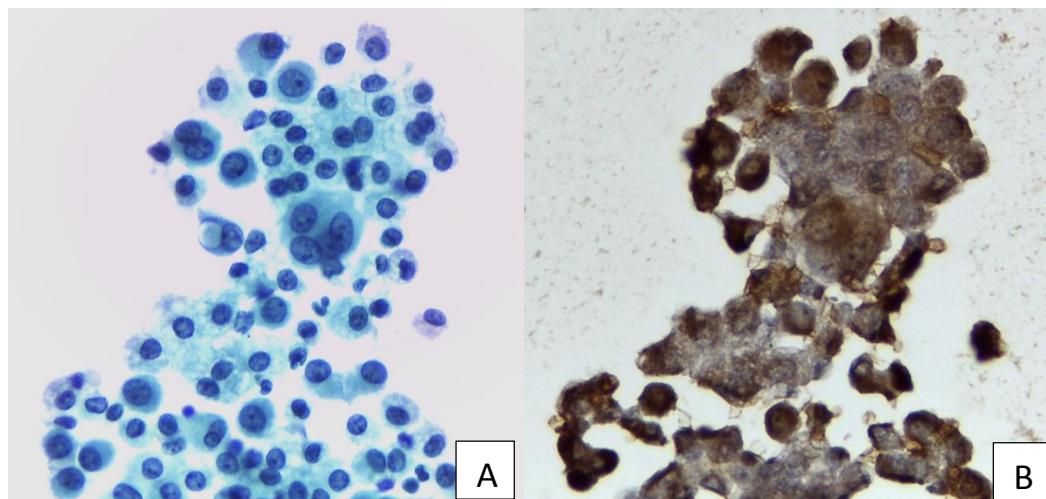
Kelompok	Jumlah
Efusi Ganas	
Cairan Pleura	
Adenokarsinoma payudara	4
Adenokarsinoma paru	3
Adenokarsinoma ovarium	3
Adenokarsinoma serviks	1
Karsinoma sel skuamosa serviks	1
Cairan Asites	
Adenokarsinoma ovarium	5
Adenokarsinoma kolon	2
Adenokarsinoma endometrium	1
Adenokarsinoma pancreas	1
Adenokarsinoma paru	1
Karsinoma sel skuamosa serviks	1
Efusi Jinak	
Cairan Pleura	
Tuberkulosis	5
Pneumonia	5
Penyakit ginjal kronik	2
Sirosis hepatis	2
Gagal jantung kongestif	1
Cairan Asites	
Sirosis hepatis	5
Gagal jantung	2

4.2. Ekspresi Imunositokimia GLUT-1

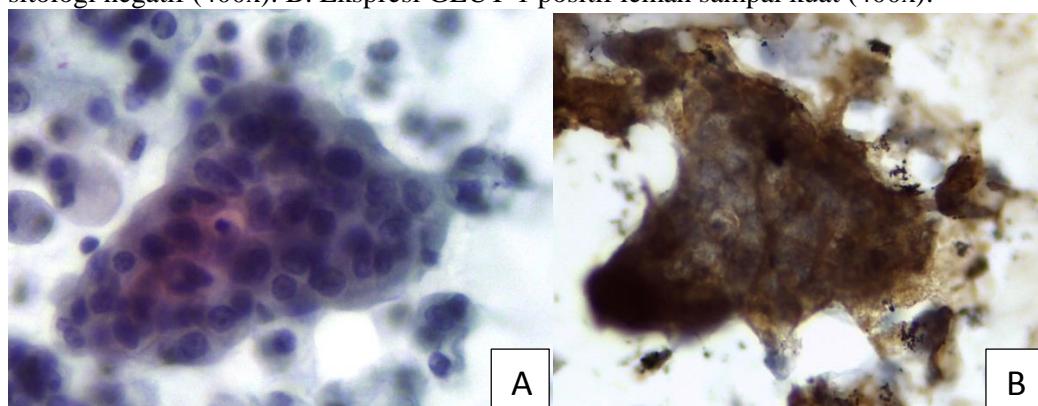
Setelah dilakukan pulasan imunositokimia, penghitungan ekspresi GLUT-1 dihitung berdasarkan persentase membran dan/atau sitoplasma sel yang terwarnai, sehingga didapatkan nilai ekspresi GLUT-1. Contoh hasil pulasan GLUT-1 dapat dilihat pada Gambar 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6.



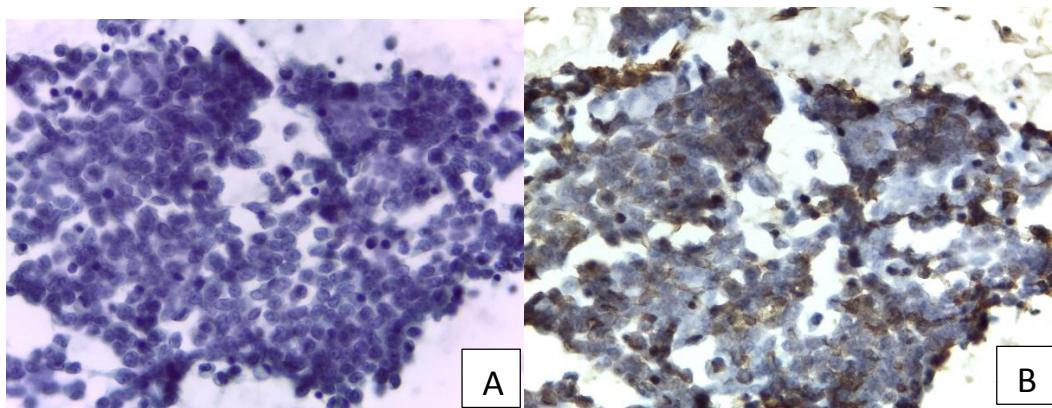
Gambar 4.1. Sel mesotel reaktif pada cairan asites yang disebabkan sirosis hepatis. A. Diagnosis sitologi negatif (400x). B. Ekspresi GLUT-1 negatif sampai positif lemah (400x).



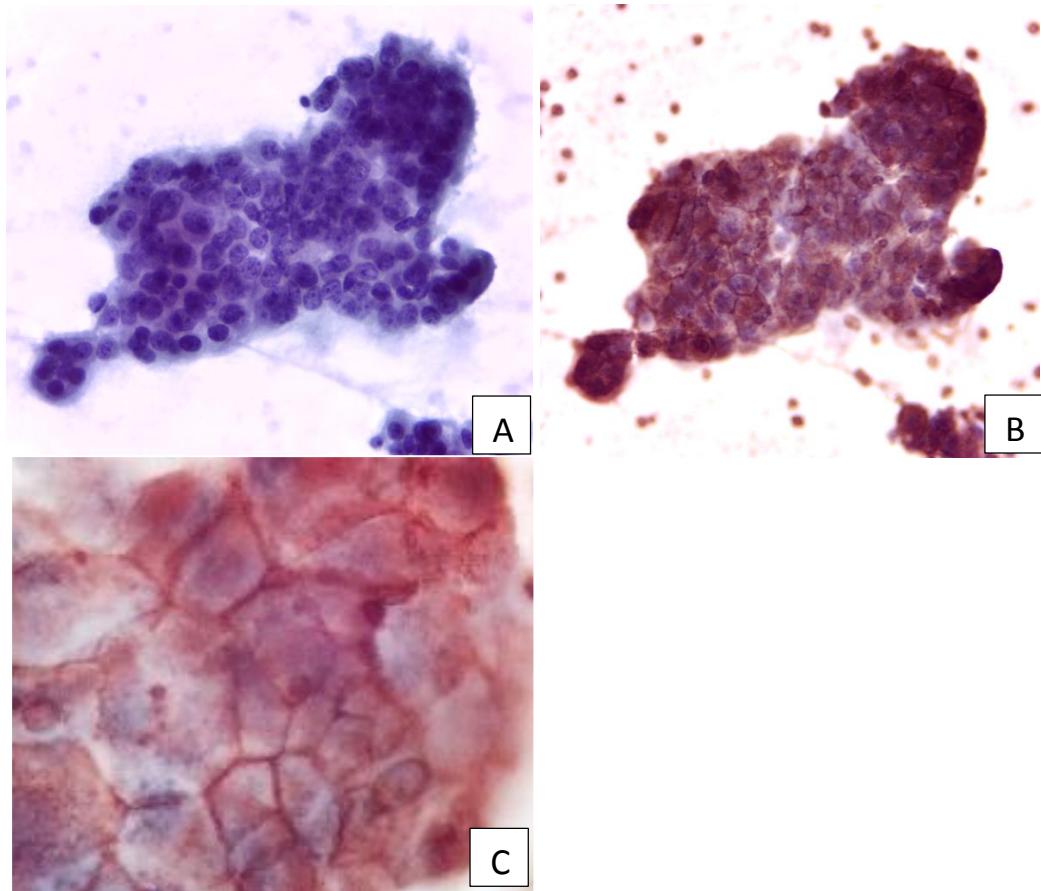
Gambar 4.2. Sel mesotel reaktif pada cairan pleura dengan penyakit ginjal kronik. A. Diagnosis sitologi negatif (400x). B. Ekspresi GLUT-1 positif lemah sampai kuat (400x).



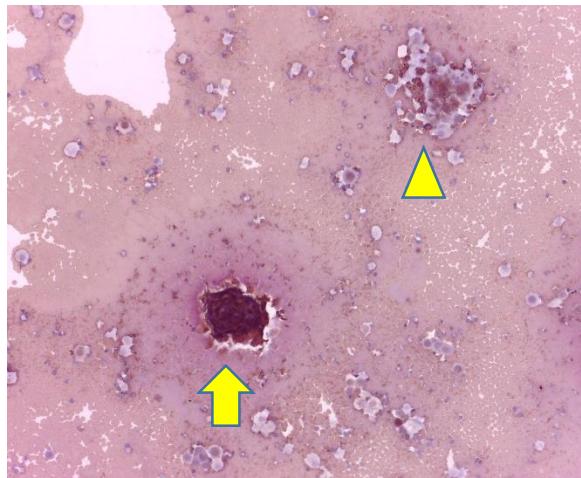
Gambar 4.3. Kelompok sel atipik pada cairan pleura yang disebabkan pneumonia. A. Diagnosis sitologi sel atipik (400x). B. Ekspresi GLUT-1 positif kuat (400x).



Gambar 4.4. Kelompok sel atipik pada cairan asites dengan karsinoma sel skuamosa serviks.
A. Diagnosis sitologi sel atipik (400x). B. Ekspresi GLUT-1 positif lemah (400x).



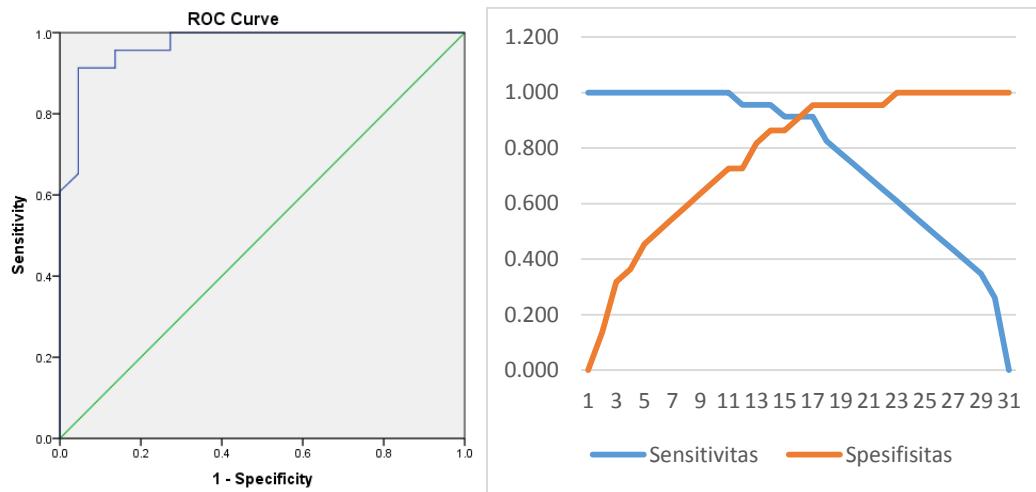
Gambar 4.5. Kelompok sel adenokarsinoma pada cairan pleura yang disebabkan karsinoma payudara. A. Diagnosis sitologi adenokarsinoma (400x). B. Ekspresi GLUT-1 positif kuat (400x) C. terpulas pada membran (1000x).



Gambar 4.6. Efusi pleura yang disebabkan karsinoma payudara. GLUT-1 terekspresi positif kuat pada sel-sel adenokarsinoma (panah) dan positif lemah/negatif pada sel mesotel (kepala panah) (100x).

4.3. Penentuan Titik Potong GLUT-1

Untuk membedakan sel mesotel dan sel ganas epitelial pada cairan rongga tubuh yang terpulas dengan GLUT-1 diperlukan titik potong. Titik potong ini berguna untuk mengelompokkan GLUT-1 menjadi hasil positif kuat dan positif lemah/negatif. Penelitian ini menggunakan analisis kurva *receiver operating characteristic* (ROC) untuk mencari titik potong dengan sensitivitas dan spesifisitas yang optimal (Gambar 4.8). Berdasarkan kurva ROC didapatkan nilai *area under the curve* (AUC) atau nilai diskriminasi sebesar 0,969 (IK 95% 0,926 – 1,000). Nilai ini tergolong dalam kategori sangat baik (90-100%) dan didapatkan titik potong optimal yaitu 53,5%, dengan sensitivitas sebesar 91,3% dan spesifisitas sebesar 90,9%. Untuk mempertajam hasil penelitian ini, nilai titik potong dibagi menjadi nilai positif kuat ($\geq 53,5\%$) yang berarti efusi ganas dan nilai positif lemah/negatif ($< 53,5\%$) yang berarti efusi jinak.



Gambar 4.7. Kurva ROC dan diagram titik potong GLUT-1.

4.4. Imunoekspresi GLUT-1

Hasil pulasan imunositokimia GLUT-1 pada sampel sitologi cairan serosa menunjukkan ekspresi positif kuat pada 23 kasus (51%), sedangkan 22 kasus (49%) menunjukkan ekspresi positif lemah/negatif. Sampel sitologi menunjukkan ekspresi positif kuat pada seluruh kasus ganas (100%), 7 dari 15 kasus (47%) atipik, dan 1 dari 15 kasus (7%) negatif. Terdapat perbedaan ekspresi GLUT-1 yang bermakna pada kasus dengan diagnosis sitologi positif (ganous), atipik, dan negatif (nilai $p < 0,001$) (Tabel 4.3).

Tabel 4.3. Distribusi diagnosis sitologi cairan serosa terhadap ekspresi GLUT-1

Diagnosis Sitologi	Ekspresi GLUT-1		
	Positif N (%)	Lemah/Negatif N (%)	Nilai p
Positif	15 (100%)	0 (0%)	< .001
Atipik	7 (47%)	8 (53%)	
Negatif	1 (7%)	14 (93%)	
Total	23 (51%)	22 (49%)	

Pada 15 kasus dengan diagnosis atipik ditemukan ekspresi positif kuat pada 6 kasus histopatologi ganas dan 1 kasus histopatologi jinak. Sedangkan 8 kasus menunjukkan ekspresi GLUT-1 positif lemah/negatif pada 6 kasus tanpa riwayat keganasan dan 2 kasus histopatologi ganas. Secara umum hasil ini menunjukkan bahwa

pulasan imunositokimia GLUT-1 pada sediaan sitologi cairan serosa dengan diagnosis atipik mempunyai sensitivitas 75%, spesifitas 86%, nilai prediksi positif 86% dan nilai prediksi negatif 75% serta akurasi diagnostik 80%. (Tabel 4.4).

Tabel 4.4. Ekspresi GLUT-1 pada sediaan sitologi (atipik) berdasarkan hasil histopatologi/riwayat klinis

Ekspresi GLUT-1	Hasil Histopatologi/Riwayat Klinis		
	Ganas	Jinak	Total
Positif	6	1	7
Lemah/Negatif	2	6	8
Total	8	7	15

Hasil ekspresi GLUT-1 berdasarkan diagnosis histopatologi/riwayat klinis menunjukkan 23 kasus (51%) dengan ekspresi positif kuat dan 22 kasus (49%) dengan ekspresi positif lemah/negatif. Kasus dengan ekspresi GLUT-1 positif kuat terdiri atas 21 kasus histopatologi ganas dan 1 kasus tidak memiliki keganasan. Sedangkan 22 kasus yang terdiri atas 20 kasus negatif keganasan dan 2 kasus histopatologi ganas menunjukkan ekspresi positif lemah/negatif. Terdapat hubungan bermakna antara positivitas GLUT-1 dengan efusi serosa jinak dan ganas cairan rongga tubuh ($p < 0,001$) (Tabel 4.5).

Tabel 4.5. Ekspresi GLUT-1 berdasarkan hasil histopatologi/riwayat klinis

Ekspresi GLUT-1	Hasil Histopatologi/Riwayat Klinis			Nilai p
	Ganas	Jinak	Total	
Positif	21	2	23	< .001
Lemah/Negatif	2	20	22	
Total	23	22	45	

BAB 5

PEMBAHASAN

5.1. Karakteristik Sampel

Sampel penelitian ini adalah sediaan sitologi cairan serosa yang mempunyai sediaan histopatologi atau data klinis lengkap pada tahun 2016 dan 2017. Divisi Sitologi Departemen Patologi Anatomik FKUI/RSCM menerima 1.843 sediaan sitologi cairan pleura dan asites pada Januari 2016 – September 2017. Dari keseluruhan sampel tersebut didapatkan sebanyak 179 kasus dengan diagnosis keganasan jenis epitelial dan 292 kasus atipik. Sesuai kriteria inklusi didapatkan 45 kasus sebagai sampel.

Pada penelitian ini terdapat 30 sampel (67%) perempuan dan 15 sampel (33%) laki-laki. Penyebab tersering efusi pleura ganas berasal dari keganasan payudara dan paru, sedangkan efusi pleura jinak disebabkan oleh infeksi tuberkulosis dan pneumonia. Hal ini sesuai dengan kepustakaan yang menyebutkan bahwa penyebab tersering efusi pleura ganas adalah berasal dari kanker paru pada laki-laki dan kanker payudara pada perempuan, sedangkan efusi jinak sering disebabkan oleh infeksi tuberkulosis di negara berkembang seperti Indonesia.^{12,41}

Asites ganas pada penelitian ini terbanyak disebabkan oleh kanker ovarium dan asites jinak disebabkan oleh sirosis hepatis. Hasil tersebut sesuai dengan kepustakaan yang menyatakan bahwa penyebab asites tersering adalah sirosis hepatis, sedangkan keganasan ovarium merupakan kanker yang paling sering menyebabkan asites ganas.⁵

5.2. Ekspresi GLUT-1

Efusi ganas dapat menjadi manifestasi klinis yang sering pada kanker yang belum terdeteksi.^{1,24} Pemeriksaan sitologi cairan mempunyai keterbatasan dan sensitivitas yang rendah dengan angka negatif palsu sebesar 31,5%. Hal ini dapat disebabkan oleh kesulitan dalam membedakan sel mesotel reaktif dan sel ganas dengan atipia ringan.^{1,3} Oleh karena itu, pemeriksaan penunjang lain seperti pulasan imunositokimia GLUT-1 diperlukan untuk membantu menegakkan diagnosis.

GLUT-1 merupakan penanda imunositokimia yang diekspresikan pada berbagai keganasan epitelial.^{1,3,8} Pulasan positif kuat terlihat pada membran dan/atau sitoplasma sel ganas epitelial yang terwarnai coklat, sedangkan sel mesotel reaktif terpulas positif lemah/negatif.^{8,24,26} Profil ekspresi GLUT-1 pada sampel efusi telah dilaporkan, tetapi sebagian besar studi menggunakan sampel blok sel. Penelitian imunositokimia GLUT-1 pada sediaan efusi *cytospin* yang difiksasi alkohol 96% masih sedikit jumlahnya.²⁴

Pada penelitian ini jumlah sampel sitologi cairan dengan sel mesotel reaktif, sel atipik dan sel ganas epitelial sebanyak masing-masing 15 kasus. Sampel dengan diagnosis atipik disebabkan oleh ditemukannya gambaran sitomorfologik seperti kelompok sel yang membentuk struktur seperti bola tetapi jumlahnya sedikit dan juga kelompok sel yang cukup banyak dengan perubahan inti ringan sehingga sulit ditentukan jinak atau ganas.¹⁸

Pada penelitian ini didapatkan nilai titik potong positivitas GLUT-1 sebesar 53,5%. Sejauh pengetahuan kami, penelitian ini merupakan penelitian pertama yang melaporkan hasil titik potong pada imunositokimia GLUT-1. Berdasarkan titik potong tersebut, pada kasus dengan diagnosis sitologi atipik didapatkan 7 kasus (47%) menunjukkan ekspresi GLUT-1 positif kuat dan 8 kasus (53%) menunjukkan positif lemah/negatif. Dari 7 kasus yang terekspresi positif kuat, 6 kasus (86%) diantaranya memiliki diagnosis histopatologi karsinoma dan 1 kasus (14%) tidak memiliki riwayat keganasan. Pada 8 kasus dengan ekspresi GLUT-1 positif lemah/negatif, 6 kasus (75%) tidak memiliki riwayat keganasan dan 2 kasus (25%) memiliki diagnosis histopatologi karsinoma. Berdasarkan hasil tersebut, didapatkan nilai sensitivitas 75%, spesifitas 86%, nilai prediksi positif 86%, nilai prediksi negatif 75%, dan akurasi diagnostik 80%. Hal tersebut menunjukkan bahwa pulasan imunositokimia GLUT-1 dapat berperan sebagai penunjang diagnostik untuk membedakan sel mesotel reaktif dan sel ganas epitelial pada sediaan sitologi cairan dengan diagnosis atipik.

Berbagai penelitian yang menggunakan GLUT-1 telah dilakukan pada sediaan cairan rongga tubuh. Ikeda et al²⁴ melaporkan ekspresi GLUT-1 dengan sensitivitas 83,5% dan spesifitas 80% pada efusi yang mengandung anak sebar adenokarsinoma.

Hasteh et al²⁶ mendapatkan ekspresi kuat dan difus GLUT-1 lebih mengarah pada mesotelioma dibanding mesotel reaktif dan ekspresi negatif tidak menyingkirkan keganasan. Liao et al¹ melaporkan bahwa deteksi protein GLUT-1 oleh pemeriksaan *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dan imunositokimia dapat membantu diagnosis keganasan pada efusi pleura. Kato et al⁴² menunjukkan sensitivitas GLUT-1 sebesar 100% pada kasus mesotelioma dan 96,5% pada kasus adenokarsinoma dengan spesifikasi keduanya sebesar 100%. Akan tetapi, GLUT-1 tidak dapat membedakan mesotelioma dari adenokarsinoma.^{24,42}

Ekspresi GLUT-1 berdasarkan diagnosis histopatologi/riwayat klinis menunjukkan 23 kasus (51%) dengan ekspresi positif kuat dan 22 kasus (49%) dengan ekspresi positif lemah/negatif. Pada 23 kasus dengan ekspresi positif kuat, didapatkan 21 kasus (91%) memiliki hasil histopatologi karsinoma dan 2 kasus (9%) tidak memiliki riwayat keganasan (pneumonia dan penyakit ginjal kronik).

Positivitas GLUT-1 pada sel-sel mesotel reaktif telah dilaporkan pada penelitian-penelitian sebelumnya. Afify et al⁴³, Kato et al⁴², Zimmermann et al⁴⁴, dan Burstein et al⁴⁵, melaporkan GLUT-1 dapat positif pada sel mesotel reaktif masing-masing sebesar 0%, 0%, 3%, dan 20%. Studi yang dilakukan di Universitas Chicago melaporkan bahwa GLUT-1 tidak terpulas pada 40 kasus proliferasi mesotel (20 normal, 20 reaktif).⁴⁶ GLUT-1 dapat juga terekspresi positif pada jaringan normal yang sedang aktif berproliferasi.⁴⁷ Menurut Zimmermann et al dan Burstein et al, mesotel reaktif dapat mengekspresikan GLUT-1 karena asupan glukosa yang meningkat untuk mengimbangi lingkungan yang tidak menguntungkan dalam efusi. Namun, positivitas tersebut menunjukkan pewarnaan yang samar hingga lemah dan mudah dibedakan dari pewarnaan tegas pada sel tumor.^{44,45} Pada penelitian ini, didapatkan 2 kasus jinak dengan sel mesotel reaktif yang terpulas kuat oleh GLUT-1, tetapi pulasan tersebut terlihat pada sitoplasma bukan pada membran. Carvalho et al⁸ dan Yasuda et al⁴⁸ melaporkan bahwa ekspresi GLUT-1 pada membran lebih bermakna secara klinis daripada ekspresi pada sitoplasma.

Pada 22 kasus dengan ekspresi GLUT-1 positif lemah/negatif terdapat 20 kasus (91%) tidak memiliki riwayat keganasan tetapi 2 kasus (9%) memiliki hasil

histopatologi karsinoma (karsinoma sel skuamosa serviks dan karsinoma endometrioid ovarium). Kedua kasus tersebut memiliki diagnosis atipik. Karsinoma serviks dapat menunjukkan ekspresi GLUT-1 yang rendah pada 16% kasus dan berhubungan dengan prognosis yang lebih baik.⁴⁹ Kalir et al⁵⁰ dan Cantuaria et al⁵¹ melaporkan pulasan GLUT-1 positif lemah pada 4% dan 1,2% kasus. Selain itu, hasil negatif/positif lemah dapat juga disebabkan oleh sel atipik yang terpulas tersebut adalah sel mesotel reaktif yang tersusun berkelompok dengan inti atipik yang sulit ditentukan jinak atau ganas. Motherby et al melaporkan angka *sampling error* yang tinggi pada sediaan sitologi efusi yaitu sebesar 71-73%.^{3,52} Hal ini disebabkan oleh sel ganas yang tidak terambil saat puncpsi dilakukan. Pada penelitian ini, seluruh kasus ganas terpulas positif oleh GLUT-1 sehingga pulasan GLUT-1 yang negatif tidak menyingkirkan adanya keganasan, terutama pada kasus yang jumlah selnya sedikit.

Pada penelitian ini secara umum menunjukkan pulasan GLUT-1 pada sediaan sitologi cairan rongga tubuh mempunyai akurasi diagnostik yang cukup tinggi dalam membedakan sel mesotel reaktif dari anak sebar karsinoma dengan nilai sensitivitas 91,3%, spesifisitas 90,9%, nilai prediksi positif 91,3%, nilai prediksi negatif 90,9%, dan akurasi diagnostik 91,1%. Apabila sekelompok sel terpulas GLUT-1 positif kuat pada lebih dari 53,5% sel, maka terdapat kemungkinan sebesar 91,3% bahwa kelompok sel tersebut adalah karsinoma. Namun, jika sekelompok sel tersebut terpulas GLUT-1 positif kuat pada kurang dari 53,5% sel atau terpulas negatif/positif lemah maka terdapat kemungkinan 90,9% kelompok sel tersebut adalah sel mesotel reaktif.

5.3 Kelemahan dan Keterbatasan Penelitian

Kelemahan dalam penelitian ini antara lain beberapa sampel kurang memadai terutama pada kasus dengan diagnosis atipik karena jumlah sel sangat terbatas. Selain itu, jumlah eritrosit yang cukup banyak pada latar belakang di beberapa kasus menyebabkan *background staining* yang kuat sehingga menyulitkan penilaian hasil.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

- Terdapat perbedaan ekspresi GLUT-1 yang bermakna pada kasus dengan diagnosis sitologi positif (sel ganas epitelial), atipik, dan negatif (sel mesotel) dimana pulasan GLUT-1 terekspresi positif kuat pada sel ganas epitelial dan positif lemah atau negatif pada sel mesotel reaktif.
- Pulasan GLUT-1 bermanfaat sebagai penanda diagnostik untuk membedakan anak sebar karsinoma dan sel mesotel reaktif di cairan rongga tubuh pada kasus atipik dengan akurasi diagnostik 80%.
- Pulasan GLUT-1 pada sediaan sitologi cairan rongga tubuh secara umum mempunyai nilai sensitivitas 91,3%, spesifikasi 90,9%, nilai prediksi positif 91,3%, nilai prediksi negatif 90,9%, dan akurasi diagnostik 91,1%.

6.2. Saran

- Pemeriksaan GLUT-1 dapat dianjurkan sebagai salah satu prosedur diagnostik untuk membedakan mesotel reaktif dari anak sebar karsinoma di cairan rongga tubuh, terutama pada kasus atipik dengan akurasi diagnostik 80%.
- GLUT-1 dapat dikombinasikan dengan penanda diagnostik lain seperti EMA pada kasus atipik untuk meningkatkan akurasi diagnostik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Liao ND, Chiang TA, Lee WY. Glucose transporter 1 protein detected by enzyme-linked immunosorbent assay and immunocytochemistry: a useful diagnostic tool for malignant pleural effusions. *Cancer Cytopathol.* 2013 Dec;121(12):695-702.
2. Kocjan G, Gray W, Levine T, Skelin IK, Vielh P. Diagnostic cytopathology essentials. Philadelphia: Elsevier; 2013. p. 103-22.
3. Liao ND, Shieh JM, Lee WY. Diagnostic value of metabolic phenotypes in malignant pleural effusions: expression of GLUT1 and CAIX by immunocytochemistry. *Cancer Cytopathol.* 2011 Oct 25;119(5):346-53.
4. Mohanty S, Dey P. Serous effusions: diagnosis of malignancy beyond cytomorphology. An analytic review. *Postgrad Med J.* 2003 Oct; 79(936): 569-74.
5. Chikileva IO, Anisimova NY, Shubina IZ, Kiselevsky MV. Pathogenesis of malignant effusions. In: Kiselevsky MV, editor. Malignant effusions: pleuritis, ascites, pericarditis. London: Springer; 2012. p. 11-7.
6. Sangisetty SL, Miner TJ. Malignant ascites: A review of prognostic factors, pathophysiology and therapeutic measures. *World J Gastrointest Surg.* 2012 Apr 27;4(4):87-95.
7. Yeagle PL. The membranes of cells. 3rd ed. Tokyo: Elsevier; 2016. p. 340-3.
8. Carvalho KC, Cunha IW, Rocha RM, Ayala FR, Cajaiba MM, Begnami MD, et al. GLUT1 expression in malignant tumors and its use as an immunodiagnostic marker. *Clinics (Sao Paulo).* 2011;66(6):965-72.
9. Davidson B, Firat P, Michael CW. Serous effusions: etiology, diagnosis, prognosis and therapy. London: Springer; 2012. p. 3-10.
10. Moy MP, Levsky JM, Berko NS, Godelman A, Jain VR, Haramati LB. A new, simple method for estimating pleural effusion size on CT scans. *Chest.* 2013 Apr;143(4):1054-9.
11. Saif MW, Siddiqui IA, Sohail MA. Management of ascites due to gastrointestinal malignancy. *Ann Saudi Med.* 2009 Sep-Oct; 29(5): 369–77.
12. Mattison L, Coppage L, Alderman D. Pleural effusion: prevalence, causes, and clinical implications. *Br. J Cancer.* 2010;111(04): 810-4.
13. Cibas ES. Pleural, Pericardial, and Peritoneal Fluids. In: Cibas ES, Ducatman BS. Cytology: diagnostic principles and clinical correlates. 3rd ed. Philadelphia: Elsevier; 2009. p. 129-31.
14. Zhao WY, Chen DY, Chen JH, Ji ZN. Effects of intracavitary administration of Endostar combined with cisplatin in malignant pleural effusion and ascites. *Cell Biochem Biophys.* 2014 Sep;70(1):623-8.
15. Woopen H, Sehouli J. Current and future options in the treatment of malignant ascites in ovarian cancer. *Anticancer Res.* 2009 Aug;29(8):3353-9.
16. Heffner JE, Klein JS. Recent advances in the diagnosis and management of malignant pleural effusions. *Mayo Clin Proc.* 2008 Feb;83(2):235-50.

17. Ayantunde AA, Parsons SL. Pattern and prognostic factors in patients with malignant ascites: a retrospective study. *Ann Oncol.* 2007 May;18(5):945-9.
18. Koss LG, Melamed MR (editors). *Koss' diagnostic cytology and its histopathologic bases.* 5th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. p. 926-8.
19. Burrows AM, Brown DA, Klaas JP, Khurana VG, Benarroch EE, Meyer FB. Cerebral Blood Flow and Metabolism and Cerebral Ischemia. In: Winn HR. Youmans & Winn Neurological Surgery. 7th edition. Philadelphia: Elsevier; 2017. p. 3013-5.
20. Liberti MV, Locasale JW. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? *Trends Biochem Sci.* 2016 Mar;41(3):211-8.
21. Marie SK, Shinjo SM. Metabolism and Brain Cancer. *Clinics (Sao Paulo).* 2011 Jun; 66(Suppl 1): 33-43.
22. Dark GG, Razak AR. Oncology. In: Walker BR, Colledge NR, Ralston SH, Penman ID. *Davidson's Principles and Practice of Medicine.* 22nd edition. China: Elsevier; 2014. p. 281.
23. Park MS. Molecular Dynamics Simulations of the Human Glucose Transporter GLUT1. *PLoS One.* 2015 Apr 28;10(4):e0125361.
24. Ikeda K, Tate G, Suzuki T, Kitamura T, Mitsuya T. Diagnostic usefulness of EMA, IMP3, and GLUT-1 for the immunocytochemical distinction of malignant cells from reactive mesothelial cells in effusion cytology using cytopspin preparations. *Diagn Cytopathol.* 2011 Jun;39(6):395-401.
25. Suganuma N, Segade F, Matsuzu K, Bowden DW. Differential expression of facilitative glucose transporters in normal and tumor kidney tissues. *BJU Int.* 2007;99:1143-9.
26. Hasteh F, Lin GY, Weidner N, Michael CW. The use of immunohistochemistry to distinguish reactive mesothelial cells from malignant mesothelioma in cytologic effusions. *Cancer Cytopathol.* 2010 Apr 25;118(2):90-6.
27. Lastraioli E, Bencini L, Bianchini E, Romoli MR, Crociani O, Giommoni E, et al. hERG1 channels and Glut-1 as independent prognostic indicators of worse outcome in stage I and II colorectal cancer: A pilot study. *Transl Transl Oncol.* 2012 Apr;5(2):105-12.
28. Tong SY, Lee JM, Ki KD, Choi YJ, Seol HJ, Lee SK, et al. Correlation between FDG uptake by PET/CT and the expressions of glucose transporter type 1 and hexokinase II in cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2012 May;22(4):654-8.
29. Sasaki H, Shitara M, Yokota K, Hikosaka Y, Moriyama S, Yano M, et al. Overexpression of GLUT1 correlates with Kras mutations in lung carcinomas. *Mol Med Rep.* 2012 Mar;5(3):599-602.
30. Liu TQ, Fan J, Zhou L and Zheng SS. Effects of suppressing glucose transporter-1 by an antisense oligodeoxynucleotide on the growth of human hepatocellular carcinoma cells. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2011 Feb;10(1):72-7.
31. Melstrom LG, Salabat MR, Ding XZ, Strouch MJ, Grippo PJ, Mirzoeva S, et al. Apigenin down-regulates the hypoxia response genes: HIF-1 α , GLUT-1,

- and VEGF in human pancreatic cancer cells. *J Surg Res.* 2011 May 15;167(2):173-81.
32. Chandan VS, Faquin WC, Wilbur DC, Khurana KK. The utility of GLUT-1 immunolocalization in cell blocks: An adjunct to the fine needle aspiration diagnosis of cystic squamous lesions of the head and neck. *Cancer.* 2006 Apr 25;108(2):124-8.
 33. Weiner MF, Miranda RN, Bardales RH, Mukunyadzi P, Baker SJ, Korourian S, et al. Diagnostic value of GLUT-1 immunoreactivity to distinguish benign from malignant cystic squamous lesions of the head and neck in fine-needle aspiration biopsy material. *Diagn Cytopathol.* 2004 Nov;31(5):294-9.
 34. Eckert AW, Lautner MH, Taubert H, Schubert J, Bilkenroth U. Expression of Glut-1 is a prognostic marker for oral squamous cell carcinoma patients. *Oncol Rep.* 2008 Dec;20(6):1381-5.
 35. Zhou S, Wang S, Wu Q, Fan J and Wang Q: Expression of glucose transporter-1 and -3 in the head and neck carcinoma - the correlation of the expression with the biological behaviors. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 2008; 70: 189-94.
 36. Su XY, Li GD, Liu WP, Xie B, Jiang YH. Cytological differential diagnosis among adenocarcinoma, epithelial mesothelioma, and reactive mesothelial cells in serous effusions by immunocytochemistry. *Diagn Cytopathol.* 2011 Dec;39(12):900-8.
 37. Moretti L, García A, Nieto S, Elsner B, Avagnina A, Denninghoff V. Malignant mesothelioma vs. reactive mesothelial proliferations: immunohistochemical profile. *British Journal of Medicine & Medical Research.* 2014; 4(1):95-103.
 38. Shen J, Pinkus GS, Deshpande V. Usefulness of EMA, GLUT-1, and XIAP for the cytologic diagnosis of malignant mesothelioma in body cavity fluids. *Am J Clin Pathol* 2009;131:516–23.
 39. Wang J, Ye C, Chen C, Xiong H, Xie B, Zhou J, et al. Glucose transporter GLUT1 expression and clinical outcome in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget.* 2017 Mar 7;8(10):16875-86.
 40. Yu M, Yongzhi H, Chen S, Luo X, Lin Y, Zhou Y, et al. The prognostic value of GLUT1 in cancers: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget.* 2017 Jun 27;8(26):43356-67.
 41. Psallidas I, Kalomenidis I, Porcel JM, Robinson BW, Stathopoulos GT. Malignant pleural effusion: from bench to bedside. *Eur Respir Rev.* 2016 Jun;25(140):189-98.
 42. Kato Y, Tsuta K, Seki K, et al. Immunohistochemical detection of GLUT-1 can discriminate between reactive mesothelium and malignant mesothelioma. *Mod Pathol.* 2007;20:215–20.
 43. Afify A, Zhou H, Howell L, Paulino AF. Diagnostic utility of GLUT-1 expression in the cytologic evaluation of serous fluids. *Acta Cytol.* 2005;49:621–6.

44. Zimmerman RL, Goonewardene S, Fogt F. Glucose transporter Glut-1 is of limited value for detecting breast carcinoma in serous effusions. *Mod Pathol.* 2001;14:748–51.
45. Burstein DE, Reder I, Weiser K, Tong T, Pritsker A, Haber RS. GLUT1 glucose transporter: a highly sensitive marker of malignancy in body cavity effusions. *Mod Pathol.* 1998;11:392–6.
46. Actuaria A, Arif Q, Gattuso P, McIntere M, Krausz T, Husain AN: Value of immunohistochemical markers in differentiating benign from malignant mesothelial lesions. *Lab Invest* 2008, 88 (Supp 1): 334A.
47. Gould J. The biology of cancer: cancer cell metabolism. Presented at Cancer metabolism lecture, Hood College. Maryland, 2010.
48. Yasuda M, Ogane N, Hayashi H, Kameda Y, Miyagi Y, Iida T, et al. Glucose transporter-1 expression in the thyroid gland: clinicopathological significance for papillary carcinoma. *Oncol Rep.* 2005 Dec;14(6):1499-504.
49. Kanjanapan Y, Deb S, Young RJ, Bressel M, Mileshkin L, Rischin D, et al. Glut-1 expression in small cervical biopsies is prognostic in cervical cancers treated with chemoradiation. *Clin Transl Radiat Oncol.* 2017 Feb; 2: 53–8.
50. Kalir T, Wang BY, Goldfischer M, Haber RS, Reder I, Demopoulos R, et al. Immunohistochemical staining of GLUT1 in benign, borderline, and malignant ovarian epithelia. *Cancer.* 2002 Feb 15;94(4):1078-82.
51. Cantuaria G, Magalhaes A, Penalver M, Angioli R, Braunschweiger P, Gomez-Marin O, et al. Expression of GLUT-1 glucose transporter in borderline and malignant epithelial tumors of the ovary. *Gynecol Oncol.* 2000 Oct;79(1):33-7.
52. Motherby H, Nadjari B, Friegel P, Kohaus J, Ramp U, Bocking A. Diagnostic accuracy of effusion cytology. *Diagn Cytopathol.* 1999;20:350-7.

Lampiran 1. Data Induk Sampel Penelitian

No.	Usia (tahun)	Jenis Kelamin	Asal Cairan	Diagnosis Sitologi	Diagnosis Histopatologi/Keterangan Klinis	Pulasan GLUT-1 (%)	Hasil GLUT-1
1	23	Perempuan	Pleura	Negatif, tidak ditemukan sel tumor ganas	Tuberkulosis paru	7	negatif
2	51	Perempuan	Asites	Inkonklusif, sel atipik mencurigakan keganasan	Karsinoma serosum high grade ovarium bilateral	83	positif
3	56	Perempuan	Asites	Inkonklusif, sel atipik	Karsinoma sel skuamosa serviks	31	negatif
4	70	Perempuan	Asites	Inkonklusif, sel atipik mencurigakan keganasan	Sirosis hepatis	7	negatif
5	61	Laki-laki	Asites	Inkonklusif, sel atipik	Anak sebar karsinoma <i>signet ring cell</i> hepar (klinis: massa pankreas)	100	positif
6	55	Laki-laki	Pleura	Negatif, tidak ditemukan sel tumor ganas	Gagal jantung kongestif	0	negatif
7	69	Laki-laki	Asites	Positif, anak sebar condong adenokarsinoma	Adenokarsinoma berdiferensiasi buruk paru	93	positif
8	51	Perempuan	Pleura	Positif, anak sebar adenokarsinoma	Adenokarsinoma berdiferensiasi sedang (klinis: karsinoma serviks)	100	positif
9	68	Perempuan	Pleura	Negatif, tidak ditemukan sel tumor ganas	Sirosis hepatis	0	negatif
10	63	Laki-laki	Pleura	Negatif, tidak ditemukan sel tumor ganas	Pneumonia	5	negatif
11	56	Perempuan	Asites	Positif, anak sebar adenokarsinoma	Karsinoma serosum, high grade, ovarium	98	positif
12	57	Perempuan	Pleura	Inkonklusif, sel atipik	Karsinoma sel skuamosa tak berkeratin serviks, diferensiasi baik-sedang	84	positif
13	29	Perempuan	Pleura	Negatif, tidak ditemukan sel tumor ganas	Penyakit ginjal kronik	54	positif
14	74	Laki-laki	Asites	Inkonklusif, sel atipik mencurigakan keganasan	Adenokarsinoma berdiferensiasi baik (klinis: massa kolon)	80	positif
15	89	Perempuan	Pleura	Negatif, tidak ditemukan sel tumor ganas	Pneumonia	1	negatif
16	51	Laki-laki	Pleura	Inkonklusif, sel atipik	Tuberkulosis paru	36	negatif

No.	Usia (tahun)	Jenis Kelamin	Asal Cairan	Diagnosis Sitologi	Diagnosis Histopatologi/Keterangan Klinis	Pulasan GLUT-1 (%)	Hasil GLUT-1
17	45	Laki-laki	Pleura	Inkonklusif, sel atipik	Tuberkulosis paru	19	negatif
18	53	Perempuan	Pleura	Positif, anak sebar adenokarsinoma	Karsinoma invasif payudara jenis NST (<i>No Special Type</i>) grade 2	89	positif
19	56	Perempuan	Pleura	Negatif, tidak ditemukan sel tumor ganas	Tuberkulosis paru	10	negatif
20	40	Laki-laki	Asites	Negatif, tidak ditemukan sel tumor ganas	Gagal jantung kongestif	1	negatif
21	36	Perempuan	Pleura	Inkonklusif, sel atipik kemungkinan adanya keganasan belum dapat disingkirkan	Pneumonia	85	positif
22	42	Laki-laki	Asites	Negatif, tidak ditemukan sel tumor ganas	Sirosis hepatis	13	negatif
23	49	Perempuan	Pleura	Negatif, tidak ditemukan sel tumor ganas	Penyakit ginjal kronik	0	negatif
24	83	Perempuan	Asites	Positif, adenokarsinoma	Karsinoma Sel Transisional ovarium bilateral berdiferensiasi baik.	98	positif
25	54	Perempuan	Asites	Positif, adenokarsinoma	Adenokarsinoma pada ovarium, tuba bilateral, omentum, prevesika dan 1 dari 2 kelenjar getah bening kanan	87	positif
26	74	Perempuan	Pleura	Inkonklusif, sel atipik	Tuberkulosis paru	35	negatif
27	59	Laki-laki	Asites	Inkonklusif, sel atipik	Sirosis hepatis	35	negatif
28	56	Perempuan	Asites	Negatif, tidak ditemukan sel tumor ganas	Sirosis hepatis	1	negatif
29	41	Perempuan	Pleura	Positif, anak sebar adenokarsinoma	Karsinoma invasif NST (<i>No Special Type</i>) payudara kiri grade 2	95	positif
30	41	Perempuan	Asites	Positif, anak sebar adenokarsinoma	Karsinoma berdiferensiasi buruk ovarium bilateral, sugestif tipe campuran karsinoma serosum dan karsinoma sel jernih high grade	100	positif
31	45	Perempuan	Pleura	Adenokarsinoma	Adenokarsinoma ovarium bilateral	100	positif

No.	Usia (tahun)	Jenis Kelamin	Asal Cairan	Diagnosis Sitologi	Diagnosis Histopatologi/Keterangan Klinis	Pulasan GLUT-1 (%)	Hasil GLUT-1
32	58	Perempuan	Pleura	Positif. Adenokarsinoma dd/ mesothelioma	Adenokarsinoma berdiferensiasi sedang dd/cholangiokarsinoma (klinis: massa paru)	85	positif
33	54	Perempuan	Pleura	Inkonklusif, sel atipik mencurigakan keganasan	Karsinoma invasif payudara NST (<i>No Special Type</i>)	100	positif
34	58	Perempuan	Asites	Positif, adenokarsinoma	Adenokarsinoma residif rektum	100	positif
35	44	Laki-laki	Pleura	Positif, adenokarsinoma	Adenokarsinoma paru.	81	positif
36	57	Perempuan	Pleura	Negatif, tidak ditemukan sel tumor ganas	Pneumonia	17	negatif
37	64	Perempuan	Pleura	Inkonklusif, sel atipik	Karsinoma endometrioid berdiferensiasi baik ovarium kanan.	49	negatif
38	64	Perempuan	Asites	Positif, adenokarsinoma dapat berasal dari carcinoma endometrium	Anak sebar adenokarsinoma pada peritoneum, pelvis dan omentum; sugestif tipe <i>clear cell carcinoma high grade DD/ mixed dengan endometrioid carcinoma</i> (klinis: massa endometrium)	96	positif
39	41	Perempuan	Pleura	Inkonklusif, sel atipik	Adenokarsinoma berdiferensiasi sedang ovarium	75	positif
40	62	Laki-laki	Pleura	Positif, anak sebar karsinoma	Adenokarsinoma berdiferensiasi buruk paru	97	positif
41	54	Perempuan	Pleura	Positif, adenokarsinoma yang dapat berasal dari payudara	Karsinoma invasif payudara NST (<i>No Special Type</i>)	75	positif
42	47	Laki-laki	Pleura	Inkonklusif, sel atipik mencurigakan keganasan	Sirosis hepatis	53	negatif
43	41	Laki-laki	Asites	Negatif, tidak ditemukan sel tumor ganas	Sirosis hepatis	12	negatif
44	59	Perempuan	Asites	Negatif, tidak ditemukan sel tumor ganas	Gagal jantung kongestif	1	negatif
45	82	Laki-laki	Pleura	Negatif, tidak ditemukan sel tumor ganas	Pneumonia	15	negatif

Lampiran 2. Tabel deskriptif karakteristik sampel berdasarkan jenis kelamin

Jenis Kelamin

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Laki-laki	15	33.3	33.3	33.3
	Perempuan	30	66.7	66.7	100.0
	Total	45	100.0	100.0	

Lampiran 3. Tabel deskriptif karakteristik sampel berdasarkan jenis usia

Kategori Usia

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	<50	14	31.1	31.1	31.1
	≥50	31	68.9	68.9	100.0
	Total	45	100.0	100.0	

Lampiran 4. Tabel deskriptif karakteristik sampel berdasarkan asal cairan

Asal Cairan

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Cairan Pleura	27	60.0	60.0	60.0
	Cairan Asites	18	40.0	40.0	100.0
	Total	45	100.0	100.0	

Lampiran 5. Tabel deskriptif asal tumor primer efusi ganas

JCairan * Etiologi Crosstabulation

Count

		Etiologi							Total
		Endometrium	kolon	Ovariun	pankreas	paru	payudara	serviks	
JCairan	Cairan Pleura	0	0	3	0	3	4	2	12
	Cairan Asites	1	2	5	1	1	0	1	11
Total		1	2	8	1	4	4	3	23

Lampiran 6. Tabel deskriptif etiologi efusi jinak

JCairan * Etiologi Crosstabulation

Count

	Etiologi					Total	
	chf	ckd	pneumonia	sirosis	tbc paru		
JCairan	Cairan Pleura	1	2	5	2	5	15
	Cairan Asites	2	0	0	5	0	7
Total		3	2	5	7	5	22

Lampiran 7. Penghitungan nilai titik potong GLUT-1 menggunakan kurva ROC

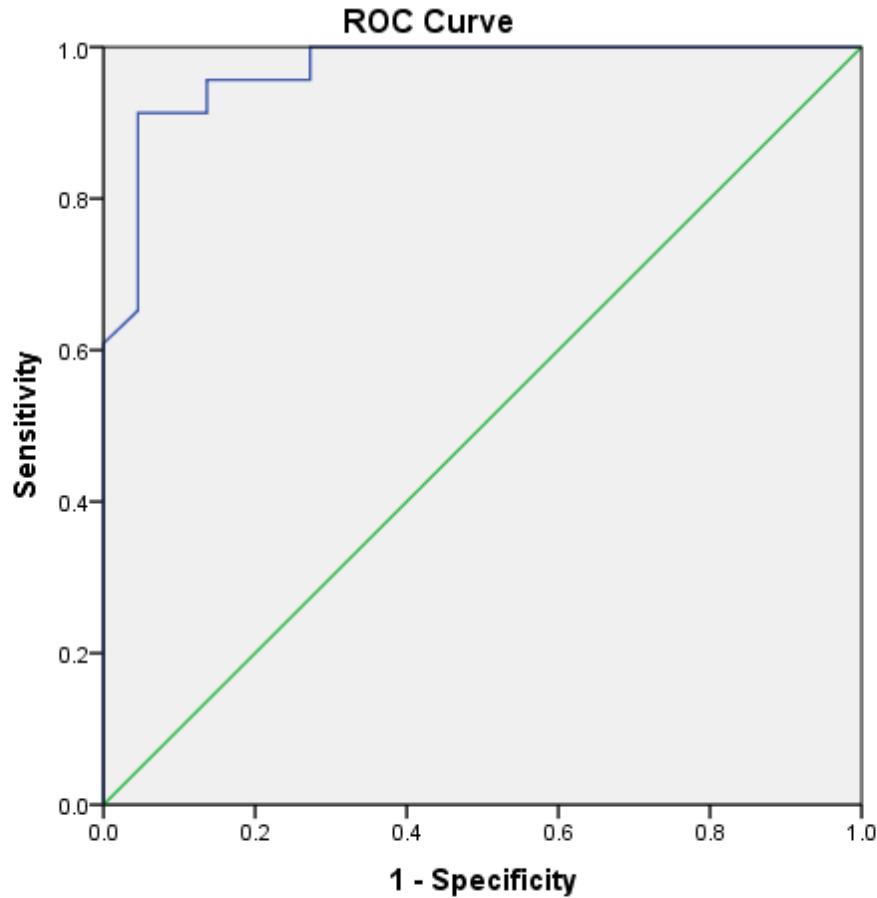
Case Processing Summary

Hasil_akhir	Valid N (listwise)
Positive ^a	23
Negative	22

Larger values of the test result

variable(s) indicate stronger evidence for a positive actual state.

a. The positive actual state is ganas.



Area Under the Curve

Test Result Variable(s): PersenIHK

Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
.969	.022	.000	.926	1.000

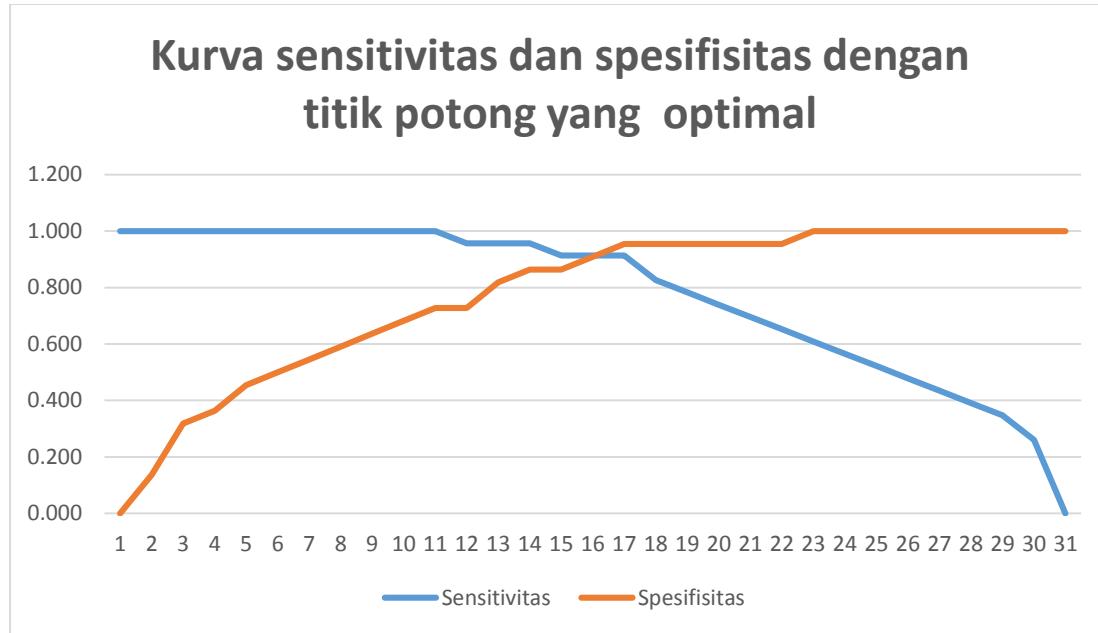
The test result variable(s): PersenIHK has at least one tie between the positive actual state group and the negative actual state group. Statistics may be biased.

a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

Tabel Titik Potong ROC (Excel)

Positif	Sensitivitas	Spesifisitas
-1.00	1.000	0.000
.50	1.000	.136
3.00	1.000	.318
6.00	1.000	.364
8.50	1.000	.455
11.00	1.000	.500
12.50	1.000	.545
14.00	1.000	.591
16.00	1.000	.636
18.00	1.000	.682
25.00	1.000	.727
33.00	.957	.727
35.50	.957	.818
42.50	.957	.864
51.00	.913	.864
53.50	.913	.909
64.50	.913	.955
77.50	.826	.955
80.50	.783	.955
82.00	.739	.955
83.50	.696	.955
84.50	.652	.955
86.00	.609	1.000
88.00	.565	1.000
91.00	.522	1.000
94.00	.478	1.000
95.50	.435	1.000
96.50	.391	1.000
97.50	.348	1.000
99.00	.261	1.000
101.00	0.000	1.000



Lampiran 8. Uji kemaknaan pemeriksaan GLUT-1 pada diagnosis sitologi positif, atipik, dan negatif (N=45)

HSitologi * IHK_GLUT1 Crosstabulation

		IHK_GLUT1		Total
		positif	negatif	
HSitologi	negatif	1	14	15
	atipik	7	8	15
	ganas	15	0	15
Total	23	22	45	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	26.324 ^a	2	.000
Likelihood Ratio	34.285	2	.000
Linear-by-Linear Association	25.565	1	.000
N of Valid Cases	45		

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 7.33.

Lampiran 9. Uji kemaknaan pemeriksaan GLUT-1 terhadap efusi jinak dan ganas (N=45)

IHK_GLUT1 * Hasil_akhir Crosstabulation

		Hasil_akhir		Total
		ganas	negatif	
IHK_GLUT1	positif	Count	21	23
		% within Hasil_akhir	91.3%	9.1% 51.1%
	negatif	Count	2	22
		% within Hasil_akhir	8.7%	90.9% 48.9%
Total		Count	23	22 45
		% within Hasil_akhir	100.0%	100.0% 100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	30.416 ^a	1	.000		
Continuity Correction ^b	27.215	1	.000		
Likelihood Ratio	35.367	1	.000		
Fisher's Exact Test				.000	.000
Linear-by-Linear Association	29.740	1	.000		
N of Valid Cases	45				

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 10.76.

b. Computed only for a 2x2 table

Lampiran 10. Surat Ijin Pelaksanaan Penelitian (SIPP)



UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN

Departemen Patologi Anatomi
Jl. Salemba Raya No.6
Tromol Pos 3225, Jakarta 10002
Telp. 62 21 319 05 888 Fax. 62 21 319 34 465
Email : patologi.anatomik@rscm.co.id
www.fk.ui.ac.id

Nomor : 18 /UN2.F1.D/PA/PPM.00.02/2018
Perihal : Permohonan izin penelitian

Kepada Yth.
dr. Julian Chendrasari
PPDS Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM
Jakarta

Sehubungan dengan surat Saudara perihal permohonan izin penelitian, dengan ini disampaikan beberapa hal sebagai berikut :

1. Pada prinsipnya kami dapat memberikan izin untuk penelitian di Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM. Penelitian dilakukan oleh peserta PPDS Departemen Patologi Anatomi FKUI an dr. Julian Chendrasari dengan judul penelitian "Potensi Ekspresi Imunohistokimia GLUT-1 pada Sel Atipik Cairan Rongga Tubuh sebagai Penanda Diagnostik".
2. Untuk teknis pelaksanaannya mohon agar yang bersangkutan berhubungan dengan Sekretariat Penelitian (Sdri. Sifa / lis), Koordinator Penelitian (dr. Nur Rahadiani, PhD, SpPA), Pembimbing Penelitian (dr. Rahmiati, SpPA(K)) dan Bagian Keuangan (Sdri. Riska) untuk menyelesaikan biaya administrasi penelitian.

Demikian yang dapat kami sampaikan, atas perhatian dan kerjasama yang baik diucapkan terima kasih.



Tembusan :

1. Sekretaris/Koord. Adm. & Keu
2. Koordinator Penelitian
3. Pembimbing Penelitian
4. PJ Keuangan
5. Arsip

Lampiran 11. Surat Keterangan Lolos Kaji Etik

UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN

Gedung Fakultas Kedokteran UI
Jl. Salemba Raya No.6, Jakarta 10430
PO.Box 1358
T. 62.21.3912477, 31930371, 31930373,
3922977, 3927360, 3153236
F. 62.21.3912477, 31930372, 3157288
E. humas@fk.ui.ac.id, office@fk.ui.ac.id
fk.ui.ac.id

Nomor ~~024~~ /UN2.F1/ETIK/2018

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the Protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the research protocol entitled:

"Potensi Ekspresi Imunositokimia GLUT-1 pada Sel Atipik Cairan Rongga Tubuh sebagai Penanda Diagnostik".
No. protokol: 18-04-0363

<u>Peneliti Utama</u> Principal Investigator	: dr. Julian Chendrasari
<u>Nama Institusi</u> Name of the Institution	: Patologi Anatomik FKUI-RSCM

dan telah menyetujui protokol tersebut di atas
and approves the above mentioned protocol

11 APR 2018

Ketua Chairman
R.Sitorus

Prof. dr. Rita Sita Sitorus, SpM(K), PhD

* Ethical approval berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan.
** Peneliti berkewajiban

- 1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian.
- 2. Memberitahukan status penelitian apabila
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical approval* harus diperpanjang.
 - b. Penelitian berhenti di tengah jalan.
- 3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*).
- 4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum protokol penelitian mendapat lolos kaji etik dan sebelum memperoleh *informed consent* dari subjek penelitian.
- 5. Menyampaikan laporan akhir, bila penelitian sudah selesai.
- 6. Cantumkan nomor protokol ID pada setiap komunikasi dengan KEPK FKUI-RSCM.

Semua prosedur persetujuan dilakukan sesuai dengan standar ICH-GCP.
All procedure of Ethical Approval are performed in accordance with ICH-GCP standard procedure.

Lampiran 12. Daftar Riwayat Hidup

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

DATA PRIBADI

Nama : Julian Chendrasari
 Tempat/Tgl. lahir : Sukabumi/ 26 Juli 1987
 Jenis Kelamin : Perempuan
 Nomor Mahasiswa : 1306491885
 Alamat : Jl. A. Yani no. 219B, Sukabumi
 Telpon/HP : 087820808720
 Alamat Email : julian.chendrasari@gmail.com

RIWAYAT PENDIDIKAN DAN KURSUS

No	Nama Pendidikan	Jurusan	Tahun Ijasah/Sertifikat	Tempat
1.	Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia	Kedokteran umum	2010	Jakarta
2.	Kursus dan slide seminar patologi hematolimfoid dan endokrin		2016	Jakarta
3.	Kursus dan slide seminar patologi ginekologi dan payudara		2017	Yogyakarta
4.	Kursus dan slide seminar patologi gastrointestinal dan pankreatohepatobilier		2018	Jakarta

PENELITIAN

Kegiatan	Peranan	Tahun	Keterangan
Profil Sitologi Aspirasi Tiroid dengan Diagnosis <i>Suspicious for Malignancy</i> (SFM)	Peneliti	2017	Tinjauan Retrospektif