

Hubungan Imunoekspresi CD44 dengan Metastasis Karsinoma Papilari Tiroid

Yasni Iryani Widiastih¹, Herry Yulianti¹, Hasrayati Agustina¹, Bethy S Hernowo¹

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran

Abstrak

Karsinoma tiroid (KT) merupakan keganasan endokrin yang paling sering terjadi dan karsinoma papilari tiroid (KPT) adalah tipe histopatologis terbanyak mencapai 80%. KPT mempunyai perangai yang baik dengan pertumbuhan yang lambat. Namun ditemukan KPT dengan perangai yang agresif, ditandai dengan metastasis ke KGB lebih dari 50% kasus. *Cluster of Differentiation* 44 (CD44) merupakan penanda imunohistokimia yang berperan dalam memprediksi sifat agresif tumor ganas payudara. Namun peran CD44 pada KPT belum diketahui dengan pasti. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui hubungan antara imunoekspresi CD44 dengan metastasis pada KPT. Penelitian ini merupakan penelitian *cross sectional* terhadap kasus KPT yang didiagnosis secara histopatologis di Departemen Patologi Anatomi RSUP Dr Hasan Sadikin Bandung tahun 2012-2017. Jumlah sampel sebanyak 60 sampel yang terdiri dari 30 kasus KPT non metastasis dan 30 kasus KPT metastasis, keseluruhan sampel dilakukan pulasan imunohistokimia CD44. Imunoekspresi CD44 pada kelompok metastasis terekspresi lemah pada 6 kasus (20,0%) dan terekspresi kuat pada 24 kasus (80,0%), sedangkan pada kelompok non metastasis terekspresi lemah pada 13 kasus (43,3%) dan terekspresi kuat pada 17 kasus (56,7%) dengan nilai p value 0,052. Hasil dari penelitian ini adalah tidak terdapat hubungan yang signifikan secara statistik antara imunoekspresi CD44 terhadap metastasis. Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa CD44 tidak berperan di dalam metastasis dan tidak dapat dijadikan penanda untuk memprediksi metastasis pada kasus KPT serta diperlukan penelitian lanjutan dengan pemilihan penanda yang lebih selektif.

Kata Kunci : agresif, CD44, KPT, metastasis

Association CD44 Immunoexpression with Metastasis of Papillary Carcinoma Thyroid

Abstract

The most common endocrine malignancy is thyroid carcinoma (TC), while Papillary carcinoma thyroid (PCT) is the most frequent histopathological type, in almost 80% of cases. PCT is having a good behaviour because of its slow-growing nature. But there are also PCT with aggressive behaviour having nodal metastasizing capability in more than 50% of cases. CD44 is a marker in predicting aggressiveness in breast carcinoma whereas its role in PCT's metastasis is still unknown. The aim of this study is to find association between CD44 with PCT's metastasis. This study is used a retrospective case control analysis design using data of patients whom diagnosed as PCT at the Department of Anatomical Pathology of Dr Hasan Sadikin Hospital Bandung from 2012-2017. There were 60 samples consisting of 30 cases of non metastasize PCT and 30 cases of metastasize PCT. Immunohistochemical staining of CD44 were performed to whole samples. There were weak immunoexpression of CD44 in 6 cases (20,0%) and strong expression in 24 cases (80,0%) of metastasize group, and weak expression in 13 cases (43,3%) and strong expression in 17 cases (56,7%) of non metastasize group with p value 0,052. The result of both study is statistically insignificant

Keywords: aggressive, metastasis, PCT

Korespondensi: Yasni Iryani Widiastih. Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran. Bandung

Pendahuluan

Karsinoma tiroid (KT) merupakan tumor ganas yang paling sering terjadi pada organ endokrin.^{1,2} Menurut data Globocan tahun 2012 KT termasuk dalam 10 besar keganasan.³ Di

seluruh dunia KT menduduki peringkat ke-8 keganasan pada wanita sedangkan di Asia termasuk keganasan peringkat ke-9, dan di Indonesia termasuk keganasan peringkat ke-8.^{4,5}

Karsinoma papilari tiroid (KPT) merupakan tipe histopatologis tumor ganas tiroid yang paling sering terjadi, mencakup 80% dari seluruh keganasan di tiroid.⁵ KPT lebih banyak terjadi pada wanita dewasa usia 30-60 tahun dengan perbandingan insidensi wanita dibandingkan pria 3:1.^{1, 5}

Insiden karsinoma tiroid di seluruh dunia bervariasi bergantung daerah geografis dan secara keseluruhan lebih tinggi di negara ekonomi berkembang.⁵ Berdasarkan data SEER (*Surveillance, Epidemiology, and End Results*) di Amerika Serikat, insiden karsinoma tiroid meningkat dengan kecepatan pertumbuhan 2,4% per tahun antara tahun 1980 hingga 1997 dan 6,5% per tahun sejak tahun 1997.⁶ Peningkatan rata-rata kasus KT yang terjadi antara tahun 2000-2009 mencapai 6,6% per tahun, sehingga menjadikan KT sebagai kasus keganasan yang paling tinggi peningkatannya diantara semua keganasan lainnya.⁷ Menurut analisis Davies dan Welch peningkatan kasus KT yang bermakna mencapai 2,9 kali lipat dan KPT merupakan tipe histopatologis paling banyak. Peningkatan jumlah kasus KPT ini tidak terjadi pada tipe histopatologis yang lain (seperti pada tipe histopatologis folikular, medulari dan anaplastik) dalam kurun waktu yang sama.¹ Menurut catatan statistik Rumah Sakit Hasan Sadikin (RSHS) Bandung, KT menempati urutan ke-6 dengan jumlah kasus sebanyak 153 kasus selama periode 1 Januari sampai 31 Desember 2016.⁸ Namun data tersebut tidak mencantumkan secara spesifik tipe histopatologis KT yang terjadi. Data tipe histopatologis lengkap didapatkan dari data rekam medis Departemen Patologi Anatomi RSHS yang menyebutkan tipe histopatologis KT paling banyak dari rentang waktu 1 Januari sampai 31 Desember 2016 adalah tipe histopatologis KPT.⁸⁹

Tumor ganas tiroid berkembang dari sel-sel folikel, diklasifikasikan menjadi *well-differentiated thyroid cancer* (WDTC), *poorly differentiated thyroid cancer* (PDTC), dan *anaplastic thyroid cancer* (ATC). Karsinoma papilari tiroid (KPT) dan karsinoma folikular tiroid (KFT) termasuk dalam kelompok WDTC.¹⁰ Manifestasi klinis pasien dengan KPT berupa masa atau nodul soliter yang teraba di leher yang tidak terasa nyeri. Pada

pemindaian menggunakan radioaktif iodine nodul ini menghasilkan gambaran *cold nodule*.¹¹

KPT mempunyai karakteristik perjalanan penyakit yang indolen dengan angka harapan hidup dalam 5 tahun pertama rata-rata 90% pada laki-laki dan 94% pada wanita.^{1, 12} KPT banyak mendapat perhatian para peneliti karena memiliki perangai biologis yang baik, mirip tumor jinak dengan pertumbuhan yang lambat.¹³ Walaupun memiliki perangai biologis yang baik namun ditemukan KPT yang agresif. Hal ini sesuai dengan penelitian Norman pada tahun 2016 yang menyatakan bahwa peningkatan kasus KPT dalam kurun waktu 10 tahun terakhir mencapai angka 80-90%.¹⁴ Paulino dkk menyatakan bahwa terjadinya metastasis ke KGB pada KPT mencapai > 50% kasus, dan hal ini berhubungan dengan prognosis yang buruk.^{14, 15} Angka kejadian metastasis pada pasien KPT di RSHS belum tergambar dengan jelas. Pasien KPT yang telah bermetastasis mempunyai risiko yang lebih tinggi karena prognosis yang buruk dimulai dari penurunan kualitas hidup pasien sampai terjadinya kematian. Selain bermetastasis ke KGB di leher, KPT sering bermetastasis ke paru-paru dan sistem skeletal. Efek metastasis ke sumsum tulang belakang menyebabkan sejumlah gangguan termasuk nyeri hebat, dan defisit neurologis.¹⁶

Dengan ditemukannya KPT yang agresif, prognosis memburuk dan risiko kematian meningkat. Hal ini menjadikan penatalaksanaan KPT menjadi kontroversial, satu kelompok mengharuskan tindakan yang radikal sedangkan kelompok lain melakukan tindakan yang konservatif, hal ini disesuaikan dengan klasifikasi risiko rendah dan risiko tinggi berdasarkan sistem skoring AMES (*Age, Metastasis, Extension, Size*).^{10, 13, 17, 18}

Tingkat agresifitas sel tumor ditandai dengan adanya metastasis. Metastasis merupakan proses *multistep* penyebaran sel tumor ke tempat lain yang secara fisik tidak berhubungan dengan lokasi tumor primer. Metastasis merupakan karakteristik tumor ganas.¹⁹ Kaskade metastasis dibagi menjadi 2 tahapan penting yaitu invasi matriks ekstraseluler/*extracellular matrix* (ECM) dan penyebaran sel tumor melalui pembuluh darah. Sel tumor ganas harus

melewati beberapa tahapan di ECM guna tercapainya kaskade metastasis.¹⁹ Pada proses invasi matriks ekstraseluler (ECM) terdapat empat tahapan penting yaitu *detachment*, degradasi matriks ekstraseluler, *attachment* dan migrasi.¹⁹ Proses *detachment* melibatkan hilangnya fungsi *E-cadherin*, aktivasi *gen β-catenin*, faktor transkripsi *Snail* dan *Twist* yang mensupresi ekspresi *E-cadherin* dan terdapat proses *Epithelial-mesenchymal transition* (EMT). Proses EMT ini diduga meningkatkan sifat sel tumor ganas menjadi lebih invasif dan motil.²⁰ Proses degradasi matriks ekstraseluler melibatkan enzim proteolitik seperti *cathepsin-D*, *urokinase* dan *matrix metalloproteinase* (MMP). Proses *attachment* melibatkan *integrin*, *laminin*, kolagen tipe IV, MMP-2 dan MMP-9. Proses migrasi melibatkan aktin sitoskeleton. Semua proses ini dilalui sel tumor ganas guna tercapainya metastasis.¹⁹ Proses metastasis pada KPT lebih banyak ditemukan ke KGB regional. Menurut Pereira dkk penyebaran ke KGB regional berhubungan dengan *lymph vessel density* (LVD). Metastasis KGB pada KPT lebih banyak disebabkan intratumoral LVD daripada peritumoral LVD. Penyebarannya lebih banyak ditentukan dari kemampuan sel tumor menginvasi pembuluh lymph di sekeliling jaringan tiroid daripada kemampuan sel tumor membentuk lymphangiogenesis.²¹

Pasien KPT pasca tiroidektomi, terutama yang ditemukan telah bermetastasis, harus menjalani observasi ketat dengan melakukan kontrol rutin. Namun banyak faktor yang dapat mempengaruhi kepatuhan pasien dalam rangka melakukan kontrol tersebut. Hal ini menyebabkan angka kejadian rekurensi dan metastasis pada pasien KPT pasca tiroidektomi tidak bisa dikenali lebih awal. Pada saat ini belum ditemukan cara yang paling efektif dalam mendeteksi lebih dini perangai biologis KPT yang berpotensi lebih agresif tersebut. Untuk itu diperlukan adanya penanda yang dapat mengenali perangai sel tumor sehingga bisa memprediksi lebih awal tingkat agresifitas dan kemampuan sel tumor untuk bermetastasis.

Beberapa penanda yang dapat mendeteksi perangai sel tumor yang agresif yang ditemukan berperan dalam berbagai keganasan diantaranya

adalah *Cluster of Differentiation 44* (CD44). CD44 merupakan glikoprotein transmembrane, berperan sebagai reseptor adhesi sel permukaan. CD44 diekspresikan pada banyak sel tumor ganas lewat pengaturan proses metastasis dengan cara merekrut CD44 ke sel permukaan. Interaksinya dengan ligan *extracellular-matrix* (ECM) tertentu bisa meningkatkan proses invasi dan migrasi, yaitu tahapan yang berperan dalam proses metastasis.²² Di dalam jaringan normal CD44 berperan penting dalam metabolisme hyaluron, aktivasi limfosit, dan mensekresi sitokin. Disebutkan CD44 memerantarai fungsi limfosit seperti aktivasi sel, motilitas, pembelahan dan adhesi ke *extra-celullar matrix* (ECM).²² CD44 juga diduga merupakan penanda *Cancer Stem Cell* (CSC) yang berperan dalam pembaharuan sel, inisiasi sel tumor, metastasis dan kemoradioresisten.^{23, 24}

CD44 dikenali berperan di dalam metastasis pada kasus hepatoma, adenokarsinoma kolon, karsinoma serviks, karsinoma endometrium, tumor ganas pancreas serta tumor ganas payudara.²⁵⁻²⁸ Akan tetapi peran CD44 terhadap metastasis pada kasus KPT sampai saat ini belum diketahui.

Pada penelitian ini akan diteliti apakah CD44 berhubungan dengan metastasis pada KPT. Penelitian ini penting dilakukan untuk mengetahui faktor-faktor yang mempengaruhi perangai biologis KPT dan kemampuannya mengadakan metastasis. Dengan mengetahui hal ini diharapkan klinisi dapat mengenali lebih dini kecenderungan perangai KPT yang agresif, sehingga dapat membantumenurunkan angka rekurensi atau metastasis dengan terapi yang lebih agresif sehingga prognosis pasien kedepannya lebih baik.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan desain *cross sectional* untuk menganalisis hubungan antar PKCε dan CD44 pada KPT yang non metastasis dan KPT yang telah bermetastasis. Seluruh pasien yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi akan dimasukkan sebagai subjek penelitian. Data

karakteristik subjek penelitian akan diperoleh dari rekam medis pasien di RSHS .

Bahan penelitian adalah blok parafin dari pasien yang dilakukan tindakan operasi tiroidektomi, yang diagnosis secara histopatologi sebagai KPT pada 01 Januari 2012 – 30 April 2017.,kemudian dilakukan pembacaan ulang untuk menentukan metastasis dan non metastasis, kemudian dilakukan pulasan imunohistokimia CD44.

Imunoekspresi CD44 adalah gambaran imunoreaktif sel tumor berwarna coklat pada membran intiterhadap pulasan imunohistokimia menggunakan antibody CD44 (MRQ-13) Mouse Monoclonal Primary Antibody C. Kontrol positif adalah jaringan urotelial normal.²⁹

Penilaian imunoekspresi PKCε dan CD44 dibuat berdasarkan penelitian pada salah satu jurnal. Persentase sel positif yang berwarna coklat pada membran inti dihitung menggunakan mikroskop dengan pembesaran 10 *high power fields* (HPF) menggunakan metoda semikuantitatif sebagai berikut : Intensitas 0= negatif; 1= lemah 2= sedang dan 3= kuat.

Distribusi 0= Negatif, 1=<20%, 2=20-50%, 3=50-80%, 4=>80% sel tumor berwarna. Nilai histoskor rendah = 0-4, nilai histoskor tinggi >6. Penentuan nilai diambil berdasarkan jurnal CD44.³⁰

Data penelitian berupa data kategorik dua kelompok tidak berpasangan, analisis bivariabel dengan menggunakan uji *chi-square* dengan $p \leq 0,05$ kemudian dianalisis dengan menggunakan program Stata.

Hasil

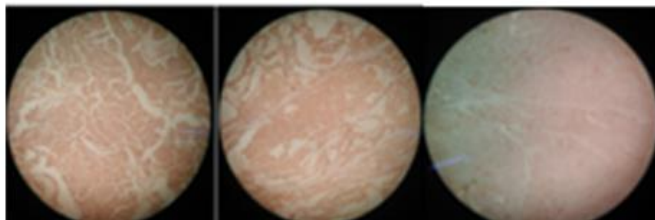
Karakteristik subjek penelitian berdasarkan usia dan jenis kelamin pada kelompok metastasis dan non metastasis. Pada kelompok metastasis, paling banyak ditemukan kelompok usia >50 tahun sebanyak 13 atau sebesar 43.3% dengan jenis kelamin perempuan sebanyak 18 atau sebesar 60.0%. Pada kelompok non metastasis, paling banyak ditemukan kelompok usia >50 tahun sebanyak 12 atau sebesar 40.0% dengan jenis kelamin perempuan sebanyak 23 atau sebesar 76.7%. Karakteristik subjek penelitian dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1 Perbandingan antara karakteristik subjek penelitian pada kelompok KPT metastasis dan non metastasis.

Variabel	Kelompok		Nilai P
	Metastasis N=30	Non Metastasis N=30	
Usia			1.000
<20 tahun	3(10.0%)	1(3.3%)	
21-30 tahun	4(13.3%)	5(16.7%)	
31-40 tahun	3(10.0%)	5(16.7%)	
41-50 tahun	7(23.3%)	7(23.3%)	
>50 tahun	13(43.3%)	12(40.0%)	
Jenis Kelamin			0.165
Laki-laki	12(40.0%)	7(23.3%)	
Perempuan	18(60.0%)	23(76.7%)	
Ukuran Tumor			0.492
>2	30(100.0%)	28(93.3%)	
<2	0(0.0%)	2(6.7%)	

Dari tabel tersebut ditunjukkan bahwa usia rerata adalah >50 tahun, lebih banyak ditemukan pada wanita 18 kasus pada kelompok metastasis dan 23 kasus pada kelompok non metastasis, dengan ukuran tumor >2cm 30 kasus

pada kelompok metastasis dan 28 kasus pada kelompok non metastasis.



Gambar 1. Pulasan imunoekspresi CD44 dari kiri ke kanan Intensitas lemah; Intensitas sedang; Intensitas kuat (pembesaran 200x)

Penilaian imunoekspresi PKC ϵ dan CD44 dibuat berdasarkan penelitian pada salah satu jurnal. Persentase sel positif yang terwarnai coklat pada membran inti dihitung menggunakan mikroskop dengan pembesaran 10 *high power fields* (HPF) menggunakan metoda semi-

kuantitatif sebagai berikut : Intensitas 0= negatif; 1= lemah 2= sedang dan 3= kuat. Distribusi 0= Negatif, 1=<20%, 2=20-50%, 3=50-80%, 4=>80% sel tumor terwarnai. Nilai histoskor rendah = 0-4, nilai histoskor tinggi >6. Penentuan nilai diambil berdasarkan jurnal CD44.³⁰

Tabel 2. Hubungan Imunoekspresi CD44 pada kelompok KPT metastasis dan non metastasis.

Variabel	Kelompok		Nilai P
	Metastasis N=30	Non Metastasis N=30	
Imunoekspresi CD44			
Tinggi	6(20.0%)	13(43.3%)	0.052
Rendah	24(80.0%)	17(56.7%)	

Hasil analisis statistic menggunakan uji *Chi-Square* menunjukkan proporsi imunoekspresi CD44 kuat terbanyak pada kelompok metastasis dengan nilai $p>0,05$.

Kesimpulannya adalah tidak terdapat hubungan yang signifikan secara statistik antara imunoekspresi PKC ϵ dan KPT kelompok metastasis dan non metastasis.

Pembahasan

Pada penelitian ini ditemukan kasus KPT terbanyak ada dalam rentang usia >50 tahun sebanyak 25 kasus (41,66%) dengan jumlah kasus wanita 3 kali lebih banyak daripada pria. Hal ini sesuai analisis National Cancer Institute tahun 2017 yang menyatakan bahwa insidensi tinggi KPT, meningkat setelah usia 30 tahun dan mencapai puncak pada rentang usia 30-60 tahun, dengan jenis kelamin wanita 2,5-3 kali lebih banyak daripada pria.²

Pada penelitian ini tidak terdapat hubungan yang signifikan antara imunoekspresi

CD44 dengan metastasis pada KPT. Hasil penelitian ini tidak sesuai dengan hasil penelitian menurut Xiaoping dkk dan Chen dkk. Menurut penelitian Xiaoping dkk yang melihat hubungan imunoekspresi CD44 terhadap tumor ganas *caput pancreas*, didapatkan 64,6% (dari 48 total sampel) memberikan ekspresi CD44 positif dan menunjukkan hubungan signifikan dengan metastasis. CD44 berperan dalam proses invasi tumor ganas *caput pancreas* melalui regulasi MT1-MMP.²⁸ Menurut Chen dkk yang merangkum berbagai hasil penelitian tumor ganas kepala dan leher yang menggunakan metoda pewarnaan imunohistokimia CD44, didapatkan hasil bahwa CD44 berhubungan dengan metastasis KGB pada tumor ganas *laryngopharygeal*. Chen menyatakan belum diketahui secara pasti penyebab ekspresi tinggi CD44 di tumor ganas *laryngopharygeal*, diduga perbedaan *isoform* CD44 memegang peranan penting.³¹ Hasil yang sama didapatkan pada penelitian Dimitrios dkk, Wu dkk, serta Honing dkk yang menyatakan CD44 memberikan hasil

yang signifikan terhadap metastasis KGB pada tumor ganas esofagus dan gaster.^{26, 32, 33}

Meskipun demikian ditemukan penelitian yang sesuai dengan hasil penelitian ini yaitu penelitian menurut Chen dkk, Wojciechowski dkk, Ayhan dkk, dan Stokes. Penelitian Chen dkk menemukan bahwa CD44 tidak berperan terhadap metastasis KGB pada tumor ganas oral. Penelitian Wojciechowski dkk, Ayhan dkk, Stokes dkk, menunjukkan bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara CD44 dengan kedalaman invasi pada tumor ganas endometrium. Walaupun pada penelitian Wojciechowski dkk, Ayhan dkk dan Stokes dkk menggunakan CD44 *isoform* yang berbeda baik *isoform* standar maupun *isoform* varian.^{27,28, 34, 35} Hal ini menandakan dalam penelitian tersebut baik *isoform* CD44 standar maupun *isoform* CD44 varian, tidak mempengaruhi hasil penelitian yang tidak signifikan.

Namun sebaliknya menurut analisis Linda dkk, imunoekspresi *isoform* CD44 yang berbeda (sCD44 dan CD44v), dan letak domain yang berbeda menunjukkan imunoekspresi berbeda pada berbagai keganasan. Sebagai contoh hasil penelitian CD44 yang berkaitan dengan letak domain *intracellular* yaitu CD44 *intracellular domain* (CD44-ICD) dikatakan berhubungan dengan sel tumor ganas payudara yang memiliki potensi metastasis. Contoh penelitian lainnya CD44 yang berkaitan dengan varian *isoform* yaitu CD44v6 bisa mengenali tumor ganas pankreas pada tikus yang belum bermetastasis dan diduga memiliki potensi untuk bermetastasis.²² Penelitian Yongmin dkk, sejalan dengan penelitian Linda dkk, menyatakan bahwa imunoekspresi berbagai *isoform* CD44 menunjukkan perbedaan pada berbagai keganasan. Menurut Yongmin dkk pada kasus KPT, jenis *isoform* CD44 yang digunakan adalah sCD44, CD44v5 dan CD44v6, namun dengan peranan untuk memprediksi rekurensi dan stadium.²³

Menurut Chen dkk peranan CD44 dengan *isoform* berbeda belum diketahui secara pasti namun diduga letak domain CD44 berpengaruh terhadap hasil imunoekspresi yang berbeda-

beda. Pada tumor ganas oral CD44 terekspresi rendah, sedangkan pada tumor ganas *laryngopharygeal* CD44 terekspresi kuat hal ini disebabkan penggunaan CD44 dengan letak domain ekstraseluler. Penting untuk dicatat bahwa tidak semua CD44 intensitas lemah berarti ekspresi CD44 rendah. Hal ini bisa disebabkan oleh adanya selubung (*shedding*) atau *cutting off* ekspresi CD44 yang terletak di domain ekstraseluler, sehingga menyebabkan ekspresi CD44 rendah yang palsu.³¹

Selain itu ditemukan pula beberapa factor yang diduga mengganggu jalur sinyal CD44 metastasis KPT yaitu jalur sinyal MMP. CD44 mengatur aktivasi Snail-1 dan CD44-RHAMM yang mengaktivasi MT1-MMP dan MMP-9. Menurut Mehmet dkk regulasi MMP diatur oleh *Tissue Inhibitors of Metalloproteinases* (TIMP). TIMP berikatan dengan gugus aktif MMP, menghambat aktivitas MMP sehingga tidak terjadi pertumbuhan tumor dan metastasis. Di dalam penelitian kami kemungkinan hal ini menjadi salah satu factor penyebab tidak ada hubungan yang signifikan antara CD44 dengan metastasis.³⁶

Simpulan

Imunoekspresi PKCε dan CD44 tidak dapat digunakan sebagai penanda untuk memprediksi kemungkinan perangi yang agresif pada KPT. Penelitian ini dapat menjadi landasan untuk penelitian lanjutan dalam meneliti perangi agresif dari KPT dengan pemilihan penanda yang lebih selektif.

Daftar pustaka

1. Asit Arora NST, R Michael Tuttle. Pathological spectrum of thyroid disease. A Practical Manual of Thyroid and Parathyroid Diseases. New York-USA: Wiley-Blackwell; 2010. p. 14-24.
2. Brady B. Incidence and Types of Thyroid Cancer Endocrine Web. 2017;;1-9
3. Globocan. Estimated cancer incidence mortality and prevalence worldwide in 2012. IARC. 2012.

4. Globocan 2012 : Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012 [database on the Internet]. IARC. 2012.
5. Jason D Presscot SP. Bilaterality in Papillary Thyroid Carcinoma: Does It Influence Prognosis. *Annals of Surgical Oncology*. 2012;1-2.
6. Munim H Deen KMB, Amanda Janitz, Janis Campbell. *Cancers of Thyroid: Overview and Statistics in The United States and Oklahoma*. HHS Public Access. 2016;1-10.
7. Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nat Rev Cancer*. 2013 Mar;13(3):184-99.
8. Rangkang penyakit rawat inap RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung [database on the Internet]. Instalasi Rekam Medis RSUP Dr Hasan Sadikin. 2016 [cited 18 September 2017].
9. Anatomik DP. Badan Registrasi Kanker. In: Anatomik P, editor. *Bandung 2012-2017*. p. 1-5.
10. A.E. Baciú EU, V.I. Suica. Proteomic analysis of plasma molecular markers as predictors of differentiated thyroid cancer. *Romanian report*. 2015 5 November 2015;1-10.
11. Simoes MS KT, Nikirforov Y. *Thyroid Tumor*. World Health Organization Classification of Tumour Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs. Lyon; IARC Press ed. Lyon France: IARC Press; 2004.
12. Hay ID TG, Grant CS , et al. Papillary thyroid carcinoma managed at the Mayo Clinic during six decades (1940 – 1999): temporal trends in initial therapy and long -term outcome in 2444 consecutively treated patients. *World J Surg* 2002;26: 879 – 85.
13. Achmad D. The interaction of mutan B-RAF and VEGF-C expression as a risk factor for regional lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma. Bandung: Padjadjaran University; 2012.
14. Norman J. Symptoms, Treatment, and Prognosis for Papillary Thyroid Carcinoma. *The European Journal of Radiology*. 2016 7 July 2016.
15. Paulino Tallon de Lara EHH, Glenda G Callendar, David Cheng, Hari A Deshpande. *Management of Papillary Thyroid Cancer : An Overview for the Primary Care, Physician Journal Clinical Outcomes Management*. 2014;1-15.
16. Zhou Z, Li Y, Yan X, Wang X, Chen S, Xiao J. Characteristics of a thyroid carcinoma cell line derived from spinal metastasis. *Biosci Rep*. 2016 Dec;36(6).
17. Cady B. *Beyond Risk Groups. A New Look at Differentiated Thyroid Cancer: Swiss Surgery*; 2000. p. 142-50.
18. Shah JP PS. *Head and Neck Surgery and Oncology*. 3rd ed. St Louis: Mosby; 2003.
19. Vinay Kumar AKA, Jon C Aster. *Neoplasia. Robbins Basic Pathology*. 10 ed. Philadelphia Pennsylvania: Elsevier Inc; 2018. p. 189-242.
20. Jiang WG, Sanders AJ, Katoh M, Ungefroren H, Gieseler F, Prince M, et al. Tissue invasion and metastasis: Molecular, biological and clinical perspectives. *Semin Cancer Biol*. 2015 Dec;35 Suppl:S244-S75.
21. Filipe Pereira SSP, Marta Mesquita, Tiago Morais, Magdalena M Costa. Lymph Node Metastasis in Papillary and Medullary Thyroid Carcinoma are Independent of Intratumoral Lymphatic Vessel Density. *European Thyroid Journal*. 2017;57-64.
22. Linda T Senbajo MAC. CD44: A multifunctional Cell Surface Adhesion Receptor Is a Regulator of Progression and Metastasis of Cancer Cells. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2017;1-6.
23. Yongmin Yan XZ, Daoyan Wei. Concise Review: Emerging Role of CD44 in Cancer Stem Cells: A Promising Biomarker and Therapeutic Target. *Stem Cells Transl Med*. 2015 Sep;4(9):1033-43.
24. Leone J PJ, Dominguez ME, Iturbe J, Leone JP, Mac Donnel. Relevant Role of Di-Fucosylated Ley Antigen in the Outcome of Locally Advanced Cervical Squamous Cell Carcinoma Patients Treated with Cisplatin Regimen. *Translational Medicine*. 2015;1-8.
25. Naor D NS, Golan I et al. CD44 in cancer. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2002;39:527–79.
26. Wu Y LZ, Zhang C, et al. CD44 family proteins in gastric cancer; a meta-analysis and narrative review. *Int J Clin Exp Med*. 2015;3595-606.
27. Michal Wojciechowski TK, Janusa Smigielski, Andrzej Malinowski. CD44 expression in

- curettage and postoperative specimens of endometrial cancer. *Gynecologic Oncology*. 2015:383-90.
- 28.Li Xiaoping ZX, Zheng Leizhen, Guo Weijian. Expression and Significance of CD44 and pAKT in Pancreatic Head Cancer. *World Journal of Surgical Oncology*. 2015:1-7.
- 29.CD44 (MRQ-13) Mouse Monoclonal Antibody. In: Marque C, editor. *Netherland: Sigma-Aldrich*; 2017. p. 1-5.
- 30.Saba Mohamed El-Gendi GHET, Samer Saad Bessa,, Kobil AMA. Immunohistochemical expression of CD44v6 in differentiated thyroid carcinomas. *Alexandria Journal of Medicine*. 2012;48:241-9.
- 31.Jianqiang Chen JZ, Jie Lu, Hua Xiong, Xueli Shi, Liang Gong. Significance of CD44 expression in head and neck cancer: a systemic review and meta analysis. *BMC Cancer*. 2014:1-9.
- 32.Dimitrios Schizas DM, Prodromos Kanavidis, et al. The prognostic value of CD44 expression in Epithelial-Mesenchymal Transition: Preliminary data from patients with gastric and esophageal cancer. *In Vivo*. 2016:939-44.
- 33.Honing J PK, Meijer C, et al. Loss of CD44 and SOX2 expression is correlated with a poor prognosis in esophageal adenocarcinoma patients. *Ann Surg Oncol*. 2014:657-64.
- 34.Ayşe Ayhan ECT, Ibrahim Bildirici, Ali Ayhan. Overexpression of CD44 variant 6 in Human Endometrial Cancer and Its Prognostic Significance. *Gynecologic Oncology*. 2001:1-10.
- 35.Gary N Stokes JBS, Christopher M Zahn, Brian S Kendall. Association of CD44 Isoform Immunohistochemical Expression with Myometrial and Vascular Invasion in Endometrioid Endometrial Carcinoma. *Gynecologic Oncology*. 2014:1-9.
- 36.Mehmet Topqul IC. The Biology of Cancer Metastasis. *Research Gate*. 2015:1-17.