

Online: <https://jurnal.fk.uisu.ac.id/index.php/ibnusina>

Ibnu Sina: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan-Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sumatera Utara

ISSN 1411-9986 (Print) | ISSN 2614-2996 (Online)



Artikel Penelitian

PEMERIKSAAN IMUNOHISTOKIMIA CLAUDIN-4 PADA PREPARAT CELL BLOCK CAIRAN EFUSI PLEURA BERDASARKAN KATEGORI DIAGNOSTIK THE INTERNATIONAL SYSTEM FOR REPORTING SEROUS FLUID CYTOPATHOLOGY

IMMUNOHISTOCHEMICAL EXAMINATION OF CLAUDIN-4 ON CELL BLOCK PREPARATIONS OF PLEURAL EFFUSION FLUIDS BASED ON DIAGNOSTIC CATEGORIES OF THE INTERNATIONAL SYSTEM FOR REPORTING SEROUS FLUID CYTOPATHOLOGY

Dede Bisma Kuncara^{a*}, Causa Trisna Mariedina^a, Betty^a, Joko S Lukito^a, Jessy Chrestella^a^aDepartment Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia

Histori Artikel

Diterima:
21 Oktober 2024Revisi:
14 Mei 2025Terbit:
1 Juli 2025

Kata Kunci

Efusi pleura, cell block, metastatic adenocarcinoma, claudin-4

Keywords

Pleural effusion, cell block, metastatic adenocarcinoma, claudin-4

*Korespondensi

Tel. 08126373577
Email:
DBisma@gmail.com

ABSTRAK

Efusi pleura mencerminkan kondisi patologis seperti gangguan paru, pleura, sistemik, hingga keganasan. Pemeriksaan sitologi dan imunohistokimia (IHK) cairan efusi pleura bertujuan untuk menilai keterlibatan pleura terhadap metastasis dan meningkatkan ketepatan diagnosis serta penilaian prognostik. Claudin-4, protein transmembran, diketahui terekspresi secara konsisten pada adenokarsinoma metastatik. Penelitian ini bertujuan mengetahui ekspresi IHK Claudin-4 pada sediaan cell block cairan efusi pleura berdasarkan *The International System for Reporting Serous Fluid Cytopathology*. Penelitian ini merupakan studi deskriptif analitik dengan pendekatan potong lintang terhadap 49 sampel cairan efusi pleura yang diproses menjadi cell block, kemudian dilakukan pewarnaan Hematoksin-Eosin dan IHK Claudin-4 di RS Pendidikan Prof. dr. Chairuddin Panusunan Lubis USU. Hasil menunjukkan kelompok usia terbanyak 41–50 tahun (32,65%), laki-laki lebih banyak (55,10%), cairan transudat (57,14%), dan volume efusi 11–20 mL (30,61%). Diagnosis sitologi terbanyak adalah kategori NFM (85,72%) dan MAL (14,28%). Ekspresi Claudin-4 positif ditemukan pada seluruh sampel kategori MAL (7/7) dan negatif pada kategori NFM (42/42). Simpulan: Ekspresi Claudin-4 positif pada semua kasus MAL dan negatif pada NFM, menunjukkan potensi Claudin-4 sebagai penanda diagnostik untuk efusi pleura maligna.

ABSTRACT

Pleural effusion reflects underlying pathological conditions such as pulmonary, pleural, systemic disorders, or malignancy. Cytological and immunohistochemical (IHC) examinations of pleural effusion fluid aim to assess pleural involvement by metastasis and improve diagnostic accuracy and prognostic evaluation. Claudin-4, a transmembrane protein, is consistently expressed in metastatic adenocarcinoma. This study aims to evaluate Claudin-4 IHC expression on cell block preparations of pleural effusion fluid based on *The International System for Reporting Serous Fluid Cytopathology*. This descriptive analytic study with a cross-sectional design involved 49 pleural effusion samples processed into cell blocks, followed by Hematoxylin-Eosin staining and Claudin-4 IHC staining at the Teaching Hospital Prof. Dr. Chairuddin Panusunan Lubis, Universitas Sumatera Utara. The highest number of samples came from patients aged 41–50 years (32.65%), with more males (55.10%). Most samples were transudates (57.14%) with volumes of 11–20 mL (30.61%). The most common cytological diagnosis was NFM (85.72%), followed by MAL (14.28%). Claudin-4 expression was positive in all MAL cases (7/7) and negative in all NFM cases (42/42). Conclusion: Claudin-4 expression was positive in all malignant (MAL) samples and negative in non-malignant (NFM) ones, indicating its potential as a diagnostic marker for malignant pleural effusion.

DOI: <http://doi.org/10.30743/ibnusina.v24i2.746>

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

PENDAHULUAN

Pleura merupakan membran serosa yang melingkupi parenkim paru, mediastinum, diafragma serta tulang iga. Pleura terdiri dari pleura viseral dan pleura parietal.¹ Pleura viseral membatasi permukaan luar parenkim paru termasuk fisura interlobaris, sementara pleura parietal membatasi dinding dada yang tersusun dari otot dada dan tulang iga, serta diafragma, mediastinum dan struktur servikal.^{1,2}

Efusi pleura adalah akumulasi cairan yang berlebihan pada rongga pleura, hal ini menunjukkan ketidakseimbangan antara pembentukan dan pengeluaran cairan pleura.³

Pemeriksaan sitologi bertujuan untuk mengamati ada atau tidaknya keterlibatan pleura dan metastasis pleura viseralis atau parietalis dari keganasan ekstrapulmoner.⁴ Pada kasus *malignant pleural effusion (MPE)* yang disebabkan oleh neoplasma dapat ditemui keberadaan sel-sel bersifat ganas pada sitologi cairan pleura.⁵

Pemeriksaan sitologi konvensional dengan pewarnaan hematoksilin dan eosin sebagai konfirmasi diagnostik, namun dalam penentuan jenis sel masih memiliki keterbatasan, hal ini dikarenakan terdapat kesulitan untuk menentukan diferensiasi perubahan seluler antara sel jinak dengan sel ganas, dan juga dalam membedakan antara *reactive mesothelial cell* dan sel-sel malignan.⁶ Dikarenakan keterbatasan teknik sitologi konvensional, metode *cell block* dikembangkan untuk memberikan gambaran morfologi sel yang lebih jelas serta untuk pemeriksaan lanjutan.^{6,7,8}

Pada beberapa kasus, sulit untuk membedakan antara *adenocarcinoma* dan *reactive mesothelial cell* menggunakan pemeriksaan sitologi cairan efusi dengan teknik konvensional. Gambaran morfologi yang sering tumpang tindih, serta sensitifitas dan spesifisitas pemeriksaan sitologi yang rendah, pemeriksaan imunohistokimia diperlukan sebagai pemeriksaan lanjutan untuk membedakan *adenocarcinoma* dengan *reactive mesothelial cell*.^{9,10} Pemeriksaan imunohistokimia tambahan ini bertujuan untuk konfirmasi diagnosis sitopatologi, serta untuk meningkatkan penentuan prognostik dan prediktif.^{11,12}

Claudin-4 merupakan protein transmembran yang berhubungan dengan *tight junction* dan ditemukan pada berbagai karsinoma pada manusia.^{13,14} *Claudin-4* telah divalidasi sebagai penanda yang berguna dalam membedakan *mesothelial cell* yang tidak mengekspresikan *claudin-4*, dengan *metastatic adenocarcinoma* yang secara konsisten menunjukkan adanya imunoreaktivitas untuk *claudin-4*.¹³

METODE

Penelitian ini merupakan studi deskriptif observasional yang bertujuan untuk mengidentifikasi ekspresi imunohistokimia *claudin-4* pada *cell block* spesimen cairan pleura berdasarkan kriteria diagnostik *The International System for Reporting Serous Fluid Cytopathology* dengan pendekatan *cross sectional* dimana setiap sampel pada penelitian ini diamati satu kali dan hanya pada satu saat. Penelitian ini telah mendapat izin dari Komite Etik penelitian kesehatan Fakultas Kedokteran

Universitas Sumatera Utara dengan nomor 1126/KEPK/USU/2024.

Besar sampel pada penelitian ini berdasarkan rumus besar sampel estimasi proporsi didapatkan 49 sampel. Distribusi frekuensi berdasarkan usia dikategorikan sebagai kelompok usia < 20 tahun, 20-30 tahun, 31-40 tahun, 41-50 tahun, 51-60 tahun, 61-70 tahun, >71 tahun. Jenis kelamin dikategorikan sebagai laki-laki dan perempuan. Jenis cairan efusi pleura dikategorikan transudat dan eksudat. Jumlah volume cairan spesimen efusi pleura dikategorikan <10 mL, 11-20 mL, 21-30 mL, 31-40 mL, 41-50 mL, 51> mL. Spesimen cairan efusi pleura dijadikan dalam bentuk *cell block* kategori diagnosis berdasarkan *The International System for reporting serous effusion cytopathology* sebagai *Negative for malignancy (NFM)*, *Atypia of undetermined (AUS)*, *Suspicious for malignancy (SFM)*, *Malignant (MAL)*. Penilaian ekspresi imunohistokimia *claudin-4* merupakan *membrane stain* dengan dikategorikan sebagai positif (+2 dan +3) dan negatif (0 dan +1).

HASIL

Berdasarkan data klinis menunjukkan bahwa penderita efusi pleura termuda didapati berusia 18 tahun dan usia tertua 71 tahun. Usia terbanyak ditemukan pada kelompok usia 41-50 tahun terdiri dari 16 sampel (32,65%), diikuti oleh kelompok usia 51-60 tahun terdiri dari 13 sampel (26,53%), 61-70 tahun terdiri dari 8

sampel (16,33%), 20-30 tahun terdiri dari 6 sampel (12,24%), >70 tahun terdiri dari 4 sampel (8,16%), pada kelompok usia <20 dan 31-40 terdiri dari masing-masing 1 sampel (2,04%).

Tabel 1. Distribusi frekuensi karakteristik pasien efusi pleura.

Karakteristik	Jumlah = n	Persentase (%)
Kelompok Usia		
<20	1	2,04
20-30	6	12,24
31-40	1	2,04
41-50	16	32,65
51-60	13	26,53
61-70	8	16,33
>70	4	8,16
Jenis Kelamin		
Laki-laki	27	55,10
Perempuan	22	44,90
Jenis cairan spesimen efusi pleura		
Transudat	28	57,14
Eksudat	21	42,86
Volume cairan		
1-10	9	18,37
11-20	15	30,61
21-30	8	16,33
31-40	2	4,08
41-50	11	22,45
51>	4	8,16
Diagnosis sitologi		
NFM	42	85,72
AUS	0	0
SFM	0	0
MAL	7	14,28
Ekspresi IHK claudin-4		
Positif	7	14,28
Negatif	42	85,72

Dari 49 sampel menunjukkan efusi pleura lebih banyak ditemukan pada subjek penelitian laki-laki terdiri dari 27 sampel (55,10%) dibandingkan perempuan yang terdiri dari 22 sampel (44,90%).

Jenis cairan pleura dari 49 sampel menunjukkan bahwa jenis cairan efusi pleura lebih banyak ditemukan berupa jenis cairan transudat yang terdiri dari 28 sampel (57,14%) dan eksudat terdiri dari 21 sampel (42,86%).

Volume cairan efusi pleura paling banyak didapati dengan jumlah volume 11-20 mL terdiri

dari 15 sampel (30,61%), diikuti 41-50 mL terdiri dari 11 sampel (22,45%), 1-10 mL terdiri dari 9 sampel (18,37%), 21-30 mL terdiri dari 8 sampel (16,33%), 51> mL terdiri dari 4 sampel (8,16%), 31-40 terdiri dari 2 sampel (4,08%).

Karakteristik diagnosis sitologi berdasarkan *The International System for reporting serous effusion cytopathology* terbanyak didapati kategori *NFM* terdiri dari 42 sampel (85,72%), *MAL* terdiri dari 7 sampel (14,28%), sedangkan *AUS* dan *SFM* tidak dijumpai.

DISKUSI

Pada penelitian ini didapatkan sebanyak 49 sampel cairan pleura terbanyak penderita pada kelompok usia 41-50 tahun (32,65%), diikuti oleh kelompok usia 51-60 tahun (26,53%) dan 61-70 tahun (16,33%). Distribusi frekuensi berdasarkan usia penderita sejalan dengan penelitian dilakukan oleh Yosefany di RSUP dr. Mohammad Hoesin (2022) sebanyak 96 sampel efusi pleura sebanyak 56 pasien (58,3%) berasal dari kelompok usia 40-59 tahun. Penurunan fungsi gen *Methylene tetrahydrofolatereductase (MTHFR)* pada usia pertengahan yakni 45-49 tahun sehingga dapat memicu terjadinya pembentukan tumor. *MTHFR* adalah enzim yang berfungsi sebagai proses metilasi homosistein dan metionin. Metionin adalah asam amino esensial yang memainkan peran penting pada tubuh manusia sebagai sintesis protein, detiksofiksasi, metilasi, sintesis neurotransmitter dan lain sebagainya.¹⁵

Didapati jenis kelamin laki-laki sebanyak 27 sampel (55,10%) dengan jumlah lebih banyak dari perempuan terdiri dari 22 sampel atau

44,90%. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Yosefany di RSUP dr. Mohammad Hoesin Palembang sebanyak 96 sampel terdiri dari laki-laki 60 sampel atau 62,50 % dan perempuan 36 sampel atau 37,5%.⁵³ Sebagian efusi pleura banyak ditemukan pada laki-laki disebabkan faktor predisposisi seperti: bekerja diluar rumah sehingga memiliki risiko terpapar penyakit, kebiasaan merokok dan konsumsi alkohol.¹⁶

Berdasarkan distribusi frekuensi jenis cairan spesimen efusi pleura dari 49 sampel didapatkan jenis cairan transudat 28 sampel (57,14%%). Jumlah jenis cairan transudat lebih banyak dibandingkan jenis cairan eksudat yang terdiri dari 21 sampel (38,78%). Hal ini sejalan dengan penelitian Saldi, Wahid dan Jumriati di Samarinda yang terdiri dari 28 sampel, 25 sampel merupakan cairan jernih dan 3 sampel merupakan cairan keruh atau pucat.¹⁷ Patogenesis efusi pleura diawali dengan ketidakseimbangan tekanan hidrostatik atau tekanan onkotik dalam pembuluh darah, tanpa adanya kerusakan langsung pada kapiler pleura. Beberapa mekanisme kompensasi yang mungkin terjadi sebagai respons terhadap akumulasi cairan efusi pleura.

Berdasarkan distribusi volume cairan pleura pada penelitian ini terbanyak pada kategori 11-20 mL (30,61%) kemudian diikuti dengan kategori 41-50 mL (22,45%). Sebagai kebutuhan analisis sitologi, volume sampel cairan pleura yang dianjurkan adalah sekitar 20-30 mL, meskipun sejumlah kecil cairan bisa cukup untuk pemeriksaan sitologi.

Distribusi frekuensi diagnosis sitologi pada penelitian ini ditentukan berdasarkan

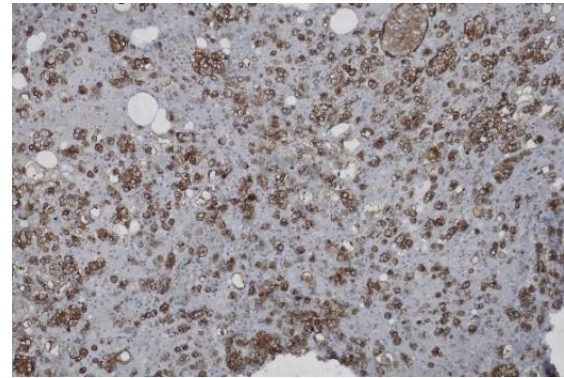
kategori *The International System for reporting serous effusion cytopathology*. Sebanyak 49 sampel didapati frekuensi diagnosis terbanyak *Negative for Malignancy (NFM)* yaitu sebanyak 42 sampel (85,72%) dan kemudian diikuti dengan kategori *Malignant (MAL)* sebanyak 7 sampel (14,28). *NFM* di definisikan sebagai tidak adanya tanda-tanda keganasan yang terlihat dalam sampel seperti gambaran yang menunjukkan peradangan, mesotel reaktif, atau sel mesotelial tanpa tanda-tanda keganasan sedangkan kategori *MAL* didefinisikan sebagai sediaan yang menunjukkan adanya tanda-tanda keganasan. Pada pemeriksaan imunohistokimia *claudin-4* kategori *MAL* terdiri dari 7/7 sampel (100%) keseluruhannya tereksresi positif pada pewarnaan imunohistokimia *claudin-4* (100%), sedangkan pada kategori *NFM* terdiri dari 42/42 sampel (100%) keseluruhannya terkespresi negatif pada pewarnaan imunohistokimia *claudin-4*.

Tabel 2. Distribusi frekuensi ekspresi claudin-4 terhadap kategori The International System for reporting serous cytopathology.

IHK <i>Claudin-4</i>	Kriteria <i>The International System for reporting serous cytopathology</i>				Total
	<i>NFM</i> (%)	<i>AUS</i> (%)	<i>SFM</i> (%)	<i>MAL</i> (%)	
Positif	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (100)	7 (100)
Negatif	42 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	42 (100)
Total	42 (85,72)	0 (0)	0 (0)	7 (14,28)	49 (100)

Hal ini sejalan dengan penelitian Elhosaini *et al* terdiri dari 48 sampel *metastatic adenocarcinoma (MAC)* dan 32 *reactive mesothelial cell (RMC)*, ekspresi imunohistokimia *claudin-4* ditemukan positif pada *MAC* 46/48 sampel (95,8%). Sementara itu

imunohistokimia *claudin-4* ditemukan positif hanya pada *RMC* hanya 1/32.¹⁸ Penelitian yang dilakukan Patel pada kasus efusi pleura adenokarsinoma paru keseluruhan sampel positif terhadap *claudin-4* dengan sensitivitas 100% (40 dari 40) dan spesifisitas 100% (18 dari 18).¹⁹



Gambar 1. Ekspresi imunohistokimia claudin-4 tereksresi +3 pada membran sel tumor.

KESIMPULAN

Berdasarkan distribusi frekuensi kelompok usia sampel efusi pleura sampel terbanyak pada kelompok usia 41-50, jenis kelamin laki-laki lebih banyak daripada jenis kelamin perempuan, jenis cairan spesimen efusi pleura lebih banyak ditemukan berupa jenis cairan transudat, volume cairan pleura yang diterima pada penelitian ini terbanyak diantara 11-20 mL, diagnosis sitologi berdasarkan kategori *The International System for reporting serous effusion cytopathology* terbanyak adalah kategori *Negative for Malignancy (NFM)*, ekspresi imunohistokimia *claudin-4* menunjukkan ekspresi pewarnaan imunohistokimia *claudin-4* positif terbanyak adalah negatif. Ekspresi imunohistokimia *claudin-4* positif pada keseluruhan sampel kategori *MAL* dan negatif pada keseluruhan sampel kategori *NFM*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mahabadi N, Goizueta AA, Bordoni B. *Anatomy, Thorax, Lung Pleura And Mediastinum*. [Updated 2024 Mar 24]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. [Accessed Sept 17th 2024]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519048/>
2. Pakurar A, Bigbee JW. Digital histology. 2022. [Accessed Sept 17th 2024]. Available from: <https://digitalhistology.org/credits>.
3. Jany B, Welte T. Pleural effusion in adults—etiology, diagnosis, and treatment. *Dtsch Arztebl Int*. 2019;116:377–86.
4. Krogerus L and Kholová I. Cell block in cytological diagnostics: review of preparatory techniques. *Acta Cytol*. 2018;62(4):237-43.
5. Nambirajan A, Jain D. *Cell blocks in cytopathology: An update*. *Cytopathology*. 2018;29(6):1-59.
6. Cibas ES. Pleural, pericardial, and peritoneal fluids. In: Cibas ES, Ducatman BS, editors. *Cytology: Diagnostic Principles and Clinical Correlates*. Elsevier; 2019. p. 141–70.
7. Li M, Zhao L, Zhou X. Detection of carcinoma in serous effusions: a review. *Am J Cancer Res*. 2021;11:43–60.
8. 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*. 2021;39:395–401.
9. Subbarayan D, Bhattacharya J, Rani P, Khuraijam B, Jain S. Use of panel of markers in serous effusion to distinguish reactive mesothelial cells from adenocarcinoma. *J Cytol*. 2019;36:28–31.
10. Liu W, Li M. The role of claudin-4 in the development of gastric cancer. *Scand J Gastroenterol*. 2020;55:1072–8.
11. Li M, Zhao L, Zhou X. Detection of carcinoma in serous effusions: a review. *Am J Cancer Res*. 2021;11:43–60.
12. 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*. 2021;39:395–401.
13. Oda T., Ogata S., Kawaguchi S., et al. Immunocytochemical utility of claudin-4 versus those of Ber-EP4 and MOC-31 in effusion cytology. *Diagn Cytopathol*. 2016;44:499–504.
14. Shareef MM, Radi DM, Eid AM. Tight junction protein claudin 4 in gastric carcinoma and its relation to lymphangiogenic activity. *Arab J Gastroenterol*. 2015;16:105–12.
15. Lauinger L and Kaiser P. Sensing and signaling of methionine metabolism. *Metabolites*. 2021;11(2):83.
16. Yosefany NMH, Susilawati, Rara Inggarsih. Hubungan karakteristik klinis dan etiologi pada pasien efusi pleura di RSUP dr. Mohammad Hoesin tahun 2019. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan: Publikasi Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya*. 2022;9(3).
17. Wahid RS. Penanganan cairan pleura transudat dan eksudat dari penderita efusi pleura. *Jurnal Teknologi Laboratorium Medik Borneo*. 2022;2(1):1–7.
18. Elhosainy A, Hafez MMA, Yassin EH, Adam M, Elnaggar MS,

- Aboulhagag NA. Diagnostic value of claudin-4 and EZH2 immunohistochemistry in effusion cytology. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2022;23(8):2779-85.
19. Patel A, Borczuk AC, Siddiqui MT. Utility of Claudin-4 versus BerEP4 and B72.3 in pleural fluids with metastatic lung adenocarcinoma. *J Am Soc Cytopathol*. 2020;9:146–51.