

DIKTAT KULIAH

BIOMOLEKULAR PADA RETINOBLASTOMA



PENYUSUN

Dr.dr. Nugraha Wahyu Cahyana, Sp.M

BAGIAN PENYAKIT MATA

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS JEMBER

2021

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
BAB I	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Tujuan Penulisan	2
C. Manfaat Penulisan	2
BAB II	4
A. Etiologi dan Epidemiologi Retinoblastoma	4
B. Patogenesis	5
C. Deteksi dini	6
D. Pemeriksaan Penunjang	8
1. <i>Computed Tomography (CT) Scan</i>	8
2. <i>Magnetic Resonance Imaging (MRI)</i>	9
3. Ultrasonografi (USG)	10
4. <i>Fine-needle aspiration (FNAB)</i>	10
5. Pemeriksaan biomarker biomolekular	11
5.1 Laktat dehidrogenase (LDH)	12
5.2 Enzim enolase subunit α dan γ	13
5.3 Asam urat dan Xantin	15
5.4 Micro-RNA (miRNA)	16
5.5 Cell Free DNA (cfDNA)	21
BAB III	23
DAFTAR PUSTAKA	24

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Tanda dan gejala retinoblastoma.....7



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Refleks merah pada mata normal	6
Gambar 2. Refleks merah menurun.....	6
Gambar 3. Leukocoria	6
Gambar 4. Strabismus	6
Gambar 5. CT- Scan	9
Gambar 6. MRI T1	10
Gambar 7. MRI T2	10
Gambar 8. Aspirasi Jarum Halus.....	11
Gambar 9. Aspirasi cairan humor aqueous.....	12
Gambar 10. Migrasi protein dan enzim yang dihasilkan oleh tumor intraokular.....	15
Gambar 11. a. Proses transkripsi miRNA. b. miRNA dapat berperan sebagai tumor supresor gen, disisi lain dapat berperan sebagai oncogen	17
Gambar 12. Disregulasi miRNA dalam retinoblastoma	20

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Retinoblastoma merupakan suatu bentuk keganasan intra okuler primer yang paling sering ditemukan pada anak-anak dibawah usia 5 tahundengan angka kejadian sekitar 1:15.000 – 1:23.000 kelahiran hidup,merupakan 4 % dari total seluruh keganasan pada anak-anak,sekiar 1 % dari seluruh kanker pada manusia,dan menjadi keganasan kedua terbanyak pada semua tingkat usia setelah melanoma maligna.(Liesegang TJ, 2016). Sebuah studi di Amerika Serikat menyebutkan bahwa terdapat 300 kasus baru setiap tahunnya, dimana insiden tertinggi berada pada negara-negara berkembang terutama pada golongan masyarakat kurang mampu. (Paduppai , 2010; Vajzovic *et al*, 2010)

Gejala retinoblastoma berupa leukokoria, strabismus, mata merah, nyeri mata yang disertai glaucoma dan visus menurun. Sebagian besar kasus retinoblastoma di Amerika Serikat terdiagnosis saat tumor masih di intraokular tanpa invasi lokal atau metastasis jauh. Di negara berkembang, diagnosis sering dibuat setelah penyakit menyebar ekstraokular. (Rosdiana, 2011)

Tumor ini mempunyai prognosis baik bila ditemukan secara dini dan intraokular. Prognosis akan berubah menjadi sangat buruk apabila sudah metastasis ekstraokular pada saat pemeriksaan pertama. Retinoblastoma yang tidak segera mendapatkan penanganan dapat metastasis ke sistemsaraf pusat (Rosdiana, 2011).

Berbagai macam pemeriksaan penunjang dibutuhkan dalam penegakkan diagnosis untuk keperluan tatalaksana lanjutan terapi. Pemeriksaan invasif maupun non-invasif telah dikembangkan, seperti *Computerized tomography* (CT-Scan),*Magnetic resonance imaging*(MRI), ultrasonografi (USG), pemeriksaan

genetik dan molekular, *Fine-needle aspiration* (FNAB), sampai pemeriksaan biomolekular pada jaringan tumor, humor aqueous, darah, cairan serebrospinal telah ditemukan dalam usaha penegakan diagnosis retinoblastoma.

Jaringan tumor, humor aqueous, cairan cerebro spinal, dan serum darah kaya akan berbagai biomarker. Sebuah studi menemukan adanya peningkatan kadar enzim enolase pada humor aqueous dan cairan serebrospinal pada pasien retinoblastoma (Nakajima, 1986). Sebuah studi lain mendeteksi adanya peningkatan maupun penurunan ekspresi micro-RNA (miRNA) dalam jaringan tumor retinoblastoma, serta adanya peningkatan ekspresi miRNA pada penyakit katarak dan glaukoma pada humor aqueous (Smith et al, 2014; Dunmire, 2013). Hasil pemeriksaan humor aqueous pada mata terjangkit retinoblastoma yang telah dienukleasi, terdeteksi kandungan lactate dehidrogenase yang merupakan biomarker retinoblastoma. Peningkatan epinephrine dan norepinephrine, serta adanya peningkatan katabolik-produk sekunder tumor retinoblastoma juga ditemukan dalam humor aqueous (Jesse et al, 2017).

Pemeriksaan biomolekular dapat mendeteksi adanya aktivitas aktif sel-sel tumor, serta dapat digunakan sebagai acuan dalam pemantauan respon terapi yang telah diberikan serta mengetahui prognosis penyakit.

B. Tujuan Penulisan

Tinjauan pustaka ini ditulis dengan tujuan membahas pemeriksaan biomolekular sebagai biomarker untuk menjadi salah satu pemeriksaan penunjang dalam penegakan diagnosis, respon terapi, dan resiko metastasis pada retinoblastoma.

C. Manfaat Penulisan

Diharapkan penulisan tinjauan pustaka ini dapat memberikan wawasan kepada pembaca tentang pemeriksaan biomolekular sebagai pemeriksaan

penunjang dalam penegakkan diagnosis, mengetahui respon terapi, dan resikometastasis pada retinoblastoma.



BAB II

ISI

A. Etiologi dan Epidemiologi Retinoblastoma

Retinoblastoma merupakan suatu neoplasma yang berasal dari neuroretina (sel kerucut, sel batang) atau sel glia yang bersifat ganas. Tumor ganas intraokuler ini sering ditemukan pada anak-anak, terutama pada usia dibawah lima tahun. Tumor berasal dari jaringan retina embrional dan dapat tumbuh keluar (eksofitik) atau kedalam (endofitik). Retinoblastoma endofitik kemudian meluas kedalam korpus vitreum. Kedua jenis ini secara bertahap akhirnya mengisi mata dan meluas melalui saraf optikus ke otak dan disepanjang saraf dan pembuluh-pembuluh emisari di sklera ke jaringan orbita lainnya (Eagle, 2007; Schlote et al, 2006).

Rata-rata insiden retinoblastoma 95% didiagnosa dibawah usia 5 tahun. Retinoblastoma terdiri atas dua tipe, yaitu retinoblastoma yang terjadi oleh karena adanya mutasi genetic (gen RB1) dan retinoblastoma sporadic. Retinoblastoma yang diturunkan secara genetic terbagi atas 2 tipe, yaitu retinoblastoma yang muncul pada anak yang membawa gen retinoblastoma dari salah satu atau kedua orang tuanya (familial retinoblastoma), dan retinoblastoma yang muncul oleh karena adanya mutasi baru, yang biasanya terjadi pada sel sperma ayahnya atau bisa juga dari sel telur ibunya (sporadic heritable retinoblastoma). Kedua tipe retinoblastoma yang diturunkan secara genetic ini biasanya ditemukan bersifat bilateral dan muncul dalam tahun pertama kehidupan, jumlahnya sekitar 6%. Sedangkan retinoblastoma sporadic biasanya bersifat unilateral dan muncul setelah tahun pertama kehidupan, jumlahnya 96% (Murphree et al, 2007).

Insiden retinoblastoma diestimasikan sekitar 1:15.000 - 1:23.000 kelahiran hidup, merupakan 4 % dari total seluruh keganasan pada anak-anak, sekitar 1 % dari seluruh kanker pada manusia, dan menjadi keganasan kedua terbanyak pada

semua tingkat usia setelah melanoma maligna. (Liesegang TJ, 2016). Sebuah data mencatat prevalensi tertinggi pada negara-negara berkembang terutama pada masyarakat kurang mampu. Insiden tertinggi telah dilaporkan di Negara tropis Brazil dan Namibia. Perbedaan rata-rata insiden ditentukan beberapa faktor, seperti etnik, daerah, kelemahan genetic, kultural dan kebiasaan (Murphree et al, 2007). Retinoblastoma tidak memiliki predileksi jenis kelamin tertentu dan tidak memiliki daerah predileksi untuk mata kanan atau kiri. Usia rata-rata saat diagnosis adalah 18 bulan. Walaupun banyak kasus yang telah dilaporkan pada orang dewasa, namun retinoblastoma jarang ditemui setelah usia 5 tahun (Eagle, 2007).

B. Patogenesis

Setiap sel tubuh normal memiliki dua alel gen RBI dimana salah satu alel tersebut berfungsi untuk mencegah terjadinya perkembangan retinoblastoma dalam sel retina (Parukelar, 2010). Terdapat dua jenis retinoblastoma bilateral dan unilateral. Retinoblastoma bilateral melibatkan mutasi germinal dalam semua kasus. Sekitar 15% retinoblastoma sporadis unilateral disebabkan oleh mutasi germinal yang hanya mempengaruhi satu mata sementara 85% bersifat sporadis.

Pada tahun 1971, Knudson mengusulkan hipotesis "twohit". Diamengemukakan terdapat 2 kejadian mutasi yang diperlukan untuk terjadinya retinoblastoma. Pada retinoblastoma herediter, 'first hit' terjadi pada mutasi germinal yang diwariskan dan ditemukan di semua sel. 'second hit' berkembang di sel-sel retina somatik yang mengarah pada perkembangan retinoblastoma. Oleh karena itu, kasus herediter cenderung monokular seperti osteosarkoma. Pada kasus retinoblastoma sporadis unilateral, 'first hit' dan 'second hit' terjadi selama perkembangan retina dan merupakan jenis mutasi somatik sehingga pada kasus ini tidak ada risiko tumor binokular (Pandey, 2013).

C. Deteksi dini

Retinoblastoma paling sering terdeteksi oleh keluarga atau orang tua sang anak (Wallachet al, 2006), yang kemudian menuntun mereka untuk datang memeriksakan sang anak ke dokter mata. Sayangnya, banyak pasien menghadapi keterlambatan dalam diagnosis dan pengobatan secara dini karena kurangnya pengetahuan mengenai tanda dan gejala retinoblastoma (Goddard et al, 1999).

Tanda retinoblastoma yang paling umum adalah leukocoria (pupil putih), strabismus apabila sudah ada keterlibatan makula akibat tumor. Tanda-tanda lain yang dapat ditemukan adalah adanya penurunan penglihatan, selulitis pseudo-orbital, serta adanya riwayat keluarga yang pernah terkena retinoblastoma. Adapun beberapa tanda lain yang sangat jarang dijumpai adalah heterochromia, glaukoma sekunder dan proptosis. Retinoblastoma kadang-kadang dapat menyebabkan beberapa penyakit di sekitar mata dan kepala. (Carter, 2009).



Gambar 1. Refleksi merah pada mata normal



Gambar 2. Refleksi merah menurun

Gambar mata normal dimana kedua mata ortoforia dan refleksi cahaya merah seimbang pada kedua mata

Tampak penurunan refleksi cahaya merah pada mata kiri yang terkena retinoblastoma bila dibandingkan dengan mata kanan



Gambar 3. Leukocoria



Gambar 4. Strabismus

Pupil putih (leukocoria) pada mata kiri menunjukkan adanya massa intraokular

Esotropia mata kiri menunjukkan adanya supresi pada mata kiri yang salah satunya dapat disebabkan oleh retinoblastoma

Skrining diipada pasien dengan riwayat keluarga positif sangatlah disarankan. Bentuk awal retinoblastoma dapat berupa tumor kecil berbentuk bulat dan berwarna putih. Benih tumor dapat menyebar ke ruang subretinal atau cavum vitreous dan dapat bermigrasi ke kamera okuli anterior sehingga membentuk pseudohipopion di kamera okuli anterior. Tumor yang membesar dapat mendorong diafragma lensa iris maju ke depan yang kemudian menyebabkan glaukoma sudut tertutup. Pada sebagian besar kasus tumor ini dapat timbul neovaskularisasi iris. Nekrosis tumor yang cepat dapat menyebabkan reaksi inflamasi orbital aseptik menyerupai selulitis orbital, tidak rang pula menunjukkan pola oklusi arteri retina sentral (CRAO). Apabila retinoblastoma tidak segera mendapatkan penanganan, tumor ini akan menyebar ke nervus optikus dan sistem saraf pusat, dapat pula terjadi penyebaran secara hematogen melalui pembuluh darah koroid, yang kemudian akan menyebar sampai di sumsum tulang. Perluasan tumor menembus sklera dapat menyebabkan proptosis (Sameh et al, 2017).

Table 1. Signs of retinoblastoma

Problem	Symptoms and implications	Description by family	Investigation
Leukocoria	White reflection in the pupil. Intermittently present or seen in flash photographs.	'Flashes like a cat's eye' 'Looks like a jelly' 'Sometimes I can see into the back of the eye'	Red reflex test
Strabismus	A squint.	'Lazy eye' An eye is 'turned in' 'One eye moves independently'	Red reflex test
Poor vision	A child with retinoblastoma may have always had poor vision or it may have deteriorated.	'Their eyes won't fix or follow' 'One eye moves independently'	Red reflex test
Red or inflamed eye	The areas around the eye are red or inflamed—it may look like orbital cellulitis.		Red reflex test
Family history of retinoblastoma	There is a 50% chance a parent will pass the heritable form of retinoblastoma onto the child. There is a small chance a child of someone with the sporadic form will be affected.	Not every adult who had retinoblastoma as a child is aware of the risks to his/her children—so the children need to be screened. Some adults were never told by their parents what condition they had as a baby.	Red reflex test and referral to a retinoblastoma centre

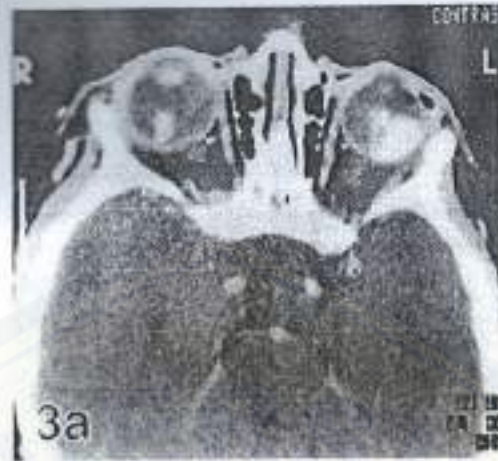
Tabel 1. Tanda dan gejala retinoblastoma

D. Pemeriksaan Penunjang

Teknologi dalam pemeriksaan penunjang telah banyak berkembang untuk menegakkan diagnosis retinoblastoma. Penegakkan diagnosis retinoblastoma secara dini dapat mempengaruhi prognosis dalam keberhasilan terapi.

1. *Computed Tomography (CT) Scan*

Kalsium kompleks denaturasi DNA, terdapat dalam 95 % pemeriksaan histologi retinoblastoma. Kalsifikasi oleh deposit kalsium yang tertangkap dari pencitraan yang dihasilkan oleh CT-scan merupakan gambaran patonomik retinoblastoma. Hal ini dijadikan panduan diagnosis retinoblastoma dalam menyingkirkan diagnosis tumor intraokular lainnya. Pemeriksaan CT-scan telah dianggap penting dalam pendeteksiannya. Kalsifikasi pada retinoblastoma, akan tetapi dalam perkembangan terbaru menunjukkan bahwa kombinasi USG dan MRI memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang sama bila dibandingkan dengan CT-scan dalam mendeteksi kalsifikasi intratumoral pada retinoblastoma (Galluzi et al, 2009). Dalam beberapa literatur menyebutkan bahwa pemeriksaan CT-scan sebaiknya dihindari pada anak kecil karena dapat menimbulkan risiko radiasi yang signifikan terlebih pada pasien dengan retinoblastoma herediter (De Jong et al, 2014).



Gambar 5. CT- Scan

Kalsifikasi retinoblastoma yang tertangkap oleh pencitraan CT-scan

2. Magnetic Resonance Imaging (MRI)

Keunggulan MRI dalam mendeteksi pola pertumbuhan tumor serta menentukan perluasan tumor ekstraokular dapat membantu keputusan dalam pemilihan terapi secara konservatif maupun operatif. Pencitraan yang dihasilkan dapat menampakkan ada atau tidaknya keterlibatan saraf optik, ruangretrobulbar, dan leptomeningeal. Pola pertumbuhan yang khas dapat membedakan retinoblastoma dari tumor dengan leukocoria lainnya (Razek dan Elkhamary, 2011).

Rendahnya kemampuan MRI dalam mendeteksi kalsifikasi, *vitreous seeding*, dan ada atau tidaknya destruksi tulang merupakan hal yang perlu diperhatikan. *Vitreous seeding* merupakan salah satu faktor prognostik yang penting, meskipun pilihan pengobatan tidak dipengaruhi oleh temuan ini (Barkhof et al, 1997).



Gambar 6. MRI T1



Gambar 7. MRI T2

Gambaran T1 menunjukkan pola kontras yang tidak homogen. Kalsifikasi tidak dapat tertangkap dengan baik melalui pencitraan MRI.

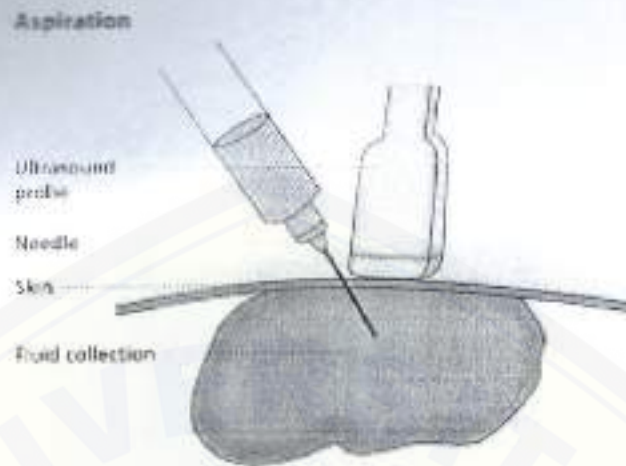
Gambaran T2 dengan intensitas sinyal yang rendah pada mata kiri menggambarkan adanya massa intraokular.

3. Ultrasonografi (USG)

Retinoblastoma dapat terdiagnosis secara akurat melalui pemeriksaan funduskopi dan ultrasonografi, yang biasanya menunjukkan bentuk khas adanya vaskularisasi intraokular dan massa terkalsifikasi (De Jong et al, 2014). Gambaran massa ekoik padat dengan kalsifikasi fokal hiperekoik merupakan ciri khas retinoblastoma. Perluasan tumor ekstraokular yang tidak dapat terdokumentasi dengan baik merupakan kekurangan pemeriksaan USG (Razek dan Elkhamary, 2011).

4. *Fine-needle aspiration (FNAB)*

Pemeriksaan biopsi aspirasi jarum halus (FNAB) untuk menegakkan diagnosis sitopatologis dari retinoblastoma masih kontroversial. Beberapa studi telah melaporkan kegunaannya prosedur ini dalam kasus dengan diagnostik yang meagukan khususnya pada bentuk-bentuk lesi yang atipikal. Kemungkinan adanya sel-sel tumor yang terbawa oleh jarum dapat mengakibatkan tumor menyebar ekstraokular, membuat pemeriksaan ini dihindari oleh para ahli onkologi, walaupun hasil pengambilan jaringan dapat langsung terdeteksi secara akurat melalui pemeriksaan histopatologi (Karcioglu, 2002).



Gambar 8. Aspirasi Jarum Halus

5. Pemeriksaan biomarker biomolekular

Beberapa studi melaporkan adanya peningkatan beberapa substansi yang terkandung dalam humor aqueous, serum darah, cairan serebrospinal, dan dalam jaringan tumor pada mata penderita retinoblastoma. Substansi yang terkandung dalam humor aqueous dapat digunakan sebagai biomarker adanya aktifitas keganasan intraokular maupun sebagai alat bantu diagnostik lainnya (Mendelsohn, 1998). Prosedur aspirasi cairan humor aqueous dilakukan saat menjalani injeksi kemoterapi intravitreal atau saat menjalani enukleasi primer. Biomolekular sebagai biomarker retinoblastoma terdeteksi dalam sari dan jaringan tumor.



Gambar 9. Aspirasi cairan humor aqueous

5.1 Laktat dehidrogenase (LDH)

Lactate dehydrogenase (LDH) adalah suatu enzim intraseluler yang ditemukan dalam jaringan dengan metabolisme glikolitik, dan merupakan anggota jalur Embden-Meyerhoff di mana terjadi proses perubahan piruvat menjadi laktat. Enzim ini ditemukan pada konsentrasi rendah dalam cairan ekstraseluler seperti serum, cairan cerebrospinal dan humor aqueous (McDonald et al, 1977). Sumber utama LDH intraokular adalah endotel kornea, epitel lensa, epitel nonpigmentasi badan silier, dan outer neurosensori retina (Swartz et al, 1974). Sejak 1957, telah diakui terdapat keterkaitan antara peningkatan kadar LDH dalam cairan tubuh dengan adanya aktivitas tumor ganas (Wroblewski, 1957). Peningkatan kadar LDH dalam serum dapat pula terjadi pada sejumlah kondisi seperti infark miokard, gagal ginjal, kehamilan, neoplasma sistem saraf pusat, dan lain sebagainya (Abramson, 1979).

Perkiraan penyebab peningkatan kadar LDH dalam humor aqueous dan serum disebabkan oleh adanya proses metabolisme yang sangat aktif dari sel retinoblastoma yang kemudian berdifusi ke cairan vitreous dan berjalan melewati celah zonula menuju humor aqueous (Swartz et al, 1974), sampai akhirnya cairan humor aqueous keluar dari intraokular melalui vena episklera dan menyatu dalam darah. Hal inilah yang menyebabkan kadar LDH dalam humor aqueous pada retinoblastoma lebih tinggi dibandingkan kadar LDH dalam serum. Nekrosis tumor juga diduga sebagai salah satu penyebab terjadinya peningkatan kadar LDH

dalam tumor aqueous, sehingga dapat dijadikan penanda adanya proses nekrosis dalam tumor (Piro et al, 1978).

Cara pemeriksaan ideal kadar LDH humor aqueous adalah dalam keadaan baru dan terhindar dari pembekuan, penyimpanan yang lama, serta terhindar dari kontaminan sel darah merah. LDH sangat mudah rusak oleh perubahan suhu terutama suhu dingin, sehingga kadar yang terdeteksi akan lebih rendah (Kabak dan Romano, 1975; Abramson et al 1979).

5.2 Enzim enolase subunit α dan γ

Enolase adalah enzim yang merangsang proses dehidrasi dari 2-fosfoasam gliserat menjadi asam piruvat fosfoenol dalam proses metabolisme glukosa anaerob untuk menghasilkan energi. Enzim glikolitik enolase memiliki tiga jenis subunit yaitu α , β , dan γ . Subunit α terdeteksi di berbagai jaringan dan organ manusia, sedangkan subunit β , dan γ hanya terdapat pada sel-sel otot lurik, otot jantung, serta pada neuron dan paraneuron.

Sebuah studi dilakukan oleh Nakajima et al, melibatkan 19 pasien retinoblastoma dan 1 pasien glaukoma sebagai kontrolnya, meneliti tentang kadar enolase dalam cairan cerebrospinal serta dalam humor aqueous. Sebanyak 15 sample diambil dari cairan humor aqueous dan 5 sampel cairan cerebrospinal diambil dari pasien retinoblastoma dengan kecurigaan keterlibatan meningeal. Kadar enolase dalam jaringan tumor juga di ukur sebagai perbandingan peningkatan kadar dalam jaringan, cairan cerebrospinal, dan humor aqueous. Hasil studi ini menunjukkan adanya kandungan subunit γ dalam jumlah yang besar yakni 1.660-8.460 ng/mg protein dalam jaringan tumor. Di sertai subunit α yang berkisar antara 3.560-13.000 ng/mg protein. Kadar subunit β terdeteksi sangat rendah dalam jaringan tumor.

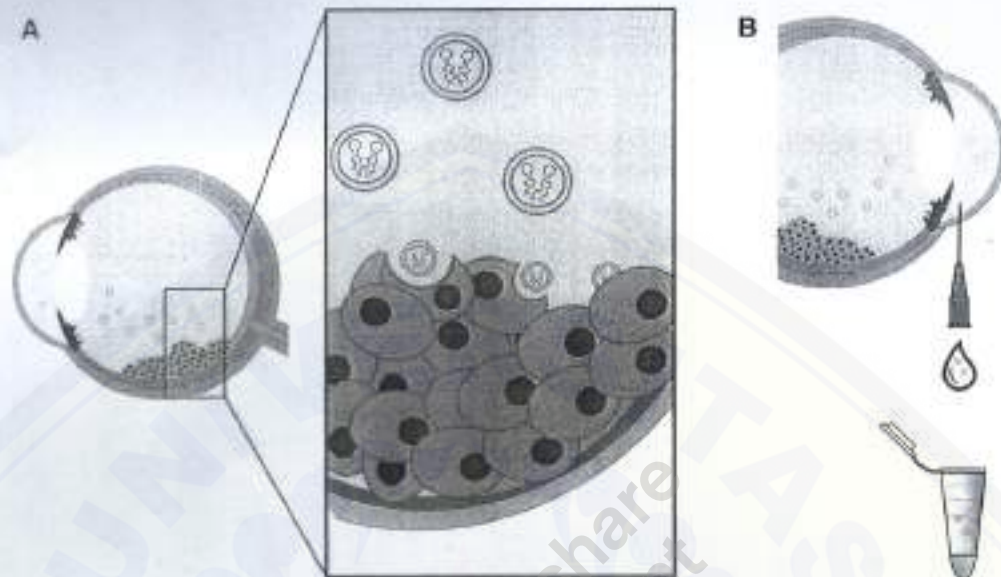
Kadar enolase subunit α dalam humor aqueous sebesar 354 ng/ml pada retinoblastoma, bahkan tujuh dari 12 pasien memiliki kadar subunit α yang tinggi lebih dari 2.000 ng/ml. Kadar terendah subunit α adalah 87,8 ng/ml, terdapat dua dari 12 pasien memiliki kadar lebih dari 2.000 ng/ml. Kandungan enolase subunit

α dan γ secara signifikan meningkat dibandingkan dengan pasien dengan glaukoma yakni subunit sebesar 5,6 ng / ml, serta adanya sedikit peningkatan kadar subunit α . Kandungan enolase di setiap subunit terdeteksi sangat rendah pada cairan serebrospinal (Nakajima, 1986).

Studi lain dilakukan oleh Shine et al, meneliti tentang kadar enolase dalam serum darah serta dalam humor aqueous pada pasien retinoblastoma dan pasien normal. Sebanyak delapan sampel serum dan 10 sampel humor aqueous pasien retinoblastoma dibandingkan dengan 30 sample serum dan 25 sampel aqueous humor dari pasien normal sebagai kontrol. Dari hasil penelitian dilaporkan bahwa kandungan enolase pada aqueous dan serum terdeteksi sangat rendah sampai negatif pada orang normal. Adapun kandungan enolase subunit α terdeteksi bervariasi mulai dari +1 hingga +2. Seluruh sampel humor aqueous pasien retinoblastoma terdeteksi enolase subunit α dan γ . Sekitar tujuh dari delapan sampel serum pasien retinoblastoma terdeteksi kandungan enolase subunit α dan γ (Shine et al, 1990).

Subunit γ telah diidentifikasi sebagai enzim biomarker tumor neuroektodermal. Kadar subunit γ dilaporkan juga meningkat pada neuroblastoma, sehingga adanya peningkatan kadar subunit ini kemungkinan dapat dikaitkan dengan anatomi mata pada retinoblastoma. Pemeriksaan peningkatan kadar ini diyakini lebih terpercaya daripada pemeriksaan kadar LDH pada humor aqueous. Meskipun begitu, kelemahan dari pemeriksaan ini adalah kurangnya data nilai normal kadar subunit γ dalam humor aqueous. Sejauh ini diketahui kadar subunit ini dalam serum adalah bawah 10 ng/ml, dan diperkirakan kadar normal dalam humor aqueous lebih rendah dari itu (Nakajima, 1986).

Selain pada retinoblastoma, peningkatan kadar subunit α dalam humor aqueous dilaporkan juga terjadi pada kasus glaukoma. Peningkatan subunit α pada cairan serebrospinal juga dapat terjadi pada kasus infeksi virus meningeal, sehingga peningkatan subunit α tidak dapat dijadikan biomarker murni untuk kasus retinoblastoma (Nakajima, 1986).



Gambar 10. Migrasi protein dan enzim yang dihasilkan oleh tumor intraokular

Perjalanan substansi yang terkandung di dalam humor aqueous. Lepasnya substansi (protein dan enzim) ke cavum vitreus dan berjalan ke kamera okuli anterior melalui celah-celah di zonula (A). Aspirasi cairan humor aqueous yang telah terkandung berbagai substansi biomarker (B).

5.3 Asam urat dan Xantin

Asam urat dan xantin adalah produk akhir dari katabolisme purin. Selama pergantian sel, asam nukleat dan nukleotida terdegradasi menjadi basa purin bebas, terdeaminasi menjadi hipoxantin, kemudian teroksidasi menjadi xantinan kemudian menjadi asam urat. Peningkatan kadar asam urat pada serum telah dikaitkan dengan berbagai jenis keganasan, dan juga dikaitkan dengan adanya destruksi jaringan maligna pasca kemoterapi atau terapi radiasi.

Sebuah studi dilakukan oleh Mendelsohn et al, mengukur kadar asam urat dan xantine dalam humor aqueous dan air mata pada pasien retinoblastoma, melanoma, dan pasien dengan penyakit coat's yang kemudian dibandingkan dengan pasien katarak. Sebanyak 38 pasien retinoblastoma, sembilan pasien melanoma, dua pasien penyakit Coat's, dan 17 pasien katarak diambil cairan

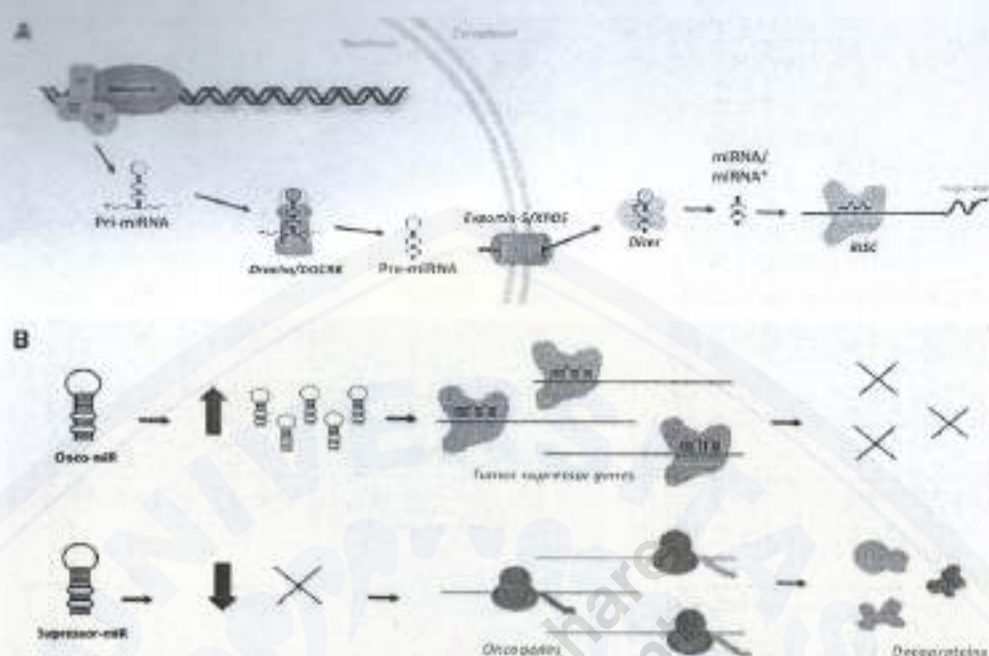
humor aqueous. Hasil penelitian tersebut ditemukan adanya peningkatan konsentrasi asam urat pada mata dengan retinoblastoma (18,4 µg/ml), melanoma (20,2 µg/ml), dan penyakit Coat's (22,9 µg/ml) saat dibandingkan dengan mata dengan katarak dewasa (10,7 µg/ml). Peningkatan konsentrasi xanthine juga secara signifikan lebih tinggi di retinoblastoma (2,43 µg/ml) dan penyakit Coats (1,57 µg/ml) bila dibandingkan pada katarak (0,12 µg/ml). Peningkatan kadar asam urat dan xantin pada penyakit coat's diduga disebabkan oleh adanya proses destruksi yang disebabkan oleh ablasi retina (Mendelsohn, 1998).

5.4 Micro-RNA (miRNA)

Micro-RNA (miRNA) adalah anggota keluarga noncoding molekul-RNA (mRNA) yang mengatur ekspresi gen dalam menghasilkan protein yang tidak diperlukan oleh tubuh dengan cara mengganggu transkripsi mRNA.

RNA polimerase II mentranskripsi protein DNA didalam nukleus menjadi primer micro-RNA rantai panjang (pri-miRNA) yang kemudian diubah menjadi precursor (pre-miRNA) oleh protein Dorscha/DGCR8. Pre-miRNA ditranspotrasikan keluar sitoplasma oleh expotrin-5/XPO5 yang kemudian berikatan dengan protein Dicer. Dicer memotong rantai pre-miRNA yang kemudian mejadi miRNA *mature*. MiRNA inilah yang kemudian berperan sebagai *silencing* dalam mengganggu transkripsi mRNA menjadi protein.

Seperti pisau bermata dua, miRNA dapat berperan sebagai tumor supresor dalam fungsinya mengganggu traskripsi sel tumor, di sisi lain miRNA dapat menjadi oncogen dimana terjadi kesalahan kode transkripsi yang mengakibatkan sel normal gagal bereplikasi sehingga menghasilkan sel abnormal.(Delsin, Lara Elis Alberici; et al, 2018).



Gambar 11. a. Proses transkripsi miRNA. b. miRNA dapat berperan sebagai tumor supresor gen, disisi lain dapat berperan sebagai oncogen

Sejumlah besar studi menunjukkan bahwa miRNA memiliki peran penting dalam patogenesis Retinoblastoma. Regulasi naik / turun dari biomarker ini dapat membantu dalam pemberian terapi yang tepat inisiasi serta mengetahui perkembangan penyakit ini. Terdapat berbagai jenis miRNA spesifik jaringan (MiR-25, miR-373, dan miR-20a, let-7b, let-7a, let-7c, miR-125b, dan miR-181a) dan miRNA dalam sirkulasi darah (MiR-21, miR-320, let-7, miR-17, miR-18a, dan miR-20a) yang dapat digunakan sebagai alat diagnostik, prognostik dan biomarker terapeutik untuk retinoblastoma (Mirakholi et al., 2013; Reis et al., 2012., Zhang et al., 2012).

MiR-34 berfungsi sebagai tumor supresi pada retinoblastoma, karena peningkatan ekspresinya dapat menyebabkan menurunnya progresifitas dan menginisiasi apoptosis (Dalgard et al, 2009). MiRNA ini dapat diaktifkan oleh p53, yang kemudian menginisiasi siklus henti sel dan meningkatkan apoptosis melalui jalur target yang berbeda, termasuk MDMX dan Sirt1 (He et al. 2007; Dalgard et

al. 2009), dan HMGB1 yang menghambat autophagy, dan akibatnya meningkatkan respons kemoterapi (Liu et al. 2014a).

Beberapa jenis miRNA lain juga memiliki tingkat ekspresi yang rendah dalam sampel tumor retinoblastoma bila dibandingkan dengan retina normal. Pada studi yang dilakukan oleh Martin et al, ditemukan hypoexpression dari miR-129-3p, miR-504, miR-22, miR-139-3p, miR-382 dan miR-129-5 dalam 12 sampel tumor RB (Martin et al. 2013b). Sementara Yang dan Mei menemukan level rendah miR-125b dan miR-181a pada tiga sampel RB (Yang dan Mei, 2015).

Menurunnya ekspresi miRNA lain juga ditemukan pada jenis miR-183, miR-365b-5p, miR-204, miR-433, miR-125a-5p, miR-486-3p, miR-532-5p, miR-124, miR-613, miR-138-5p, miR-186, miR-382, miR-665, miR-29a, miR-874, miR-137, dan miR-448 dalam retinoblastoma, sehingga ekspresi berlebih dari miRNA ini menunjukkan efek antitumorigenik, menghambat pertumbuhan tumor, migrasi, dan peningkatan apoptosis dengan menargetkan berbagai gen dan jalur (Delsin et al, 2018).

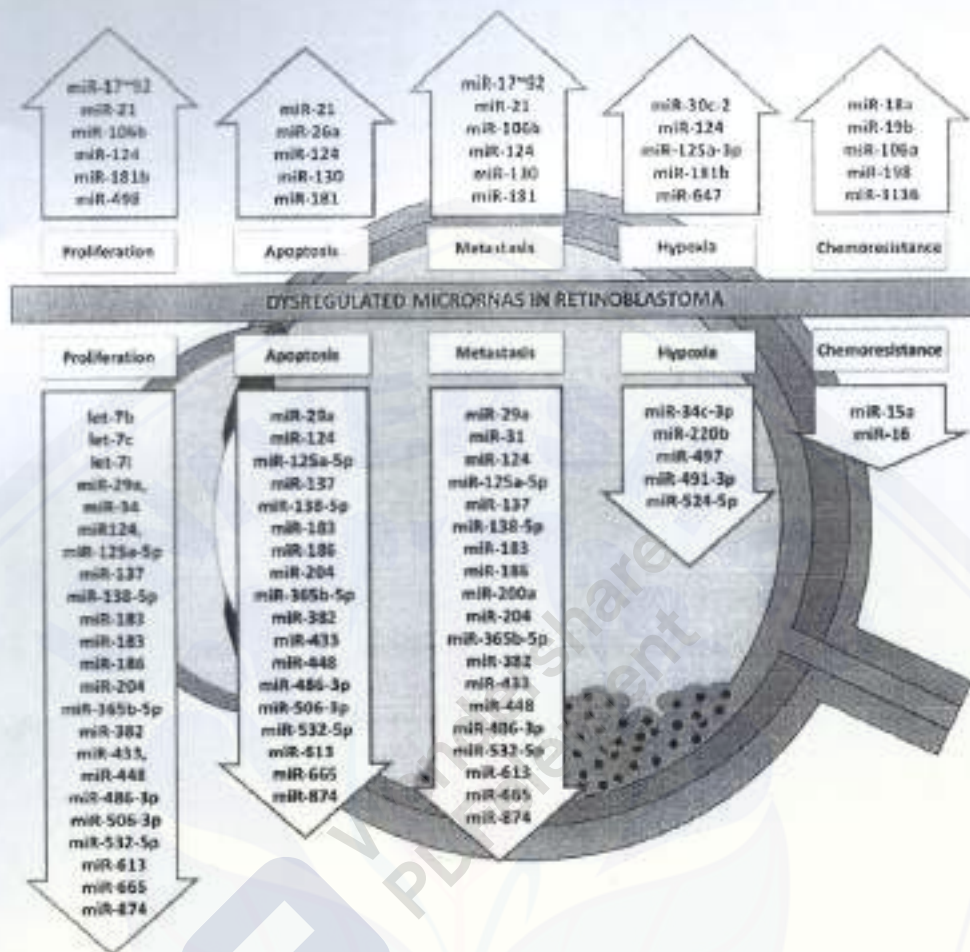
Di sisi lain, anggota miR-17 ~ 92 cluster (oncomiR-1) (miR-17, miR-18a, miR-19a, miR-20a, miR-19b-1 dan miR-92a) menunjukkan peningkatan ekspresi dan bersinergidengan meningkatnya progresifitas tumor, proliferasi, dan metastasis ke otak (Conkriteet al. 2011; Busch et al. 2017). Sebaliknya, kehilangan satualelmiR17 ~ 92, dapat menyebabkan gangguan dalam proliferasi dan invasi retinoblastoma serta dapat menginduksi apoptosis (Kandalam et al. 2012; Nittner et al. 2012; Subramanian et al. 2015).

Beberapa miRNA lainnya diekspresikan secara berlebihan dalam sampel tumor retinoblastoma jika dibandingkan dengan normal retina, termasuk miR-494, miR-513-1 dan -2, miR-518c *, miR-129-1 dan -2, miR-198, miR-492, miR-498, miR-503, miR-373 *, miR-373, miR-19b, miR-26a, miR-195, miR-22, miR-320, miR-21, miR-449a dan -b, miR-221/222, dan miR-25 (Zhao et al. 2009; Martin et al. 2013a; Shen et al. 2014; Ding et al. 2014; Yang dan Mei 2015; Liu et al. 2018a; Wei et al. 2018). MiR-24 juga menyajikan ekspresi berlebih khususnya dalam sampel tumor RB (Untuket al. 2012).

MiR-21 adalah jenis miRNA yang memiliki efek berbeda. Peningkatan MiR-21 dapat menekan viabilitas, migrasi, dan invasi sel tumor melalui penghambatan metaloproteinase MMP2 dan MMP9, yang memainkan peran penting selama migrasi tumor dan invasi. MiR-21 juga dapat mempengaruhi jalur pensinyalan PTEN / PI3k / AKT, yang bertanggung jawab dalam proliferasi sel tumor, apoptosis, dan invasi (Gui et al. 2016).

MiR-498 juga menunjukkan level yang lebih tinggi dalam retinoblastoma dimana peningkatan kadarnya sesuai dengan peningkatan progresifitas sel tumor. Apabila ekspresi ini dihambat, maka akan menginduksi apoptosis dan menurunkan proliferasi sel oleh penghambatan perkembangan siklus sel I (CCPG1) (Yang et al. 2018). Demikian juga, penghambatan ekspresi miR-106b dapat menghambat proliferasi.

Ekspresi rendah pada miR-15a dan miR-16 serta ekspresi tinggi pada miR-198, miR-18a, miR-19b, dan miR-106a menunjukkan chemoresisten yang tinggi (Mitra et al. 2012).



Gambar 12. Disregulasi miRNA dalam retinoblastoma. Tanda panah menunjukkan hipereksprasi atau hipoeksprasi miRNA.

Dalam sebuah penelitian Liu et al., yang melibatkan 130 subyek dengan pembagian kelompok 65 pasien retinoblastoma dan 65 pasien sehat untuk dijadikan kontrol. Pada penelitian ini dilakukan penilaian beberapa miRNAs dalam plasma darah sebagai biomarker diagnostik dipasien dengan retinoblastoma. Mereka menunjukkan downregulasi miRNA plasma yakni: miR-320, let-7c dan miR-21 berhubungan dengan progresifitasretinoblastoma. Hal ini berbanding terbalik dengan kadar miRNA dalam jaringan, sehingga temuan ini memiliki angka sensitifitas serta spesififitas yang rendah (Delsin et al, 2018).

Peningkatan ekspresi miRNA dalam humor aqueous terjadi pada kondisi katarak, miopia maligna, retinoblastoma, melanoma uvea, uveitis, glaukoma, Fuch'sal corneal dystrophy, dan pterigium (Raghunath dan Perumal, 2015). Sehingga peningkatan ekspresi miRNA dalam humor aqueous tidak dapat dijadikan sebagai biomarker khusus untuk kasus retinoblastoma.

5.5 Cell Free DNA (cfDNA)

Merupakan suatu fragmen degradasi DNA yang dilepaskan ke dalam plasma darah. cfDNA dapat digunakan sebagai skema berbagai DNA yang beredar secara bebas dalam aliran darah, termasuk *circulating tumor DNA*(ctDNA) dan *cell-free fetal DNA* (cffDNA). Peningkatan kadar cfDNA dapat diamati pada kanker, terutama pada tahap yang telah lanjut (Shaw dan Stebbing, 2013). Sebuah studi mengemukakan adanya sedikit peningkatan cfDNA seiring dengan bertambahnya usia (Butt dan Swaminathan, 2008). Keberadaan cfDNA telah digunakan sebagai biomaker untuk berbagai macam penyakit termasuk kanker (Stewart dan Tsui, 2018).

Sebuah studi yang dilakukan oleh Gerrish, 2019 membandingkan ekspresi cfDNA cairan humor aqueous pada pasien retinoblastoma yang mendapatkan penanganan kemoterapi intravitreal yang sebelumnya telah menjalani kemoterapi sistemik, dibandingkan dengan pasien retinoblastoma yang menjalani enukleasi primer. Pada studi tersebut didapatkan hasil ekspresi cfDNA humor aqueous pada pasien yang mendapatkan penanganan kemoterapi lebih rendah (<0.100 ng/ μ L) dibandingkan dengan cairan humor aqueous yang didapatkan dari enukleasi primer(0.14–394 ng/ μ L, median 1.67 ng/ μ L) (Gerrish et al, 2019). Temuan menjadi penanda bahwa aktivitas tumor berkurang secara signifikan dengan kemoterapi daripada enukleasi primer (Berry et al, 2017).

Terdeteksinya cfDNA dalam humor aqueous diperkirakan berasal dari proses nekrosis dan lisisnyasel-sel tumor dari segmen posterior yang kemudian berdifusi di ke dalam cavum vitreus dan berjalan ke humor aqueous.

Adapun hipotesa lain adalah lisisnya sel-sel tumoryang bermigrasi ke kamera okuli anterior (Berry et al, 2017).



BAB III KESIMPULAN

Pemeriksaan secara dini dan akurat pada kasus retinoblastoma sangat penting mengingat semakin awal terdeteksi dan pemberian tatalaksana yang tepat dapat mempengaruhi prognosis. Tanda-tanda awal retinoblastoma berupa leukokoria, strabismus, dan visus menurun perlu disadari oleh dokter mata. Selain pemeriksaan fisik, pemeriksaan penunjang sangatlah diperlukan dalam penegakkan diagnosis, respon terapi, dan adanya resiko metastasis.

Berbagai macam pemeriksaan penunjang dibutuhkan dalam penegakkan diagnosis untuk keperluan tatalaksana lanjutan terapi. Pemeriksaan invasif maupun non-invasif telah dikembangkan, seperti *Computerized tomography* (CT-Scan), *Magnetic resonance imaging* (MRI), ultrasonografi (USG), pemeriksaan genetik dan molekular, *Fine-needle aspiration* (FNAB), dan pemeriksaan humor aqueous telah ditemukan dalam usaha penegakan diagnosis retinoblastoma.

Pemeriksaan biomolekular dapat mendeteksi adanya aktivitas aktif sel-sel tumor dapat digunakan sebagai acuan dalam pemantauan respon terapi yang telah diberikan serta mengetahui prognosis penyakit.

DAFTAR PUSTAKA

- Delsin, Lara Elis Alberici; et al. (2018). Expression profiles and prognostic value of miRNAs in retinoblastoma. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*.
- Abramson, P. A. (1979, May). Lactate Dehydrogenase Levels and Isozyme Patterns Measurements in the Aqueous Humor and Serum of Retinoblastoma Patients. *Arch Ophthalmol*.
- Barkhof F, M. S. (1997). Neuroradiology. Dalam *Neuroradiology* (hal. 7: 726-731). Springer.
- Berry, J. L., Xu, L., Murphree, A. L., Krishnan, S., Stachelek, K., Zolfaghari, E., et al. (2017). Potential of Aqueous Humor as a Surrogate Tumor Biopsy fo Retinoblastoma. *JAMA Ophthalmology*, 1221-1230.
- Busch M, Große-Kreul J, Wirtz JJ, Beier M, Stephan H, Royer-PokoraB, Metz K, Dünker N . (2017). Reduction of the tumorigenic potential of human retinoblastoma cell lines by TFF1 overexpression involves p53/caspase signaling and miR-18a regulation. *Int J Cancer* , 141:549–560.
- Butt, A. N., & Swaminathan, R. (2008). Oveview of Circulating Nucleic Acid in Plasma/Serum. *Annals of the New York Academy of Science*, 1337 (1):236-242.
- Carter, J. (2009). Reconizing the Signs of Retinoblastoma. Dalam *Practice Nursing* (hal. 20:8).
- Dalgard CL, Gonzalez M, deNiro JE, O'Brien JM. (2009). Differential microRNA-34a expression and tumor suppressor function in retinoblastoma cells. *Invest Ophthalmol*.
- de Jong Marcus C, P. d. (2014, May). Diagnostic Performance of Magnetic Resonance Imaging and Computed Tomography for Avanced Retinoblastoma. hal. Vol.121 No.5.
- Ding Y, Wu M, Liu J, Wu C, Huang R, Zhu R, Fei J . (2014). Seed-targeting anti-miR-21 inhibiting malignant progression of retinoblastoma and analysis of their phosphorylation signaling pathways. *Exp Eye Res* , 122:1–8.

- Dunmire JJ, L. E. (2013). MicroRNA in Aqueous Humor from Patients with Cataract. *Exp Eye Res*, 108:68-71.
- Eagle RC Jr. (2007). Retinoblastoma and Stimulating lesion. Dalam J. E. Tasman W, *Duane's Foundations of Clinical Ophthalmology* (hal. 21). Hagerstown.
- Galluzi P, & Hadji Stilianou T, C. A. (2009). Is CT still useful in the Study Protocol of Retinoblastoma? *Am J Neuroradiol*, 30: 1760-5.
- Goddard A, K. J. (1999). Delay in Diagnosis of Retinoblastoma : Risk Factors and Treatment Outcome. *Br J Cancer*, 66(1): 211-9.
- He S-Q, Rehman H, Gong M-G, Zhao Y-Z, Huang Z-Y, Li C-H, Zhang W-G, Chen X-P. (2007). Inhibiting survivin expression enhances TRAIL-induced tumoricidal activity in human hepatocellular carcinoma via cell cycle arrest. *Cancer Biol Ther*, 6:1247-1257.
- Jesse J, L. X. (2017). Potential of Aqueous Humor as Surrogate Tumor Biopsy for Retinoblastoma. *JAMA Ophthalmology*.
- Kabak J, Romano PE. (1975). Aqueous Humor Dehydrogenase Isoenzyme in Retinoblastoma. *Br J Ophthalmol*, 59:268-269.
- Kandalam MM, Beta M, Maheswarl UK, Swaminathan S, Krishnakumar. (2012). Oncogenic microRNA 17-92 cluster is regulated by epithelial cell adhesion molecule and could be a potential therapeutic target in retinoblastoma. *Mol Vis*, 18:2279-2287.
- Karcioglu, Z. a. (2002). Fine Needle Aspiration Biopsy (FNAB) for Retinoblastoma. *The Journal of Retinal and Vitreous Diseases*, Vol .22 No.6 Page 707-710.
- Liesegang TJ, S. G. (2016). Pathology and intraocular tumor. *American Academy of Ophthalmology*.
- Liu K, Huang J, Xie M, Yu Y, Zhu S, Kang R, Cao L, Tang D, Duan X. (2014a). MIR34A regulates autophagy and apoptosis by targeting HMGB1 in the retinoblastoma cell . *Autophagy*, 10:442-452.
- Liu SS, Wang YS, Sun YF, Miao LX, Wang J, Li YS, Liu HY, Liu QL. (2014b). Plasma microRNA. 320.
- Martin J, Bryar P, Mets M, Weinstein J, Jones A, Martin A, Vanin EFScholtens D, Costa FF, Soares MB, Laurie NA. (2013b). Differentially expressed miRNAs in retinoblastoma. *Gene*, 512:294-299.

- MB McDonald, A. D. (1977). Lactate Dehydrogenase Levels and Aqueous Humor of Adults Cataract patients. *Arch Ophthalmol*, 95:2068-2069.
- Mendelsohn M E, D. H. (1998). Uric Acid in the Aqueous Humor and Tears of Retinoblastoma Patients. *Journal of AAPOS*, 2:369-71.
- Mendelsohn, M., Abramson, D., Senft, S., Servodidio, C., & Gamache, P. (1998). Uric Acid in the Aqueous Humor and Tears of Retinoblastoma Patients. *Journal of AAPOS*, 2:369-71.
- Mirakholi M; Mahmoudi T; Heidari M. (2013). MicroRNAs horizon in retinoblastoma. *Acta Med Iran*.
- Murphree LA, S. D. (2007). Heritable Retinoblastoma : The RB1 Cancer Predisposition Syndrome. *Clinical Ophthalmic Oncology*, 428-302.
- Nakajima, T., Kanefusa, & Akihiro Kaneko, M. T. (1986). High Concentration of Enolase α - and γ -Subunits, in the Aqueous Humor in Cases of Retinoblastoma. *American Journal of Ophthalmology*, 101:102-106.
- Nittner D, Lambertz I, Clermont F, Mestdagh P, Köhler C, Nielsen SJ, Jochemsen A, Speleman F, Vandesompele J, Dyer MA, SchrammSchulte JH, Marine J-C. (2012). Synthetic lethality between Rb,p53 and Dicer or miR-17-92 in retinal progenitors suppresses retinoblastoma formation. *Nat Cell Biol*, 14:958-965.
- Paduppai, S. (2010). Characteristic of Retinoblastoma Patients at Wahidin Sudirohusodo Hospital 2005-2010 . *The Indonesian Journal of Medical Science*, 2:1-7.
- Pandey, A. (2013). Retinoblastoma: An overview. *Saudi Journal of Ophthalmology*.
- Parulekar, M. (2010). Retinoblastoma — Current treatment and future direction. *Elsevier*.
- Piro, P. A., & David H Abramson, R. M. (1978). Aqueous Humor Lactate Dehydrogenase in Retinoblastoma Patients Clinicopathologic Correlation. *Arch Ophthalmol*, 1823-25.
- Raghunath, A., & Perumal, E. (2015). Micro-RNA and Their Roles in Eye Disorder. Dalam *Ophthalmic Research* (hal. 169-182). Tamil Nadi India: Karger.
- Razek, Elkharmay S. (2011). MRI of Retinoblastoma. *The British Journal of Radiology*, 84:775-784.
- Reis AH; Vargas FR; Lemos B. (2012). More epigenetic hits than meets the eye: microRNAs and genes.

- Rosdiana, N. (2011). Gambaran Klinis dan Laboratorium Retinoblastoma. *Sari Pediatri*, Vol:2(5):319-22.
- Schlote T, R. J. (2006). Pocket Atlas of Ophthalmology. Dalam *Anatomy*. USA: Thieme New York.
- Shaw, J., & Stebbing, J. (2013). Circulating Free DNA in the Management of Breast Cancer. *Ann Transl Med*.
- Shen F, Mo M-H, Chen L, An S, Tan X, Fu Y, Rezaei K, Wang Z, Zhang L, Fu SW. (2014). MicroRNA-21 down-regulates Rb1 expression by targeting PDCD4 in retinoblastoma. *J Cancer*, 5:804-812.
- Shine, B. S., Hungerford, J., Vaghela, B., & Sheraidah, G. A. (1990). Electrophoretic assessment of aqueous and serum neurone-specific enolase in retinoblastoma and ocular malignant melanoma. *British Journal of Ophthalmology*, 74,427-430.
- Soliman, S. E., Racher, H., Zhang, C., MacDonald, H., L. B., & Gallie. (2017, April 2). Genetics and Molecular Diagnostics in Retinoblastoma- An Update. *Genetics and Molecular Diagnostic in RB*, hal. Vol. 6.
- Stewart, C., & Tsui, D. (2018). Circulating cell-free DNA for Non-Invasive Cancer Management. *Cancer Genet*, 228-229:169-79.
- Subramanian N, Kanwar JR, Kanwar RK, Krishnakumar S. (2015). Blocking the maturation of oncomiRNAs using pri-miRNA-17~ 92 aptamer in retinoblastoma. *Nucleic Acid Ther*, 25:47-52.
- Swartz Mano, R. W. (1974). *Aqueous Humor Lactic Acid Dehydrogenase in Retinoblastoma*. Chicago, Illinois: Am J Ophthalmol.
- Tanaka Y, T. S. (2014). Profiles of Extracellular miRNA in the Aqueous Humor of Glaucoma Patients Assessed with a Microarray System. *Sci Rep*, 4:5089.
- Vajzovic et al. (2010). Supraselective Intra-arterial Chemotherapy: Evaluation of Treatment-related Complications in Advanced Retinoblastoma. *Clinical Ophthalmology*, Vol:5 171-176.
- Wallach M, Balmer A, & Munier F et al. (2006). Shorter Time to Diagnosis and Improved Stage at Presentation in Swiss Patients with Retinoblastoma Treated from 1963 to 2004. Dalam *Pediatrics* (hal. 118(5); c1493-8).
- Wroblewski, F. (1957). The Clinicals Significance of Alteration in Lactic Acid Dehydrogenase Activity of Body Fluids. *Am J Med Sci*, 234:301-312.