

KARYA AKHIR

**EVALUASI KADAR *VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR*
(*VEGF*) TERHADAP KEPARAHAN PENYAKIT RETINOBLASTOMA
PADA ANAK**

***EVALUATION OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR
(VEGF) LEVELS ON THE SEVERITY OF RETINOBLASTOMA
IN CHILDREN***

**AZHAR KURNIAWAN
C110215107**



PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS -1 (Sp.1)

PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN ANAK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2020

**EVALUASI KADAR *VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR*
(*VEGF*) TERHADAP KEPARAHAN PENYAKIT RETINOBLASTOMA
PADA ANAK**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Spesialis Anak

Program Studi Ilmu Kesehatan Anak

Disusun dan diajukan oleh

AZHAR KURNIAWAN

Kepada

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS -1 (Sp.1)

PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN ANAK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2020

KARYA AKHIR

EVALUASI KADAR VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) TERHADAP KEPARAHAN PENYAKIT RETINOBLASTOMA PADA ANAK

Disusun dan diajukan oleh :

AZHAR KURNIAWAN

Nomor Pokok : C110215107

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Karya Akhir
pada tanggal 25 November 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui :
Komisi Penasihat,

Prof. Dr. dr. H. Dasril Daud, Sp.A(K)
Ketua

Dr. dr. Nadirah Rasyid Ridha, M.Kes, Sp.A(K)
Anggota

Manajer Program Pendidikan Dokter Spesialis
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

a.n Dekan Fakultas Kedokteran
Wakil Dekan Bidang
Akademik Riset dan Inovasi

dr. Uleng Bahrun, Sp.PK(K), Ph.D
NIP. 19680518 199802 2 001



Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
NIP. 19671103 199802 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Azhar Kurniawan

Nomor mahasiswa : C110215107

Program Studi : Ilmu Kesehatan Anak

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 25 November 2020

Yang menyatakan,



Azhar Kurniawan

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan karya akhir ini.

Penulisan karya akhir ini merupakan salah satu persyaratan dalam rangka penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis di IPDSA (Institusi Pendidikan Dokter Spesialis Anak), pada Konsentrasi Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan karya akhir ini tidak akan terselesaikan dengan baik tanpa bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tulus kepada **Dr. dr. Nadirah Rasyid Ridha, Sp.A(K), M.Kes** sebagai pembimbing materi yang dengan penuh perhatian dan kesabaran senantiasa membimbing dan memberikan dorongan kepada penulis sejak awal penelitian hingga penulisan karya akhir ini.

Ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya penulis sampaikan kepada **Prof. Dr. dr. H. Dasril Daud, SpA(K)** sebagai pembimbing materi dan metodologi yang ditengah kesibukan beliau telah memberikan waktu dan pikiran untuk membantu penulis dalam menyelesaikan penulisan karya akhir ini.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada para penguji yang telah banyak memberikan masukan dan perbaikan untuk

karya akhir ini, yaitu **Dr. dr. H. Idham Jaya Ganda, Sp.A(K), Dr. Hadia Angriani, Sp.A(K), MARS** dan **Dr.dr. St. Aizah Lawang, M.Kes, Sp.A(K), MARS**.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada :

1. Rektor dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas kesediaannya menerima penulis sebagai peserta pendidikan pada Konsentrasi Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu, Program Studi Ilmu Kesehatan Anak, Universitas Hasanuddin.
2. Koordinator Program Pendidikan Dokter Spesialis I, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang senantiasa memantau dan membantu kelancaran pendidikan penulis.
3. Ketua Departemen, Ketua dan Sekretaris Program Studi Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf pengajar (*supervisor*) Departemen Ilmu Kesehatan Anak atas bimbingan, arahan, dan nasehat yang tulus selama penulis menjalani pendidikan.
4. Direktur RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo, Direktur RSP Universitas Hasanuddin, dan Direktur RS Jejaring atas ijin dan kerjasamanya untuk memberikan kesempatan kepada penulis untuk menjalani pendidikan di rumah sakit tersebut.
5. Semua staf administrasi di Departemen Ilmu Kesehatan Anak Anak Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan semua paramedis di RSUP dr. Wahidin dan Rumah Sakit jejaring yang lain

atas bantuan dan kerjasamanya selama penulis menjalani pendidikan.

6. Kedua orang tua saya ayahanda **Hernus Idris** dan ibunda **Amros Nita** serta kedua mertua saya bapak **Jaya Iskandar** dan ibu almarhum **Lesmita** yang senantiasa mendukung dalam doa dan dorongan yang sangat berarti sehingga penulis mampu menjalani proses pendidikan.
7. Istri tercinta saya **Nida UI Husna** dan anak kesayangan saya **Aurellia Isaura Azhar, Archueletta Renjiro Azhar, Amabelle Isaura Azhar, dan Aldevaro Renjiro Azhar** yang dengan penuh kesabaran mendoakan dan menjadi sumber inspirasi dan semangat hidup bagi penulis.
8. Saudara – saudara kandung saya **Eko Nurhadi Hernus** dan **Endah Puspita Sari Hernus** serta anggota keluarga yang lain atas doa dan dukungannya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan karya akhir ini.
9. Semua teman sejawat peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Kesehatan Anak terutama angkatan Juli 2015 : **dr. M. Farid Huzein, Sp.A, dr. Nurul Hidayani, Sp.A, dr. Putri Lestari Gabrilasari, Sp.A, dr. Faisal Ambar, Sp.A, dr. Juanita Aileen Widodo, Sp.A, dr. Andi Rasdiana** atas bantuan dan kerjasamanya yang menyenangkan, berbagai suka dan duka selama penulis menjalani pendidikan.

10. Semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu yang turut membantu menyelesaikan karya akhir ini.

Dan akhirnya penulis berharap semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan Ilmu Kesehatan Anak di masa mendatang. Tak lupa penulis mohon maaf untuk hal-hal yang tidak berkenan dalam penulisan ini karena penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan hasil penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan.

Makassar, 25 November 2020

Azhar Kurniawan

ABSTRAK

Pendahuluan : Retinoblastoma adalah suatu neoplasma yang berasal dari neuroretina (sel batang dan kerucut) atau sel glia, yang bersifat ganas. Angiogenesis merupakan kebutuhan utama untuk pertumbuhan tumor ganas padat seperti retinoblastoma. *vascular endothelial growth factor* (VEGF) adalah glikoprotein proangiogenik yang berfungsi meningkatkan proliferasi, migrasi, survival pada sel endotel serta meningkatkan permeabilitas kapiler. Ekspresi berlebih dari protein VEGF ditemukan pada jaringan retinoblastoma dibandingkan dengan jaringan retina normal.

Tujuan : Penelitian ini bertujuan untuk menilai perbedaan kadar VEGF sebelum kemoterapi pada retinoblastoma grade III dan retinoblastoma grade IV.

Metode : Penelitian ini menggunakan desain *cross sectional* yang dilakukan di Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Dr. Wahidin Sudirohusodo. Populasi penelitian ini adalah semua penderita retinoblastoma yang belum menjalani kemoterapi berumur 1 tahun sampai 18 tahun. Penelitian ini membandingkan kadar VEGF pada penderita anak yang terdiagnosis retinoblastoma grade III dan retinoblastoma grade IV.

Hasil : Penelitian ini melibatkan 38 pasien retinoblastoma yang terbagi atas 2 kelompok, 13 orang pada kelompok retinoblastoma grade III dan 25 pasien pada kelompok retinoblastoma grade IV. Berdasarkan analisis bivariat pada karakteristik jenis kelamin, usia, status gizi pada kelompok retinoblastoma grade III dan retinoblastoma grade IV didapatkan nilai $p > 0,05$ yang berarti tidak ada perbedaan bermakna sehingga dapat disimpulkan karakteristik pada kelompok retinoblastoma grade III dan retinoblastoma grade IV tidak berbeda. Kadar serum VEGF yang sama-sama meningkat signifikan diatas nilai normal pada kelompok retinoblastoma grade III dan grade IV. Analisis perbandingan kadar VEGF pada pasien retinoblastoma grade III dan retinoblastoma grade IV didapatkan nilai $p = 0,794$ ($p > 0,05$) yang menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada kedua kelompok tersebut.

Kesimpulan : Kadar serum VEGF yang sama-sama meningkat signifikan diatas nilai normal pada kelompok retinoblastoma grade III dan grade IV membuktikan bahwa VEGF memiliki peran penting dalam perkembangan sel tumor menjadi stadium lanjut, dan merupakan parameter keparahan penyakit retinoblastoma.

Kata kunci : *retinoblastoma, anak, vegf*

ABSTRACT

Introduction: Retinoblastoma is a neoplasm originating from neuroretina (rods and cones) or glial cells. Angiogenesis is the primary requirement for the growth of solid malignant tumors such as retinoblastoma. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is a proangiogenic glycoprotein which functions to increase proliferation, migration, survival in endothelial cells and increase capillary permeability. Overexpression of the VEGF protein was found in retinoblastoma tissue compared to normal retinal tissue.

Objective: This study aimed to determine differences in VEGF levels before chemotherapy in retinoblastoma grade III and retinoblastoma grade IV.

Methods: This study used a cross sectional design which was conducted at the Central General Hospital (RSUP) Dr. Wahidin Sudirohusodo. The population of this study were all retinoblastoma patients who had not undergone chemotherapy aged 1 year to 18 years. This study compared VEGF levels in children diagnosed with grade III retinoblastoma and grade IV retinoblastoma.

Results: This study involved 38 retinoblastoma patients divided into 2 groups, 13 patients in the retinoblastoma grade III group and 25 patients in the grade IV retinoblastoma group. Based on the bivariate analysis on the characteristics of gender, age, nutritional status in the retinoblastoma grade III and grade IV retinoblastoma groups, the p value was > 0.05 , which means there was no significant difference, so it can be concluded that the characteristics of the retinoblastoma grade III and grade IV retinoblastoma groups were not different. Serum VEGF levels were both significantly elevated above normal values in the grade III and grade IV retinoblastoma groups. Comparative analysis of VEGF levels in patients with retinoblastoma grade III and retinoblastoma grade IV obtained p value = 0.794 ($p > 0.05$) which showed no significant difference in the two groups.

Conclusion: The serum levels of VEGF which were both significantly elevated above normal values in the grade III and grade IV retinoblastoma groups proved that VEGF has an important role in the development of tumor cells into an advanced stage, and is a parameter of the severity of retinoblastoma disease.

Key words: retinoblastoma, children, vegf

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGANTAR	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	
I.1. Latar Belakang	1
I.2. Rumusan Masalah	8
I.3. Tujuan Penelitian	8
I.3.1. Tujuan Umum	8
I.3.2. Tujuan Khusus	8
I.4. Hipotesis	9
I.5. Manfaat Penelitian.....	9
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
II.1. Retinoblastoma	10

II.1.1. Definisi	10
II.1.2. Epidemiologi	10
II.1.3. Etiologi	11
II.1.4. Faktor Risiko	12
II.1.5. Patogenesis	14
II.1.6. Klasifikasi	20
II.1.7. Diagnosis	22
II.1.8. Penatalaksanaan	26
II.1.9. Prognosis	31
II.2. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)	34
II.2.1. Tipe Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)	34
II.2.2. Reseptor Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)	36
II.3. Angiogenesis.....	43
II.3.1. Angiogenesis Tumor	43
II.3.2. Tahap- Tahap Angiogenesis Tumor	45
II.4. Peran VEGF Pada Retinoblastoma	47
II.5. Kerangka Teori.....	55
BAB III. KERANGKA KONSEP	56
BAB IV. METODE PENELITIAN	
IV.1. Desain Penelitian	57
IV.2. Tempat dan Waktu Penelitian	57
IV.3. Populasi Penelitian	57

IV.3.1. Populasi Target	57
IV.3.2. Populasi Terjangkau	58
IV.4. Sampel dan Cara Pengambilan Sampel	58
IV.5. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	58
IV.5.1. Kriteria Inklusi	58
IV.5.2. Kriteria Eksklusi	59
IV.6. Perkiraan Besar Sampel	59
IV.7. Izin Penelitian dan <i>Ethical Clearance</i>	59
IV.8. Cara Kerja.....	60
IV.8.1. Alokasi Subjek	60
IV.8.2. Cara Penelitian	60
IV.8.2.1 Prosedur Penelitian	60
IV.8.2.2 Prosedur Pemeriksaan	61
IV.8.2.3 Skema Alur Penelitian	63
IV.9. Identifikasi Variabel Penelitian	64
IV.9.1. Identifikasi Variabel.....	64
IV.9.2. Klasifikasi Variabel.....	64
IV.9.2.1 Berdasarkan Jenis Data dan Skala Pengukuran	64
IV.9.2.2 Berdasarkan Peran atau Fungsi Kedudukannya.....	64
IV.10. Definisi Operasional dan Kriteria Obyektif	65
IV.10.1. Definisi Operasional.....	65

IV.10.2. Kriteria Obyektif	66
IV.11. Pengolahan Data dan Analisis Data.....	68
IV.11.1. Analisis Univariat	68
IV.11.2. Analisis Bivariat	68
IV.11.3. Uji Korelasi	69
BAB V. HASIL PENELITIAN	
V.1 Jumlah Sampel	70
V.2 Karakteristik Sampel Penelitian.....	71
V.2.1 Distribusi Karakteristik Sampel Penelitian dengan Derajat Keparahan Penyakit Retinoblastoma	72
V.3 Analisis Perbandingan Kadar VEGF Penderita Retinoblastoma Grade III dan Grade IV	75
V.3.1 Analisis Perbandingan Kadar VEGF berdasarkan Lokasi Pada Penderita Retinoblastoma Grade IV	76
BAB VI. PEMBAHASAN	77
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN	
VII.1 Kesimpulan.....	88
VII.2 Saran.....	88
DAFTAR PUSTAKA.....	89
LAMPIRAN	94

DAFTAR GAMBAR

Nomor Gambar	Halaman
1. Lokasi Gen RB1 pada kromosom 13q14	12
2. pRB1 sebagai Tumor Suupressor Genes	16
3. Patogenesis Retinoblastoma	18
4. Leukokoria.....	23
5. VEGF Singanaling Pathway	38
6. Molekul VEGF dan Reseptor	41
7. Proses Angiogenesis.....	44
8. Angiogenik dari sel aktif ke pembuluh darah tumor	47
9. Peran mikropartikel dalam menghasilkan VEGF.....	48
10. Perubahan fungsi gap junction dalam sel endotel.....	49
11. Peranan hipoksia pada VEGF	50
12. Faktor RB-E2F mengendalikan angiogenesis.....	54
13. Skema Alur Penelitian	63

DAFTAR TABEL

NOMOR TABEL	HALAMAN
1. Sistem Klasifikasi Prognostik Retinoblastoma	33
2. Karakteristik Sampel Penelitian.....	71
3. Distribusi jenis kelamin Dengan Derajat Keparahan Penyakit Retinoblastoma	72
4. Distribusi status gizi Dengan Derajat Keparahan Penyakit Retinoblastoma	73
5. Distribusi usia Dengan Derajat Keparahan Penyakit Retinoblastoma	74
6. Perbandingan kadar <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (VEGF) penderita retinoblastoma grade III dan grade IV	75
Perbandingan kadar <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (VEGF) berdasarkan lokasi pada penderita retinoblastoma grade IV	76

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Arti dan Keterangan
bFGF	: Basic Fibroblast Growth Factor
CD	: Cluster Disease
CDKs	: Cyclin Dependent Kinases
CT	: Computerized tomography
dkk	: Dan kawan-kawan
dkk	: Dan kawan-kawan
DNA	: Double Nucleic Acid
EMT	: Epithelial Mesenchymal Transition
H ₂ O ₂	: Hidrogen Peroksida
HPV	: Human Papilloma Virus
ICAM	: Intercellular Adhesion Molecule
IFN- γ	: Interferon gamma
IL	: Interleukin
LAP	: Latency Associated Peptide
LOH	: Loss of Heterozigosity
LTBP	: Latent TGF- β Binding Protein
MDMX	: Murine Double Minute
MHC	: Mayor Hiskompatibilitas
MMP	: Matriks Metalloproteinase
MP	: Mature Peptide

Singkatan	Arti dan Keterangan
MRI	: Magnetic resonance imaging
NK	: Natural Killer
NLS	: <i>Nuclear Localization Signal</i>
NO	: Nitrit Oksida
NOS	: Nitrit Oksida Sintase
PDGF	: Platelet-Derived Growth Factor
pRb	: Protein Retinoblastoma
RB	: Retinoblastoma
RSUD	: Rumah Sakit Umum Daerah
RSUP	: Rumah Sakit Umum Provinsi
SLC	: <i>Small Latent Complex</i>
SMAD	: Signal Mother Against Drosophila
SP	: Sinyal Peptida
TGF- β	: Transforming Growth factor-Beta
Th	: T-Helper
TNF	: Tumor Necrosis Factor
TSP	: Trombospandin
T β R	: TGF- β Receptor
VGEF	: Vascular Endothelial Growth Factor
WHO	: World Health Organization

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Retinoblastoma adalah tumor ganas intraocular primer pada anak-anak yang paling sering terjadi, juga merupakan tumor ketiga yang terbanyak dari seluruh tumor intraocular. Tumor ini berasal dari perubahan keganasan sel primitif retina, dengan insidens yang dilaporkan 1 : 15.000 sampai 1 : 20.000 kelahiran hidup. Di Amerika Serikat sebanyak 250 – 500 kasus baru retinoblastoma dilaporkan tiap tahunnya. Frekuensi di Asia, diwakili oleh Mumbai, India, pada periode 1986 – 1998, dari kasus 10.000 kasus kanker terdeteksi, terdapat 211 (0.2%) kasus keganasan mata. Dari 211 kasus tersebut, 147 diantaranya adalah kasus retinoblastoma, dimana 145 (98%) terjadi pada anak-anak (Yeole, dkk, 2002).

Di Indonesia, RS Cipto Mangunkusumo Jakarta, ditemukan 15 – 20 kasus baru retinoblastoma per tahun sebelum tahun 2002, dan meningkat setiap tahunnya hingga 40 kasus per tahun pada tahun 2002-2003. Data dari penelitian di RSUD Dr. Soetomo Surabaya dari tahun 1999 hingga 2003 menunjukkan 115 kasus penderita dengan retinoblastoma (Dharmawidari, dkk, 2010). Di Sulawesi Selatan, RS Wahidin Sudirohusodo Makassar, dari tahun 2013-2018 berdasarkan data Sistem Informasi Rumah Sakit, ditemukan kasus baru retinoblastoma yang

dirawat di Departemen Ilmu Kesehatan Anak sebanyak 95 kasus (SIRS, 2018). Dari tahun 2005-2010 di poliklinik rawat jalan RS Wahidin Sudirohusodo Makassar, ditemukan kasus retinoblastoma sebanyak 67 kasus (70 mata) dengan perbandingan kasus sesuai stadium kanker adalah stadium I:12,9%, stadium II :22,9%, stadium III: 44,3%, stadium IV:20% (Paduppai S, 2010).

Sebanyak 90% kasus retinoblastoma terdiagnosis pada usia dibawah 5 tahun, dengan rata-rata usia pasien saat terdiagnosis adalah 18 bulan. Gejala-gejala dini pada retinoblastoma sering tidak disadari hingga muncul manifestasi klinis awal berupa pupil memutih (leukokoria), strabismus, atau inflamasi. Manifestasi klinis lainnya dapat berupa rubeosis iris, hipopion, hifema, buftalmia, selulitis orbital, dan eksoftalmia. Manifestasi klinis tersebut masih terlalu umum sehingga diperlukan pemeriksaan funduskopi untuk mengetahui lebih jauh. Manifestasi klinis lebih lanjut dapat berupa tumor solid intraokuler atau ekstraokuler (Aerts, dkk, 2006).

Gejala klinis retinoblastoma beraneka ragam, seperti adanya leukokoria, strabismus, peradangan iris (iritis), buftalmos, hifema spontan dan retinal detachment. Hal ini menyebabkan beberapa pemeriksaan khusus sangat diperlukan seperti oftalmoskopi (direct dan indirect), USG, X-Ray, dan CT-Scan, serta pemeriksaan histologi (Etter, 2005).

Penelitian oleh Prijanto dan Ululil, tahun 2003, di RSUD Dr. Soetomo Surabaya, pada penderita retinoblastoma yang tumornya sudah invasi ke saraf optikus, didapatkan gambaran klinis pada saat penderita ini datang pertama kali di RSUD Dr. Soetomo Surabaya yaitu leukokoria 92%, mata merah 25,81%, kekeruhan vitreus 19,35%, kekeruhan kornea 12,9%, strabismus 3,23%, buftalmos 3,23%, hifema 3,23% (Prijanto, dkk, 2003).

Retinoblastoma merupakan penyakit keganasan pertama yang diketahui berhubungan dengan kelainan genetik. Ada dua jenis mutasi pada retinoblastoma yaitu mutasi germinal dan non-germinal. Mutasi germinal (60% kasus) biasanya bersifat bilateral, sedangkan non-germinal (40% kasus) bersifat unilateral. Retinoblastoma disebabkan oleh mutasi gen RB1, yang terletak pada lengan panjang kromosom 13 pada locus 14 (13q14). Gen RB1 akan mengkode nukleoprotein pRB, yang merupakan *tumor suppressor gene* yang bekerja pada siklus sel fase G1 dari sel *rod* dan *cone* serta sel progenitor retina sebelum masuk fase sintesis (S). Ketika gen ini diinaktivasi, sinyal genetik yang normalnya menghambat proliferasi sel dirusak sehingga menyebabkan pertumbuhan yang tidak normal dari sel. Beberapa penelitian menyatakan bahwa tumorigenesis retinoblastoma terjadi karena ketidakadaan nukleoprotein pRB (Aerts, dkk, 2006).

Dalam kondisi patologis, angiogenesis merupakan kebutuhan utama untuk pertumbuhan tumor ganas padat seperti retinoblastoma.

Angiogenesis adalah suatu proses terbentuknya pembuluh darah baru atau neovaskularisasi dari pembuluh darah yang telah ada. Pertumbuhan tumor yang melebihi ukuran 2-3 mm memerlukan asupan nutrisi dari pembuluh darah baru. Struktur dan fisiologi mikrovaskular menjadi abnormal pada keganasan, kebanyakan disebabkan oleh proliferasi dari sel endotel, kerusakan matriks ekstraseluler pembuluh darah dan terbentuknya pembuluh-pembuluh darah yang abnormal (Plank,dkk, 2003).

Proses angiogenesis diatur secara ketat dan stimulasi angiogenesis terjadi bila faktor pertumbuhan berikatan dengan reseptornya. Sel kanker membuat faktor pertumbuhan yang menginduksi pertumbuhan pembuluh darah kapiler baru dan mulai mempromosikan angiogenesis diawal tumorigenesis. Proses angiogenesis merupakan hasil regulasi keseimbangan inhibitor dan stimulator yang mengatur proliferasi endotel, migrasi endotel dan pembentukan molekul kapiler. Tumor ganas melepaskan beberapa substansi sebagai faktor proangiogenik seperti *Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF)*, *Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)*, *Platelet-Derived Growth Factor (PDGF)*, *Transforming Growth Factor - β (TGF- β)*, *Angiopoietins*, *ICAM-1* dan *Metalloproteinase* (Plank, dkk, 2003; Vinals, dkk 2001).

Vascular endothelial growth factor (VEGF) adalah glikoprotein proangiogenik yang berfungsi meningkatkan proliferasi, migrasi, survival pada sel endotel serta meningkatkan permeabilitas kapiler. Sel

memerlukan oksigen yang digunakan sebagai energi untuk menjalankan proses proses molekuler. VEGF adalah peptida spesifik sel endotel mitogen dan faktor angiogenik, dan hipoksia serta berbagai sitokin meningkatkan ekspresi VEGF. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa VEGF diekspresikan berlebihan pada banyak tumor, yang merangsang angiogenesis baik in vitro dan in vivo. VEGF terutama diproduksi oleh sel parenkim dan mempromosikan proliferasi sel endotel, yang menginduksi migrasi, diferensiasi, dan proliferasi sel kanker. VEGF juga merangsang produksi oksida nitrat dan menginduksi vasodilatasi melalui modulasi kontraksi sel otot polos pembuluh darah. Pertumbuhan sel sangat tergantung pada dukungan darah, dan angiogenesis abnormal menyediakan lebih banyak bahan dan oksigen untuk sel tumor. (Hicklins DJ, 2005).

Beberapa penyakit seperti tumor ditandai oleh adanya kelainan angiogenesis dan ekspresi berlebihan VEGF. Pada tumor angiogenesis, sinyal VEGF yang dihambat akan mengganggu proses angiogenesis dan berdampak pada pertumbuhan tumor, progresifitas tumor, dan metastasis. Hal ini menunjukkan bahwa VEGF merupakan faktor utama dari proses angiogenesis dan pertumbuhan tumor. Penghambatan fungsi VEGF ini dapat dilakukan oleh berbagai cara, diantaranya adalah dengan antibodi monoklonal VEGF, VEGFR inhibitor, antisense mRNA VEGF, konjugasi VEGF dengan toksin, dan mutan VEGF antagonis. (Hicklins DJ, 2005).

Diketahui bahwa VEGF messenger RNA diekspresikan dalam sel neoplastik retinoblastoma, tetapi sedikit dari ekspresi tersebut terjadi pada sel endotel tumor, dan bahwa VEGF, yang disekresikan dari sel neoplastik, mempengaruhi sel endotel terdekat dan berfungsi sebagai mediator paracrine. Ekspresi berlebih dari protein VEGF ditemukan pada jaringan retinoblastoma dibandingkan dengan jaringan retina normal. Dalam penelitian yang dipublikasikan, ekspresi berlebih dari VEGF telah terdeteksi pada jaringan retinoblastoma, dan menginduksi kebocoran vaskular pada lapisan kapiler neovaskular. Perubahan epigenetik ini mempengaruhi ekspresi gen dan mengganggu regulasi jalur pensinyalan.

Sel-sel retinoblastoma mengganggu jalur pensinyalan VEGF fisiologis dalam mata dengan secara bersamaan mengeluarkan dengan kadar yang tinggi dari faktor pertumbuhan ini dan mengekspresikan sejumlah besar reseptor kognitifnya yakni pola ekspresi temporal VEGF / VEGFR-2 mungkin menjelaskan terjadinya neovaskularisasi iris di ruang anterior mata.

Kebanyakan retinoblastoma dikaitkan dengan mutasi gen tumorsuppressor RB1. Biasanya, RB1 berfungsi sebagai regulator utama dari pos pemeriksaan G1, tetapi beberapa penelitian terbaru juga mendefinisikan peran untuk RB1 dalam berbagai proses seluler, termasuk pemeliharaan stabilitas kromosom, induksi dan pemeliharaan penuaan, apoptosis, diferensiasi, dan angiogenesis. Peran utama RB1 dalam angiogenesis tampaknya melalui jalur p21 / E2F / Rb, yang secara tidak

langsung menekan ekspresi VEGF. Biasanya, jalur ini diaktifkan oleh hipoksia dan secara mekanis berbeda dari peran klasik yang dimainkan jalur p21 / E2F / Rb dalam regulasi siklus sel. Karena pada sebagian besar tumor retinoblastoma, peristiwa utamanya adalah mutasi gen RB1, menghasilkan protein RB1 yang tidak ada atau tidak berfungsi, salah satu penekan VEGF tidak langsung mungkin tidak ada, sehingga meningkatkan neovaskularisasi tumor (Garcia JR, 2015). Sehingga ekspresi yang meningkat dari VEGF merupakan faktor yang berperan dalam pertumbuhan tumor. Atas dasar itu, maka Penelitian ini **penting** dilakukan untuk menilai kadar serum Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), sebelum kemoterapi pada penderita retinoblastoma grade III dan grade IV.

Seperti yang telah dijelaskan diatas, hasil penelitian sebelumnya bahwa terjadi korelasi yang signifikan antara tingkat vaskularisasi tumor dan ekspresi VEGF. Dalam meta-analisis, adanya signifikansi klinikopatologis dari VEGF pada retinoblastoma dan mendeteksi hubungan potensial antara ekspresi VEGF. Hasil mengkonfirmasi bahwa overekspresi VEGF sangat terkait dengan diferensiasi retinoblastoma yang buruk dan invasi tumor. (Arian C, 2010; Qizheng W, 2018). Berdasarkan hal tersebut maka penelitian ini **perlu** dilakukan agar dalam aplikasi klinis nantinya, dapat diketahui progresi penyakit retinoblastoma terutama membedakan beratnya penyakit pada penderita retinoblastoma

grade III dan grade IV dengan melakukan pemeriksaan kadar serum VEGF.

Penelitian tentang kadar serum VEGF dengan penderita Retinoblastoma pada anak masih sangat terbatas, dan sepengetahuan peneliti belum pernah ada publikasi ilmiah nasional maupun internasional mengenai hal ini di Makassar. Ini merupakan **novel** penelitian, sehingga diharapkan penelitian ini dapat meningkatkan pengetahuan kita untuk aplikasi klinik yang lebih baik di masa mendatang.

I.2 Rumusan Masalah

Dengan memperhatikan latar belakang permasalahan di atas, maka dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut :

1. Apakah ada perbedaan kadar VEGF sebelum kemoterapi pada retinoblastoma grade III dan retinoblastoma grade IV?

I.3 Tujuan Penelitian

I.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengevaluasi kadar VEGF sebelum kemoterapi pada retinoblastoma grade III & retinoblastoma grade IV

I.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengukur kadar VEGF sebelum kemoterapi pada retinoblastoma grade III.
2. Mengukur kadar VEGF sebelum kemoterapi pada retinoblastoma grade IV.

3. Membandingkan kadar VEGF sebelum kemoterapi pada retinoblastoma grade III dan retinoblastoma grade IV

I.4. Hipotesis

Kadar VEGF lebih tinggi sebelum kemoterapi pada penderita retinoblastoma grade IV dibandingkan dengan penderita retinoblastoma grade III.

I.5. Manfaat Penelitian

1. Ilmu pengetahuan

Memberikan informasi ilmiah dan pengembangan ilmu tentang kadar VEGF sebelum kemoterapi serta untuk menilai beratnya derajat retinoblastoma grade III dan retinoblastoma grade IV.

2. Bagi pelayanan kesehatan

Sebagai acuan penelitian terapi antiangiogenesis yang merupakan pendekatan rasional untuk pengobatan penyakit kanker di masa depan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Retinoblastoma

II.1.1 Definisi

Retinoblastoma adalah tumor ganas intraokular primer pada anak-anak yang paling sering terjadi, juga merupakan tumor ketiga yang terbanyak dari seluruh tumor intraokular. Retinoblastoma adalah suatu penyakit keganasan pada lapisan retina mata. Retinoblastoma dapat menyerang segala usia, tetapi umumnya menyerang anak dengan usia di bawah 3 tahun (Radhakrishnan V, dkk , AAO, 2012).

II.1.2. Epidemiologi

Retinoblastoma adalah tumor intraokular yang paling sering pada bayi dan anak yang berjumlah sekitar 3% dari seluruh tumor pada anak. Kasus retinoblastoma bilateral secara khas didiagnosis pada tahun pertama kehidupan dalam keluarga dan pada kasus sporadik unilateral di diagnosis antara umur 1–3 tahun dan onset diatas 5 tahun jarang terjadi(Rodriguez-Gallindo, 2010).

Perkiraan kejadian retinoblastoma 1:15.000 sampai 1:20.000 kelahiran hidup. Di Amerika Serikat diperkirakan 250-300 kasus baru retinoblastoma setiap tahun. Di Mexico dilaporkan 6-8 kasus per juta

populasi dibandingkan dengan Amerika Serikat sebanyak 4 kasus per juta populasi (Rodriguez-Gallindo, 2010).

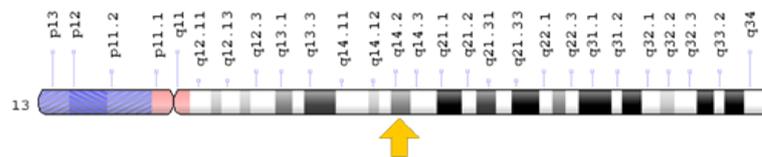
Di Indonesia, RS Cipto Mangunkusumo Jakarta, ditemukan 15 – 20 kasus baru retinoblastoma per tahun sebelum tahun 2002, dan meningkat setiap tahunnya hingga 40 kasus per tahun pada tahun 2002-2003. Data dari penelitian di RSUD Dr. Soetomo Surabaya dari tahun 1999 hingga 2003 menunjukkan 115 kasus penderita dengan retinoblastoma (Dharmawidari,dkk, 2010). Di Sulawesi Selatan, RS Wahidin Sudirohusodo Makassar, dari tahun 2013-2018 berdasarkan data Sistem Informasi Rumah Sakit, ditemukan kasus baru retinoblastoma yang dirawat di Departemen Ilmu Kesehatan Anak sebanyak 95 kasus (SIRS, 2018). Dari tahun 2005-2010 di poliklinik rawat jalan RS Wahidin Sudirohusodo Makassar, ditemukan kasus retinoblastoma sebanyak 67 kasus (70 mata) dengan perbandingan kasus sesuai stadium kanker adalah stadium I:12,9%, stadium II :22,9%, stadium III: 44,3%, stadium IV:20% (Padupai S, 2010).

II.1.3. Etiologi

Retinoblastoma merupakan penyakit keganasan pertama yang dapat diidentifikasi melalui genetik. Penyakit retinoblastoma terjadi akibat mutasi gen RB1 yang terletak pada kromosom 13 pada locus 14 (13q14) (Etter & Bansal dalam AAO, 2005). Mutasi tersebut dapat berupa perubahan jumlah region kromosom 13q14 (delesi, translokasi), perubahan nukleotida (substitusi, delesi, insersi dan duplikasi), delesi ekson (tunggal

atau jamak); *Loss of Heterozigosity (LOH)*, atau *CpG islands hypermethylation* pada region gen RB1 (Joseph & Kumaramanickavel, 2007).

ketidakstabilan gen akibat mutasi tersebut menyebabkan perkembangan progresif lebih lanjut dari sel retina menjadi RB malignan. Progresifitas tersebut disebabkan oleh hilangnya kedua buah alel gen RB1 pada retina yang diikuti dengan perubahan jumlah sel onkogen, seperti MYCN (2p24.3), E2F3 dan DEK (6p22), KLF14 (7q32), dan MDM4 (1q32), juga tumor suppressor gene CDH11 (16q21) dan p75NTR (17q21) (Kandalam, M., dkk., 2010).



Gambar 1. Lokasi Gen RB1 pada Kromosom 13q14 (www.ghr.nlm.nih.gov/gene)

II.1.4. Faktor Risiko

Faktor risiko retinoblastoma dapat berupa mutasi gen RB1 yang menyebabkan sel retinoblas membelah tidak terkontrol sehingga membentuk tumor. Mutasi ini dapat terjadi secara *sporadic* (didapat) yang bisa terjadi kapan saja selama hidupnya atau *inherited* (diwariskan) dari orang tua ke anak. Faktor risiko berikutnya adalah riwayat keluarga. Anak dengan orang tua yang mempunyai riwayat retinoblastoma bilateral mempunyai risiko 45%, sedangkan anak dengan orang tua yang

mempunyai riwayat retinoblastoma unilateral mempunyai risiko 7,5% untuk mengalami retinoblastoma. Anak dengan riwayat saudara kandung yang mengalami retinoblastoma bilateral mempunyai risiko 5-7%, sedangkan untuk retinoblastoma unilateral mempunyai risiko 1%. Anak dengan saudara kandung yang mengalami retinoblastoma unilateral atau bilateral, disertai dengan riwayat orang tua yang juga mengalami RB, memiliki risiko 45% untuk mendapatkan retinoblastoma (*Canadian Cancer Society*, 2014).

Faktor risiko selanjutnya adalah status gizi anak. Status gizi anak menentukan diagnosis tingkat beratnya dan penatalaksanaan retinoblastoma. Penelitian sebelumnya oleh Selvi di RSUP H.Adam Malik periode 1999-2003, dari total 32 pasien, dijumpai ada 13 (40,6%) pasien retinoblastoma dengan malnutrisi berat, 9 (28,1%) pasien retinoblastoma dengan malnutrisi sedang, dan 2 (6,3%) pasien dengan malnutrisi ringan, dan hanya 8 (25%) pasien retinoblastoma dengan status gizi normal (Nafianti, 2006). Kurangnya asupan folat selama kehamilan juga diprediksi berperan dalam faktor risiko retinoblastoma, terutama retinoblastoma unilateral, pada negara berkembang (Orjuela, M.A., dkk., 2012).

Selain itu, di negara berkembang, terdapat tingkat pendidikan dan kondisi sosioekonomi yang rendah, serta kurang memadainya sarana kesehatan. Hal ini mengakibatkan tertundanya diagnosis dan penatalaksanaan retinoblastoma yang optimal. Hal ini turut berperan

dalam meningkatkan risiko retinoblastoma dan dapat memperparah kondisi anak (Rodriguez-Galindo, dkk., 2010).

II.1.5. Patogenesis

Sel normal memiliki suatu mekanisme gen pengaturan yang melindunginya dari sel onkogen, yaitu *tumor-suppressor genes*. Ketika gen ini diinaktivasi, sinyal genetik yang normalnya menghambat proliferasi sel dirusak sehingga menyebabkan pertumbuhan yang tidak normal dari sel. Gen p53 dan gen retinoblastoma (RB) merupakan contoh dari *tumor-suppressor genes* (Porth C., 2010).

a) Teori mutasi gen RB1

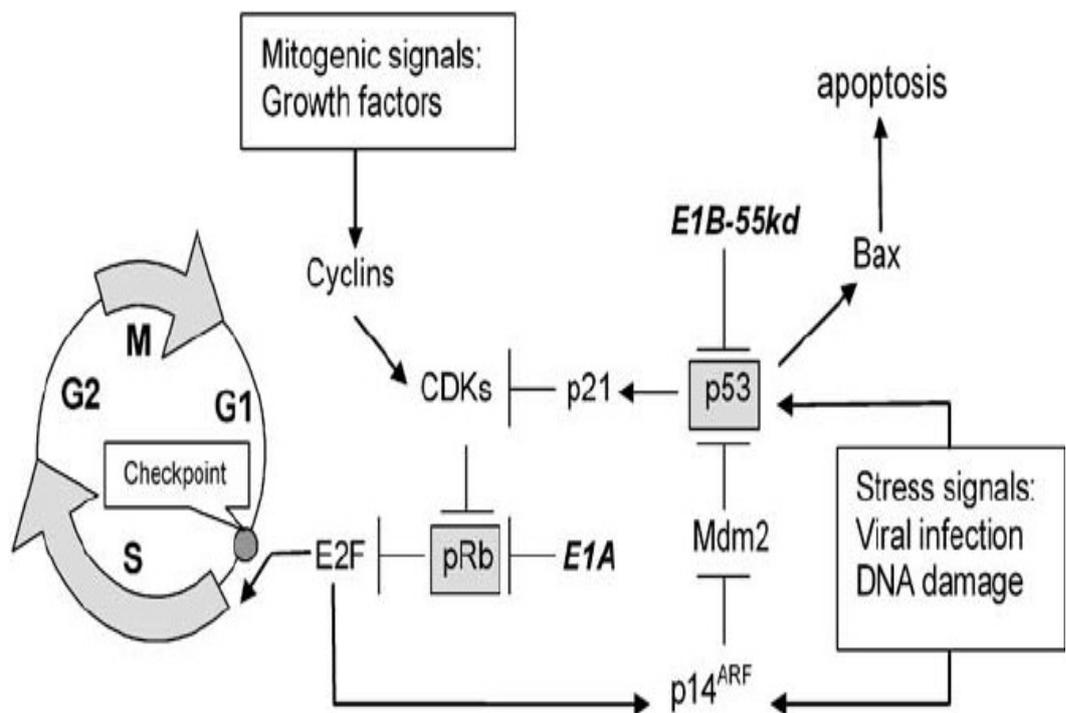
RB1 mengkode protein Rb, dimana fungsinya adalah sebagai *tumor-suppressor oncogene*, dengan cara mengontrol siklus sel melalui interaksi kompleks dengan beberapa enzim kinase. Pada keadaan absennya stimulus mitogenik, tugas RB1 adalah menghambat siklus sel dalam proses transkripsi gen yang diperlukan untuk masuk fase S (Porth C., 2010).

Fungsi RB1 dapat dirusak dengan ekspresi berlebih dari *cyclin-D* atau hilangnya p16INK4A (Kandalam, M., dkk., 2010). *Cyclin-D* adalah protein regulator, berikatan dengan enzim *cyclin dependent kinases* (CDKs), berfungsi untuk mengontrol titik transisi siklus sel melalui proses fosforilasi dan defosforilasi. Pada kasus retinoblastoma, *checkpoint* dari fase G1 ke S, berfungsi untuk cek DNA apakah sudah direplikasi dengan

sempurna, mengalami hiperfosforilasi. Keadaan hiperfosforilasi tersebut dapat dipicu oleh virus yang mengubah protein regulator, seperti adenovirus E1A, *siman virus 40* (SV40), dan HPV-7. Akibatnya, replikasi DNA menjadi tidak terkontrol dan hasil replikasi tersebut tidak sempurna (Othman I.S., 2012).

Mekanisme kontrol siklus sel. protein retinoblastoma (pRb) mengatur pos pemeriksaan siklus sel fase G1 ke S. Ketika pRb dihipofosforilasi, hal itu mencegah perkembangan siklus sel dari fase G1 ke S. pRb memberikan efek ini dengan mengikat dan menekan faktor transkripsi E2F, yang biasanya menginduksi ekspresi gen yang diperlukan untuk sintesis DNA. Ketika sebuah sel menerima sinyal mitogenik, salah satu protein yang diregulasi naik adalah cyclin D, yang kemudian memungkinkan cyclin-dependent kinase 4 (CDK4) untuk memfosforilasi pRb. Sebagai hasil dari fosforilasi ini, pRb tidak dapat mengikat dan menekan E2F lagi, yang mengarah ke perkembangan ke fase S dan fase siklus sel berikutnya. Protein lain yang sangat penting berkaitan dengan kontrol siklus sel adalah protein penekan tumor p53. p53 adalah faktor transkripsi yang diatur dan diaktifkan pada sinyal stres seperti kerusakan DNA atau infeksi virus. p53 dapat mengaktifkan transkripsi gen yang mengkode protein yang menginduksi apoptosis (misalnya Bax) atau menghentikan siklus sel (misalnya p21). p21 mampu menonaktifkan cyclin-dependent kinase, dengan demikian menghambat perkembangan melalui siklus sel. Aktivitas p53 ditangkal oleh *Mouse double minute 2*

homolog (MDM2), yang menonaktifkan p53 melalui pengikatan dan degradasi yang dimediasi berikutnya. Pada gilirannya, efek Mdm2 dapat dihambat oleh p14 ARF, protein penekan tumor yang diregulasi oleh sinyal stres dan sinyal mitogenik, seperti E2F. Karena aktivitas E2F diblokir oleh pRb, inaktivasi pRb mengarah ke aktivasi p53 dan berfungsi sebagai mekanisme keamanan selama perkembangan melalui siklus sel. Secara keseluruhan, tidak mengherankan bahwa inaktivasi jalur pRB atau p53 baik oleh mutasi (seperti pada tumor) atau intervensi oleh protein virus, seperti adenoviral E1A dan E1B-55kd, akan menyebabkan hilangnya kontrol siklus sel (Evert, 2004).



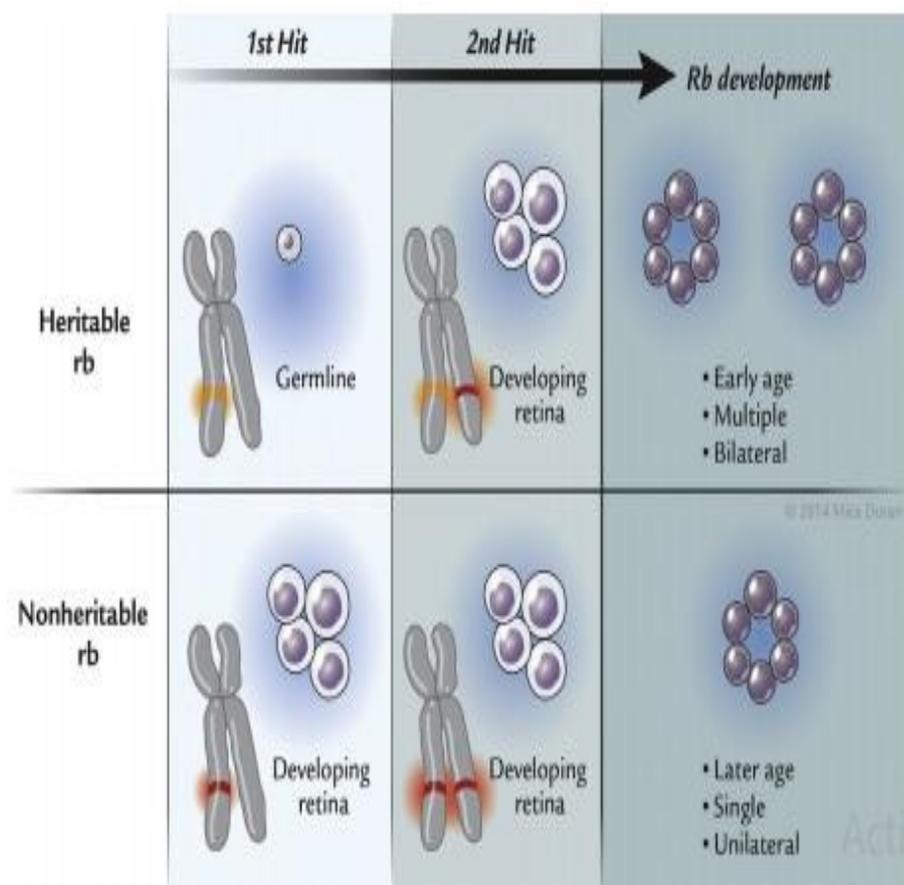
Gambar 2. pRB1 sebagai *Tumor Suppressor Genes* (Evert, 2004).

Retinoblastoma dapat muncul dalam dua bentuk mutasi genetik, yaitu mutasi *sporadic* (didapat) dan mutasi herediter (riwayat keluarga) (Yeole & Advani, 2001). Postulasi Knudson menyatakan bahwa retinoblastoma terjadi karena dua buah bentuk mutasi, yaitu dari sel germinal dan non-germinal (sel somatik) (Aerts, dkk., 2006). Baik mutasi sel germinal maupun sel non germinal (sel somatik) terjadi akibat mutasi pada kedua buah alel *gen RB1* yang terletak pada kromosom 13q14 (D'Elia, dkk., 2013).

Pada tahun 1971, Knudson mengajukan hipotesis dua hit. Ia menyatakan bahwa agar retinoblastoma berkembang, dibutuhkan dua mutasi kromosom. Pada retinoblastoma herediter, *first hit* adalah mutasi germinal, yang diturunkan dan ditemukan di semua sel. *Second hit* berkembang di sel retina somatik yang mengarah ke perkembangan retinoblastoma. Pada retinoblastoma sporadis, *first* dan *second hit* terjadi selama perkembangan retina dan merupakan mutasi somatik. Oleh karena itu, tidak ada risiko tumor monokuler kedua (Pandey, 2013).

Individu normal mempunyai dua buah gen retinoblastoma. Pada kasus herediter (60% kasus), gen retinoblastoma mengalami dua bentuk mutasi. Mutasi pertama adalah mutasi hemizigot sel germinal (RB,rb), diikuti dengan mutasi kedua yaitu mutasi sel non germinal (sel somatik) homozigot (rb,rb) yang menjadi dasar pembentukan retinoblastoma bilateral. Pada kasus *sporadic* (40% kasus), mutasi pertama dan kedua adalah mutasi sel non germinal (sel somatik) yang mengakibatkan

retinoblastoma unilateral dan unifokal (Othman, I.S., 2012). Pasien dengan unilateral atau bilateral retinoblastoma terkadang mempunyai kelainan tambahan berupa tumor neuroblastik intrakranial (biasanya pada kelenjar pineal), biasa dikenal dengan *trilateral retinoblastoma syndrome* (TRB). Kelainan kromosom yang menyebabkan berkembangnya TRB adalah delesi besar dari kromosom 13q14 (D'Elia, dkk., 2013).



Gambar 3. Patogenesis Retinoblastoma (Mendoza, 2015)

b) Teori p53

Protein 53 (p53) merupakan *tumor-suppressor gene* yang berfungsi dalam mengontrol siklus sel atau apoptosis. Dalam keadaan stress, sel akan mengalami kerusakan DNA atau jatuh dalam keadaan onkogenik

(Kandalam, M., dkk., 2010). Pada kasus retinoblastoma, gen p53 diinaktivasi oleh amplifikasi murine double minute-4 (MDMX) sehingga ini menjadi dasar pemikiran para ahli untuk membuat tata laksana kemoterapeutik retinoblastoma (Laurie, dkk., 2006 dalam Kandalam, M., dkk., 2010).

c) Teori radikal bebas

Reactive oxide species seperti radikal bebas superoksida (O_2^-) dan hidrogen peroksida (H_2O_2) memberikan peran penting terhadap inisiasi dan progresi dari karsinogenesis. *Reactive oxide species* yang bergabung bersama *reactive nitrogen species* secara endogen atau eksogen dinamakan "*oxidative and nitrosative stress*", kemudian hasilnya berupa agen vasoaktif nitrit oksida (NO). Agen vasoaktif NO disintesis dari asam amino L-Arginin oleh enzim nitrit oksida sintase (NOS), berfungsi sebagai vasodilator (Kandalam, M., dkk., 2010).

Telah ditemukan tiga bentuk isoform dari enzim NOS yang mengkode tiga gen berbeda. Dua diantara isoform NOS adalah endotelial dependen kalsium dan tipe neural (eNOS dan nNOS); bentuk isoform lainnya induksi (iNOS) dan aksinya tidak dependen kalsium (Kandalam, M., dkk., 2010). Telah ditemukan ekspresi gen eNOS dan iNOS pada jaringan tumor retinoblastoma. Ekspresi gen eNOS ditemukan pada retinoblastoma stadium awal maupun stadium invasif, sedangkan ekspresi gen iNOS lebih banyak ditemukan pada retinoblastoma stadium invasif (Krishnakumar, dkk., 2005).

II.1.6. Klasifikasi

Terdapat beberapa cara pembagian penyakit retinoblastoma terpraktis untuk kepentingan terapi, retinoblastoma dibagi menjadi intraocular dan ekstraokular (Kemenkes, 2015).

1. Intraokular : retinoblastoma terlokalisir didalam mata, dapat terbatas pada retina saja atau melibatkan bola mata, namun tidak berekstensi keluar dari mata ke arah jaringan lunak sekitar mata atau bagian lain dari tubuh.

Klasifikasi Reese-Ellsworth untuk tumor intraocular

Grup I : penglihatan sangat memungkinkan untuk dipertahankan

I A: tumor soliter, lebih kecil dari 4 diameter diskus (DD), terletak pada atau di belakang ekuator.

I B: tumor multipel, lebih besar dari 4 DD, terletak pada atau di belakang ekuator.

Grup II : penglihatan memungkinkan untuk dipertahankan

II A: tumor soliter, 4 sampai 10 DD, terletak pada atau di belakang ekuator.

II B: tumor multipel, 4 sampai 10 DD, terletak di belakang ekuator.

Grup III : penglihatan mungkin untuk dipertahankan

III A: lesi anterior sampai ekuator.

III B: tumor soliter, lebih besar dari 10 DD, terletak di belakang ekuator.

Grup IV : penglihatan sulit untuk dipertahankan

IV A: tumor multipel, beberapa berukuran lebih besar dari 10 DD.

IV B: ditemukan lesi yang memanjang dari anterior sampai ora serrata.

Grup IV : penglihatan tidak mungkin untuk dipertahankan

V A: tumor massif yang melibatkan setengah atau lebih retina

V B: tumor menyebar hingga vitreous.

2. Ekstraokular : retinoblastoma telah melakukan ekstensi keluar dari mata. Dapat terbatas pada jaringan lunak sekitar mata, atau telah menyebar, umumnya ke system saraf pusat, sumsum tulang atau kelenjar getah bening. System klasifikasi ekstraokular digunakan khususnya di Negara dimana kanker lebih sering ditemukan saat sudah terjadi penyebaran.

Klasifikasi berdasarkan international staging for Retinoblastoma (ISSRB)

- Stadium : Penderita diterapi secara konservatif
- Stadium I : Enukelease mata, mata telah direseksi komplit secara histologik
- Stadium II : Enukelease mata, terdapat residual tumor secara mikroskopik
- Stadium III : Perluasan regional
 - III a : Perluasan ke daerah diluar mata
 - III b : Perluasan ke kelenjar preauricular atau cervical

- Stadium IV : Metastasis
 - IV a : Metastasis secara hematogen (tanpa infiltrasi SSP)
 - IV a.1 : Lesi tunggal
 - IV a.2 : Lesi multipel
 - IV b : perluasan ke SSP (dengan atau tanpa perluasan ke sisi lain atau metastase berupa :
 1. Lesi prechiasma
 2. Massa di susunan saraf pusat
 3. Leptomeningeal dan kelainan cairan cerebrospinal (Chantada,2010)

II.1.7. Diagnosis

a) Gejala Klinis

Temuan klinis terbanyak di dunia saat didiagnosis adalah leukokoria (90%) dan strabismus (35%) (Othman, I.S., 2012). Akan tetapi, temuan klinis tersebut memiliki perbedaan berdasarkan faktor sosiodemografi suatu negara. Penelitian di beberapa negara maju, yaitu Amerika, Inggris, Swiss, dan Finlandia menemukan bahwa leukokoria terjadi pada 50-60%, strabismus baik esotropia maupun eksotropia 20-25%, dan tanda inflamasi (mata merah atau pseudo orbital cellulities) 6-10% (Dharmawidari, dkk., 2010).



Gambar 4. Leukokoria

Penelitian di RS Cipto Mangunkusumo, dari 64 pasien retinoblastomabar, leukokoria ditemui sebanyak 19 pasien (30%), leukokoria disertai proptosis sebanyak 41 pasien (64%), buftalmos 2 pasien (3%), dan mata merah 2 pasien (3%) (Asih, dkk., 2009). Penelitian di Sumatera Utara, di RSUP H. Adam Malik Medan, dari total 61 pasien (53 unilateral dan 8 bilateral), gejala klinis terbanyak adalah proptosis yang ditemui sebanyak 40 kasus (54,1% pada retinoblastoma unilateral dan 11,4% pada retinoblastoma bilateral) (Rosdiana N., 2011). Berdasarkan penelitian-penelitian di atas, dapat disimpulkan bahwa gejala klinis di Indonesia lebih banyak ditemukan proptosis dibandingkan leukokoria.

Gejala klinis lainnya dapat berupa rubeosis iris, hipopion, hifema, buftalmia, selulitis orbital, dan eksoftalmia. Gejala klinis lebih lanjut dapat berupa tumor solid intraokuler atau ekstraokuler. Namun, gejala klinis demikian jarang dikeluhkan pasien atau pengasuh maupun didiagnosis oleh dokter (Aerts, dkk., 2006).

b) Pemeriksaan Fisik

1) Pemeriksaan Tajam Penglihatan (Visus)

Tajam penglihatan pada kasus retinoblastoma umumnya sangat menurun dan tergantung tingkat beratnya. Pemeriksaan ini dilakukan untuk menentukan tingkat beratnya dan tata laksana yang tepat (Ilyas & Yulianti, 2011).

2) Pemeriksaan Funduskopi

Pemeriksaan funduskopi bertujuan untuk melihat gambaran normal atau tidak normal pada bagian dalam mata atau fundus okuli. Gambaran funduskopi pasien retinoblastoma bermacam-macam tergantung pada tingkat beratnya. Stadium awal dengan keluhan leukokoria menghasilkan gambaran funduskopi berupa daerah retina yang tampak memutih. Gambaran lainnya dapat berupa neovaskularisasi, hifema, hipopion, atau depresi sklera (Lin & O'brien, 2009).

3) Pemeriksaan Tekanan Bola Mata

Pemeriksaan tekanan bola mata bertujuan untuk menilai perubahan pada tekanan bola mata dengan alat tonometer (Ilyas & Yulianti, 2011). Terkadang pasien retinoblastoma datang dalam stadium berat dengan komplikasi berupa glaukoma sehingga pengukuran tekanan bola mata penting untuk diagnosis awal (Lin & O'brien, 2009).

c) Pemeriksaan Penunjang

1) *Ultrasound*

Ultrasound menggunakan gelombang suara kemudian diubah menjadi gambar jaringan pada tubuh, seperti jaringan di dalam maupun di sekitar mata (*American Cancer Society, 2013*). *Ultrasound* juga digunakan untuk mendeteksi temuan-temuan di bagian posterior mata berupa massa, lesi kalsifikasi intraokular, dan sebagainya (Parulekar, 2010).

2) *Computed Tomography (CT) scan*

Pemeriksaan CT scan merupakan tes sinar X yang berfungsi menghasilkan gambar jaringan tubuh dengan potongan melintang. Tes ini dapat memberi keterangan mengenai ukuran massa retinoblastoma dan bagaimana penyebarannya di dalam dan sekitar mata (*American Cancer Society, 2013*). Akan tetapi, CT scan mempunyai kelemahan radiasi tinggi sehingga sebisa mungkin dihindari (Parulekar, 2010).

3) *Magnetic Resonance Imaging (MRI)*

Pemeriksaan MRI menggunakan magnet untuk menghasilkan potongan gambar jaringan yang lebih spesifik dibandingkan CT scan. Tes MRI sangat berguna jika ada kecurigaan metastasis ekstraokular (sering pada metastasis intrakranial) dimana anak datang dengan tekanan intrakranial yang meningkat dan dicurigai adanya trilateral retinoblastoma (Parulekar, 2010).

4) Biopsi

Biopsi pada retinoblastoma tidak dilakukan sebab dapat memicu rusaknya jaringan tumor sehingga tumor dapat menyebar lebih cepat (*American Cancer Society*, 2013).

II.1.8. Penatalaksanaan

Tujuan utama dari penatalaksanaan retinoblastoma adalah menyelamatkan hidup pasien, sedangkan kembalinya fungsi visual mata merupakan tujuan sekunder (Reddy & Honavar, 2008). Penatalaksanaan retinoblastoma melibatkan tim dari berbagai multidisiplin, yaitu disiplin ilmu onkologi mata, onkologi pediatrik, onkologi radiasi, onkologi psikis, genetika, dan onkopatologi oftalmologi. Strategi manajemen tata laksana retinoblastoma tergantung dengan tingkat keparahannya, seperti retinoblastoma intraokular, retinoblastoma dengan karakteristik risiko tinggi, retinoblastoma orbital, dan retinoblastoma metastasis (Pandey, 2013). Tata laksana untuk intraokular retinoblastoma meliputi enukleasi, *external beam radiation therapy (EBRT)*, *cryotherapy*, *laser photocoagulation*, *thermotherapy*, *brachytherapy* dengan *iodine 125* atau *ruthenium 106 plaques*, dan *systemic chemotherapy*. Sedangkan untuk tata laksana ekstraokular retinoblastoma diberi terapi lebih lanjut (Lin & O'brien, 2009).

a) E nukleasi

E nukleasi merupakan pilihan tata laksana untuk intraokular unilateral retinoblastoma dengan klasifikasi grup E yang melibatkan neovaskularisasi dari iris, glaukoma sekunder, tumor invasif *anterior chamber*, tumor >75% volum vitreous, tumor nekrosis dengan inflamasi sekunder orbital, tumor terkait hifema atau perdarahan vitreous, dimana karakteristik tumor tidak bisa dilihat, dan melibatkan satu mata (unilateral) (Pandey, 2013). Metode enukleasi dilakukan dengan mengangkat penuh mata hingga ke nervus optikus, kemudian dilakukan pemeriksaan histopatologinya (Parulekar, 2010).

b) *External beam radiation therapy (EBRT)*

EBRT merupakan pilihan tata laksana untuk retinoblastoma bilateral tingkat lanjut, dimana ditemukannya bercak difus pada vitreous, pada pasien yang menolak dilakukannya tindakan enukleasi setelah gagalnya bentuk terapi konservatif lainnya. Akan tetapi, EBRT mempunyai kelemahan karena dapat memicu efek komplikasi lokal dan dapat mengakibatkan kanker sekunder pada daerah sekitar radiasi setelah RB sembuh (Othman, 2012).

c) *Cryotherapy*

Cryotherapy merupakan pilihan tata laksana untuk tumor kecil pada garis ekuator atau retina perifer dengan ukuran diameter basal $\leq 4\text{mm}$ dan ketebalan 2mm. *Cryotherapy* diaplikasikan pada retinoblastoma dengan interval 4-6 minggu sampai tumor mengalami

regresi. Akan tetapi, *cryotherapy* mempunyai kelemahan, yaitu meninggalkan jaringan parut lebih besar dari tumor. Komplikasi lebih lanjut meliputi lepasnya retina sementara, robekan retina, maupun *rhegmatogenous retinal detachment* (Pandey, A.N., 2013).

d) *Laser photocoagulation*

Laser photocoagulation merupakan pilihan tata laksana untuk tumor posterior kecil dengan diameter basal 4mm dan ketebalan 2mm. Tujuan terapi ini untuk regresi tumor dan mengkoagulasikan suplai aliran darah menuju tumor dengan menggunakan laser. Komplikasi dapat berupa lepasnya retina sementara, oklusi vaskuler retina, retina bolong, traksi retina, dan fibrosis preretinal (Pandey, A.N., 2013).

e) *Thermotherapy*

Thermotherapy merupakan pilihan tata laksana untuk tumor kecil dengan diameter 4mm dan ketebalan 2mm. Metodenya dengan melakukan radiasi sinar inframerah level subfotokoagulasi pada jaringan untuk menginduksi nekrosisnya tumor dan mencegah rusaknya pembuluh darah retina (Pandey, 2013). Regresi tumor secara komplit dapat mencapai 85% setelah dilakukannya 3-4 kali *thermotherapy* (Pandey, A.N., 2013).

f) *Brachytherapy* dengan plak I-125 atau Ro-106

Plaque brachytherapy menggunakan zat radioaktif (umumnya I-125 atau Ro-106) yang diimplantasikan pada sklera. Tujuannya

adalah untuk radiasi tumor secara transklera. Kelebihannya adalah radiasi fokal tumor sehingga tidak menyebabkan rusaknya jaringan normal di sekitar tumor (Pandey, A.N., 2013).

g) Systemic chemotherapy

Chemotherapy merupakan pilihan tata laksana pada pasien dengan tujuan mengurangi volume tumor sampai ukuran sampai terapi laser bisa diberikan (*chemoreduction*) (Parulekar, 2010). Terapi ini juga efektif untuk kelainan vitreous dan subretinal, dan ekstraokular maupun metastasis retinoblastoma (Parulekar, 2010). *Chemotherapy* dilakukan sebanyak enam sesi selama 3-4 minggu. Dua regimen obat untuk kemoterapi sistemik adalah carboplatin dan etoposide (Othman, I.S., 2012).

Retinoblastoma intraokular awal, terutama unilateral, dari Reese- Elsworth grup I, II, III dan klasifikasi Internasional Grup A, B dapat diberikan 6-8 siklus kemoterapi dengan dua obat yakni vincristine dan karboplatin. Pada retino blastoma bilateral dan klasifikasi Internasional Grup C dan D dengan protokol standar cisplatin, etoposide dan vincristine (CEV) 3 obat atau dosis tinggi (tergantung pada stadium intraokular). Jumlah total siklus akan bergantung pada regresi tumor seperti yang dinilai secara berkala, tetapi setidaknya 6 siklus direkomendasikan. Retinoblastoma metastatik diterapi dengan kemoterapi intensif dan konsolidasi. Kemoterapi termasuk karboplatin dan Etoposida bergantian dengan

Karboplatin / Cisplatin, Etoposida, Siklofosfamid. Kemoterapi induksi terdiri dari 3 siklus dengan Cisplatin dan teniposide, diikuti dengan pemberian dengan obat yang sama bergantian dengan Cyclophosphamide, vincristine, dan doxorubicin setiap 21 hari selama 60 minggu. Terapi Triple Intratekal yakni terapi intratekal dengan obat triple yaitu metotreksat, Sitarabin, dan deksametason diberikan (Katoch VM, 2010).

Kemoterapi pada retinoblastoma berdasarkan regimen carboplatin, vincristine dan etoposide yang diberikan secara intravena dengan mendapatkan 2 sampai 8 kemoterapi setiap siklus setiap 3-4 minggu sampai usia 3 tahun dengan angka keberhasilan untuk grup D sebesar 47% dan grup B dan C lebih dari 90%. Metastasis orbital dari retinoblastoma intraokular dapat dideteksi secara klinis pada anak-anak dengan proptosis atau massa atau terkadang dengan studi pencitraan. Tatalaksana pada retinoblastoma metastasis termasuk kemoterapi neo-adjuvan, termasuk karboplatin, etoposida dan vincristine. Kemoterapi intratekal (injeksi ke dalam ruang cairan serebrospinal) juga dapat digunakan dan kemoterapi dosis tinggi (Dimaras H, 2015).

Pada penelitian ini dan di pusat pendidikan kami menggunakan protocol kemoterapi dengan jangka waktu 12 minggu untuk satu siklus.

II.1.9. Prognosis

Umumnya dengan penatalaksanaan yang sesuai, sekitar 90% prognosis untuk retinoblastoma untuk stadium awal memberikan hasil yang baik. *Ocular survival rate* terbaik untuk retinoblastoma berkisar dari usia 2 hingga 7 tahun (Kaiser, P.K., dkk., 2014). Akan tetapi, angka *survival rate* pasien retinoblastoma tergantung pada beberapa faktor, seperti usia saat didiagnosis pertama kali, stadium, jangka waktu diagnosis (onset), lateralisasi, riwayat keluarga, keberhasilan terapi, serta status gizi dari pasien (Dharmawadiarini, D., dkk., 2010). Prognosis retinoblastoma dinilai dalam beberapa kali kunjungan kontrol pasien setelah terapi manajemen, yaitu 1 minggu, 2 minggu, 4 minggu, 2 bulan, 3 bulan, 6 bulan, 1 tahun, 2 tahun, dan 5 tahun untuk mengetahui apakah pasien benar-benar sudah bersih dari retinoblastoma.

Ocular survival rate berkaitan erat dengan usia dan onset saat pertama kali diagnosis, serta stadium keparahan pasien. Eksistensi bola mata pada kelompok jangka waktu diagnosis >24 bulan lebih lama, penderita dengan jangka waktu diagnosis yang panjang datang dalam stadium lanjut dan memerlukan tindakan agresif berupa pengambilan bolamata sehingga menyebabkan prognosis buruk terhadap penglihatan dan kosmetik serta kelangsungan hidup. Sedangkan penderita dengan jangka waktu diagnosis <12 bulan mempunyai *ocular survival rate* yang paling kecil dan dengan jumlah pasien baik stadium intraokular maupun ekstraokular sama banyak (Dharmawadiarini, D., dkk., 2010).

Dalam studi total pasien 167 anak (35 dalam stadium invasif; 136 pasien tidak mendapatkan terapi adjuvan), probabilitas *5-year event-free survival* didapatkan hasil 98,1% dengan total probabilitas keseluruhan angka bertahan hidup pasien adalah 98, 7% (1 pasien keluar dari penelitian). Anak-anak dengan stadium invasif yang masif mempunyai probabilitas *event-free survival* yang lebih rendah (94,2%) dibandingkan dengan kelompok stadium invasif fokal (99,2%) (Bosaleh, A., dkk., 2012).

Tabel 1. Sistem klasifikasi untuk prognostik retinoblastoma

	International Intraocular Retinoblastoma Classification (IIRC)	Intraocular Classification of Retinoblastoma (ICRB)
Group A (very low risk)	All tumours are 3 mm or smaller, confined to the retina and at least 3 mm from the foveola and 1.5 mm from the optic nerve. No vitreous or subretinal seeding is allowed	Retinoblastoma \leq 3 mm (in basal dimension or thickness)
Group B (low risk)	Eyes with no vitreous or subretinal seeding and discrete retinal tumour of any size or location. Retinal tumours may be of any size or location not in group A. Small cuff of subretinal fluid extending \leq 5 mm from the base of the tumour is allowed	Retinoblastoma $>$ 3 mm (in basal dimension or thickness) or <ul style="list-style-type: none"> • Macular location (\leq3 mm to foveola) • Juxtapapillary location (\leq1.5 mm to disc) • Additional subretinal fluid (\leq3 mm from margin)
Group C (moderate risk)	Eyes with focal vitreous or subretinal seeding and discrete retinal tumours of any size and location. Any seeding must be local, fine, and limited so as to be theoretically treatable with a radioactive plaque. Up to one quadrant of subretinal fluid may be present	Retinoblastoma with: <ul style="list-style-type: none"> • Subretinal seeds \leq 3 mm from tumour • Vitreous seeds \leq 3 mm from tumour • Both subretinal and vitreous seeds \leq 3 mm from tumour
Group D (high risk)	Eyes with diffuse vitreous or subretinal seeding and/or massive, non-discrete endophytic or exophytic disease Eyes with more extensive seeding than Group C Massive and/or diffuse intraocular disseminated disease including exophytic disease and $>$ 1 quadrant of retinal detachment. May consist of 'greasy' vitreous seeding or avascular masses. Subretinal seeding may be plaque-like	Retinoblastoma with: <ul style="list-style-type: none"> • Subretinal seeds $>$ 3 mm from tumour • Vitreous seeds $>$ 3 mm from tumour • Both subretinal and vitreous seeds $>$ 3 mm from retinoblastoma
Group E (very high risk)	Eyes that have been destroyed anatomically or functionally with one or more of the following: Irreversible neovascular glaucoma, massive intraocular haemorrhage, aseptic orbital cellulitis, tumour anterior to anterior vitreous face, tumour touching the lens, diffuse infiltrating retinoblastoma and phthisis or pre-phthisis	<ul style="list-style-type: none"> • Extensive retinoblastoma occupying $>$50% globe or with • Neovascular glaucoma • Opaque media from haemorrhage in anterior chamber, vitreous or subretinal space • Invasion of postlaminal optic nerve, • choroid ($>$2 mm), sclera, orbit, anterior chamber

II.2. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

II.2.1 Tipe Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

VEGF adalah suatu *heparin-binding homodimeric glycoprotein* atau ligand yang mempunyai 5 anggota, yaitu VEGF-A (atau VEGF) dengan beberapa bentuk isoform, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, dan *placental growth factor* (PlGF). VEGF menunjukkan spesifitas sel sasaran yaitu spesifik bagi sel endotel. Beberapa jenis sel diantaranya fibroblast, endotel dan keratinosit memproduksi VEGF dalam jumlah kecil. (Kresno SB, 2012; Roskoski, 2007; Sukhramani, 2010)

- VEGF A biasa disebut VEGF merupakan mediator utama angiogenesis tumor. Ada 6 jenis isoform VEGF yang mengandung 121, 145, 165, 189, atau 206 asam amino yang terjadi akibat alternative splicing dari gen tunggal dengan 8 ekson, beberapa diantaranya berada di membran sel dan lainnya dilepaskan ke ekstraseluler. Dengan fungsi spesifik angiogenesis, kemotaktik makrofag dan granulosit, vasodilatasi. (Kresno SB, 2012; Sukhramani, 2010)
- VEGF B terdiri dari 2 isoform yaitu VEGF-B167 dan VEGF-B186. Fungsi dari VEGF-B adalah angiogenesis embrionik. Akan tetapi, VEGF-B diekspresikan di beberapa keganasan diantaranya kanker payudara, fibrosarcoma, limfoma non hodgkin, dan melanoma dengan kemampuannya mengaktivasi VEGFR-1 dan neuropilin-1. (Kresno SB, 2012; Roskoski, 2007; Sukhramani, 2010)

- VEGF-C disintesis sebagai prepro-protein yang terlibat di proses proteolitik untuk menghasilkan bentuk matur dari faktor pertumbuhan. Bentuk unprocessed VEGF-C berikatan dengan VEGFR-3 dan berperan dalam limfangiogenesis. Sinyal VEGF-C dibutuhkan untuk migrasi dan survival sel endotel limfatik dan formasi saccus limfe. Serta VEGF-C diekspresikan di beberapa keganasan di payudara, serviks, colon, paru dan prostat. (Kresno SB, 2012; Roskoski, 2007)
- VEGF-D juga disintesis sebagai prepro-protein yang terlibat di proses proteolitik untuk menghasilkan bentuk matur dari faktor pertumbuhan. Sama seperti VEGF-C, bentuk *unprocessed* VEGF-D berikatan dengan VEGFR3 dan berperan dalam limfangiogenesis. VEGF-D di upregulasi di beberapa keganasan di payudara, colorectal, gaster, tiroid, dan berkorelasi dengan metastasis kelenjar getah bening, sehingga VEGF-D dianggap bertanggung jawab terhadap penyebaran keganasan melalui kelenjar getah bening dengan membentuk *lymphatic vasculature*. (Roskoski, 2007; Sukhramani, 2010)
- *Placental growth factor* (PlGF) adalah glikoprotein homodimer yang sekitar 42% identitas sekuensi asam amino sama dengan VEGF. PlGF berfungsi untuk vasculogenesis di perkembangan embrionik, akan tetapi juga dibutuhkan untuk angiogenesis dengan meningkatkan sinyal VEGF. (Roskoski, 2007; Sukhramani, 2010; Falco, 2012)

II.2.2 Reseptor VEGF

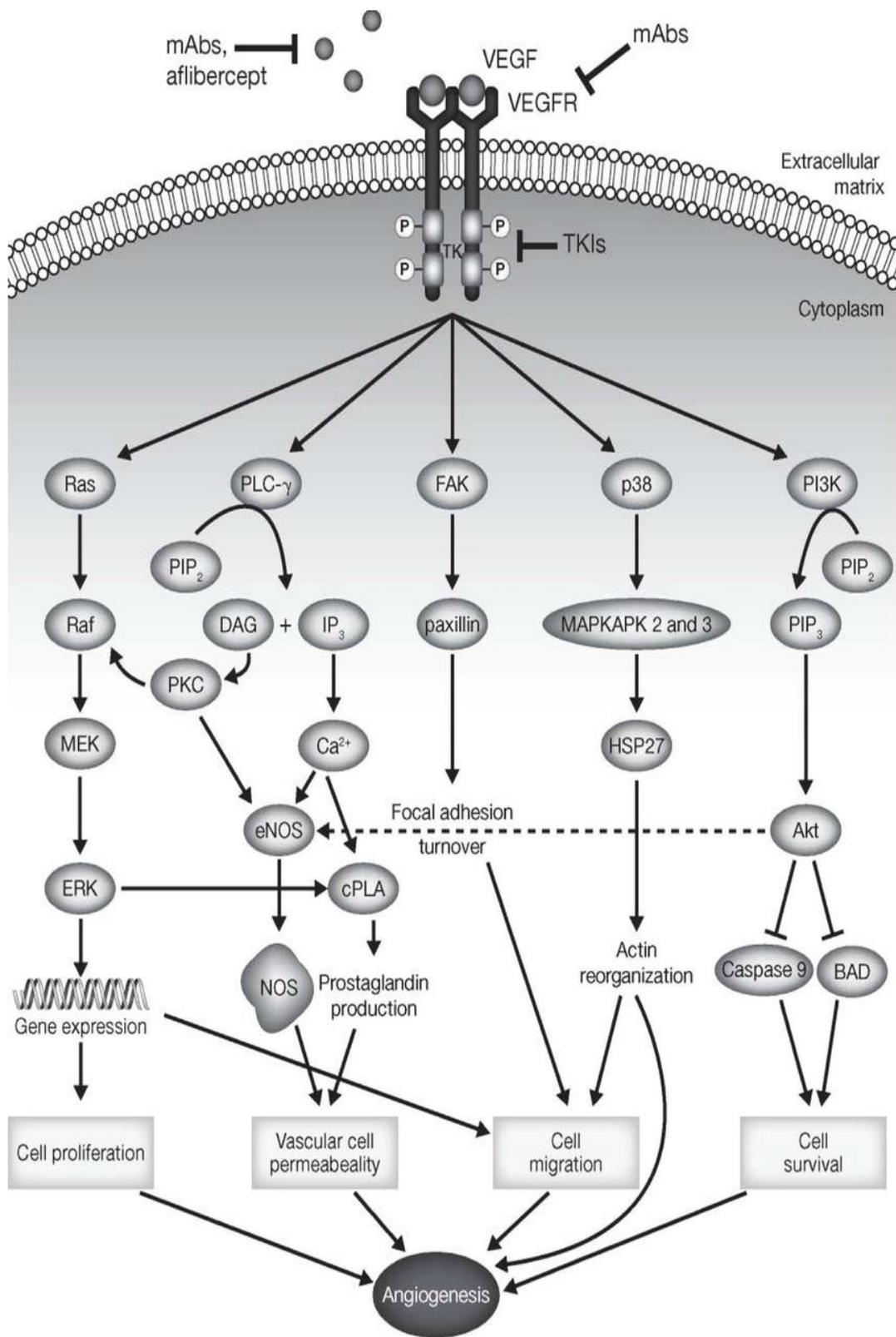
Aktivitas VEGF dimediasi oleh 3 reseptor tirosin kinase : VEGFR-1 atau Flt-1, VEGFR-2 atau KDR / FLK-1 dan VEGFR-3 (FLT4) dan 2 reseptor non enzimatis (neuropilin-1 dan -2). Dan beberapa ligan VEGF family berikatan dengan heparan sulfate proteoglycan yang berada di membran plasma dan matrix ekstrasel. (Roskoski, 2007; Ollson, 2006)

- VEGFR-1 (flt-1) dapat berikatan dengan VEGF, PlGF, dan VEGF-B. VEGFR 1 diekspresikan di sel endotel dan memiliki afinitas yang tinggi dibandingkan VEGFR2 terhadap VEGF. (Roskoski, 2007)
- VEGFR-2 (Flk-1/KDR) berikatan dengan VEGF dan bentuk *fully processed* dari VEGF-C dan VEGF-D serta merupakan mediator dominan dari VEGF untuk menstimulasi migrasi, proliferasi, dan survival sel endotel serta peningkatan permeabilitas vaskuler. Walaupun afinitas VEGFR-2 lebih rendah dibandingkan VEGFR-1 terhadap VEGF, VEGFR-2 memperlihatkan respon kuat aktivitas protein tirosin kinase terhadap ligan. (Roskoski, 2007; Ollson, 2006)
- VEGFR-3 (Flt-4) berikatan dengan VEGF-C dan VEGF-D. Merupakan satu-satunya reseptor VEGF yang dapat bermutasi dan menyebabkan *milroy's disease* (human hereditary

lymphedema). VEGFR-3 berkontribusi terhadap angiogenesis dan limfangiogenesis.(Kresno SB, 2012; Roskoski, 2007)

Penghambatan angiogenesis dan terapi gen untuk mengatasi penyakit kanker yang dikenal sebagai terapi gen antiangiogenesis merupakan pendekatan rasional untuk pengobatan penyakit kanker di masa depan (Song G, 2012)

Pengontrolan pertumbuhan sel dikendalikan oleh proto-onkogen yang mempercepat pertumbuhan, dan gen supresor tumor yang memperlambat pertumbuhan sel. Mutasi menyebabkan pertumbuhan sel yang tidak terkendali terjadi. Namun, beberapa faktor yang dapat mengaktifkan lebih dari satu protein dalam sel. Onkogen, versi diubah dari proto-onkogen yang mengkode sinyal di molekul, mengaktifkan kaskade sinyal terus menerus. (Kresno SB, 2012)



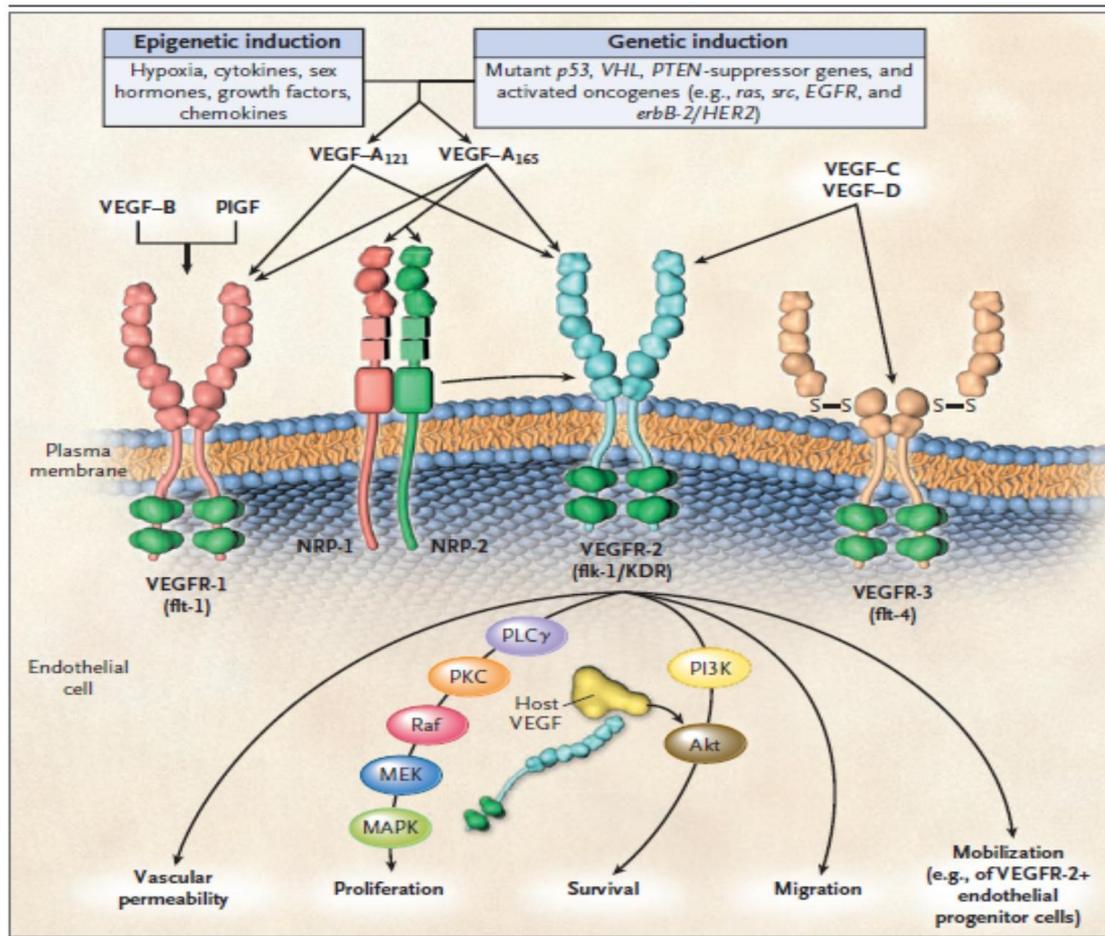
Gambar 5. VEGF signaling pathway (Ballas, 2011)

Mediator utama angiogenesis tumor adalah VEGF-A dengan sinyal utama melalui VEGFR-2 yang diekspresikan melalui peningkatan kadar oleh sel endotel yang terlibat dalam angiogenesis dan oleh sel-sel yang berasal dari sumsum tulang dalam sirkulasi. (Song G, 2012)

Sel tumor menghasilkan VEGF dan berespon langsung karena mereka mempunyai reseptor sel VEGF di permukaan sel tumornya melalui mekanisme autokrin. Sel endotel yang terlibat angiogenesis mengekspresikan banyak reseptor VEGF dari sel endotel sendiri sehingga teraktivasi, berproliferasi, bermigrasi dan akhirnya membentuk pembuluh darah baru yang membantu pertumbuhan sel tumor melalui mekanisme parakrin. (Medinger, 2014)

Mediator utama angiogenesis tumor VEGF, khususnya isoform VEGF 121 dan 165. Sinyal isoform ini melalui reseptor VEGF 2 (VEGFR-2), reseptor utama yang memediasi proses angiogenesis. VEGF diekspresikan oleh banyak sel kanker dan peningkatan ekspresi tumor sering dikaitkan dengan prognosis yang tidak bagus. Induksi atau peningkatan ekspresi VEGF pada tumor dapat disebabkan oleh berbagai faktor, seperti faktor lingkungan (epigenetik) seperti hipoksia, proses inflamasi, faktor pertumbuhan, hormon seks, dan kemokin. Faktor lain adalah genetik yang menginduksi perubahan seperti aktivasi dari berbagai onkogen berbeda atau mutasi inaktivasi berbagai gen supresor tumor (Medinger, 2014).

Pengikatan VEGF ke VEGFR-2 mengarah ke kaskade jalur sinyal yang berbeda, dua contoh yang ada di gambar menunjukkan up-regulasi gen yang terlibat dalam memediasi permeabilitas pembuluh darah, proliferasi, migrasi sel endotel, dan promosi kelangsungan hidup. Sebagai contoh, VEGF berikatan dengan VEGFR-2 menyebabkan dimerisasi reseptor, diikuti oleh aktivasi intraseluler dari PLC γ -PKC-raf kinase-MEK-jalur mitogen activated protein kinase (MAPK) dan insiasi berikutnya, sintesis DNA dan pertumbuhan sel, sedangkan aktivasi jalur phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-Akt menyebabkan peningkatan kelangsungan hidup endotel. Aktivasi src dapat menyebabkan perubahan aktin sitoskeleton dan induksi migrasi sel. Reseptor VEGF terletak di permukaan sel endotel; namun proses intraseluler (intracrin) sinyal reseptor VEGF (VEGFR-2) terlibat dalam kelangsungan hidup sel endotel. Struktur VEGFR-2 secara rinci di sel endotel belum diketahui, akan tetapi reseptor biasanya digambarkan terikat di permukaan sel. Pengikatan VEGF C ke VEGFR-3 menyebabkan limfangiogenesis. Sedangkan VEGF 165 dapat berikatan dengan reseptor neuropilin (NRP) yang bertindak sebagai co reseptor dengan VEGFR2 untuk mengatur angiogenesis.



Gambar 6. Molekul VEGF dan reseptornya (Kerbel, 2008)

Di penyakit retinoblastoma, sel tumor akan mengekspresikan reseptor VEGF (terutama VEGFR-1) dan juga menghasilkan VEGF. Hal ini mengindikasikan bahwa VEGF dapat bertindak langsung (*cell-autonomous*) terhadap faktor pertumbuhan autokrin untuk sel tumor yang akan meningkatkan kelangsungan hidup sel retinoblastoma.

Untuk angiogenesis sendiri melalui suatu proses yang berurutan :

1. Jaringan yang rusak (tumor) memproduksi dan melepaskan faktor pertumbuhan yang berdifusi ke jaringan sekitarnya.

2. Faktor pertumbuhan angiogenik berikatan dengan reseptor spesifik yang terdapat pada sel endotel pembuluh darah terdekat.
3. Setelah faktor pertumbuhan berikatan dengan reseptor sel endotel menjadi aktif. Sinyal pertumbuhan diteruskan dari permukaan sel ke nukleus. Sel endotel mulai membentuk molekul baru termasuk berbagai enzim.
4. Enzim melarutkan protein dan membentuk lubang-lubang kecil pada membran basal.
5. Sel endotel mulai berproliferasi dan bermigrasi melalui lubang-lubang tersebut menuju jaringan yang rusak atau sakit, dipandu oleh SDF-1 (*stromal derived factor*) yang bertindak sebagai *homing signal* utama.
6. Enzim-enzim lain, misalnya matrix metalloproteinase (MMP) diproduksi untuk menghancurkan jaringan di depan ujung pembuluh darah baru yang sedang tumbuh.
7. Sel-sel endotel yang baru menggulung untuk membentuk pipa (pembuluh darah) mulai penghambatan proliferasi sel endotel dan pembentukan lumen kapiler.
8. Setiap pembuluh darah berhubungan satu dengan yang lain supaya darah dapat bersirkulasi pemulihan membran basal dan pematangan sel *junction*.

9. Pembuluh darah baru mengalami stabilisasi dengan perekrutan dan diferensiasi sel otot polos dan perisit, keduanya merupakan struktur penunjang pembuluh darah. (Kresno SB, 2012, Roskoski, 2007)

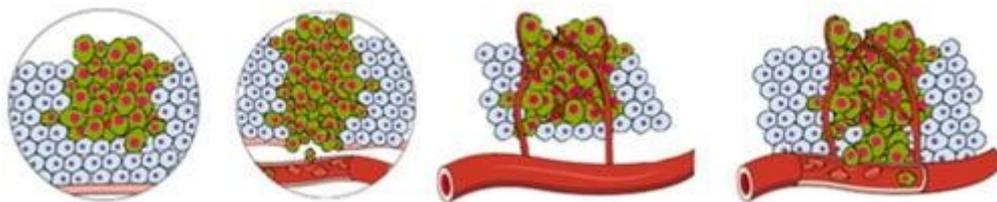
Sel Tumor mengembangkan karakteristik baru, termasuk perubahan dalam struktur sel, penurunan adhesi sel, dan produksi enzim baru. Dan perubahan ini diwariskan bahkan di hadapan sel normal yang biasanya menghambat pertumbuhan sel di dekatnya. Perubahan tersebut memungkinkan sel-sel kanker untuk menyebar dan menyerang jaringan lain. Sel-sel ini bisa menyeberang melalui dinding kapiler pembuluh darah dengan kecepatan sekitar satu juta sel per hari. (Kresno, 2012)

II.3. Angiogenesis

II.3.1. Angiogenesis Tumor

Angiogenesis adalah pembentukan pembuluh darah baru yang berasal dari pembuluh darah yang telah ada. Angiogenesis sangat dibutuhkan dalam pembentukan organ baru serta untuk diferensiasi saat embriogenesis, penyembuhan luka dan fungsi reproduksi wanita. Angiogenesis dapat dipicu oleh berbagai kondisi patologis, seperti reumatoid arthritis, retinopati diabetik, degenerasi makular, psoriasis dan pertumbuhan serta metastasis tumor. Tumor membutuhkan angiogenesis untuk tumbuh di atas ukuran 1-2 mm. Angiogenesis diperlukan untuk suplai oksigen, nutrien, faktor pertumbuhan dan hormon, enzim proteolitik, mempengaruhi faktor hemostatik yang mengontrol koagulasi dan sistem

fibrinolitik, dan penyebaran sel-sel tumor ke tempat jauh (Josko,dkk, 2000; Rosen,dkk 2002).



Gambar 7. Proses angiogenesis pada keganasan (Al-Abd, 2017)

Angiogenesis merupakan proses yang sangat kompleks, yang diregulasi secara ketat oleh faktor-faktor proangiogenik (VEGF) dan faktor-faktor antiangiogenik. Suatu tumor avaskular bergantung pada difusi pasif untuk suplai oksigen dan makanan serta untuk pembuangan produk sisa. Hal ini membatasi ukuran tumor sampai sekitar 2 mm, yang disebut keadaan dorman. Sel-sel tumor yang hipoksik akan memproduksi faktor-faktor pertumbuhan, termasuk VEGF. Tumor juga memproduksi inhibitor endogen angiogenesis, seperti TGF- β . Mulanya inhibitor melebihi faktor pertumbuhan dan sel endotel tetap diam. Akan tetapi, saat tumor mampu memproduksi cukup faktor pertumbuhan dan/atau menekan ekspresi inhibitor, akan terjadi '*angiogenic switch*' menuju proses angiogenesis. '*Angiogenic switch*' merupakan pertanda proses malignansi(Rosen,dkk, 2002; Plank,dkk, 2003).

Model terkini proses angiogenesis tumor mengemukakan bahwa proses ini melibatkan tumbuhnya tunas pembuluh dari pembuluh darah yang ada dan menyatunya progenitor endotel menjadi pembuluh vaskular baru. Proses ini meliputi berbagai kejadian yaitu proliferasi, migrasi dan

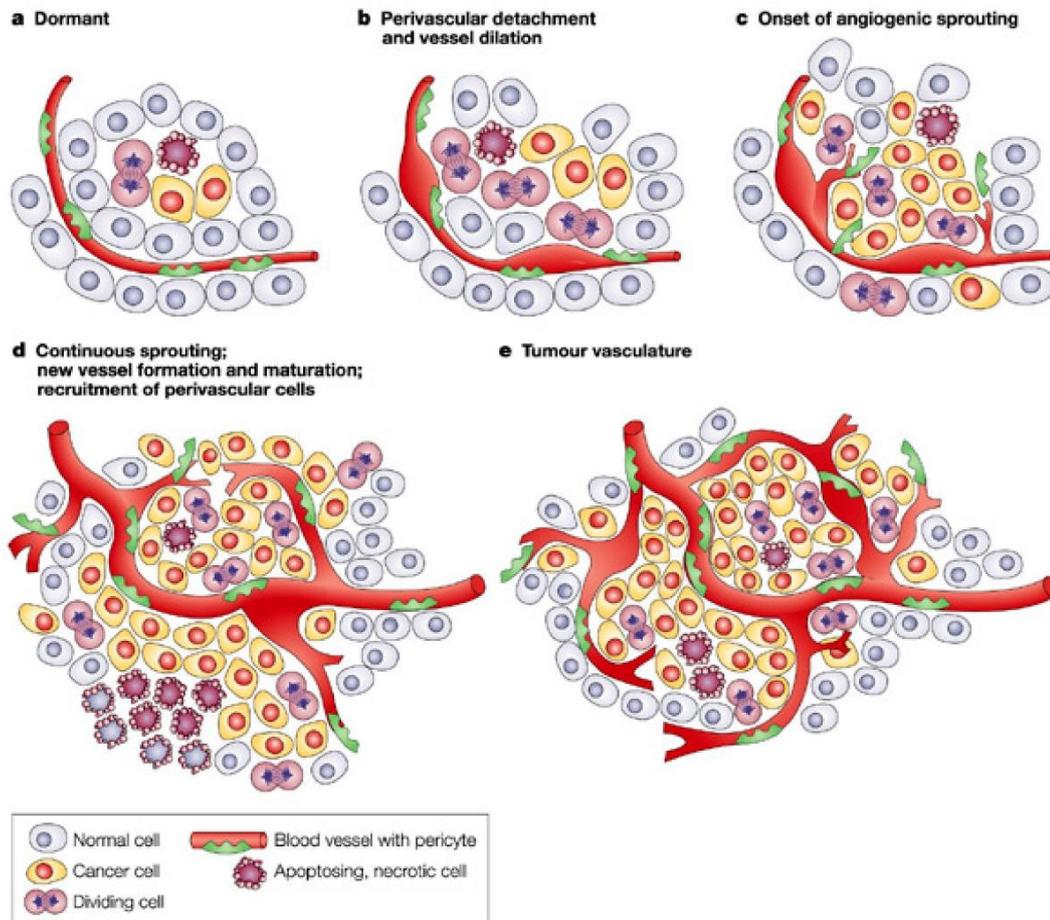
invasi sel-sel endotel, organisasi sel-sel endotel menjadi struktur tubular yang fungsional, maturasi pembuluh, dan regresi pembuluh. Pada jaringan normal, kestabilan vaskular dipertahankan oleh pengaruh yang dominan dari inhibitor angiogenesis endogen terhadap stimulus angiogenik, sebaliknya angiogenesis tumor diinduksi oleh peningkatan sekresi faktor angiogenik dan/atau penurunan regulasi inhibitor angiogenesis (Plank,dkk, 2003).

II.3.2. Tahap-Tahap Angiogenesis Tumor

Pada permulaan angiogenesis, stimulus angiogenik yang diterima menyebabkan sel endotel kapiler sekitar tumor teraktivasi, kontak yang erat dengan sel sekitar akan menghilang dan mensekresi enzim proteolitik (protease) yang mempunyai efek mendegradasi jaringan ekstraseluler. Target awal protease adalah membran dasar. Setelah terdegradasi, sel endotel akan dapat bergerak melalui gap yang ada pada membran dasar menuju matriks ekstraseluler. Setelah ekstravasasi, sel endotel terus mensekresi enzim proteolitik, yang akan mendegradasi matriks ekstraseluler. Sel endotel terus bergerak menjauhi pembuluh induk menuju tumor, membentuk tunas kecil. Sel endotel akan bertambah dari pembuluh induk hingga tunas memanjang. Awalnya tunas-tunas ini bergerak paralel satu sama lain, akan tetapi pada jarak tertentu dari pembuluh induk, mulai condong menuju tunas lainnya. Hal ini akan membentuk loop tertutup (anastomose), yang akan memungkinkan dimulainya sirkulasi pada pembuluh yang baru. Ini merupakan peristiwa

penting dalam pembentukan jaringan vaskular fungsional (Hicklins,dkk, 2005).

Dalam fase vaskular, pada angiogenesis fisiologis, ketika jaringan target telah tervascularisasi, ekspresi faktor pertumbuhan angiogenik akan berkurang. Migrasi, proliferasi dan proteolisis sel-sel endotel akan berhenti dan pembuluh darah yang baru terbentuk mengalami proses maturasi. Ikatan yang kuat antar sel distabilkan di endotel dan sel endotel mensekresi protein (laminin, kolagen) untuk membentuk membran dasar. Akhirnya sel-sel penyokong peri endotel (perisit) direkrut dan pembuluh darah baru menjadi bagian sistem vaskular yang stabil. Proses maturasi biasanya tidak terjadi pada angiogenesis tumor, karena masih tetap terdapat daerah hipoksik di dalam tumor yang tetap memproduksi faktor angiogenik. Angiogenesis akan terus berlangsung dan meningkatkan pertumbuhan tumor, yang akan membutuhkan suplai darah baru. Kapiler tumor biasanya tidak matang karena tidak terbentuknya membran dasar. Pembuluh baru akan berbentuk ireguler, rapuh dan berliku-liku (Hicklins,dkk, 2005).



Gambar 8. Angiogenik dari sel aktif ke pembuluh darah tumor (Loizzi V, 2017).

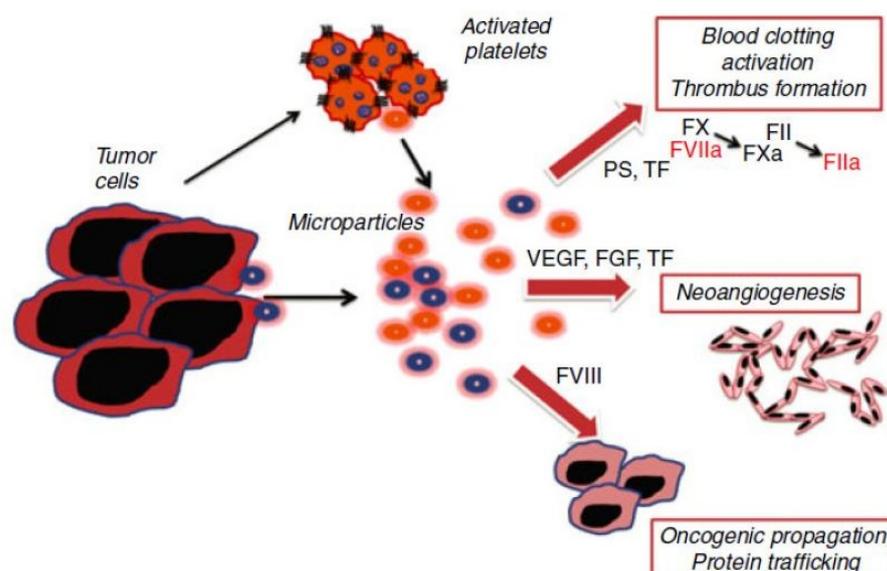
II.4. Peran VEGF pada Retinoblastoma

Lebih dari 40 molekul telah diidentifikasi memiliki peranan penting dalam pembentukan pembuluh darah, terutama peran dari VEGF dan reseptor-reseptornya. (Han Y, 2016). VEGF memiliki setidaknya 6 bentuk isoform yaitu VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E dan PlGF dan semua bentuknya disekresi sebagai glikoprotein dimerik. (Dor Y, 2001) VEGF dianggap co-mitogen yang sangat spesifik untuk sel endotel vaskular dan faktor yang mendukung permeabilitas vaskular. VEGF dapat

berperan pada sel endotel vaskular dengan efisiensi dan spesifisitas yang mendukung regenerasi dan peningkatan permeabilitas vaskular melalui 3 reseptor tyrosine kinase yaitu : VEGFR-1(dikenal sebagai Flt-1), VEGFR-2 (dikenal sebagai KDR/Flk-1) dan VEGFR-3 (dikenal sebagai Flt4). (Han Y, 2016).

Telah diketahui sebelumnya bahwa VEGFR-2 berperan besar dalam angiogenesis dan ikatan antara VEGF dan resptor Flk-1 dapat mengaktifasi sistem mitogen-activated protein kinase (MAPK) melalui protein kinase C (PKC) atau protein yang menginduksi proliferasi sel endotel vaskular. (Han Y, 2016)

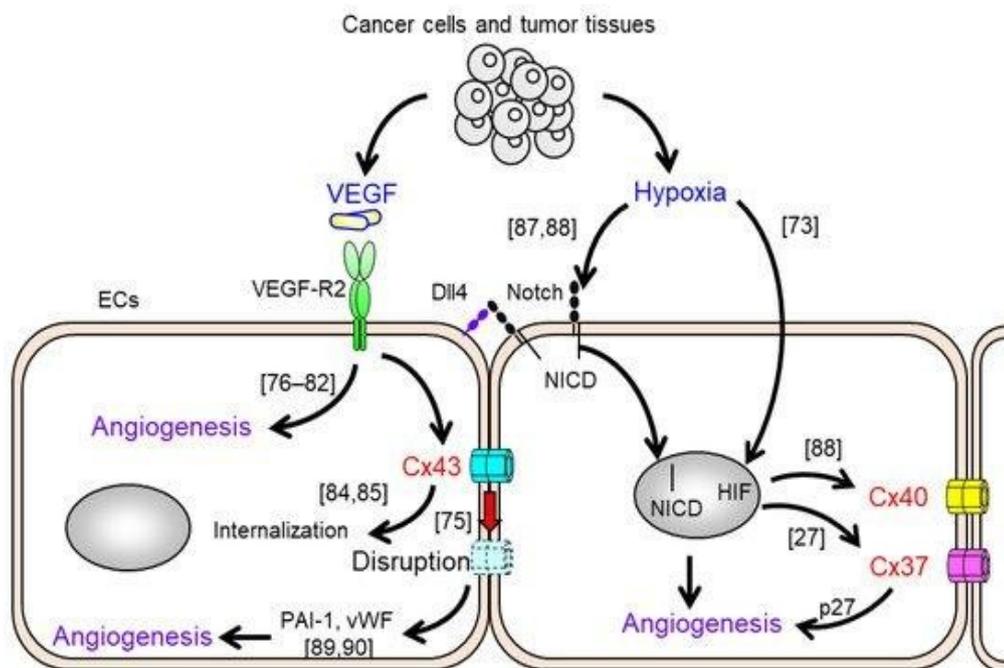
Induksi dari tumor angiogenesis oleh perubahan angiogenesis menjadi karakteristik dari suatu kanker. Akibat perubahan angiogenesis dari tumor, ditandai dengan meningkatnya permeabilitas vaskular.



Gambar 9. Peran mikropartikel dalam menghasilkan VEGF (Andree K, 2013)

Penelitian-penelitian tentang angiogenesis dalam keganasan hematologi telah dilakukan dengan beberapa metode yang berbeda di beberapa penelitian.

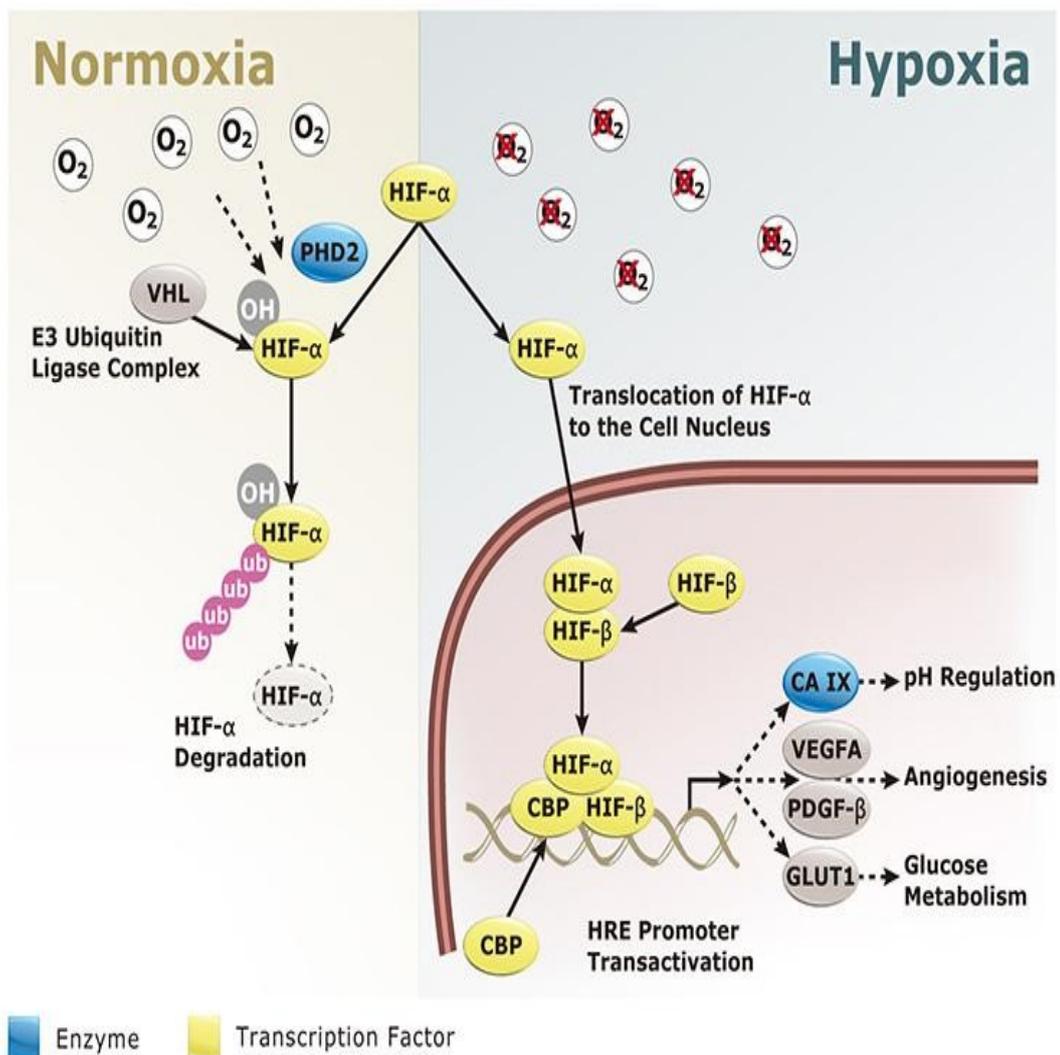
Kadar VEGF dan peranannya pada retinoblastoma dipengaruhi berbagai macam aspek. Ekspresi VEGF dipengaruhi beberapa faktor intrinsik dan ekstrinsik, dimana hipoksia dan hipoglikemia menjadi penyebab utamanya dan pada keadaan inflamasi. (Song, 2012; Hoeben dkk, 2004)



Gambar 10. Perubahan fungsi gap junction dalam sel endotel (EC) sebagai respons untuk rangsangan pro-angiogenik. Faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF), yang disekresikan oleh sel kanker, adalah suatu penggagas penting angiogenesis (Okamoto T, 2019).

VEGF-A memiliki peran yang penting dalam angiogenesis dan neovaskularisasi, sehingga membutuhkan oksigen dan energi sebagai

salah satu kebutuhannya. Ekspresi VEGF-A dapat diinduksi bila sel dalam keadaan hipoksi ataupun hipoglikemia. Respon ini tergantung dari *Hypoxia Regulated Responsive Element* pada urutan lengan ke 3' dan 5' gen dari VEGF-A. (Hoeben, dkk, 2004)



Gambar 11. Peranan hipoksia pada VEGF(Okamoto T, 2019).

Kedua keadaan lain yang mempengaruhi ekspresi VEGF-A adalah inflamasi. Inflamasi kronik yang disebabkan oleh infeksi, penyakit autoimun, tumor jinak maupun ganas akan mengakibatkan terjadinya

infiltrasi sel inflamasi pada bagian yang spesifik dalam tubuh. Sel-sel ini akan mengeluarkan sel-sel sitokin inflamasi termasuk Interleukin(IL)-6, IL-1 α , IL-1, TNF- α dan sitokin lainnya yang akan menginduksi siklooksigenase. Enzim siklooksigenase akan mengkatalisasi dari asam arakidonat menjadi prostaglandin dan akhirnya merangsang pengeluaran VEGF. (Angelo, L, 2007)

Glukosa dalam keganasan memiliki peranan yang juga sangat penting dalam proses angiogenesis. Glukosa yang berikatan dengan reseptor GLUT-1 akan menginduksi terjadinya proses glikolisis untuk menghasilkan pyruvate dan hasil akhir berupa laktat. Laktat akan merangsang sel endotel untuk menghasilkan VEGF. (Meijer , 2012)

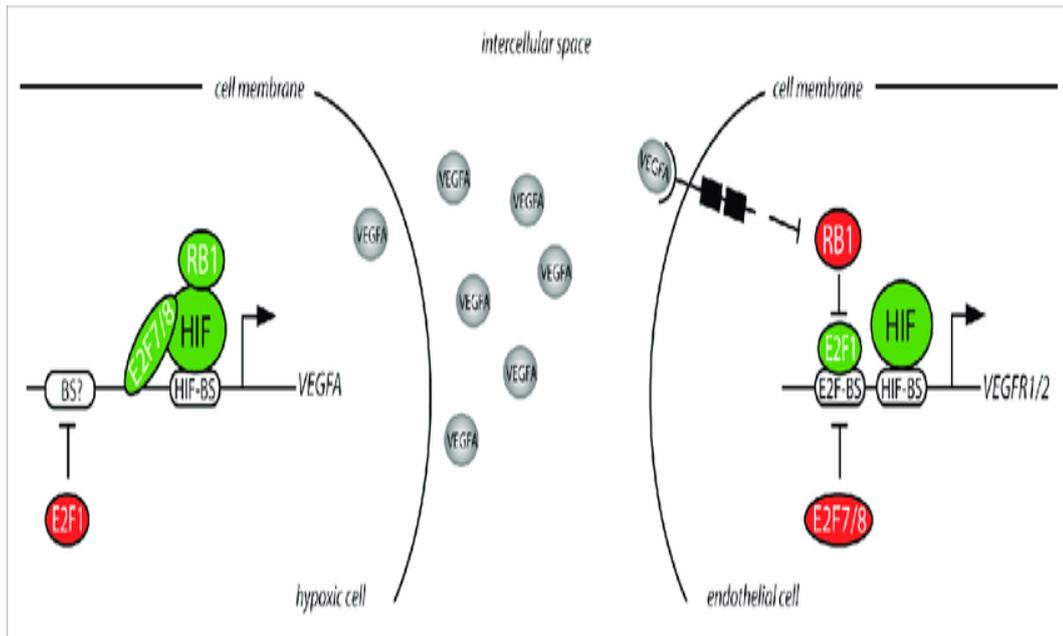
Diketahui bahwa VEGF messenger RNA diekspresikan dalam sel neoplastik retinoblastoma, tetapi sedikit dari ekspresi tersebut terjadi pada sel endotel tumor, dan bahwa VEGF, yang disekresikan dari sel neoplastik, mempengaruhi sel endotel terdekat dan berfungsi sebagai mediator paracrine. Ekspresi berlebih dari protein VEGF ditemukan pada jaringan retinoblastoma dibandingkan dengan jaringan retina normal. Dalam penelitian yang dipublikasikan, ekspresi berlebih dari VEGF telah terdeteksi pada jaringan retinoblastoma, dan menginduksi kebocoran vaskular pada lapisan kapiler neovaskular. Perubahan epigenetik ini mempengaruhi ekspresi gen dan mengganggu regulasi jalur pensinyalan. Gen-gen ini mungkin menjadi target baru dalam pengobatan retinoblastoma, dan studi mengenai gen-gen ini sangat membantu untuk

menerangi mekanisme molekuler retinoblastoma (Arean C, 2010; Qizheng W, 2018).

Sel-sel retinoblastoma mengganggu jalur pensinyalan VEGF fisiologis dalam mata dengan secara bersamaan mengeluarkan dengan kadar yang tinggi dari faktor pertumbuhan ini dan mengekspresikan sejumlah besar reseptor kognitifnya yakni pola ekspresi temporal VEGF / VEGFR-2 mungkin menjelaskan terjadinya neovaskularisasi iris di ruang anterior mata. Kebanyakan retinoblastoma dikaitkan dengan mutasi gen tumorsuppressor RB1. Biasanya, RB1 berfungsi sebagai regulator utama dari pos pemeriksaan G1, tetapi beberapa penelitian terbaru juga mendefinisikan peran untuk RB1 / p105 dalam berbagai proses seluler, termasuk pemeliharaan stabilitas kromosom, induksi dan pemeliharaan penuaan, apoptosis, diferensiasi, dan angiogenesis. Peran utama RB1 dalam angiogenesis tampaknya melalui jalur p21 / E2F / Rb, yang secara tidak langsung menekan ekspresi VEGF. Biasanya, jalur ini diaktifkan oleh hipoksia dan secara mekanis berbeda dari peran klasik yang dimainkan jalur p21 / E2F / Rb dalam regulasi siklus sel. Karena pada sebagian besar tumor retinoblastoma, peristiwa utamanya adalah mutasi gen RB1, menghasilkan protein RB1 yang tidak ada atau tidak berfungsi, salah satu penekan VEGF tidak langsung mungkin tidak ada, sehingga meningkatkan neovaskularisasi tumor (Garcia JR, 2015).

Secara keseluruhan, overekspresi VEGF dikaitkan dengan peningkatan risiko retinoblastoma. Dalam analisis risiko retinoblastoma,

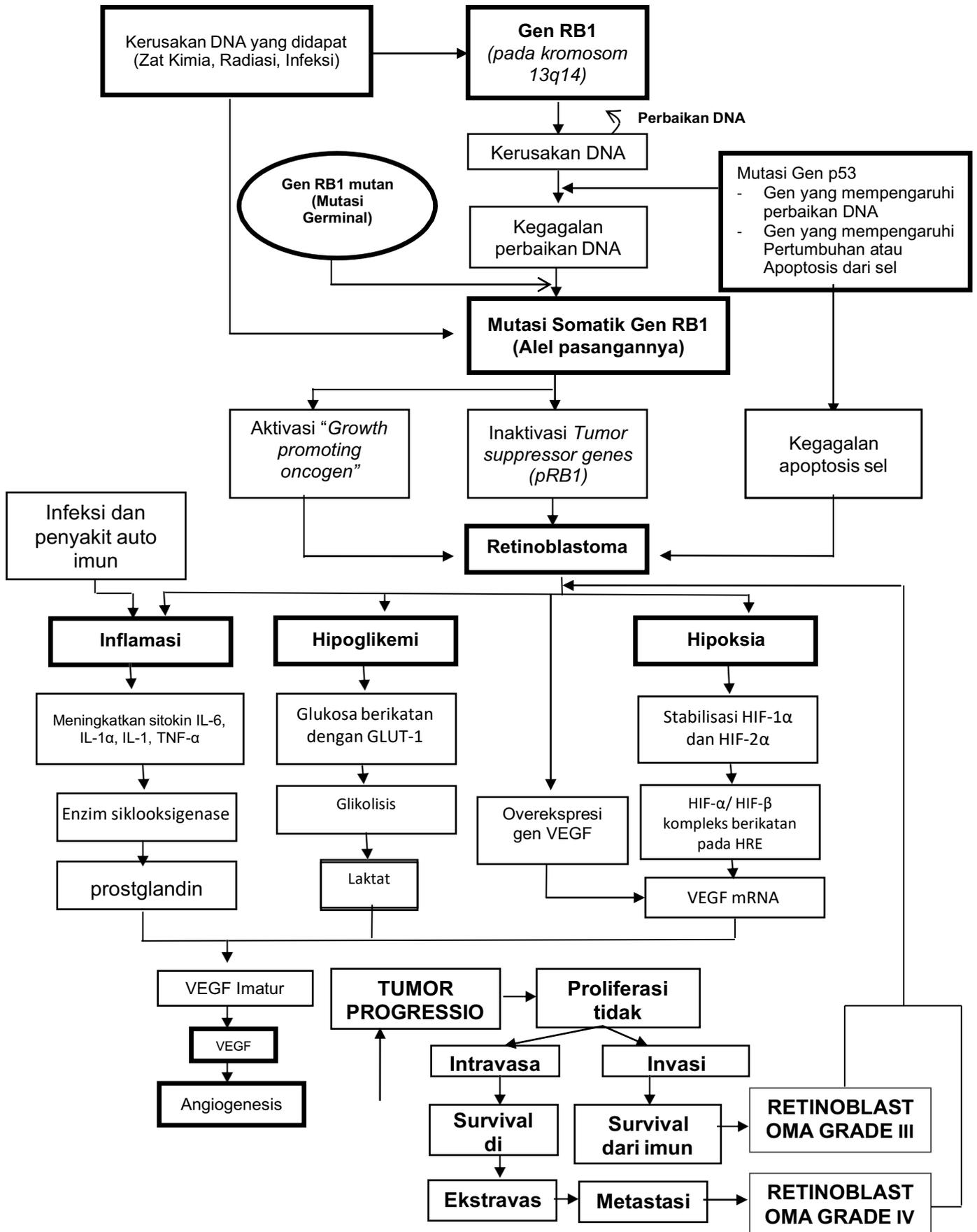
semua studi termasuk memperoleh hasil positif. Selain itu, korelasi yang signifikan antara tingkat vaskularisasi tumor dan ekspresi VEGF terdeteksi dalam penelitian yang dipublikasikan. Kvantna et al telah menemukan bahwa VEGF diekspresikan berlebih pada jaringan retinoblastoma, tetapi tidak pada pembuluh tumor. Penelitian sebelumnya telah menemukan rendahnya ekspresi VEGF pada retina manusia dan jaringan koroid. Marback dkk mengukur area pembuluh darah relatif dari tumor pada retinoblastoma dan membandingkan hasilnya dengan saraf optik dan invasi koroid. Mereka menunjukkan bahwa area pembuluh darah relatif dari tumor tampaknya menjadi penanda prognostik yang menjanjikan untuk penyakit metastasis. Dalam meta-analisis, adanya signifikansi klinikopatologis dari VEGF pada retinoblastoma dan mendeteksi hubungan potensial antara ekspresi VEGF. Hasil mengkonfirmasi bahwa overekspresi VEGF sangat terkait dengan diferensiasi retinoblastoma yang buruk dan invasi tumor. (Arean C, 2010; Wu Q, 2018).



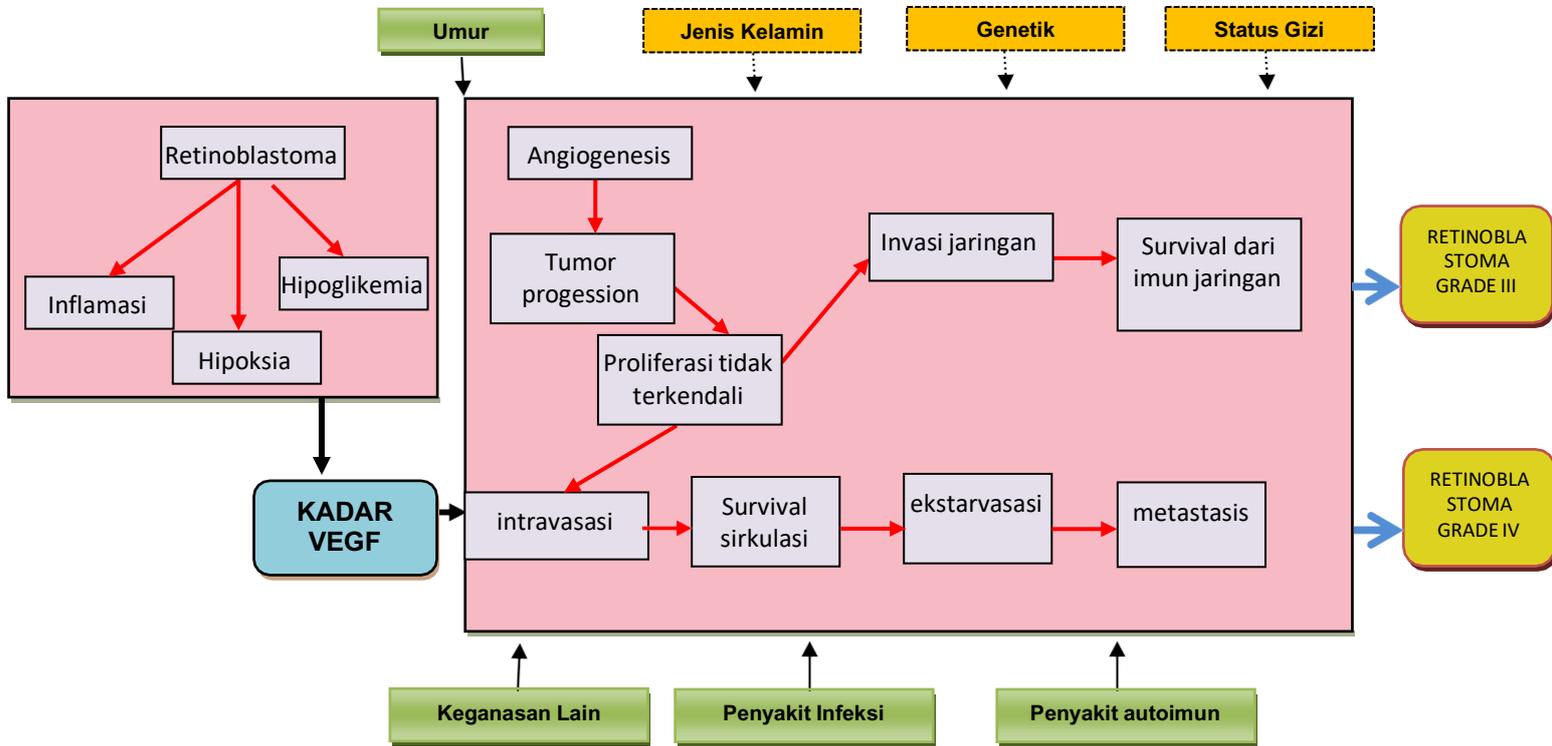
Gambar 12. Faktor RB-E2F mengendalikan angiogenesis melalui regulasi VEGFA dan reseptornya.

Dalam sel hipoksik, protein HIF merangsang ekspresi VEGFA. RB1 dan E2F7 / 8 keduanya telah dilaporkan berinteraksi dengan HIF dan co-stimulasi aktivasi transkripsi VEGFA. E2F1 menurunkan regulasi transkripsi VEGFA melalui mekanisme yang belum diketahui. Protein VEGFA disekresikan oleh sel-sel hipoksia, bermigrasi melalui ruang interselular dan berikatan dengan VEGFR2 pada sel endotel yang pada gilirannya mengaktifkan kaskade pensinyalan yang mengarah pada inaktivasi (hiper-fosforilasi) protein seperti RB1. Akibatnya, E2F1 diaktifkan dan selanjutnya merangsang ekspresi VEGFR1 / 2, sehingga mengatur fungsi sel endotel. E2F7 / 8 di sisi lain menekan transkripsi VEGFR1 / 2 (Bakker W, 2013).

II.5 KERANGKA TEORI



BAB III KERANGKA KONSEP



Keterangan :

	Variabel bebas		Hubungan variabel bebas
	Variabel tergantung		Hubungan variabel tergantung
	Variabel antara		Hubungan variabel antara
	Variabel kendali		Hubungan variabel kendali
	Variabel random		Hubungan variabel random