

Hubungan antara *Microvessel Vessel Density* (MVD) dengan Faktor Risiko Histopatologik Retinoblastoma

Valentina I. Bitticaca, Nurjati C. Siregar, Saukani Gumay

*Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia
 Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Cipto Mangunkusumo, Jakarta*

ABSTRAK

Latar belakang

Retinoblastoma merupakan tumor ganas mata tersering pada anak, terutama usia di bawah 3 tahun. Penanganan kasus retinoblastoma didasarkan pada luasnya invasi sel tumor pada lapisan koroid, nervus optikus pre dan post lamina, sklera dan batas sayatan operasi yang merupakan faktor risiko histopatologi, dan dikelompokkan atas risiko rendah, menengah dan tinggi. Penilaian *microvessel density* (MVD) telah digunakan sebagai dasar terapi anti angiogenesis pada beberapa jenis karsinoma. Telah dilaporkan bahwa retinoblastoma dengan invasi koroid atau metastasis mempunyai nilai MVD yang lebih tinggi dibandingkan yang tanpa invasi lokal ataupun tanpa metastasis. Dalam penelitian ini dilihat hubungan antara MVD dengan faktor risiko histopatologik, selain itu dipelajari pula hubungan antara MVD dengan diferensiasi tumor dan usia.

Metode

Penelitian ini menggunakan metode potong lintang dan analitik terhadap 59 kasus retinoblastoma tanpa kemoreduksi di Departemen Patologi Anatomi FKUI-RSCM. Setelah dikelompokkan menurut risiko histopatologik, didapatkan 10 kasus risiko rendah, 17 kasus risiko menengah dan 32 kasus risiko tinggi. Dilakukan pulasan imunohistokimia CD31, dan selanjutnya dihitung MVD pada masing-masing kelompok, diikuti dengan analisis statistik antara MVD dan faktor risiko histopatologik.

Hasil

Didapatkan hubungan bermakna yang signifikan antara MVD dan faktor risiko histopatologik ($p < 0.001$) dan nilai OR 23. Tidak terdapat hubungan antara MVD dengan diferensiasi tumor ($p = 0,274$), dan tidak terdapat pula hubungan antara MVD dengan umur ($p = 0,712$).

Kesimpulan

terdapat hubungan sejalan yang signifikan antara MVD dengan faktor risiko histopatologik pada retinoblastoma, sehingga dapat dipertimbangkan pemberian antiangiogenesis pada terapi retinoblastoma.

Kata kunci : *Microvessel density* (MVD), faktor risiko histopatologik, retinoblastoma.

ABSTRACT

Background

Retinoblastoma is the most common eye malignant tumor, especially in children under age of 3 years. The management of retinoblastoma is based on of tumor cells invasion in choroid layer, optic nerve pre and post lamina, sclera and optic nerve marginal excision which is a histopathological risk factors in retinoblastoma and categorised into low, intermediate and high risk. Microvessel density (MVD) is used in determining angiogenesis in some cancer as base of anti-angiogenesis therapy. It has been reported that retinoblastoma with local invasion and metastasis have higher MVD than retinoblastoma without local invasion and metastasis. In this study the association of MVD with histopathological risk factor in retinoblastoma was examined. The correlation between MVD with tumor differentiation and age was also assessed.

Methods

This is an analytic cross-sectional study on 59 retinoblastoma without chemoreduction in Anatomical Pathology Department, FMUI-RSCM. The cases was categorised into 3 group: 10 cases of low risk, 17 cases of intermediate risk and 32 cases of high risk retinoblastoma. MVD was assessed by CD 31 immunohistochemical staining for each histopathological risk factor, then statistical analysis was performed.

Results

There was a significant association between MVD and histopathological risk factors in retinoblastoma ($p < 0,001$) and OR score was 23. There was no correlation between MVD and tumor differentiation ($p = 0.274$) and also, there is no significant correlation between MVD and age ($p = 0.712$).

Conclusion

MVD is significantly related to histopathological risk factors of retinoblastoma, therefore the uses of anti-angiogenesis could be considered in management of retinoblastoma.

Key words : Microvessel density (MVD), histopathological risk factors, retinoblastoma.

PENDAHULUAN

Retinoblastoma adalah tumor intraokular primer yang berasal dari sel sensori retina dan terjadi pada masa kanak-kanak.¹⁻² Retinoblastoma mempresentasikan 3% keganasan sebelum usia 15 tahun dan merupakan kurang dari 1% pada seluruh keganasan pada kelompok usia anak.³ Insidensi retinoblastoma bervariasi dari 1 per 15.000 sampai 1 per 34.000 kelahiran diseluruh dunia. Diperkirakan 80% dari 8000 jumlah kasus retinoblastoma terjadi di negara berkembang dan 3000 kasus tersebut berakhir dengan kematian.⁴ Umumnya retinoblastoma ditemukan pada usia 3 tahun pertama kehidupan. Namun, dapat juga terjadi pada usia yang lebih tua, atau bersifat kongenital; akan tetapi jarang pada usia dewasa.¹ Penelitian yang dilakukan di Pakistan⁵ melaporkan kasus retinoblastoma terbanyak sebelum usia 4 tahun, India sebelum usia 3 tahun⁶ sedangkan di Inggris sebelum usia 1 tahun.⁷

Beberapa penelitian melaporkan adanya peningkatan jumlah penderita di negara berkembang dibandingkan di negara-negara maju.⁴ Di Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM terdapat peningkatan penerimaan kasus retinoblastoma yaitu dari tahun 1999-2005 terdapat 118 kasus dan dari tahun 2006-2011 terdapat 137 kasus.⁸

Retinoblastoma merupakan suatu bentuk keganasan, namun bila terdeteksi dini masih dapat diterapi. Kasus retinoblastoma di negara maju terbatas intraokular, sedangkan di negara berkembang telah menunjukkan stadium lanjut sehingga terapi konservatif tidak mungkin dilakukan.^{4,9,10} Masalah utama dalam penanganan retinoblastoma adalah terjadinya kekambuhan pasca terapi. Di negara maju sekalipun dengan *survival rate* mendekati 100% dilaporkan adanya kekambuhan walaupun tanpa metastasis. Penderita retinoblastoma yang mengalami kekambuhan biasanya berakhir dengan kematian. Keadaan ini dihubungkan dengan adanya invasi sel-sel tumor pada lapisan koroid, nervus optikus dan sklera atau metastasis.^{3,4} Data dari Departemen Patologi Anatomi dari tahun 1999-2011, didapatkan kasus retinoblastoma sebanyak 255 kasus, termasuk 19 kasus yang mengalami kekambuhan yaitu 1 kasus trilateral retinoblastoma.⁸

Chantada dkk membagi 3 kelompok faktor-faktor risiko terjadinya kekambuhan

retinoblastoma berdasarkan gambaran histopatologik yaitu risiko rendah, menengah dan tinggi. Risiko rendah menunjukkan sel-sel tumor yang menginvasi retinal, koroid minor dan nervus optikus prelaminar. Risiko menengah jika sel-sel tumor menginvasi koroid mayor, intraskleral, segmen anterior dan nervus optikus post laminar, sedangkan risiko tinggi jika sel-sel tumor positif pada batas sayatan operasi nervus optikus dan invasi transkleral.⁹ Pentingnya mengetahui faktor risiko ini berhubungan dengan penanganan dan prognosis retinoblastoma.

Telah banyak penelitian melaporkan bahwa pertumbuhan sel tumor dan metastasis hematogen tergantung pada angiogenesis.¹¹⁻¹⁵ Pembentukan pembuluh darah dimediasi oleh *angiogenic stimulator* yang diproduksi dan dilepaskan oleh sel tumor. Adanya ekspresi VEGF dan bFGF mengindikasikan peranan angiogenesis pada retinoblastoma.^{2,16}

Microvessel density (MVD) telah umum digunakan untuk menilai angiogenesis tumor dalam kaitannya dengan kekambuhan dan metastasis tumor.¹⁷⁻²¹ Pemeriksaan histopatologik pada sediaan retinoblastoma yang diterima pada Departemen Patologi Anatomi FKUI-RSCM sering menunjukkan gambaran batas sayatan yang telah bebas dari jaringan tumor tanpa adanya invasi lokal pada koroid maupun sklera. Namun demikian, pasien retinoblastoma kemungkinan kambuh kembali beberapa saat kemudian yang kemungkinan sudah disertai dengan metastasis.

Tujuan penelitian ini untuk melihat hubungan antara *microvessel density (MVD)* dan faktor risiko histopatologik retinoblastoma.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan secara retrospektif menggunakan metode potong lintang, analitik pada retinoblastoma tanpa kemoreduksi yang menjalani enukleasi bola mata pada tahun 2007-2011. Didapatkan 59 kasus pasien yang memenuhi kriteria inklusi. Sediaan HE dinilai ulang dan dikelompokkan dalam derajat risiko histopatologik yaitu rendah (10 kasus), menengah (17 kasus) dan tinggi (32 kasus).⁹

Blok parafin dipotong setebal 4 µm lalu dilekatkan pada kaca benda lalu dipanaskan di atas *slide warmer* pada suhu 60°C. Sediaan dideparafinasi dengan xylol selama 3 X 5 menit.

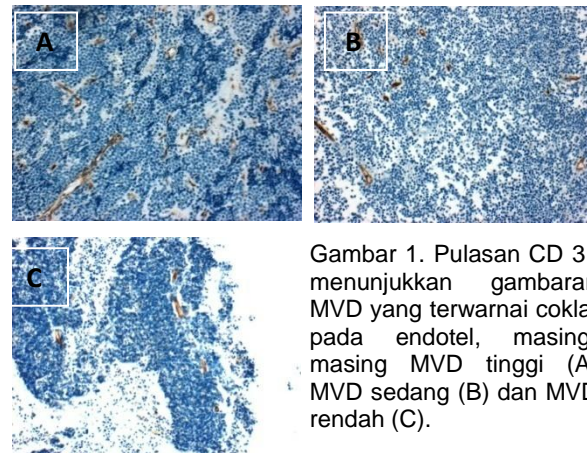
Rehidrasi dengan alkohol absolut, 96% dan 80% masing-masing selama 5 menit. Setelah rehidrasi, dilakukan pencucian dengan air mengalir selama 5 menit. Selanjutnya dilakukan *blocking* peroksidase endogen menggunakan H₂O₂ 0,5% dalam methanol selama 30 menit, kemudian dilakukan pencucian dengan air mengalir selama 5 menit. *Pretreatment* dilakukan dengan TE (Tris EDTA) dalam *microwave* dengan cara bertahap, yaitu *cook I* dengan power level 8 selama 5 menit; *cook II* dengan power level 1 selama 5 menit, kemudian dinginkan selama 45 menit. Dilakukan pencucian dengan PBS pH 7,4 sebanyak 2x3 menit, dilanjutkan dengan *blocking background sniper* selama 15 menit. Sediaan diinkubasi dengan dengan antibody primer anti CD31 (Cell Marque) dengan pengenceran 1:300 selama 1 jam, kemudian dicuci dalam PBS pH 7,4 sebanyak 2x3 menit. Inkubasi dengan *universal link* selama 15 menit, lalu dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 sebanyak 2x3 menit. Inkubasi dengan *conjugated streptavidin* dalam NHS selama 15 menit. Cuci dengan PBS pH 7,4 sebanyak 2 x 3 menit. Inkubasi dengan *diaminobenzidin tetrahydrochloride (DAB)* selama 5 menit kemudian dicuci dengan air mengalir selama 10 menit. *Counterstained* dengan *Hematoxylin Lillie Mayer* selama 1 menit. Cuci dengan air mengalir selama 5 menit, lalu direndam dalam Lithium Carbonat jenuh (5% dalam aquades) selama 10 menit. Cuci dengan air mengalir selama 3 menit, lalu dehidrasi dengan alkohol 80%,96% dan absolute masing-masing selama 5 menit. *Clearing* dengan xylol 3 x 5 menit, kemudian ditutup dengan Entelan^R.

Cara penilaian

Penilaian ekspresi CD 31(MVD) mengikuti metode oleh Hansen *et al* (2000)²², yaitu (1) dipilih daerah 'hot spot' (padat dengan pembuluh darah) dengan pembesaran 40x (Carl Zeiss/Axioscope A1). (2) Dengan menggunakan pembesaran 200x dilakukan penghitungan endotel tunggal atau kelompok endotel atau pembuluh darah yang positif terwarnai coklat pada 3 daerah LP dan dibuat rerata. (3) Selanjutnya dilakukan pengelompokan menjadi 3 kelompok yaitu: MVD rendah, jika jumlah rerata endotel dan atau kapiler yang positif 1-9, MVD sedang, jika rerata jika jumlah endotel dan atau kapiler yang positif berjumlah 10-19; dan

MVD tinggi, jika rerata jumlah endotel dan atau kapiler yang positif adalah >20.

Data MVD menghasilkan skala numerik yang kemudian diubah ke skala kategorik (rendah, sedang, tinggi) kemudian dihubungkan dengan faktor prognostik histopatologik yaitu faktor risiko kekambuhan retinoblastoma yang terdiri atas faktor risiko rendah, menengah dan tinggi. Perbedaan interpretasi pewarnaan imunohistokimia antara kedua pemeriksa dianalisis dengan uji Kappa. Hasil data yang didapatkan dimasukkan dalam tabel BxK dengan menggunakan uji *Chi-square* jika memenuhi syarat atau uji Fisher jika tidak memenuhi syarat. Nilai p <0.05 dinyatakan sebagai bermakna secara statistik.



Gambar 1. Pulasan CD 31 menunjukkan gambaran MVD yang terwarnai coklat pada endotel, masing-masing MVD tinggi (A) MVD sedang (B) dan MVD rendah (C).

HASIL

Karakteristik umum pasien dapat dilihat pada tabel 1, yaitu dari 59 pasien retinoblastoma yang memenuhi kriteria inklusi didapatkan 32 perempuan (54,2%) dan 27 laki-laki (45,8%). Kelompok umur tersering adalah usia 0-3 tahun sebanyak 48 penderita (81,4%) dan hanya didapatkan 1 pasien yang berusia diatas 9 tahun (1,7%). Umur rata-rata penderita retinoblastoma adalah 2,46 tahun dengan median usia adalah 2 tahun. Gambaran histopatologik retinoblastoma berdiferensiasi baik 23 kasus (39%) dan berdiferensiasi buruk 36 kasus (61%).

Setelah dikelompokkan menurut faktor risiko histopatologik didapatkan retinoblastoma risiko rendah sebanyak 10 kasus(16,9%), risiko menengah 17 (28,8%) dan risiko tinggi 32 (54,2%). Pewarnaan imunohistokimia CD 31 didapatkan MVD tinggi 25,86±7,12 sebanyak 16

kasus (27,1%), MVD sedang 16.07±2,87 sebanyak 29 kasus (49,2%) dan MVD rendah 5,43±2,95 sebanyak 14 kasus (23,7%).

Tabel 1 Karakteristik Umum pasien

Variabel	Jumlah	Presentase
Jenis kelamin		
Perempuan	32	54,2
Laki-laki	27	45,8
Usia		
0-3	48	81,4
4-6	7	11,9
7-9	3	5,1
>9	1	1,7
Diffrensiasi		
Baik	23	39
Buruk	36	61
Faktor Risiko Histopatologik		
Rendah	10	16,9
Menengah	17	28,8
Tinggi	32	54,2
Ekspresi CD 31 (MVD)		
Rendah (5.43±2.95)	14	23,7
Sedang (16.07±2.87)	29	49,2
Tinggi (25.86±7.12)	16	27,1

Hubungan Diferensiasi Tumor dengan Risiko Histopatologik dan MVD

Pada tabel 2, penderita retinoblastoma risiko rendah dengan diferensiasi baik sebanyak 7 kasus (70%) dan diffrensiasi buruk sebanyak 3 kasus (30%). Penderita retinoblastoma risiko menengah dengan diferensiasi baik sebanyak 7 kasus (41,2%) dan diferensiasi buruk sebanyak 10 kasus (58,8%), sedangkan risiko tinggi dengan diferensiasi baik sebanyak 9 kasus (28,1%) dan diferensiasi buruk sebanyak 23 kasus (71,9%). Dilakukan uji *Chi-Square* dengan hasil tidak terdapat hubungan yang bermakna antara faktor risiko histopatologik dengan difrensiasi tumor (p=0,063).

MVD rendah ditemukan sebanyak 8 kasus (57,1%) pada retinoblastoma diferensiasi baik dan 6 kasus (42,9) pada diferensiasi buruk. MVD sedang sebanyak 10 kasus (34,5%) pada retinoblastoma diferensiasi baik dan 19 kasus (65,5%) pada diferensiasi buruk. MVD tinggi ditemukan sebanyak 5 kasus (31,3%) pada retinoblastoma diferensiasi baik dan 11 kasus (68,8%) pada diferensiasi buruk. Dilakukan uji *Chi-Square* dengan hasil tidak terdapat hubungan yang bermakna antara MVD dengan diferensiasi tumor (p=0,274).

Tabel 2. Hubungan Diferensiasi Tumor dengan Risiko Histopatologik dan MVD

	Diferensiasi Tumor			P
	Baik n (%)	Buruk n (%)	Total n (%)	
Risiko Histo- patologik				
Rendah*	7(70)	3(30)	10(100)	0,063
Menengah**	7(41,2)	10(58,8)	17(100)	
Tinggi	9(28,1)	23(71,9)	32(100)	
MVD				
Rendah	8(57,1)	6(42,9)	14(100)	0,274
Sedang	10(34,5)	19(65,5)	29(100)	
Tinggi	5(31,3)	11(68,8)	16(100)	

*/** digabung dalam uji statistik

Hubungan Umur dengan Risiko Histopatologik dan MVD

Pada tabel 3, penderita retinoblastoma dengan risiko rendah didapatkan 7 kasus (70%) pada usia <3 tahun dan 3 kasus (30%) pada usia >3 tahun. Penderita retinoblastoma risiko menengah didapatkan 16 kasus (94,10%) pada usia <3 tahun dan 1 kasus (5,90%) pada usia >3 tahun. Penderita retinoblastoma risiko tinggi didapatkan sebanyak 25 kasus (78,10%) pada usia <3 tahun dan 7 kasus (21,90%) pada usia >3 tahun. Dilakukan uji statistik *Chi-Square* tetapi syarat terpenuhi, dilanjutkan dengan uji Fisher. Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara risiko histopatologik dengan umur (p=0,376).

Penderita retinoblastoma dengan MVD rendah didapatkan sebanyak 11 kasus (78,60%) pada usia <3 tahun dan 3 kasus(21,40%) pada usia >3 tahun. MVD sedang sebanyak 24 kasus (82,80%) pada usia <3 tahun dan 5 kasus (17,20%) pada usia >3 tahun. MVD tinggi sebanyak 13 kasus (81,20%) pada usia <3 tahun dan 3 kasus (18,80%) pada usia >3 tahun. Dilakukan uji statistik *Chi-Square* tetapi syarat tidak terpenuhi dilanjutkan dengan uji Fisher. Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara MVD dengan umur (p=0,712).

Tabel 3. Hubungan Umur dengan Risiko Histopatologi dan MVD

	Umur		Total n (%)	P
	<3 tahun n (%)	>3 tahun n (%)		
Risiko Histo- patologik				0,376
Rendah	7(70)	3(30)	10(100)	
Menengah*	16(94,10)	1(5,90)	17(100)	
Tinggi**	25(78,10)	7(21,90)	32(100)	0,712
MVD				
Rendah	11(78,60)	3(21,40)	14(100)	
Sedang*	24(82,80)	5(17,20)	29(100)	
Tinggi**	13(81,20)	3(18,80)	16(100)	

*/** digabung dalam uji statistik

Hubungan Risiko Histopatologik Retinoblastoma dengan MVD

Pada tabel 4, MVD tinggi ditemukan sebanyak 16 kasus dengan hampir semua kasus pada kelompok risiko tinggi histopatologik

yaitu 15 kasus (93,8%) dan 1 kasus (6,2%) pada kelompok risiko menengah serta tidak didapatkan pada kelompok risiko rendah. MVD sedang sebanyak 29 kasus yaitu 16 kasus (55,2%) pada risiko tinggi, 10 kasus (34,5%) pada risiko menengah dan 3 kasus (10,3%) risiko rendah. MVD rendah sebanyak 14 kasus terdiri atas 1 kasus (7,1%) risiko tinggi, 6 kasus (42,9%) risiko menengah dan 7 kasus (50%) risiko rendah. Dilakukan uji *Chi-Square* untuk menilai hubungan MVD dengan faktor risiko histopatologik. Didapatkan nilai kemaknaan yang signifikan yaitu $p < 0,001$ antara MVD dan faktor risiko histopatologik. Didapatkan pula nilai OR 23 yang menunjukkan pada MVD tinggi terdapat kemungkinan 23 kali untuk terjadinya risiko tinggi retinoblastoma dibandingkan dengan retinoblastoma dengan MVD rendah sampai sedang.

Tabel 4. Hubungan Risiko Histopatologik Retinoblastoma dengan MVD

		Risiko Histopatologik			Total n(%)	P	OR
		Tinggi n (%)	Menengah** n(%)	Rendah* n(%)			
MVD	Tinggi	15(93,8)	1(6,2)	0(0)	16(100)	<0,001)	23
	Sedang**	16(55,2)	10(34,5)	3(10,3)	29(100)		
	Rendah*	1(7,1)	6(42,9)	7(50,0)	14(100)		

*/** digabung dalam uji statistik

DISKUSI

Pada penelitian ini kasus retinoblastoma lebih banyak pada pasien perempuan dibandingkan laki-laki, namun demikian perbedaan tersebut tidak terlalu mencolok. Beberapa penelitian lain menunjukkan tidak ada perbedaan jenis kelamin pada kasus retinoblastoma,²³ jumlah kasus retinoblastoma lebih banyak pada laki-laki dibandingkan perempuan,^{3,24,25} namun perbedaan jenis kelamin bukan merupakan predisposisi dalam perkembangan retinoblastoma.²⁵

Pada karakteristik dasar berdasarkan usia, penelitian ini menunjukkan kasus retinoblastoma terbanyak timbul di bawah usia 3 tahun. Hal ini sesuai dengan laporan penelitian terdahulu yang mengemukakan usia retinoblastoma di bawah 5 tahun dengan kebanyakan kasus pada usia 3 tahun pertama kehidupan.¹ Hasil penelitian retinoblastoma di Kongo, India dan Taiwan melaporkan retinoblastoma terbanyak di bawah usia 3 tahun.^{6,26,27} Sedangkan laporan lain menyatakan bahwa retinoblastoma di atas usia 9 tahun atau pada usia yang lebih tua, namun dan jarang pada usia dewasa.

Gambaran histopatologik retinoblastoma yang berdiferensiasi buruk lebih banyak (61%) ditemukan dibandingkan dengan yang berdiferensiasi baik (39%). Hal ini serupa dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa jumlah kasus retinoblastoma yang berdiferensiasi buruk lebih banyak dibandingkan dengan yang berdiferensiasi baik.^{9,25,28} Analisa statistik menunjukkan adanya hubungan yang tidak bermakna antara risiko histopatologik retinoblastoma dengan diferensiasi tumor. Beberapa peneliti terdahulu melaporkan bahwa diferensiasi tumor retinoblastoma menunjukkan makna yang tidak signifikan jika dikaitkan dengan faktor risiko histopatologik,^{29,30,31} derajat deferensiasi dan nekrosis bukan merupakan faktor risiko histopatologik tetapi pada terapi radiasi, retinoblastoma menunjukkan respon yang positif.²⁵ Pada penelitian ini, hubungan antara MVD dan diferensiasi tumor ($p=0,274$) menunjukkan hubungan tidak bermakna. Peneliti lain menyatakan bahwa tidak ada hubungan antara MVD dan diferensiasi tumor ($p=0,094$),³⁴ sedangkan tidak menghubungkan antara MVD dengan diferensiasi tumor.^{32,35}

Pada penelitian ini didapatkan kasus retinoblastoma dengan faktor risiko tinggi lebih banyak (54,2 %) dibandingkan risiko menengah (28,8%) dan risiko rendah (16,9%). Hasil penelitian ini sesuai dengan temuan retinoblastoma di negara-negara berkembang lainnya termasuk India dan Tanzania.⁴ Peneliti terdahulu melaporkan kelompok risiko tinggi;³³ adalah kelompok risiko rendah yang diikuti kelompok risiko menengah dan tinggi.^{31,32} Faktor sosial ekonomi, kultur, keterbatasan sarana dan prasarana kesehatan yang terjadi di negara-negara berkembang termasuk Indonesia menjadi penghalang deteksi dini retinoblastoma.^{4,9,25}

Penderita retinoblastoma dengan faktor risiko menengah sampai tinggi didapatkan lebih banyak pada usia di bawah 3 tahun yaitu risiko menengah 94,10% dan risiko tinggi 78,10%, sedangkan pada usia di atas 3 tahun risiko menengah 5,90% dan risiko tinggi 21,90%. Pada penelitian ini, tidak didapatkan hubungan yang signifikan antara usia penderita retinoblastoma dengan faktor risiko histopatologik ($p=0,376$). Peneliti terdahulu melaporkan tidak ada hubungan yang bermakna antara invasi sel tumor pada lapisan koroid dengan usia penderita retinoblastoma ($p=0,8$),²⁸ dan tidak ada hubungan yang signifikan antara usia dengan invasi sel tumor ke nervus optikus;²⁹ penderita retinoblastoma yang berusia di atas 24 bulan berkorelasi dengan invasi tumor ke lapisan koroid.⁶

MVD sedang sampai tinggi didapatkan pada kelompok usia di bawah 3 tahun sebanyak 82,80% MVD sedang dan 81,20% MVD tinggi dibandingkan kelompok usia lebih dari 3 tahun sebanyak 17,20% MVD sedang dan 18,80% MVD tinggi. Pada penelitian ini tidak didapatkan hubungan yang bermakna antara MVD dan usia penderita retinoblastoma ($p=0,712$). Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa tidak ada hubungan antara usia penderita retinoblastoma dengan TRVA (*tumor's relative vascular area*);³² sedangkan penelitian lain tidak menghubungkan usia penderita retinoblastoma dengan MVD.^{34,35}

Pada penelitian ini didapatkan MVD tinggi pada kelompok risiko tinggi 93,8%, kelompok risiko menengah 6,2% dan tidak didapatkan pada kelompok risiko rendah. Ditemukan 1 kasus MVD rendah pada kelompok risiko tinggi dan 6 kasus MVD rendah pada kelompok risiko menengah. Gambaran histo-

patologik sediaan ini dengan pulasan HE sebagian menunjukkan retinoblastoma berdiferensiasi buruk dengan sel-sel tumor yang sedikit di antara jaringan nekrosis luas, sebagian lainnya berdiferensiasi baik dengan nekrosis yang minimal tetapi jumlah sel tumor sedikit. Terdapat pula 3 kasus dengan faktor risiko rendah tetapi MVD menunjukkan sedang. Gambaran histopatologik sediaan ini menunjukkan retinoblastoma dengan diferensiasi buruk 1 kasus dan 2 lainnya berdiferensiasi baik dengan nekrosis yang minimal dan jumlah sel tumor cukup banyak. Beberapa peneliti telah menunjukkan tidak ada kaitan antara derajat diferensiasi tumor dan nekrosis dengan faktor risiko histopatologik retinoblastoma.^{25,28,30} Peneliti retinoblastoma lainnya juga tidak menghubungkan antara angiogenesis dengan diferensiasi tumor.^{2,32,34,35} Namun demikian, faktor luasnya nekrosis dan ukuran tumor perlu dipertimbangkan berperan dalam menilai MVD.

Telah banyak penelitian yang menghubungkan antara densitas pembuluh darah tumor dengan metastasis dan prognosis buruk suatu tumor.¹⁵ Peneliti sebelumnya melaporkan terdapat hubungan antara ekspresi VEGF dengan MVD dan indeks proliferasi sel tumor pada karsinoma epidermoid paru;³⁶ juga terdapat korelasi antara MVD, grading histopatologik dan kekambuhan kanker prostat pada pasien prostatektomi;³⁷ MVD tinggi menunjukkan angiogenesis tumor dan merupakan faktor prognostik yang buruk pada penderita karsinoma paru.³⁸ Penelitian lainnya melaporkan bahwa semua penderita karsinoma payudara dengan MVD tinggi mengalami kekambuhan dalam kurun waktu 33 bulan dibandingkan penderita karsinoma payudara lainnya dengan MVD rendah.¹⁵

Dari 59 kasus pada penelitian ini didapatkan 1 kasus kekambuhan retinoblastoma yang tergolong risiko menengah dengan batas sayatan bebas tumor dan MVD sedang. Pembentukan pembuluh darah baru bertujuan untuk suplai nutrient pertumbuhan sel termasuk sel tumor. Pada saat ukuran tumor bertambah, maka pembentukan pembuluh darah baru semakin tinggi pula, sehingga sel tumor yang terlepas masuk ke dalam pembuluh darah dan memudahkan terjadinya pertumbuhan sel tumor yang baru. Pada kasus kekambuhan di penelitian ini, walupun batas sayatan tidak mengan-

dung jaringan tumor lagi, tetapi proses angiogenesis memudahkan terjadinya kekambuhan.

Pada penelitian ini didapatkan suatu hubungan yang signifikan ($p < 0,1$) antara faktor risiko histopatologik retinoblastoma dengan *microvessel density* (MVD) dengan nilai OR sebesar 23. Penelitian yang dilakukan oleh Rossler *et al* melaporkan MVD lebih tinggi didapatkan pada invasi lokal yaitu sel-sel tumor yang menginvasi koroid dengan atau tanpa invasi ke nervus optikus dibandingkan tanpa invasi lokal. Penelitian tersebut juga menambahkan MVD lebih tinggi pada retinoblastoma yang disertai metastasis dibandingkan tanpa metastasis;³⁵ juga terdapat peningkatan MVD secara berurutan pada koroid, korpus siliaris, nervus optikus dan batas sayatan nervus optikus yang positif mengandung sel tumor. Pada penelitian tersebut juga dihasilkan korelasi yang signifikan antara mean MVD dengan kelangsungan hidup selama 5 tahun.³⁴ Peneliti terdahul melaporkan *tumor's relative vascular area* (TRVA) dapat digunakan sebagai prediktor pada penderita retinoblastoma dengan risiko tinggi untuk terjadinya penyebaran sel tumor setelah dilakukan enukleasi bola mata.³² Sebaliknya, penelitian lainnya melaporkan bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara VEGF dan invasi sel tumor pada koroid, nervus optikus dan kamera okuli anterior. Namun demikian, pada penelitian tersebut dilaporkan terdapat hubungan antara intensitas VEGF dan indeks apoptosis yaitu semakin tinggi indeks apoptosis, maka intensitas dari ekspresi VEGF semakin kuat pula.² Beberapa peneliti menganjurkan pemberian anti angiogenesis sebagai terapi tambahan pada retinoblastoma dan melaporkan bahwa retinoblastoma dengan MVD yang tinggi memudahkan terjadinya invasi lokal dan metastasis serta menganjurkan kombinasi terapi yang terdiri atas angiogenesis dan kemoterapi.³⁵ Peneliti lainnya juga menganjurkan anti-VEGF dengan target terapi adalah pembuluh darah immature di antara sel tumor.²

Pada penelitian ini terdapat hubungan yang kuat antara MVD dengan faktor risiko histopatologik retinoblastoma, yang mengindikasikan retinoblastoma dengan MVD yang tinggi mempunyai potensi yang kuat untuk mengalami kekambuhan. Dengan demikian, pada kasus dengan risiko histopatologik rendah bila ditemukan MVD tinggi, perlu difollow up dengan lebih

seksama. Pada penelitian ini tidak ditemukan hubungan yang bermakna antara diferensiasi tumor terhadap risiko histopatologik dan MVD serta umur retinoblastoma terhadap risiko histopatologik dan MVD.

KESIMPULAN

Terdapat hubungan sejalan yang signifikan antara MVD dengan faktor risiko histopatologik pada retinoblastoma, sehingga dapat dipertimbangkan pemberian antiangiogenesis pada terapi retinoblastoma

DAFTAR PUSTAKA

1. Font RL, Croxatto JO, Rao NA. Afip atlas of tumor pathology: tumors of the eye and ocular adnexa 4thed. Washington: Armed Forces Institute of Pathology; 2006.
2. Arean C, Orellana ME, Abourbih D, Abreu C, Pifano I, Burnier MN. Expression of vascular endothelial growth factor in retinoblastoma. *Arch Ophthalmol*. 2010; 2:223-9.
3. Chantada GL, Dunkel IJ, de Davilla MTG, Abramson DH. Retinoblastoma patients with high risk ocular pathological features: who needs adjuvant therapy?. *Br J Ophthalmol*. 2004; 88:1069-73.
4. Chantada GL, Qaddoumi I, Canturk S, Khetan V, Ma Z, Kimani K et al. Strategies to manage retinoblastoma in developing country. *Pediatr. Blood Cancer*. 2011;56: 341-8.
5. Bhurgri Y, Muzaffar S, Ahmed R, Ahmed N, Bhurgri H, Usman A. Retinoblastoma in Karachi, Pakistan. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2004; 5: 159-63.
6. Gupta R, Vemuganti GK, Reddy VAP, Honavar SG. Histopathologic risk factors in retinoblastoma in India. *Arch Pathol Lab Med*. 2009; 133:1210-14.
7. Sanders BMS, Draper GJ, Kingston JE. Retinoblastoma in Great Britain 1969-80: incidence, treatment, and survival. *Br J Ophthalmol*. 1988; 72: 576-83.
8. Arsip Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM. *Unpublished data*.
9. Chantada GL, Dunkel IJ, Abramson DH. Management of high risk retinoblastoma. *Expert Rev.Ophthalmol*. 2012; 7: 61-72.
10. Chantada G, Fandino A, Davilla MTG, Manzitti J, Raslawski E, Casak S et al. Results of a prospective study for the

- treatment of retinoblastoma. *Cancer*. 2003; 100:834-42.
11. Singhal S, Vachani A, Antin-Ozerkins D, Kaiser LR, Albelda SM. Prognostic implications of cell cycle, apoptosis, and angiogenesis biomarkers in non-small lung cancer: a review. *Clin Cancer Res*. 2005; 11: 3974-86.
 12. Weidner N, Carroll PR, Flax J, Blumenfeld W, Folkman J. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma. *Am J Pathol*. 1993 ; 143: 401-9.
 13. Fox SB, Leek RD, Bliss J, Mansi JL, Gusterson B, Gatter KC, Harris AL. Association of tumor angiogenesis with bone marrow micrometastases in breast cancer patient. *J Natl Cancer Inst*. 1997; 89:1044-9.
 14. Svagzdys S, Lesauskaite V, Pavalkis D, Nedzelkiene I, Pranys D, Tamelis A. Microvessel density as new prognostic marker after radiotherapy in rectal cancer. *BMC Cancer*. 2009; 9:1-8.
 15. Hasan J, Byer R, Jayson GC. Intra-tumoral microvessel density in human solid tumors. *Br J Cancer*. 2002; 86: 1566-77.
 16. Cebulla CM, Jockovich ME, Pina Y, Boutrid H, Alegret A, Kulak A et al. Basic fibroblast growth factor impact on retinoblastoma progression and survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008; 49; 5215-21.
 17. Taille A, Katz AE, Bagiella E, Buttyan R, Sharir S, Olsson CA et al. Microvessel density as a predictor of PSA recurrence after radical prostatectomy. *Am J Clin Pathol* 2000; 113;555-62.
 18. Wu HG, Sunagawa M, Jie-En L, Shimada S, Gang Z, Tokeshi Y et al. The relationship between microvessel density, the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and the extension of nasopharyngeal carcinoma. *Laryngoscope*. 2000; 110:2066-69.
 19. Lorincz T, Toth J, Szendroi M, Timar J. Microvessel density of breast cancer in bone metastasis: influence of therapy. *Anticancer Research*. 2005; 25: 3075-82.
 20. Poon RTP, Oi-lin I, Lau C, Yu WC, Yang ZF, Fan ST et al. Tumor microvessel density as a predictor of recurrence after resection of hepatocellular carcinoma: a prospective study. *J Clin Oncol*. 2002; 20:1775-85.
 21. Guetz GD, Uzzan B, Nicolas P, Cucherat M, Morere JF, Benamouzig RB et al. Microvessel density and VEGF expression are prognostic factors in colorectal cancer. Meta-analysis of the literature. *Br J Cancer*. 2006; 94; 1823-32.
 22. Hansen S, Grabau DA, Sorensen FB, Bak M, Vach W, Rose C. Vascular grading of angiogenesis: prognostic significance in breast cancer. *Br J Cancer*. 2000;82:339-47.
 23. Khelifaoui F, Validire P, Auperin A, Quintana E, Michon J, Pacquement H et al. Histopathologic risk factors in retinoblastoma. A retrospective study of 172 patients treated in a single institution. *Cancer*. 1996;77:1206-13.
 24. Bonanomi MT, de Almeida MT, Christofani LM, Filho VO. Retinoblastoma: a three year study at a Brazilian Medical School Hospital. *Clinics*. 2009;64(5):427-34.
 25. Finger MD, Harbour JW, Karcicoglu ZA. Risk factors for metastasis in retinoblastoma. *Surv Ophthalmol*. 2002;47:1-16.
 26. Lukusa AK, Aloni MN, Kadima-Tshimanga B, Mvitu-Muaka M, Ehungu JLG, Ngiyulu R et al. Retinoblastoma in the Democratic republic of Congo: 20-year review from a tertiary hospital in Kinshasa. *J Cancer Epid*. 2012;1-5.
 27. Chang CY, Chiou TJ, Hwang B, Bai LY, Hsu WM, Hsieh YL. Retinoblastoma in Taiwan: survival rate and prognostic factors. *Jpn J Ophthalmol*. 2006;50:242-49.
 28. Shields C, Shields JA, Baez K, Cater J, De Potter P. Choroidal invasion of retinoblastoma: metastatic potential and clinical risk factors. *Cancer* 1993;77:544-48.
 29. Shields CL, Shields JA, Baez K, Cater JR, De Potter P. Optic nerve invasion of retinoblastoma. *Cancer*. 1994;73:692-8.
 30. Chantada GL, Davila MTG, Fandino A, Manzitti J, Raslawski E, Casak S, Schwartzman E. Retinoblastoma with low risk for extraocular relapse. *Ophthalmic genetics*. 1999; 20:133-40.
 31. Khelifaoui F, Validire P, Auperin A, Quintana E, Michon J, Pacquement H et al. Histopathologic risk factors in retinoblastoma. A retrospective study of 172 patients treated in a single institution. *Cancer*. 1996;77:1206-13.

32. Marback EF, Arias VEA, Paranhos A, Soares FA, Murphree AL, Erwenne CM. Tumor angiogenesis as a prognostic factor for disease dissemination in retinoblastoma. *Br J Ophthalmol.* 2003; 87:1224-8.
33. Chantada G, Fandino A, Manzitti J, Urrutia L, Schwartzman E. Late diagnosis of retinoblastoma in a developing country. *Arch Dis Child.* 1999;80:171-4.
34. Amoli FA, Foroughi F, Shams H, Jahanzad I. Quantification of mean vessel density in retinoblastoma and its correlation with local tumor invasion and patient survival. *Iran J Pathol.* 2010; 5:60-4.
35. Rossler J, Dietrich T, Pavlakovic H, Schwreigerer L, Havers W, Schuler A, *et al.* Higher vessel densities in retinoblastoma with local invasive growth and metastasis. *Am J Pathol.* 2004; 164:391-4.
36. Mattern J, Koomagi R, Volm M. Association of vascular growth expression with intratumoral microvessel density and tumour cell proliferation in human epidermoid lung carcinoma. *Br J Cancer.* 1996;73:931-34.
37. Bono AV, Celato N, Cova V, Salvatore M, Chinetti S, Novario R. Microvessel density in prostate carcinoma. *Prostate Cancer and Prostatic Disease.* 2002;5:123-7.
38. Meert AP, Paesmans M, Martin B, Delmotte P, Berghmans T, Verdebout JM *et al.* The role of microvessel density on the survival of patients with lung cancer: a systemic review of the literature with meta-analysis. *Br J Cancer.* 2002;87:694-701.