

Penanda Biologis Limfoma Maligna

I Gede Yasa Asmara

Abstrak

Penanda biologis kanker adalah molekul yang mudah diukur dan mudah dievaluasi sebagai indikator proses biologis, proses patogenesis dari suatu penyakit atau proses farmakologis dari suatu terapi dari kanker. Limfoma maligna adalah kanker yang berasal dari sel limfosit abnormal. Penanda biologis pada limfoma maligna dapat digunakan sebagai faktor risiko klinis atau faktor prognosis. Prognosis dari seorang pasien kanker dipengaruhi oleh interaksi antara sel tumor dan penjamu. Faktor-faktor tersebut meliputi jumlah dari sel tumor, kemampuan dari penjamu untuk mengeliminasi sel tumor (imunokompeten) dan toleransi pasien terhadap regimen terapi. Limfoma maligna dapat dibedakan menjadi LNH dan LH. LNH dibedakan lagi menjadi *Difuse Large B-Cell Lymphoma*, *Follicular Lymphoma*, *Mantle Cell Lymphoma* dan *Burkitt Lymphoma*. Masing-masing jenis limfoma tersebut memiliki penanda biologis yang berbeda-beda dan saling berkaitan serta tumpang tindih. Sebagian besar penanda biologis memiliki nilai prognosis tetapi ada juga yang berhubungan dengan terapi. Identifikasi dan aplikasi penanda biologis prognosis yang baik nantinya dapat membantu menentukan pengobatan yang tepat dan evaluasi luaran pasien dengan akurat.

Katakunci

Penanda biologis, Limfoma maligna, Faktor prognosis, Faktor risiko klinis

¹ Fakultas Kedokteran Universitas Mataram

*e-mail: yasa.asmara@gmail.com

1. Pendahuluan

Penanda biologis (biomarker) adalah suatu zat atau molekul yang memiliki karakteristik mudah diukur dan mudah dievaluasi sebagai indikator proses biologis, proses patogenesis dari suatu penyakit atau proses farmakologis dari suatu terapi.¹ Dalam bidang onkologi, penanda biologis dapat diartikan sebagai molekul atau proses yang mengindikasikan adanya sel kanker di dalam tubuh. Penanda ini dapat berupa molekul yang disekresikan oleh suatu tumor atau berupa respon spesifik tubuh terhadap kanker itu sendiri. Diperkirakan bahwa penanda biologis dapat membantu dalam diagnosis banding berbagai jenis limfoma.² Penanda biologis dapat diukur kadarnya dengan teknik non-invasif dari sampel cairan biologis. Saat ini hanya sedikit penanda biologis yang sensitif dan spesifik terhadap kanker tertentu. Sehingga, penanda biologis belum banyak digunakan sebagai tes rutin terkait dengan sulitnya validasi secara klinis.^{1,3}

Limfoma maligna adalah kanker yang berasal dari sel limfosit abnormal yang berkembang diluar kendali dan dapat menyebar ke sistem limfatik di seluruh tubuh.²⁻⁶ Limfoma dikatakan berkaitan dengan penyakit inflamasi kronis seperti Sindrom Sjogren, penyakit seliak dan artritis reumatoid. Infeksi kronik juga berkaitan dengan patogenesis limfoma dimana terdapat asosiasi antara infeksi *Helicobacter pylori* dengan *MALT lymphoma*, *Human T lymphotropic virus 1* dengan *adult T cell leukemia/lymphoma*, virus *Epstein-Barr* dengan *Burkitt Lymphoma (BL)*, Herpes virus 8 dengan *primary effusion lymphoma* dan hepatitis C dengan *large cell lymphoma*.^{5,6}

Limfoma maligna dibagi menjadi dua grup besar yaitu Limfoma Hodgkin (LH) dan Limfoma Non-Hodgkin (LNH). Secara epidemiologi, LH mengenai 5 dari 100.000 penduduk dengan puncak usia 20-50 tahun. Laki-laki lebih sering terkena daripada perempuan dan insiden pada penduduk kulit putih lebih tinggi dari ras lainnya. LH ditandai oleh adanya sel *Reed-Sternberg (RS)* dan sel Hodgkin mononuklear yang terdapat pada kurang dari 1% massa tumor. Sekitar 80% pasien LH dapat bertahan hidup dalam 5 tahun atau lebih.⁶⁻⁸

Sebaliknya, LNH merupakan penyakit keganasan yang sangat heterogen. Saat ini terdapat lebih dari 30 jenis LNH berdasarkan kriteria WHO yang meliputi sitologi, imunofenotipe, genetik dan gambaran klinis. Terdapat heterogenitas yang sangat tinggi antara subtype satu dengan yang lain.^{3,4,7} Kanker ini memiliki insiden tertinggi kelima di Amerika Serikat, lebih banyak mengenai laki-laki umur 60-70 tahun dan ras kulit putih. Berdasarkan kecepatan pertumbuhannya, LNH ada yang agresif dan ada yang tidak (indolen). Bentuk yang agresif biasanya lebih responsif terhadap kemoterapi. Sekitar 50-80% pasien LNH akan bertahan hidup dalam lima tahun atau lebih.^{2,5}

Suatu penanda biologis dapat digunakan dalam aplikasi klinis bila telah melalui beberapa tahapan yaitu pertama, tes tersebut harus *reliable* dan *reproducible*. Data yang mendukung penggunaan molekul penanda ini harus berasal dari publikasi yang telah ditelaah dengan baik. Kedua, tes biomarker yang dilakukan harus memberikan manfaat baru bagi pasien yang diperiksa dan didukung oleh publikasi yang jelas penting setelah dikaji secara kedokteran berbasis bukti. Tahap terakhir adalah

laboratorium patologi harus terlibat dalam program *quality assurance* untuk menjamin bahwa tes biomarker ini benar dilakukan dengan baik.^{1,9}

Identifikasi dan aplikasi penanda biologi prognosis yang baik dapat membantu menentukan pengobatan yang tepat dan evaluasi luaran pasien dengan akurat. Tujuan pengembangan penanda biologis adalah menggabungkan antara biomarker prognosis dengan faktor risiko klinis sehingga nantinya dapat dikembangkan suatu indeks klinikobiologis kombinasi yang dapat digunakan sebagai alat untuk identifikasi pasien yang akan merespon terhadap terapi konvensional maupun modern.^{2,7,10}

2. Sejarah, Definisi dan Klasifikasi

Diagnosis pasti kanker saat ini masih tergantung pada histopatologi. Penanda tumor yang ideal haruslah suatu protein atau fragmen protein yang mudah dideteksi melalui darah atau urin pasien tetapi tidak dideteksi pada orang sehat. Saat ini telah banyak ditemukan penanda tumor yang memiliki kegunaan untuk deteksi dini atau deteksi kekambuhan penyakit serta memprediksi luaran dari penyakit dengan atau tanpa terapi tertentu.^{9,11} Sejak tahun 1965 telah ditemukan beberapa penanda kanker antara lain *Carcino Embryonic Antigen* (CEA), *Prostat Specific Antigen* (PSA) untuk kanker prostat, CA 19-9 untuk kanker kolorektal dan kanker pankreas, CA 15-3 untuk kanker payudara dan CA-125 untuk kanker ovarium. Biomarker prognosis yang lebih jarang digunakan adalah β -2-microglobulin untuk mieloma dan limfoma. Hanya saja, penanda biologis kanker ini tidak spesifik untuk kanker tertentu. Penggunaan penanda biologis pada manajemen kanker akan membantu dokter dalam setiap tahapan penyakitnya. Penanda biologis dapat membantu diagnosis dini, memprediksi luaran dan meramalkan terjadinya rekurensi. Selain itu penanda biologis dapat digunakan sebagai alat untuk menentukan respon suatu kanker terhadap terapi terbaru.^{1,11}

Berdasarkan *National Institute of Health* (NIH) *Working Group and the Biomarkers Consortium*, biomarker adalah suatu karakteristik yang menyatakan secara objektif dan dapat diukur sebagai indikator proses biologis, proses patogenesis atau respon farmakologis dari suatu intervensi terapi. *NIH Cancer Institute* mendefinisikan biomarker sebagai molekul biologis yang ditemukan di dalam darah, cairan biologis lain atau jaringan sebagai tanda proses normal, abnormal, suatu kondisi atau penyakit.¹ Definisi lain dari biomarker adalah parameter fenotip yang dapat diukur dari karakteristik kondisi sehat atau sakit dari suatu organisme atau respon dari intervensi terapi tertentu. Sedangkan WHO mendefinisikan biomarker sebagai suatu molekul, struktur atau proses yang dapat diukur dari dalam tubuh atau produknya dan dapat mempengaruhi atau memperkirakan suatu luaran atau penyakit.^{1,11}

Faktor prognosis didefinisikan sebagai variabel yang diukur pada pasien untuk membantu menjelaskan adanya perbedaan luaran baik jangka pendek maupun jangka panjang. Prognosis dari seorang pasien kanker di-

pengaruhi oleh interaksi antara sel tumor dan penjamu. Faktor-faktor tersebut meliputi jumlah dari sel tumor (karakteristik pertumbuhannya, resistensi terhadap kemoterapi, kemampuan menghindari imunosurveilans dan resistensi terhadap apoptosis), kemampuan dari penjamu untuk mengeliminasi sel tumor (imunokompeten) dan toleransi pasien terhadap regimen terapi (status performans, suseptibilitas terhadap toksisitas akut atau toksisitas lambat seperti timbulnya keganasan sekunder).^{4,5,7,10,12}

Faktor risiko klinis adalah parameter yang umum digunakan pada terapi limfoma untuk menentukan metode terapi yang berbeda sesuai dengan karakteristik risikonya. Saat ini terdapat faktor risiko klinis untuk Limfoma Maligna yaitu *International Prognostic Index* (IPI), *Follicular Lymphoma International Prognostic Index* (FLIPI) untuk *Follicular Lymphoma* (FL) dan *Mantle Cell Lymphoma International Prognostic Index* (MLIPI) untuk *Mantle Cell Lymphoma*.^{3,5,10,13}

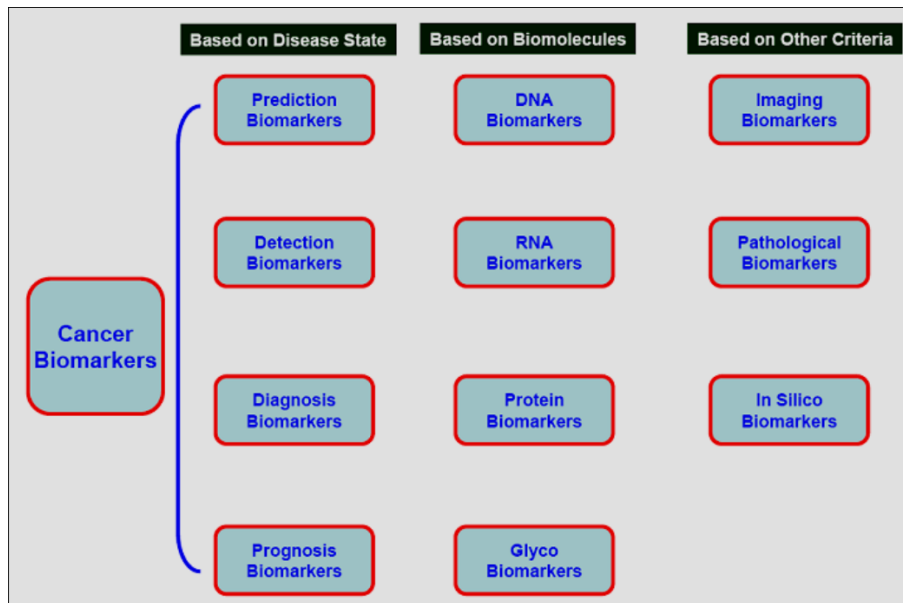
Beberapa usaha telah dilakukan untuk mengklasifikasikan penanda biologis ke dalam beberapa pendekatan. Gambar 1 menunjukkan klasifikasi penanda biologis berdasarkan tahapan penyakit, biomolekul penyusunnya dan kriteria lain. Penting untuk diketahui bahwa pengelompokan ini dapat saling tumpang tindih sebab suatu penanda biologis dapat berfungsi sebagai alat penapisan, prediktor, *grading* atau *staging*.^{1,14} Berdasarkan biomolekulnya, penanda biologis dibedakan menjadi DNA, RNA atau protein. Penanda DNA lebih baik dibandingkan RNA atau protein terutama dengan jumlah basa < 300 pasang.¹⁵

3. Penanda Biologis Limfoma Maligna

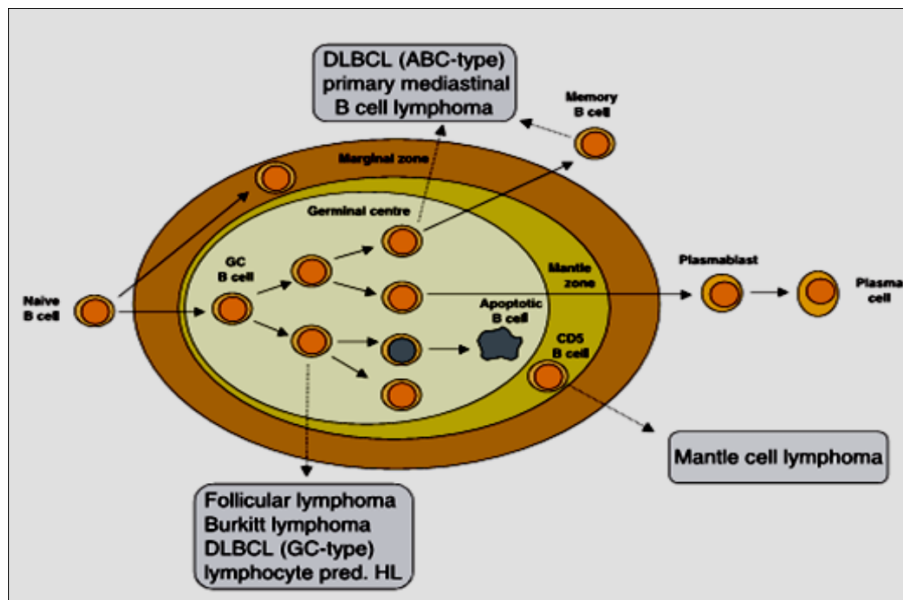
Berikut akan disampaikan penanda biologis, faktor risiko klinis dan prognosis serta keterkaitannya untuk dua kelompok besar Limfoma Maligna yaitu LH dan LNH. Oleh karena begitu beragamnya jenis LNH maka hanya beberapa jenis LNH saja yang akan disampaikan pada tulisan ini yaitu *Difusse Large B-Cell Lymphoma*, *Follicular Lymphoma*, *Mantle Cell Lymphoma* dan *Burkitt Lymphoma*.

4. Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL)

Limfoma ini merupakan jenis LNH yang paling sering yaitu 30% dari semua kasus yang didiagnosis dan 80% dari limfoma yang agresif. Regimen *Cyclophosphamide*, *Doxorubicin*, *Vinkristin*, *Prednison* (CHOP) merupakan kemoterapi utama untuk DLBCL selama beberapa dekade.⁷ LNH yang diklasifikasikan ke dalam jenis agresif oleh *Revised European American Classification* (REAL) adalah DLBCL, *anaplastic large cell lymphoma* dan *peripheral T-cell lymphomas* dan *Burkitt Lymphoma*. Limfoma jenis ini memiliki harapan hidup jangka panjang < 20%.^{4,13} Limfoma yang agresif tersusun oleh



Gambar 1. Klasifikasi penanda biologis¹



Gambar 2. Asal Limfoma Maligna tipe sel B¹³

sel yang lebih besar dari sel limfosit normal yang bersirkulasi, memiliki kemampuan proliferasi yang tinggi dan menyerupai stadium proliferasi dari *antigen-dependent B- or T-cell differentiation*. Sebagian besar limfoma yang agresif muncul *de-novo* walaupun dapat pula berasal dari limfoma tingkat rendah yang sudah ada.¹⁶ DLBCL dibagi menjadi dua grup besar secara molekuler yaitu *Germinal Centre B-cell (GCB)* dan *Activated B-cell (ABC)*. Kedua jenis ini berbeda dalam hal rata-rata lama harapan hidup 5 tahun dimana GCB 60% dan ABC 35%.^{3,7,14}

Genom dari LNH dikaitkan dengan abnormalitas kromosom khususnya translokasi, delesi dan mutasi. Pada tingkat molekuler, translokasi kromosom menghasilkan aktivasi protoonkogen, delesi kromosom dan mutasi yang menghasilkan inaktivasi *tumor suppressor gene*. Beberapa perubahan molekuler yang berkaitan

dengan penyakit ini adalah translokasi kromosom yang melibatkan lokus imunoglobulin sehingga menyebabkan deregulasi beberapa protoonkogen seperti c-MYC, BCL2 dan BCL6.^{3,4,16,17} Perubahan genetik yang paling sering muncul pada DLBCL adalah perubahan gen BCL6 yang terletak pada kromosom 3q27 yang terlihat pada 30-40% kasus. BCL6 merupakan regulator utama perkembangan germinal senter yang normal. Fungsi utama dari BCL6 adalah menekan respon sel B terhadap stress dengan cara mengontrol transkripsi negatif gen p53, MIZ1 dan p21. DLBCL dengan ekskresi BCL6 yang berlebihan dapat mengganggu proses apoptosis dan respon kerusakan DNA.^{3,7,18} BCL2 adalah protein anti apoptosis yang letaknya di dalam membran mitokondria bagian dalam. BCL2 diekspresikan pada 40-70% DLBCL, sedangkan translokasi t(14;18)(q32;q31) terdapat pada 20% kasus dan translokasi MYC t(8;14) pada 6%

Tabel 1. Perbedaan dua tipe DLBCL yaitu GCB dan ABC¹³

	Germinal Centre B-cell like (GCB) (DLBCL)	Activated Centre B-cell like (ABC) (DLBCL)
Asal sel	Germinal Centre B-cell	Postgerminal Centre B-cell
Mutasi Ig	Ya	Tidak
Mekanisme onkogenik	Translokasi BCL2 (45%) Amplifikasi lokus REL pada kromosom 2p (16%)	Overekspresi BCL2 transkripsional Aktivasi konsitutif NF-KB Adanya gain kromosom 3q
Sinyal intraselular	CD10 ⁺ BCL6 ⁺ cAMP memodulasi AKT dan BAD Induksi IL4: Peningkatan akumulasi STAT6 nukleus Ekspresi gen Proliferasi	PDE4B menonaktifkan cAMP Induksi IL4: Penurunan akumulasi STAT6 nukleus Aktivasi AKT Penghentian siklus sel G0/G1
Outcome klinis	5-year survival 60%	5-year survival 35%

kasus.^{10,12} Penanda molekuler prognosis dari DLBCL dapat dilihat pada tabel 2. Protein P53 adalah faktor transkripsi yang menginduksi ekspresi gen yang terlibat dalam penghentian siklus sel atau respon apoptosis terhadap stimulan zat toksik atau onkogen. Mutasi pada TP53 DNA-binding domain merupakan prediktor yang kuat terhadap harapan hidup yang jelek pada pasien DLBCL.^{10,12,16} Molekul lain yang diduga berkaitan dengan prognosis adalah gen MDR. Gen ini mengkode protein transmembran (Pgp) yang berfungsi sebagai drug efflux pump. Limfoma dengan ekspresi Pgp berlebihan akan memudahkan terjadinya resistensi obat. Sehingga, ekspresi MDR berkaitan dengan resisten kemoterapi dan luaran yang buruk.¹⁶

Penanda klinis yang berkaitan dengan prognosis buruk dari DLBCL meliputi status performans yang jelek saat diagnosis *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG) ≥ 2 , stadium tumor yang lanjut (Ann Arbor stadium III-IV), LDH yang tinggi dan adanya keterlibatan satu kelenjar ektranodal. Faktor prognosis yang penting adalah umur pasien karena hal tersebut berhubungan dengan kemampuan pasien dalam mentoleransi kemoterapi. Semua faktor diatas merupakan komponen IPI (Tabel 3). IPI dapat digunakan untuk membedakan risiko rendah (IPI 0-1), rendah-sedang (IPI 2), sedang-tinggi (IPI 3) dan sangat tinggi (IPI 4-5).^{4,5,13}

5. Burkitt Lymphoma (BL)

Secara epidemiologi terdapat 3 bentuk BL yaitu endemik, sporadik dan imunodefisiensi yang berkaitan dengan HIV. Fenotip klasik dari BL adalah *pan-B-cell marker*, CD10, BCL6, CD38, CD77 dan CD43 dengan 100% positif terhadap pengecatan penanda MIB1/Ki-67. Tumor jenis ini hampir selalu CD5, BCL2, CD23, CD138 dan TdT negatif.¹⁸ BL dengan translokasi gen MYC memiliki prognosis yang jauh lebih buruk dibandingkan dengan yang tidak. Terdapat perbedaan ekspresi gen antara BL dan DLBCL. Membedakan kedua jenis limfoma ini penting oleh karena terapinya yang

berbeda pada kelompok usia yang berbeda. Terapi BL dan DLBCL pada populasi dewasa berbeda sedangkan pada populasi anak sama. Studi pemetaan molekuler menunjukkan bahwa sebagian besar DLBCL pada anak berasal dari tipe GCB sedangkan pada dewasa berasal dari ABC. GCB memiliki prognosis yang lebih baik.¹⁸

6. Follicular Lymphoma (FL)

Follicular Lymphoma adalah limfoma tersering kedua setelah DLBCL yaitu sekitar 22% dari seluruh kasus LNH dan 70% dari semua kasus limfoma indolen.⁷ Sebagian besar pasien didiagnosis pada stadium lanjut sehingga biasanya tidak berespon baik dengan kemoterapi konvensional. FL memiliki harapan hidup sekitar 8-10 tahun. Penggunaan imunokemoterapi dapat menurunkan angka kematian FL 4 tahun pertama namun relaps masih tetap muncul. Laju transformasi dari FL adalah 2% pasien per tahun dan kelompok ini berhubungan dengan prognosis yang buruk.^{7,10,13}

Faktor risiko klinis dari FL bisa dinilai dengan skor FLIPI. Skor ini merupakan modifikasi dari skor IPI yang terdiri dari umur > 60 tahun, stadium Ann Arbor III-IV, Hb < 12g/dl, LDH yang meningkat dan keterlibatan > 4 kelenjar. Pada era imunoterapi saat ini, skor FLIPI masih memiliki kegunaan. Hanya saja skor ini gagal mengidentifikasi kelompok pasien stadium I dan II atau *bulky diseases* yang sebenarnya memenuhi syarat untuk terapi.^{5,7,13} Limfoma jenis ini merupakan neoplasma sel B tipe GCB yang biasanya mengekspresikan CD10 (82%) dan atau BCL6. Sekitar 80-90% pasien FL menunjukkan translokasi kromosom t(14;18)(q32;21) sehingga mengakibatkan fusi gen IGH-BCL2.^{7,13} Selain itu, 90% dari FL mengekspresikan CD20 pada permukaannya.¹⁰ Makrofag dan limfosit yang berproliferasi banyak terdapat pada *dark zone germinal centre* dan jumlah sel ini memiliki nilai prognostik pada FL yaitu bila jumlah makrofag <15/lp maka OSnya 16,3 tahun sedangkan bila jumlah makrofag >15/lp, OSnya hanya 5 tahun. Aktivasi sel CD4 intrafolikel dan kerusakan

Tabel 2. Penanda molekuler prognosis DLBCL⁷

Prognostic Marker	Effect on Outcome	Mechanism
Bcl-2	Unfavorable	Anti-apoptosis
Bcl-6	Favorable	Transcriptional repressor
CD-10	Favorable?	Neutral endopeptidase
CD-5	Unfavorable?	B-cell differentiation
HGAL	Favorable	Geminal center phenotype
FOXP 1	Unfavorable	Transcription factor
MUM 1	Unfavorable	Transcription factor
Mutation p53	Unfavorable	Cell cycle regulation
Cyclin D2/D3	Unfavorable	Cell cycle regulation
Skp2	Unfavorable	Cell cycle progression
Survivin	Unfavorable	Anti-apoptosis
PKC-β	Unfavorable	B-cell signaling
CD-21	Favorable	B-cell differentiation
low	Unfavorable	Lymphocyte trafficking
ICAM-1		
sICAM-1	Unfavorable	Lymphocyte trafficking
Endostatin	Unfavorable	Angiogenesis
sVEGF	Unfavorable	Angiogenesis
MMP-9	Unfavorable	Promotes metastases
Caspase 8 inhibition	Favorable	Apoptosis signaling
Caspase 9 inhibition	Unfavorable	Apoptosis signaling
nm23-H1	Unfavorable	B-cell differentiation
sIL-10	Unfavorable	Immune response regulator
loss MHC class II	Unfavorable	Immune surveillance
GCB versus ABC	Variable	Molecular subtype

jaringan makrofag juga berkaitan dengan transformasi FL yang lebih cepat.^{3,18} Imunohistokimia merupakan alat diagnosis yang akurat untuk FL. Beberapa studi menunjukkan hubungan antara ekspresi beberapa protein dengan luaran klinis. Kadar ekspresi MIB-1 (Ki-67) merupakan penanda proliferasi dan berkaitan dengan gradasi FL walaupun nilai prognosinya kecil.⁷

Kombinasi pengaruh genetik dan lingkungan mikro mempengaruhi kecepatan perkembangan kanker, OS dan risiko transformasi dari FL. Genetik mempengaruhi prognosis FL melalui kelainan pada 2 jalur yaitu gen yang berkaitan dengan fungsi regulasi imunologis dan gen yang berhubungan dengan perbaikan DNA. Terdapat empat genotipe yang mempengaruhi OS dari FL yaitu IL8, IL2, IL12B dan IL1RN. FL yang tidak menunjukkan translokasi t(14;18) disertai rendahnya ekspresi CD10 dan BCL2 terbukti memiliki derajat histologi

Tabel 3. *International Prognostic Factor Index* untuk LNH^{4,5,16,17}

Faktor	Prognosis Buruk
Umur	>60 tahun
Stadium Ann Arbor	III atau IV
Kadar serum LDH	Meningkat di atas normal
Jumlah Keterlibatan Kelenjar Ekstranodal	≥2
Status Performans	ECOG PS ≥2 atau setara

Tabel 4. *Follicular Lymphoma International Prognostic Index*^{5,7,13}

Faktor	Prognosis Buruk
Umur	>60 tahun
Stadium Ann Arbor	III atau IV
Kadar Hemoglobin	<12 g/dL
Jumlah Keterlibatan Kelenjar	>4
Kadar serum LDH	Meningkat di atas normal

yang lebih tinggi. Kelainan genetik seperti hilangnya gen p53, p16/p14ARF dan gen MYC mungkin merupakan mekanisme yang mendasari terjadinya transformasi FL ke bentuk yang lebih progresif.^{10,18}

7. Mantle Cell Lymphoma (MCL)

Secara klinis, limfoma ini memiliki sifat yang agresif dan sering kambuh dengan lama harapan hidup 3-4 tahun. Perjalanan klinisnya sangat bervariasi dan beberapa dapat bertahan hidup tanpa terapi. Sebagian besar MCL didiagnosis pada stadium III dan IV. CHOP-21 masih merupakan terapi standar untuk MCL stadium lanjut. Terapi antibodi dengan rituximab dapat meningkatkan respon terapi pada 2 uji klinik.^{13,18} Pada suatu studi multivariat, umur, status performans ECOG, serum LDH dan jumlah leukosit diidentifikasi sebagai prediktor yang independen. Berdasarkan dengan hal ini maka disusunlah suatu skor *Mantle Cell Lymphoma International Prognostic Index* (MIPI) yang menggunakan unsur status performans, umur, LDH, jumlah leukosit dan indeks pengecatan imunohistokimia Ki-67.¹⁸ Limfoma jenis ini adalah limfoma yang mengalami translokasi t(11;14) (q13;q32). MCL adalah limfoma dengan kelainan kromosom terbanyak. Inisiasi terjadinya MCL diawali oleh translokasi ini yang menyebabkan overekspresi *cyclin D1 gene* (CCND1) pada 11q13 terhadap imunoglobulin rantai berat (IgH) gene locus (IGH@) pada 14q32. Disamping CCND1, evolusi penyakit MCL membutuhkan beberapa faktor diluar cyclin. Selain itu, pemeriksaan PCR terhadap CCND1 yang kuantitatif dapat memprediksi progresifitas penyakit setelah transplantasi sel punca dosis tinggi. Suatu penelitian menunjukkan bah-

Tabel 5. Penanda molekuler prognosis *Follicular Lymphoma*⁷

Prognostic Marker	Effect on Outcome	Mechanism
Chromosomal gains +7, +12q13-14, +18q	Unfavorable	Dominant oncogenes
Chromosomal losses Del6q, -9p21, -17p13	Unfavorable	Loss tumor suppressor gene
BCL-6 translocation	Unfavorable	Genomic instability
Bcl-2 expression	Unfavorable	Anti-apoptotic
Bcl-6 expression	Favorable	Germinal center phenotype
CD10 expression	Favorable	Germinal center phenotype
PU.1	Favorable	Germinal center phenotype
Macrophage content	Unfavorable	Modulation by micro-environment
MDM2 expression	Unfavorable	Functional p53 loss
Bcl-X ₁	Unfavorable	Anti-apoptotic
Cydin B1	Favorable	Cell cycle progression
Immune response (IR-1 versus IR-2)	Variable	Modulation by micro-environment
81-gene predictor	Variable	Reflect tumor behavior

wa MCL yang progresif memiliki kelainan pada regulasi siklus sel dan jalur penuaan seperti ARF/MDM2/p53 dan p16INK4a/CDK4. Indeks Ki-67 juga berkorelasi dengan prognosis sangat signifikan.^{9,13,18}

8. Faktor prognosis Limfoma Non-Hodgkin yang agresif

8.1 Parameter yang berkaitan dengan pasien

Umur yang semakin bertambah berhubungan dengan lama harapan hidup yang lebih pendek. Limfoma yang terkait dengan infeksi HIV cenderung memiliki simptom B yang lebih dominan, stadium penyakit yang lebih lanjut dan keterlibatan banyak ektranodal. Median harapan hidup limfoma terkait HIV kurang dari setahun dan faktor prognosis buruk bila jumlah CD4 <100/μL, status performa/*Performance Status* (PS) >1, tipe *large cell lymphoma*, adanya manifestasi AIDS sebelumnya,

Tabel 6. Penanda prognosis buruk *Mantle Cell Lymphoma* (13)

Marker	Function	Significance (P)
Histology Morphological variants		0-0057
Molecular Ki-67	Proliferasi	<0-0001
<i>CCND1</i>	Cell cycle regulator	0-0001
<i>CDC2, ASPM, tubulin α, CENPF</i>	Cell cycle regulator	2-67 x 10 ⁻⁸
<i>CCND1</i>	Cell cycle regulator	0-0001
<i>CDKN2A</i> deletion	Cell cycle regulator	4-88 x 10 ⁻⁴

peningkatan LDH dan umur diatas 40 tahun.^{10,16}

8.2 Parameter yang berkaitan dengan respon penjamu terhadap tumor

Pasien LNH dengan simptom B memiliki respon yang lebih rendah terhadap kemoterapi dan harapan hidup yang lebih pendek. PS adalah kemampuan fungsional dari pasien yang merupakan indikator bagaimana pasien berespon terhadap penyakitnya dan berkaitan dengan parameter umur, simptom B, beban tumor dan penyakit komorbid lain. PS ≥ 2 untuk ECOG merupakan indikator toleransi yang buruk terhadap penyakitnya dan faktor prognosis yang jelek. LED > 50 mm/jam berhubungan dengan respon komplrit yang lebih rendah dan harapan hidup yang lebih pendek pada pasien dengan limfoma agresif. Kadar albumin < 3,5g/ml berkaitan dengan respon komplrit yang lebih jelek. Pasien limfoma yang baru terdiagnosis dengan kadar Hb < 12g/dl memiliki kemungkinan meninggal yang lebih tinggi dan respon komplrit terapi yang lebih jelek.^{2,4,16}

Interleukin 6 (IL-6) adalah sitokin yang diproduksi oleh banyak tipe sel baik sel B dan sel T. IL-6 yang meningkat berkaitan dengan adanya simptom B, peningkatan kadar *β-2-microglobulin*, PS yang buruk, kadar albumin yang rendah dan peningkatan LED. Pasien dengan kadar IL-6 yang meningkat memiliki *relapse-free* dan *overall survival* (OS) yang buruk.^{16,19} IL-10 adalah sitokin yang diproduksi oleh monosit, makrofag, sel B dan sel T. Sitokin ini memiliki efek immunosupresi, hambatan aktivitas makrofag, aktivasi antigen spesifik sel T dan produksi IFN-γ dari sel NK. Pasien yang memiliki kadar IL-10 yang tinggi memiliki OS yang lebih pendek.^{2,20}

Peningkatan kadar TNF-α dan reseptornya pada pasien dengan limfoma yang agresif berkaitan dengan faktor prognosis yang lain seperti peningkatan LDH, *β-2-microglobulin*, Hb < 12 g/dl, stadium penyakit III-IV,

bulky tumor, PS yang buruk, simptom B, albumin < 3,5 g/dl dan *relapse-free* serta OS yang jelek. TNF- α dan IL-6 dapat menyebabkan penurunan berat badan dan demam. IL-6 merupakan penginduksi sintesis fibrinogen hati, penentu utama LED dan penghambat produksi albumin hati sehingga terjadi hipoalbuminemia. Anemia pada pasien LNH tanpa adanya infiltrasi sumsum tulang juga diakibatkan oleh produksi TNF- α .¹⁹

β -2-microglobulin adalah protein serum kecil ekstraseluler yang secara non-kovalen berkaitan dengan rantai alfa gen MHC klas I. Shipp menunjukkan bahwa peningkatan serum β -2-microglobulin berkaitan dengan beban tumor yang besar dan harapan hidup yang lebih pendek.^{16,20} *Studi the Groupe d'Etude de Lymphome d'Adultes (GELA)* menunjukkan bahwa kadar β -2 microglobulin lebih dari 3mg/l dan pembesaran kelenjar getah bening ekstranodal yang lebih banyak merupakan faktor prognosis negatif.^{7,10,1}

8.3 Faktor yang berkaitan dengan tumor dan potensi invasifnya

Stadium berdasarkan Ann Arbor selalu berkaitan dengan luaran, dimana stadium III dan IV memiliki harapan hidup dan respon komplit yang lebih jelek. Jumlah keterlibatan ekstranodal merujuk pada kemampuan penyakit tersebut untuk bermetastase. Pasien *large cell lymphoma* dengan infiltrasi *small cell lymphoma* ke dalam sumsum tulang memiliki risiko untuk kambuh lebih tinggi dibandingkan dengan infiltrasi *large cell lymphoma*. Tumor dengan ukuran >10cm berkaitan dengan respon yang lebih jelek terhadap terapi dan harapan hidup lebih pendek. Pada penyakit limfoproliferaif, LDH merupakan penanda peningkatan turnover cell dan berkorelasi dengan beban tumor. Peningkatan LDH telah dikenali sebagai faktor penting yang mempengaruhi tingkat respon komplit, *relapse-free* dan OS.¹² Fenotipe sel juga berkaitan dengan prognosis. Fenotip T berkaitan dengan harapan hidup dan respon komplit yang lebih jelek, setidaknya pada pasien dengan stadium IV. Fenotip ini juga berkaitan dengan stadium yang lebih lanjut, simptom B, PS yang lebih jelek dan adanya keterlibatan ekstranodal.^{16,20}

Proliferasi dari sel tumor bisa diukur dengan menggunakan alat flositometri DNA, *tritiated thymidine uptake* atau dengan proliferasi nuklear dari antigen Ki-67. Presentasi jumlah sel Ki-67 berkorelasi dengan harapan hidup dimana bila jumlah sel Ki-67 >60% harapan hidupnya hanya 8 bulan sedangkan sel Ki-67 <60% bisa sampai 39 bulan.¹² Reseptor *homing* limfosit CD44 memfasilitasi ikatan antara limfosit dengan vena endotel dan ekstrasvasi limfosit ke daerah nodal. Ekspresi CD44 berkaitan dengan limfoma yang agresif. Sekitar 51% pasien dengan limfoma mengekspresikan CD44 pada permukaannya terutama pada stadium III-IV. Pasien dengan ekspresi CD44 yang tinggi memiliki respon dan OS yang lebih buruk.^{3,16,20} *Lymphocyte Function-associated Antigen* (LFA-1 atau CD11a/18) berperan dalam adhesi dan migrasi limfosit. Pada suatu studi kecil dikatakan bahwa hilangnya gen LFA-1 berkaitan dengan harapan hidup yang lebih pendek.²⁰ CD-34 adalah

sialoglikoprotein yang memiliki multifungsi yaitu migrasi sel, apoptosis dan pertahanan hidup sel. Molekul ini diekspresikan oleh sel T, sel mieloid dan beberapa subset sel B. Molekul ini secara abnormal diekspresikan oleh sel limfoma sehingga telah digunakan dalam panel diagnosis *small B-cell lymphoma*, *T-cell lymphomas* dan *myeloid sarcoma*.^{15,18}

9. Limfoma Hodgkin (LH)

Limfoma Hodgkin dibagi menjadi 2 sub tipe yaitu tipe klasik dan *nodular lymphocyte predominant*.^{6,8} Secara patogenesis molekuler, 40% kasus LH memiliki ekspresi gen EBV. Dalam sepuluh tahun terakhir, telah diteliti banyak faktor prognosis yang mempengaruhi LH antara lain CD30. Molekul ini merupakan famili TNF- α yang diekspresikan pada sel Hodgkin dan sel RS. Interaksi antara CD30 dan ligandnya memegang peranan penting dalam pertumbuhan sel RS, berkorelasi dengan jumlah sel RS dan selanjutnya dapat memprediksi luaran klinis.²¹ CD30 berkaitan dengan stadium dan beban tumor. IL-10 adalah satu dari banyak sitokin yang diproduksi oleh sel RS dan mampu menghambat proliferasi Th1 sehingga sitokin ini dapat digunakan sebagai penanda prognosis pada LH stadium lanjut. IL-10 terutama berkaitan dengan limfoma maligna yang dicetuskan oleh infeksi EBV.^{8,12}

Penanda biologis baru dari LH meliputi Gal1, PD-1, CD44, MIF, ALCAM, IL1R2, IP-10 dan RANTES. Gal1 yaitu suatu molekul karbohidrat *binding lectin* sebagai biomarker baru LH yang mungkin memiliki nilai prognosis. Gal1 teridentifikasi sebagai molekul dalam profil genom LH dan DLBCL. Studi imunohistokimia menunjukkan ekspresi Gal1 pada sel RS yang berkaitan dengan penurunan infiltrasi sel T pada LH. Molekul lain yaitu PD-1 yang merupakan anggota superfamili reseptor kostimulator CD28. PD-1 diekspresikan pada sel Hodgkin dan sel RS. Jalur yang mengaktifasi PD-1 menyebabkan terjadinya kelelahan sel T, penurunan imunitas seluler pada LH dan mungkin sebagai target untuk meningkatkan imunitas sel T pada penyakit ini. Molekul lain yang mungkin memiliki harapan adalah fractalkine, MIF dan CD150. Penanda laboratorium sederhana yang digunakan yaitu adanya leukositopenia yang berkaitan dengan OS yang lebih baik.^{16,18}

Kemokin adalah kemoatraktan sitokin yang meregulasi migrasi leukosit yang selektif dan mungkin ikut ambil bagian pada pembentukan dan pertahanan infiltrat yang reaktif dari LH. Kemokin dibedakan menjadi 4 subfamili berdasarkan 2 dari 4 residu sistein dari struktur asam aminonya yaitu CXC, CC, C dan CX3C. Sel RS dan sel lain yang reaktif dalam infiltrat memproduksi kemokin ini. Terdapat beberapa penelitian yang menunjukkan hubungan antara kadar kemokin dengan prognosis dan aktivitas penyakit dari LH.¹⁰

Molekul adhesi yang berasal dari gen imunoglobulin superfamili seperti VCAM-1 dan ICAM-1 membantu sel RS untuk menghindari sistem imunitas dengan cara menghambat fungsi dari reseptor ligannya. Penanda lain

yang diteliti adalah sCD25 dan caspase-3. sCD25 adalah suatu soluble reseptor IL-2 yang berkorelasi dengan stadium klinis dan prognosis. Caspase-3 merupakan molekul yang terlibat dalam jalur kaskade apoptosis. Kadar caspase-3 yang tinggi pada permukaan sel RS memiliki prognosis yang baik. LMP-1, suatu protein yang mengkode virus EBV juga berinteraksi dengan jalur apoptosis. Beberapa studi menunjukkan bahwa ekspresi LMP-1 dapat mempengaruhi prognosis LH.^{12,21}

10. Targeted Therapy Limfoma Maligna

Perkembangan imunokemoterapi pada limfoma maligna berkembang dengan pesat. Saat ini sangat dibutuhkan adanya penanda biologis pasien dengan risiko tinggi untuk relapse atau progresif disamping faktor prediktor untuk timbulnya toksisitas yang berkaitan dengan pengobatan. Penanda biologis terapi yang sedang dikembangkan berasal dari molekul membran permukaan dan molekul yang mengatur regulasi siklus sel atau jalur apoptosis.

Beberapa target molekul yang terdapat pada permukaan sel B selain CD-20 telah menjadi sasaran baru terapi.²² Epratuzumab adalah *humanised antibody monoklonal IgG1* yang menarget antigen CD22 yang diekspresikan pada pre-B cells, sel B normal, sel B dewasa dan pada sekitar 85% dari DLBCL. CMC-544 adalah obat baru golongan *calicheamin-conjugated* CD22 yang kurang menyebabkan trombositopenia. Ada juga antibodi anti-CD20/CD22 yang bispesifik dan sedang dalam tahap uji klinis. CD40 merupakan anggota reseptor *tumor necrosis factor* yang banyak diekspresikan pada permukaan sel B. SGN-40 adalah agonis CD40 *humanised* yang tidak memblokir ikatan ligan dari CD40 dengan CD40. SGN-40 sedang diujikan untuk limfoma yang agresif. HCD122 adalah antibodi manusia yang menghambat anti-CD40. Galiximab adalah obat yang menghambat jalur CD80/28 dan menurunkan proliferasi tumor, menurunkan ADCC serta apoptosis dari FL. Antibodi CD19 juga sedang dalam pengembangan.^{13,22}

Penanda biologis baru untuk terapi juga menarget molekul yang mengatur regulasi siklus sel atau jalur apoptosis. *Antisense deoksiribonukleotida* dengan aplikasi *Suberoylanilide Hydroxamic Acid* (SAHA) secara selektif mampu menghambat CCND1. Terdapat dua jenis obat *direct cell cycle inhibitor* yang sedang diteliti yaitu seliciclib yang bersifat selektif dan flavopiridol yang bersifat non-selektif. Obat lain yang juga sedang dikembangkan adalah proteasome inhibitor seperti bortezomib, mTOR inhibitor seperti temsirolimus dan lenalidomide yang memiliki efek sitotoksik langsung dan imunomodulator serta minim efek samping pada terapi limfoma yang agresif.^{13,22}

11. Ringkasan

Penanda biologis selayaknya mudah diukur dan mudah dievaluasi sebagai indikator proses biologis, proses patogenesis dari suatu penyakit atau proses farmakologis dari suatu terapi. Penanda biologis dapat membantu dalam studi epidemiologi, diagnosis, uji klinik maupun prognosis suatu keganasan. Saat ini hanya sedikit penanda biologis yang sensitif dan spesifik terhadap kanker tertentu. Prognosis dari seorang pasien kanker dipengaruhi oleh interaksi antara sel tumor dan penjamu. Faktor-faktor tersebut meliputi jumlah dari sel tumor, kemampuan dari penjamu untuk mengeliminasi sel tumor (imunokompeten) dan toleransi pasien terhadap regimen terapi. Limfoma maligna dapat dibedakan menjadi LNH dan LH atau agresif dan indolen. Masing-masing jenis limfoma tersebut memiliki penanda biologis, faktor risiko klinis dan prognosis yang berbeda-beda dan saling berkaitan serta tumpang tindih. Sebagian besar penanda biologis memiliki nilai prognosis tetapi ada juga yang berhubungan dengan terapi. Sejak ditemukannya antibodi anti CD20 sebagai imunoterapi limfoma maligna, banyak molekul telah dikembangkan sebagai penanda biologis terapi terbaru. Identifikasi dan aplikasi penanda biologis prognosis yang baik nantinya dapat membantu menentukan pengobatan yang tepat dan evaluasi luaran pasien dengan akurat.

Daftar Pustaka

1. Mishra A, Verma M. Cancer biomarkers: are we ready for the prime time? *Cancers*. 2010;2(1):190–208.
2. Sathiyam M, Muthuchelian K. Significance of immunologic markers in the diagnosis of lymphoma. *Academic Journal of Cancer Research*. 2009;2(1):40–50.
3. Rosenwald A, Staudt LM, Duyster JG, Morris SW. Molecular aspects of non-hodgkin lymphomagenesis. In: *Wintrobe's clinical hematology*. 11th ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins, A Wolters Kluwer Company; 2003. p. 263–273.
4. Larouche JF, Coiffier B. Non-Hodgkin's Lymphoma. In: *Textbook of Medical Oncology*. 4th. London: Informa; 2009. p. 236–262.
5. Ansell SM, Armitage J. Non-Hodgkin lymphoma: diagnosis and treatment. *Mayo Clin Proc*. 2005;80(8):1087–1097.
6. Horning SJ. Hodgkin Lymphoma. In: *Textbook of Medical Oncology*. 4th. London: Informa; 2009. p. 263–273.
7. Sehn LH. Optimal use of prognostic factors in Non-Hodgkin lymphoma. *Hematology*. 2006;1:298–302.
8. Kuppers R, Engert A, Hansmann M. Hodgkin lymphoma. *J Clin Invest*. 2012;122(10):3439–3447.

9. Van Krieken JHJM, Jansen C, Hebeda KM, Groenen PJTA. Biomarkers as disease definition: Mantle cell lymphoma as an example. *Proteomics Clin Appl*. 2010;4:922–925.
10. Gascoyne RD, Rosenwald A, Poppema S, Lenz G. Prognostic biomarkers in malignant lymphomas. *Leukemia and Lymphoma*. 2010;51(S1):11–19.
11. Chatterjee SK, Zetter BR. Cancer biomarkers: knowing the present and predicting the future. *Future Oncology*. 2005;1(1):37–50.
12. Zander T WJ Wiedenmann S. Prognostic factors in hodgkin's lymphoma. *Annals of Oncology*. 2002;13:67–74.
13. Gleissner B, Kuppers R, Siebert R, Glass B, Trumper, Hiddemann W. Report of a workshop on malignant lymphoma: a review of molecular and clinical risk profiling. *British Journal of Haematology*. 2008;142:166–178.
14. Strauchen JA. Immunophenotypic and molecular studies in the diagnosis and classification of malignant lymphoma. *Cancer Investigation*. 2004;22(1):138–148.
15. Hsi ED. The role of biomarkers in the management of patients with lymphoma: promise versus reality. *Clinical Lymphoma and Myeloma*. 2009;9(2):121–123.
16. Nicolaides C, Dimou S, Pavlidis N. Prognostic factors in aggressive non-hodgkin's lymphoma. *The Oncologist*. 1998;3:189–197.
17. Wu G, Keating A. Biomarkers of potential prognostic significance in diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer*. 2006;106(2):247–257.
18. Hagenbeek A, Gascoyne RD, Dreyling M, Kluin P, Engert A, Salles G. Biomarkers and prognosis in malignant lymphomas. *Clinical Lymphoma and Myeloma*. 2009;9(2):160–166.
19. Vendrame E, Martinez-Maza O. Assessment of pre-diagnosis biomarkers of immune activation and inflammation – insights on the etiology of lymphoma. *J Proteome Res*. 2011;10(1):113–119.
20. Shipp MA. Prognostic factors in aggressive non-hodgkin's lymphoma: who has “high-risk” disease? *Blood*. 1994;83(5):1165–1173.
21. Sanchez-Espiridion B, Garcia JF, Sanchez-Beato M. *Advances in Classical Hodgkin Lymphoma Biology: new prognostic factors and outcome prediction using gene expression signatures*. MD Anderson Cancer Center, Madrid: Espana. 2013; Available from: <http://www.mdanderson.es>.
22. Press OW, Leonard JP, Coiffier B, Levy R, Timmerman J. Immunotherapy of Non-Hodgkin's lymphomas. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2001;p. 221–240.