

## Aplikasi Metode *Whole Chromosome Painting* untuk Mendeteksi Aberasi Kromosom pada Tumor Padat

Ecie Budiyaniti,<sup>1,2</sup> Des Suryani,<sup>2,3</sup> Jeanne Adiwinata Pawitan<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Departemen Histologi FK Unika Atmajaya.

<sup>2</sup> Program Magister Biomedik FKUI

<sup>3</sup>Departemen Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah, Sumatera Utara

<sup>4</sup> Departemen Histologi FKUI

### ABSTRAK

Deteksi aberasi kromosom pada tumor padat umumnya tidak dapat dilakukan menggunakan pemeriksaan sitogenetika yang umum dilakukan, karena sulitnya mendapatkan metafase yang berkualitas dari tumor padat. Karena itu, teknik khusus diperlukan untuk mendapatkan kariotip tumor padat.

*Whole chromosome painting* (WCP) adalah teknik mewarnai kromosom menggunakan teknik *Fluorescence In Situ Hybridization* (FISH). Aplikasi WCP baik dengan satu warna ataupun banyak warna (mFISH atau SKY) ataupun modifikasinya dapat digunakan untuk mengidentifikasi kelainan genetik pada tumor padat dan berguna dalam menegakkan diagnosis, menentukan prognosis, membantu dalam penatalaksanaan, dan meramalkan respons terhadap terapi.

**Kata kunci:** aberasi kromosom, FISH, tumor padat, *whole chromosome painting*.

### ABSTRACT

In solid tumor, conventional cytogenetic method usually fails to detect chromosomal aberration due to failure in obtaining good quality metaphases. Therefore, special technique is required to get the karyotype of solid tumors.

Whole chromosome painting (WCP) is a method to paint the chromosomes using Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) technique. Application of WCP, both using one and multiple colors (mFISH or SKY) or their modifications can be used to identify chromosomal aberrations, which are valuable in helping to attain a diagnosis, to determine the prognosis and management, and to predict the response to therapy.

**Key words:** chromosomal aberration, FISH, solid tumor, whole chromosome painting.

**PENDAHULUAN**

Mendeteksi aberasi kromosom pada berbagai penyakit genetik dan berbagai keganasan darah (leukemia) relatif mudah, karena kariotipe dapat diperoleh dari biakan darah tepi yang umumnya menghasilkan metafase yang cukup berkualitas. Akan tetapi, mendeteksi aberasi kromosom pada tumor padat umumnya tidak dapat dilakukan menggunakan pemeriksaan sitogenetika yang umum dilakukan, karena sulitnya mendapatkan metafase yang berkualitas dari tumor padat.<sup>1</sup>

Pada keadaan yang sulit mendapatkan metafase berkualitas dari biakan tumor atau sediaan langsung, dapat digunakan cara *whole chromosome painting* (WCP) dengan berbagai warna untuk tiap kromosom (WCP multiwarna), yang memungkinkan menganalisis kariotipe dari sediaan kromosom yang kualitasnya tidak memadai untuk didiagnosis menggunakan cara pembedaan yang biasa.

*Multi color WCP* adalah teknik pengecatan masing-masing kromosom dengan berbagai macam pewarna fluoresensi, sehingga walaupun kualitas kromosom tidak memadai, bila ada aberasi kromosom tetap dapat dideteksi, sampai pada *rearrangement* yang rumit.

Karena itu, pada saripustaka ini akan dibahas mengenai prinsip *whole chromosome painting* dan aplikasinya pada berbagai tumor padat.

**PRINSIP WCP**

*Whole chromosome painting* adalah teknik mewarnai kromosom menggunakan teknik *Fluorescence In Situ Hybridization* (FISH). *Fluorescence In Situ Hybridization* merupakan suatu teknik diagnostik molekular menggunakan zat warna fluoresen (*fluorophore*) untuk melabel DNA pelacak (*DNA probe*) yang digunakan untuk mendeteksi DNA yang komplementer. Bila digunakan berbagai DNA pelacak yang melekat pada DNA komplementer di sepanjang kromosom, maka seluruh kromosom akan terwarna. Dengan demikian, dapat diketahui adanya aberasi kromosom baik dalam jumlah maupun strukturnya, apabila tiap kromosom diwarnai dengan *fluorophore/fluorochrome/zat* warna fluoresensi yang berbeda warna (*multi color*) secara bersamaan. Untuk melihat penempelan DNA pelacak berlabel pada kromosom tersebut dan penampilan masing-masing kromosom yang berwarna-warni digunakan mikroskop fluoresensi.<sup>2,3,4</sup>

**Pelabelan DNA pelacak dan hibridisasi pada FISH.**

Agar DNA pelacak menempel pada DNA yang komplementer, dilakukan hibridisasi. Sebelum hibridisasi, DNA pelacak dilabel terlebih dahulu. Pelabelan dapat dilakukan secara tidak langsung dengan hapten, atau dapat juga dilabel secara langsung dengan fluoresensi.<sup>2,5</sup> DNA pelacak adalah untai tunggal DNA. Karenanya, DNA target pada kromosom perlu didenaturasi untuk mendapatkan untai tunggal DNA agar hibridisasi dapat terjadi. Kemudian, DNA pelacak berlabel ditambahkan pada kromosom yang telah didenaturasi tersebut sehingga terjadi *annealing* (pelekatan) dengan DNA yang komplementer pada kromosom.<sup>2</sup>

Apabila pelacak dilabel secara tidak langsung, maka diperlukan tahap tambahan untuk deteksi hapten dengan menambahkan antihapten yang terikat enzim atau fluoresensi. Enzim kemudian dideteksi dengan menambahkan substrat tak berwarna yang akan diubah menjadi substrat berwarna yang dideteksi dengan mikroskop cahaya, sedangkan fluoresensi dideteksi dengan menggunakan mikroskop fluoresensi.<sup>2</sup>

**DNA pelacak pada FISH secara umum**

Berbagai macam pelacak dapat digunakan, dari yang ukurannya besar karena berasal dari genom utuh sampai yang ukurannya hanya 1-10 kb. Menurut penggunaannya, ada tiga jenis pelacak, yaitu: pelacak yang mengenali sekuens berulang (*repetitive sequence*), pelacak yang mengenali lokus spesifik dan pelacak WCP. Dalam penggunaan FISH pada WCP untuk menganalisis aberasi kromosom, yang penting untuk dipertimbangkan adalah pemilihan pelacak yang akan digunakan.<sup>2</sup>

**Pelacak *repetitive sequence***

Pelacak *repetitive sequence* berasal dari sekuens berulang yang dapat ditemukan pada setiap kromosom. Pelacak *repetitive sequence* akan melekat pada daerah kromosom tertentu atau struktur yang mengandung ribuan salinan *sequence* pendek. Contoh pelacak jenis ini adalah pelacak Pan-telomerik yang mempunyai sasaran ulangan tandem urutan basa (TTAGGG) yang ada pada semua ujung kromosom manusia, atau pelacak sentromer yang mempunyai sasaran urutan basa khas

yang terdapat pada satelit  $\alpha$  dan  $\beta$ , yang mengikat sentromer kromosom manusia.

Dalam banyak kasus, urutan basa tersebut khas, yaitu pelacak satelit- $\alpha$  yang berasal dari kromosom tertentu hanya akan berhibridisasi pada kromosom tersebut. Akan tetapi, ada pula pelacak pan-sentromerik yang dapat melekat pada semua sentromer manusia. Pelacak satelit melekat pada banyak salinan *repetitive sequence* yang ada pada sentromer, sehingga menghasilkan dua sinyal fluoresen yang sangat terang pada metafase dan interfase sel diploid. Dengan demikian, pelacak *repetitive sequence* yang spesifik untuk sentromer ini sesuai untuk mendeteksi monosomi, trisomi dan aneuploidi lainnya pada leukemia dan tumor<sup>2</sup>. Pelacak ini juga dapat dikombinasikan dengan "pelacak lokus spesifik" untuk menentukan apakah seorang individu kehilangan materi genetik dari kromosom tertentu.

#### **Pelacak lokus spesifik**

Pelacak lokus spesifik biasanya merupakan klon genomik, yang ukurannya bervariasi tergantung dari sifat vektornya. Vektor dapat berupa plasmid (yang dapat memuat pelacak dengan ukuran 1-10 kb), atau vektor PAC, YAC dan BAC (yang dapat memuat pelacak berukuran 80 kb sampai 1 Mb). Pelacak lokus spesifik akan melekat pada daerah tertentu dari suatu kromosom. Pelacak ini sangat berguna untuk mendeteksi aberasi struktural berupa *rearrangement* seperti translokasi kromosom spesifik, inversi atau delesi pada metafase dan interfase. Dengan menggunakan FISH multi-warna, translokasi berulang dalam sel dapat diidentifikasi dengan menggunakan pelacak genomik yang berasal dari daerah patahan (*breakpoints*). Misalnya, pelacak lokus spesifik untuk gen BCR (*breakpoint cluster region*) di lokasi kromosom 22q11.2 yang dilabel dengan fluoresensi hijau dan pelacak lokus spesifik untuk gen ABL (Abelson onkogen) di lokasi kromosom 9q34 yang dilabel dengan fluoresensi merah akan tampak sebagai titik kuning terang (kombinasi sinar hijau dan merah) dalam sel leukemia dengan translokasi (9; 22) (q34; q11.2) (fusi gen BCR/ABL) ketika dilihat melalui mikroskop fluoresensi.<sup>2</sup>

#### **Pelacak WCP**

*Whole Chromosome Painting* mengacu pada hibridisasi sekelompok pelacak berlabel zat

warna fluoresen yang spesifik untuk kromosom tertentu. Karena itu, pelacak pada WCP terdiri atas berbagai untai DNA yang berasal dari satu jenis kromosom yang telah dipisahkan dengan flow-sitometri (atau dipotong kecil-kecil), diamplifikasi dengan PCR menggunakan primer *degenerate* dan diberi label untuk menghasilkan 'cat' yang menandai seluruh kromosom secara homogen.<sup>2,5</sup> Pelacak WCP yang tersedia untuk setiap kromosom manusia memungkinkan pewarnaan kromosom secara serentak pada semua kromosom dalam 24 warna. Hal ini menimbulkan pengembangan dua teknik FISH untuk WCP yaitu, FISH multiwarna (M-FISH) dan analisis kariotip spektral (spektral karyotyping, SKY) yang keduanya sangat bermanfaat dalam aplikasi diagnostik dan penelitian.<sup>2,6</sup>

M-FISH dan SKY memungkinkan pewarnaan seluruh kromosom hanya dengan satu tahap hibridisasi yang melabel masing-masing kromosom dengan kombinasi fluoresensi yang berbeda-beda. Kemudian, gambar diambil dengan mikroskop fluoresensi yang memiliki set filter untuk setiap fluoresensi dan algoritma kombinasi label memungkinkan pemisahan dan identifikasi semua kromosom, yang masing-masing tampak sebagai pseudo-warna yang khas.

Perbedaan M-FISH dan SKY pada terletak pada metode yang digunakan untuk membedakan pelacak yang dilabel dengan warna berbeda. SKY menggunakan sistem pencitraan yang menggabungkan perangkat kamera *cooled charge couple* (CCD) dan Fourier *Transform spectrometry* untuk menganalisis spektrum setiap pixel pada gambar, sedangkan M-FISH menggunakan set filter fluoresensi khusus dengan rentang sempit untuk mengurangi *crosstalk*, yang digabungkan dengan peralatan pencitraan digital pada mikroskop epifluoresensi konvensional dan perangkat lunak komputer yang sesuai. Selain itu, bila menggunakan mikroskop epifluoresensi modern yang sangat efisien dalam mengurangi waktu paparan, maka efek pemudaran fluoresensi dapat dibatasi.<sup>2,7,8</sup>

Pelacak WCP sangat berguna untuk memeriksa kelainan kromosom pada metafase, baik aberasi numerik maupun struktural, misalnya, ketika sepotong kromosom menempel pada ujung kromosom lain (*rearrangement*). Akan tetapi, pelacak ini tidak berguna dalam analisis *rearrangement* pada sel interfase.

Pelacak WCP dapat dimodifikasi untuk pewarnaan spesifik lengan kromosom atau lokus spesifik pada kromosom tertentu, misalnya dengan menambahkan pelacak untuk lengan pendek kromosom akrosentrik. Dalam pelabelan dapat digunakan kombinasi empat sampai tujuh pewarna fluoresens. Selain itu, pelacak WCP dapat dimodifikasi sehingga menampilkan gambaran pita R pada setiap kromosomnya dengan warna berbeda untuk tiap kromosom. Pelacak WCP khusus untuk pemetaan R tersebut dapat diperoleh dengan penggandaan bagian tertentu secara interspersed (IRS) *polymerase chain reaction* (PCR) pada pelacak WCP.<sup>8</sup>

Pelacak WCP selain mengandung pelacak dengan urutan basa unik (lokus spesifik), juga mengandung *repetitive sequence* yang umum (*ubiquitous*) dan akan mengganggu pengamatan dengan mikroskop fluoresen karena adanya fluoresensi latar (*background*) yang diakibatkan oleh penempelan pelacak pada *repetitive sequence* yang juga terdapat pada kromosom lain. Penempelan pelacak *repetitive sequence* berlabel yang terdapat pada pelacak WCP dapat dicegah agar tidak berikatan dengan target dengan penambahan DNA kompetitor tak berlabel yang akan berikatan dengan target secara kompetitif. DNA kompetitor tak berlabel yang biasanya digunakan adalah Cot-1 DNA. Akan tetapi, prosedur ini memerlukan jumlah DNA kompetitor yang banyak sehingga sangat mahal. Permasalahan tersebut dapat diatasi dengan menghilangkan *repetitive sequence* dari pelacak WCP menggunakan kromatografi afinitas untuk menghasilkan pelacak yang hanya mengandung pelacak lokus spesifik untuk kromosom tertentu yang kemudian dapat diamplifikasi dengan PCR.<sup>9</sup>

*Whole chromosome painting* multiwarna mempunyai kelemahan dalam mendeteksi aberasi kromosom apabila translokasi kromosom terjadi pada kromosom yang sama (intrakromosom). Hal ini disebabkan karena pada *whole chromosome painting* digunakan satu warna untuk kromosom tertentu. Permasalahan ini dapat diatasi dengan berkembangnya teknik perwarnaan kromosom menggunakan banyak warna, dengan warna berbeda untuk tiap lokus pada satu kromosom (*chromosome rainbow*), sehingga translokasi yang terjadi pada kromosom yang sama dapat dideteksi.<sup>2,6,10</sup> Selain itu, terkadang aberasi antar kromosom tidak terdeteksi oleh pelacak WCP apabila

kombinasi warna tidak mendukung deteksi, karena penggunaan warna yang mirip pada kromosom yang terlibat *rearrangement* antar kromosom. Hal ini menunjukkan bahwa sensitivitas dan spesifisitas dari WCP 24-warna tergantung pada komposisi warna pelacak kromosom yang terlibat dalam *rearrangement* antar kromosom.<sup>11</sup>

### **APLIKASI WCP**

Teknik WCP multiwarna dikembangkan untuk mendeteksi aberasi kromosom apabila analisis sitogenetik konvensional tidak memungkinkan untuk mendeteksi atau meyakinkan ketidaknormalan kromosom. Teknik sitogenetik molekuler ini dapat digunakan untuk beragam tujuan, seperti *gene mapping*, diagnosis penyakit keturunan, pencarian marker kromosom untuk genetika klinik, radiobiologi, evolusi pada mamalia atau arsitektur interfase dan deteksi perubahan jumlah kopi gen pada sel tumor ganas.

Khusus pada bidang onkologi, aberasi kromosom struktural yang konsisten jarang diidentifikasi pada tumor padat dewasa. Untuk itu, teknik WCP multiwarna sangat membantu dalam menganalisis kariotipe yang sangat kompleks yang biasa ditemui dalam keganasan, terutama untuk studi mutagenesis dan mendeteksi kromosom yang mengalami translokasi, penyusunan ulang (*rearrangement*), atau mikrodelesi gen.<sup>3,8,12</sup>

Dalam hal ini, semakin rendah kualitas metafase kromosom dan semakin tinggi jumlah penyusunan ulang kromosom, maka teknik WCP multiwarna akan semakin berguna. Hal ini disebabkan karena sulitnya interpretasi kariotipe dengan teknik konvensional pada penyusunan ulang yang rumit karena pola pita yang dihasilkan akan mengaburkan pola pita asli. Selain itu, indeks mitosis kultur sel tumor sering sangat rendah, dan heterogenitas klonal meningkatkan kerumitan, karena terdapat beragam jenis kariotip. Karena itu, WCP multiwarna dapat mengatasi masalah ini sampai batas tertentu, yaitu pada penyusunan ulang antar kromosom.<sup>4</sup>

### **Aplikasi WCP pada berbagai tumor padat**

Teknik WCP ini terutama berguna pada tumor padat, yang analisis kariotipnya lebih sulit dibandingkan dengan leukemia. Kegunaan teknik ini dalam analisis kariotip tumor padat dapat

digunakan dalam beberapa hal yaitu: untuk diagnosis, diagnosis banding, menentukan faktor risiko, prognosis, rencana penatalaksanaan dan meramalkan respons terhadap pengobatan.<sup>3</sup>

### Diagnosis (deteksi) tumor padat

*Rearrangement* kromosom atau delesi gen yang khas dapat terjadi pada tumor tertentu yang kemungkinan berhubungan dengan tingkat keganasan tumor. Teknik WCP multiwarna dapat bermanfaat untuk mendeteksi *rearrangement* dan delesi tersebut.<sup>3</sup> Untuk mempertinggi sensitivitas, teknik FISH terutama WCP multiwarna dapat digunakan bersamaan dengan teknik lain, seperti teknik imunohistokimia, imunofluoresensi atau dengan penambahan pelacak tertentu untuk mendeteksi mikrodelesi, *rearrangement* intrakromosom, seperti delesi atau inversi interstitial. Gabungan beberapa cara ini digunakan untuk meneliti berbagai keganasan, misalnya keganasan pada pankreas, kelenjar liur, payudara, sistem urinarius, dan tiroid serta sarkoma synovial dan melanoma sporadik.<sup>3,8,13,14</sup>

Pada keganasan sistem urinarius, modifikasi WCP multiwarna menggunakan 4 pelacak yaitu: pelacak sentromer kromosom 3, 7 dan 17 serta pelacak lokus spesifik untuk 9p21 (*P16*) LSI pada sitogenetika interfase tumor dapat digunakan untuk mendeteksi karsinoma urotelial di spesimen urin, dan cara ini pertama kali digunakan oleh Sokolova dkk. pada tahun 2000. Cara sitogenetika interfase ini dapat diterapkan dengan sensitivitas 84,2% dan spesifisitas 91,8%. Saat ini, keempat pelacak tersebut secara komersial telah tersedia (uji Urovysion).<sup>16</sup> Selain itu, sitogenetika interfase dianggap alat yang paling efisien untuk menilai tingkat ketidakstabilan, karena dapat menilai sejumlah besar sel yang tidak dapat dilakukan pada tahap metafase karena jumlah metafase terbatas.

Pada kanker tiroid, gen reseptor tirosin kinase (RTK) seperti gen *NTRK1* (OMIM \*191315 atau *TRKA*), *RET* (OMIM \*164761) dan *MET* (OMIM 164860) telah dilaporkan mengalami aktivasi, penyusunan ulang atau peningkatan ekspresi. Hal ini menyebabkan ekspresi abnormal gen RTK yang tampaknya mengikuti pola yang sama: yaitu terjadi translokasi ujung 3'-gen RTK termasuk domain katalitiknya ke gen lain yang bereksresi sehingga terbentuk RNA

dan protein kimera dengan aktivitas kinase, yang mungkin menyebabkan inisiasi dan perkembangan tumor.

Pada karsinoma tiroid papilar, modifikasi WCP multiwarna memungkinkan deteksi translokasi kompleks yaitu t (1; 10; 21) yang mengaktifkan *RET* oleh penataan ulang *RET/PTC1*, dan delesi lokus *D10S170*.<sup>10</sup> Teknik *chromosome rainbow* dengan cara pengecatan kromosom multi warna pada multi lokus dapat mendeteksi translokasi kompleks yang melibatkan kromosom 1, 10 dan 2. Yang menyebabkan fusi gen *RET* pada gen lain yang bereksresi dan berada di lokus *D10S170*.<sup>10</sup>

Pada karsinoma tiroid folikular yang bermetastase ke paru terdapat translokasi timbal balik seimbang t (4; 10). Modifikasi WCP multiwarna menggunakan 15 pelacak untuk kromosom 4 dan 10 dapat menunjukkan translokasi t (4; 10) (q33; q23.2).<sup>10</sup>

Pada sarkoma sinovial, analisis kariotip menggunakan WCP 2 warna pada kromosom X dan 18 mengungkapkan translokasi (X; 18), selain penyimpangan nonspesifik lainnya. Adanya translokasi ini mungkin khas untuk sarkoma sinovial, dan kemungkinan dapat digunakan untuk diagnosis.<sup>14</sup>

Pada melanoma sporadik, suatu penelitian menerapkan kombinasi G-banding, WCP, mikrodiseksi kromosom, dan hibridisasi genomik komparatif. G-banding mengungkapkan bahwa tumor ini terutama terdiri dari subpopulasi sel dengan kromosom mendekati diploid dan tetraploid yang mengandung beberapa klon dengan aberasi kromosom numerik dan struktural. WCP menggunakan pelacak kromosom utuh dan pelacak lengan kromosom digunakan untuk memastikan penyusunan ulang kromosom, yaitu dic (1, 4), der (8) t(1; 8), dan der (15) t(6; 15). Selain itu, juga digunakan penanda kromosom dic (8; 1; 16), der (12) t(9; 12), dan der (17) t(13; 17) yang didapat dari mikrodiseksi kromosom. Pemeriksaan hibridisasi genomik komparatif pada biopsi melanoma metastatik menunjukkan adanya perubahan jumlah salinan (*copy number*), yaitu peningkatan jumlah lokus 5p dan 8q, atau penurunan jumlah lokus 4q, 5q, 8p, 9, 10 dan 11, yang sesuai dengan hasil analisis kariotip. Hasil ini menunjukkan perubahan yang sering terdapat pada melanoma, dengan tambahan dua *breakpoints* unik yaitu 1p13 dan 8p21 yang diidentifikasi pada dua kromosom yang berbeda, yang

menunjukkan daerah potensial penting untuk pemeriksaan lebih lanjut dengan teknik genetika molekuler. Dengan demikian, untuk diagnosis kariotip melanoma yang lebih rinci diperlukan gabungan beberapa teknik pemeriksaan sitogenetika.<sup>12</sup>

Selain itu, Guan XY dkk menggunakan 15 WCP, yang terdiri atas kromosom 1, 3, 6, 7, 9, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22, dan X untuk mendeteksi penyusunan ulang kromosom kompleks dalam sel lestari melanoma, UM93-007. Dua translokasi yang tidak terdeteksi dengan analisis banding konvensional dan melibatkan tiga kromosom berbeda, yaitu [t (1, 3, 13) dan t (1; 7; 13)] telah diidentifikasi.<sup>15</sup>

Dari dua penelitian pada melanoma di atas telah dijumpai berbagai aberasi kromosom pada melanoma. Aberasi kromosom yang sering dijumpai, mungkin dapat digunakan untuk diagnosis, akan tetapi, perlu penelitian lebih lanjut untuk memastikannya.

#### **Menentukan faktor risiko menderit tumor/ keganasan**

Modifikasi WCP sering digunakan untuk skrining penduduk berisiko tinggi untuk terjerang tumor payudara dengan pelacak lokus spesifik untuk mengidentifikasi lokus 1p12 (LSI1) pada kromosom nomor 1 dan pelacak khusus untuk penghitungan lokus spesifik perisentromer kromosom 8, 11, dan 17 menggunakan pelacak *repetitive sequence*.<sup>12</sup> Khusus untuk kanker payudara jenis karsinoma duktal invasif, studi WCP digunakan untuk mengidentifikasi monosomi pada berbagai lokus yaitu pada kromosom nomor 1, 11, 17, dan polisomi lokus kromosom 8. Monosomi dan polisomi seperti di atas mungkin berhubungan dengan resiko keganasan.<sup>13</sup>

#### **Menentukan prognosis tumor dan rencana penatalaksanaan**

Dengan menggunakan uji Urovysion, dapat dideteksi aneusomi kromosom 3, 7, dan 17 dan/ atau delesi pada kromosom 9p21 untuk diagnosis dini dan prognosis akan terjadinya keganasan pada tumor kandung kemih.<sup>17</sup>

Uji Urovysion, histopatologi dan diferensiasi tumor dapat membantu menentukan rencana penatalaksanaan pada stadium superfisial sampai invasif (pTa-pT4), dan menentukan keputusan klinis. Karsinoma kandung kemih yang sampai ke lamina propria dengan differen-

siasi buruk (pT1G3) disertai aberasi kromosom multipel harus diperlakukan sebagai tumor invasif pT2 (tumor sampai lapisan otot). Selain itu, tumor kandung kemih superfisial yang berdiferensiasi baik sampai diferensiasi buruk, tumor kandung yang sampai ke lamina propria dengan diferensiasi baik sampai sedang (pTaGI-III, pT1GI-II), dengan histopatologi negatif, tetapi positif pada Uji Urovysion, perlu dilakukan pemetaan ulang kandung kemih. Sebuah studi menunjukkan bahwa deteksi perubahan genetik pada kanker kandung kemih dengan urovision test lebih sensitif daripada teknik sitologi (biopsi) konvensional dalam menentukan stadium kanker.<sup>18</sup>

#### **Meramalkan respon tumor terhadap pengobatan**

Secara umum glioma merupakan tumor yang sensitif terhadap pengobatan dengan *tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand* (TRAIL). Ketidak normalan genetik kemungkinan dapat menyebabkan rendahnya respons sel tumor terhadap kemoterapi dan terapi dengan TRAIL. Beberapa galur sel glioma ganas yang kebal terhadap terapi TRAIL ternyata mengalami hilangnya gen apoptosis TRAIL, dan sebagian sel pada kultur primer sel glioma ganas mempunyai kariotipe hiperdiploid dan kehilangan gen caspase-8, yang tampaknya berhubungan dengan resistensi terhadap kombinasi TRAIL dan kemoterapi.<sup>19</sup>

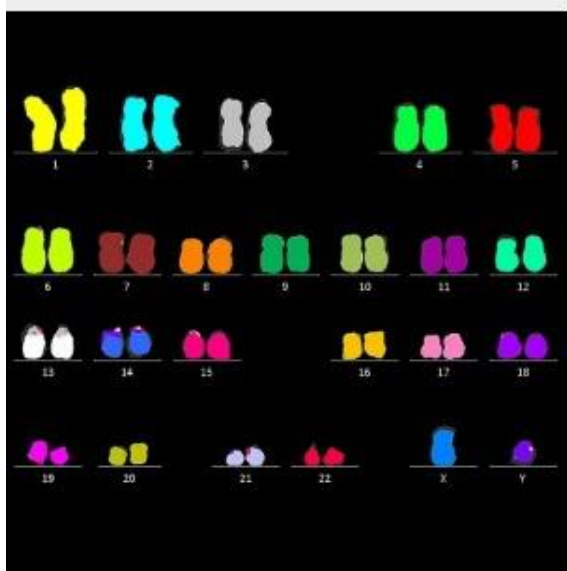
Pada sel lestari yang resisten pada terapi TRAIL (LN464), ditemukan kromosom 8 dengan inversi [inv (8) (p11.2p21)] yang diidentifikasi dengan analisis kariotip menggunakan G-banding WCP. Ternyata gen DR5 ditemukan mengalami relokasi dekat dengan wilayah sentromer. Relokasi dari lokus DR5 tersebut dalam hal ini tampaknya tidak berpengaruh terhadap ekspresi gen DR5 tersebut. Selain itu, pada tujuh sel lestari glioma ganas manusia terdapat poliploid dari 3n sampai 6n, dengan penyimpangan numerik dan struktural kompleks, yang menghasilkan berbagai fenotipe dalam ekspresi gen apoptosis TRAIL.

Berbagai defek genomik ini kemungkinan dapat digunakan untuk meramalkan respons glioma ganas terhadap terapi TRAIL dan kemoterapi. Karena itu, perlu dilakukan skrining dengan WCP multiwarna (analisis kariotip spektral atau FISH multiwarna) ataupun modifikasinya menggunakan pelacak WCP

untuk ke 24 kromosom dengan 24 warna pada pasien glioma untuk mendeteksi kelainan genetik di atas pada uji klinik di masa datang, untuk memastikan hal ini.<sup>19</sup>

**KESIMPULAN**

Whole chromosome painting baik dengan satu warna ataupun banyak warna (mFISH dan SKY) ataupun modifikasinya dapat digunakan untuk mengidentifikasi kelainan genetik pada tumor padat dan berguna dalam menegakkan diagnosis, menentukan prognosis, dan membantu dalam penatalaksanaan, dan meramalkan respons terhadap terapi.



Gambar 1: Hasil pewarnaan WCP multi warna menggunakan kit pelacak mFISH.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Speicher MR, Ballard SG, Ward DC. Karyotyping human chromosomes by combinatorial multi-fluor FISH. *Nat Genetics*. 1996; 12: 368-75.
2. Bishop R. Applications of fluorescence in situ hybridization (FISH) in detecting genetic aberrations of medical significance. *Biosc Horizons*. 2010; 3: 85-95.
3. Lusiyanti Y, Indrawati I, Purnami S. Pengenalan teknik fish untuk deteksi aberasi kromosom translokasi akibat radiasi pengion. *Bul Alara*. 2006;8:53-63.

4. Ried T, Schröck E, Ning Y, Wienberg J. Chromosome painting: a useful art *Human Molec Genetics*. 1998; 7: 1619-26.
5. Drakulic D, Nikcevic G, Djordjevic V, Stevanovic M. Generation of a whole chromosome painting probe from monochromosomal hybrid cells by the Alu polymerase chain. *Arch Biol Sci*. 2007;59:89-95.
6. Hu J, Sathanoori M, Kochmar SJ, Surti U. Application of multicolor banding for identification of complex chromosome 18 rearrangements. *J Mol Diagn*. 2006; 8: 521-5.
7. Lee C, Gisselsson D, Jin C, Nordgren A, Ferguson DO, Blennow E, Fletcher JA, Morton CC. Limitations of chromosome classification by multicolor karyotyping. *Am J Hum Genet*. 2001; 68:1043-7.
8. Liehr T, Starke H, Weise A, Lehrer H, Claussen U. Multicolor FISH probe sets and their applications. *Histol Histopathol*. 2004; 19:229-37.
9. Dugan LC, Pattee MS, Williams J, Eklund M, Sorensen K, Bedford JS, *et al*. Polymerase chain reaction-based suppression of repetitive sequences in whole chromosome painting probes for FISH. *Chrom Res*. 2005; 13: 27-32.
10. O'Brien B, Jossart GH, Ito Y, Greulich-Bode KM, Weier JF, Munne S, Clark OH, Weier HUG. 'Chromosomal rainbows' detect oncogenic rearrangements of signaling molecules in thyroid tumors. *Open Cell Signal J*. 2010;2:13-22.
11. Weise A, Mrasek K, Fickelscher I, Claussen U, Sau WC, Wei WC, *et al*. Molecular definition of high-resolution multicolor banding probes: first within the human DNA sequence anchored FISH banding probe set. *J Histochem Cytochem*. 2008; 56: 487-93.
12. Wiltshire RN, Dennis TR, Sondak VK, Meltzer PS, Trent JM. Application of molecular cytogenetic techniques in a case study of human cutaneous metastatic melanoma. *Cancer Genet Cytogenet*. 2001; 131:97-103.
13. Sneige N. Correlation of cytologic findings and chromosomal instability detected by fluorescent in situ hybridization in breast fine-needle aspiration specimens from women at high risk for breast cancer. *Mod Pathol*. 2006; 19: 622-9.

14. Nagao K, Gomyo Y, Ito H, Yamamoto K, Yoshida H. A case report of synovial sarcoma with translocation (X;18). Application of fluorescence in situ hybridization to paraffin-embedded tissue. *Virchows Arch.* 1995; 426: 519-22.
15. Guan XY, Meltzer PS, Trent JM. Rapid generation of whole chromosome painting probes (WCPs) by chromosome microdissection. *Genomics.* 1994;22:101-7.
16. Sokolova IA, Halling KC, Jenkins RB, Burkhardt HM, Meyer RG, Seelig SA, *et al.* The development of a multitarget, multicolor fluorescence *in situ* hybridization assay for the detection of urothelial carcinoma in urine. *J Mol Diagn.* 2000;2:116-23.
17. Kurien A, Thomas J. Can reflex urovision fluorescence *in situ* hybridization predict tumor recurrence during follow-up?. *Indian J Urol.* 2007;23:333-4.
18. Krause FS. Clinical decisions for treatment of different stages bladder cancer based on multi-target fluorescent in situ hybridization assays. *World J Urol.* 2006; 24:418-22.
19. Li YC, Tzeng CC, Song JH, Tsia FJ, Hsieh LJ, Liao SJ, *et al.* Genomic alterations in human malignant glioma cells associate with the cell resistance to the combination treatment with tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand and chemotherapy. *Clin Cancer Res.* 2006;12:2716-29.