

## Hubungan antara Ekspresi VEGF dan MMP-9 dengan Invasi Ekstra Okuler pada Retinoblastoma

Emilia Wijayanti, Dyah Fauziah

*Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga  
 Surabaya*

### ABSTRAK

#### Latar belakang

Retinoblastoma merupakan 80% dari semua kanker okular primer pada anak-anak sampai usia 15 tahun. Invasi tumor adalah tahap penting yang menyebabkan metastasis pada retinoblastoma. Faktor resiko terbesar untuk metastasis adalah invasi pada orbita atau saraf optikus. Angka kelangsungan hidup kasus retinoblastoma ekstra okuler masih rendah, rata-rata antara 50%-70%. Ekspresi MMP-9 dan VEGF dapat berperan sebagai petanda biologis untuk invasi dan metastasis retinoblastoma. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui hubungan ekspresi VEGF dan MMP-9 dengan invasi ekstra okuler pada retinoblastoma.

#### Metode

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *cross sectional*. Sampel sebanyak 30 dibagi dalam: 21 dengan invasi ekstra okuler dan 9 tanpa invasi ekstra okuler yang telah didiagnosis di Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya dalam rentang waktu Januari 2011-Desember 2013. Sampel dilakukan pulasan immunohistokimia dengan *antibody monoclonal* anti VEGF dan *antibody polyclonal* anti MMP-9 serta dinilai menggunakan metode semikuantitatif. Hubungan ekspresi VEGF dan MMP-9 dengan invasi ekstra okuler pada retinoblastoma dianalisa menggunakan Regresi Logistik. Hubungan antara ekspresi VEGF dengan MMP-9 pada retinoblastoma dianalisa menggunakan uji korelasi *Pearson*.

#### Hasil

VEGF terekspresi pada 24 dari 30 (80%) sampel. MMP-9 terekspresi pada 28 dari 30 (93,3%) sampel. Tidak didapatkan hubungan antara ekspresi VEGF dengan invasi ekstra okuler pada retinoblastoma. Tidak didapatkan hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan invasi ekstra okuler pada retinoblastoma. Terdapat hubungan antara ekspresi VEGF dan MMP-9 pada retinoblastoma ( $p=0,012$ ,  $r=0,454$ ).

#### Kesimpulan

Hasil menunjukkan tidak terdapat hubungan ekspresi VEGF maupun MMP-9 dengan invasi ekstraokuler pada retinoblastoma namun terdapat kecenderungan peningkatan ekspresi VEGF dan MMP-9 pada sampel retinoblastoma dengan invasi ekstraokuler. Terdapat korelasi positif antara ekspresi VEGF dengan MMP-9 yang menunjukkan adanya peningkatan ekspresi VEGF seiring dengan peningkatan MMP-9, namun tidak terdapat hubungan dengan invasi ekstra okuler.

**Kata kunci:** VEGF, MMP-9, invasi ekstra okuler, retinoblastoma.

### ABSTRACT

#### Background

Retinoblastoma represents 80% of all primary ocular cancers in children up to 15 years old. Tumor invasion is the critical step that could lead to metastasis in retinoblastoma. The greatest risk factor for metastatic disease is orbital or optic nerve invasion. The survival in case of extra ocular retinoblastoma is still low and the reported rate ranges between 50% and 70%. The expression of MMP-9 and VEGF may act as a biological marker for the invasion and metastasis of retinoblastoma. The aim of this is to analyze correlation between expression of VEGF and MMP-9 with extra ocular invasion in retinoblastoma.

#### Methods

The study design was cross sectional. Samples were divided into: 21 with extra ocular invasion and 9 without extra ocular invasion which had been diagnosed on Dr. Soetomo Hospital Surabaya during January 2011 until December 2013. Samples were stained with immunohistochemistry staining method with monoclonal primary antibody anti VEGF and polyclonal antibody anti MMP-9, the result were evaluated semi-quantitatively. The correlation between VEGF, MMP-9 expression and extra ocular invasion in retinoblastoma were analyzed by Regression Logistic. The correlation between VEGF and MMP-9 expression were analyzed by Pearson correlation test.

#### Results

VEGF and MMP-9 expressed in 24 from 30 samples (80%) and 28 from 30 samples (93,3%), respectively. The statistic test revealed that there was no correlation between the expression of VEGF with extra ocular invasion in retinoblastoma. There was no correlation between the expression of MMP-9 with extra ocular invasion in retinoblastoma. There was correlation between the expression of VEGF and MMP-9 in retinoblastoma ( $p=0.012$ ,  $r=0.454$ ).

#### Conclusion

The results suggest that there was no correlation between VEGF and MMP-9 expression with extra ocular invasion in retinoblastoma, but there was a tendency of VEGF and MMP-9 increase in retinoblastoma with extra ocular invasion. There was a positive correlation between VEGF and MMP-9 expression. The increased of VEGF expression was concomitant with MMP-9 expression. There was no correlation between VEGF and MMP-9 expression with extra ocular invasion.

**Key words:** VEGF, MMP-9, extra ocular invasion, retinoblastoma.

**PENDAHULUAN**

Retinoblastoma adalah neoplasma ganas intra-okular yang berasal dari sel neuroektodermal primitif yang menunjukkan diferensiasi retina, paling sering pada anak-anak, jarang pada dewasa.<sup>1,2</sup> Retinoblastoma merupakan 80% dari semua kanker okular primer pada anak-anak sampai usia 15 tahun.<sup>3</sup> Insiden retinoblastoma di dunia adalah 1 di antara 18.000-30.000 kelahiran hidup dan diperkirakan 5.000-8.000 kasus baru setiap tahun.<sup>4,5</sup> Data dari Departemen Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo Surabaya menunjukkan jumlah kasus retinoblastoma yang dilakukan tindakan enukleasi maupun eksenterasi dan pemeriksaan histopatologi sebanyak 14 kasus pada tahun 2011, 18 kasus pada tahun 2012, 16 kasus pada tahun 2013.

Di beberapa negara berkembang, diagnosa retinoblastoma sering terlambat yaitu pada saat telah terjadi penyebaran ekstraokular sehingga prognosa buruk.<sup>6</sup> Jika angka kelangsungan hidup di negara maju mencapai 95%, maka di negara berkembang hanya 50%. Sedangkan angka kelangsungan hidup kasus retinoblastoma ekstra okuler masih rendah, rata-rata antara 50% sampai 70%.<sup>7</sup> Walaupun berbagai pengobatan telah berhasil dikembangkan, namun morbiditas dan mortalitas retinoblastoma belum menunjukkan penurunan yang bermakna, pengobatan dengan kemoterapi seperti dengan obat-obatan anti mitosis maupun penginduksi apoptosis sering tidak efektif.<sup>8</sup>

Invasi tumor adalah tahap penting yang menyebabkan metastasis pada retinoblastoma. Kematian dapat diprediksi dari tumor yang meluas ke ekstraokular, baik secara langsung melalui sklera atau saraf optikus. Faktor resiko terbesar untuk metastasis adalah invasi pada saraf optikus dan orbita.<sup>3,9</sup> Lokasi metastasis yang paling sering adalah otak, tulang dan sumsum tulang.<sup>10</sup>

Potensi angiogenik pada retinoblastoma berhubungan dengan pertumbuhan invasi dan metastasis dan dua faktor ini terkait dengan prognosa buruk. Tumor ini, tampaknya tergantung pada vaskularisasi yang heterogen yang terdiri dari pembuluh darah baru dan pembuluh darah matur yang menggunakan *pericyte*. Pembuluh darah ini terdiri dari sel endotel yang dipengaruhi oleh faktor angiogenik seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF).<sup>11</sup> Bioavailabilitas VEGF diatur secara ekstra-

seluler oleh *matrix metalloproteinases* (MMPs) melalui proses intramolekuler. Namun mekanismenya tetap sulit dipahami.<sup>12</sup> Aktivasi MMP-9 menginduksi peningkatan VEGF.<sup>13</sup> MMP-9 dan VEGF dapat bertindak sebagai petanda biologi untuk invasi dan metastasis retinoblastoma dan mungkin bisa membantu untuk menyaring kasus yang berisiko tinggi untuk metastasis dan untuk memprediksi prognosis.<sup>14,15</sup> Sedangkan penelitian lain menyebutkan tidak ada korelasi antara VEGF dengan faktor prognosa termasuk staging pada retinoblastoma.<sup>11</sup> Laporan penelitian khususnya untuk populasi Indonesia masih sangat sedikit.<sup>8</sup>

Bevacizumab (anti-VEGF) menjalani uji klinis dalam pengobatan berbagai kanker.<sup>16</sup> Hambatan terhadap MMP-9 dapat menghambat invasi dan metastasis, menurunkan derajat keganasan tumor dan dapat dikembangkan untuk pengobatan klinis.<sup>17</sup>

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan ekspresi VEGF dan MMP-9 pada retinoblastoma dengan invasi ekstra okuler, sehingga dapat digunakan sebagai dasar untuk pengobatan klinis.

**METODE PENELITIAN**

Rancangan penelitian yang digunakan merupakan observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Sampel penelitian ini adalah 30 kasus retinoblastoma yang telah dilakukan tindakan enukleasi dan eksenterasi serta pemeriksaan histopatologi di Instalasi Patologi Anatomi Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Soetomo Surabaya periode Januari 2011 sampai Desember 2013.

Invasi ekstra okuler diperoleh dari pemeriksaan histopatologi dimana didapatkan sel tumor telah menembus sklera. Didapatkan dua kelompok sample yaitu dengan invasi ekstra okuler dan tanpa invasi ekstra okuler.

Ekspresi protein VEGF diperiksa secara imunohistokimia dengan menggunakan *antibody monoclonal rabbit* VEGF klon EP1176Y (Biocare, USA). Penilaian VEGF dihitung secara visual dengan mikroskop cahaya binokuler dan dibuat skor secara semikuantitatif berdasarkan persentase dan intensitas yang terpulas pada sitoplasma sel tumor. Bila persentase positif <1%: skor 0; 1-25%: skor 1; 26-50 skor 2; 51-75: skor 3; 76-100: skor 4. Bila tidak terpulas: skor 0; intensitas lemah: skor 1; intensitas sedang: skor 2; intensitas kuat: skor 3.<sup>18</sup>

Ekspresi protein MMP-9 diperiksa secara imunohistokimia dengan *antibody polyclonal* MMP-9 (Thermo, USA) dan dibuat skor secara semikuantitatif berdasarkan intensitas dan persentase sitoplasma sel yang terwarnai, yang dihitung secara visual dengan mikroskop cahaya binokuler. Bila persentase negatif: skor 0; persentase positif 0-30%: skor 1; 31-60%: skor 2; 61-100: skor 3. Bila tidak terpulas: skor 0; intensitas lemah: skor 1; intensitas sedang: skor 2; intensitas kuat: skor 3.<sup>19</sup>

Data yang dikumpulkan dianalisa dengan SPSS. Untuk menganalisa hubungan VEGF dan MMP-9 dengan invasi ekstra okuler digunakan uji statistik Regresi Logistik. Untuk menganalisa hubungan VEGF dengan MMP-9 digunakan uji statistik Korelasi Pearson. Hasil uji statistik dikatakan bermakna jika  $p < 0,05$ .

**HASIL**

Didapatkan 21 sampel retinoblastoma dengan invasi ekstra okuler dan 9 sampel tanpa invasi ekstra okuler. Data usia yang diperoleh pada penelitian ini antara 1,58 tahun sampai 9,83 tahun, dengan rerata usia penderita adalah 4,62 tahun.

Tabel 1. Distribusi umur dan jenis kelamin sampel penelitian.

Variabel	Frekuensi	%
Umur (tahun)		
1-3	10	33,3
4-6	15	50,0
>6	5	16,7
Jenis kelamin		
Laki-laki	20	66,7
Perempuan	10	33,3

Berdasarkan Tabel 1 usia penderita retinoblastoma paling banyak berada pada rentang 4-6 tahun pada jenis kelamin laki-laki.

Dari 21 sampel dengan invasi ekstra okuler hanya didapatkan 1 kasus tanpa invasi saraf optikus. Sedangkan dari 9 sampel tanpa invasi ekstra okuler didapatkan 3 kasus tanpa invasi saraf optikus. VEGF tereksresi pada 24 dari 30 (80%) sampel terdiri dari 18 dari 21 (85,7%) sampel dengan invasi ekstra okuler dan 6 dari 9 (66,7%) sampel tanpa invasi ekstra okuler. MMP-9 tereksresi pada 28 dari 30 (93,3%) sampel terdiri dari 20 dari 21 (95,2%) sampel dengan invasi ekstra okuler dan 8 dari 9 (88,9%) sampel tanpa invasi ekstra okuler.

Tabel 2. Hubungan ekspresi VEGF dengan invasi ekstra okuler .

Variabel	Invasi ekstra okuler			Nilai $p=0,276$ $R^2=0,057$
	Ya (%)	Tidak (%)	Total (%)	
Ekspresi VEGF				
0 - 3	9 (56,3)	7 (43,8)	16 (100)	
4 - 7	12 (85,7)	2 (14,3)	14 (100)	

Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa retinoblastoma dengan invasi ekstra okuler yang menunjukkan ekspresi VEGF pada skor 0-3 (56,3%) lebih tinggi daripada tanpa invasi ekstra okuler (43,85), pada skor 4-7 (85,7%) juga lebih tinggi daripada tanpa invasi ekstra okuler (14,3%). Namun demikian, setelah dilakukan analisa statistik dengan menggunakan uji Regresi Logistik antara ekspresi VEGF dengan invasi ekstra okuler, didapatkan hasil  $p=0,276$  ( $p > 0,05$ ) yang berarti tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi VEGF dengan invasi ekstra okuler.

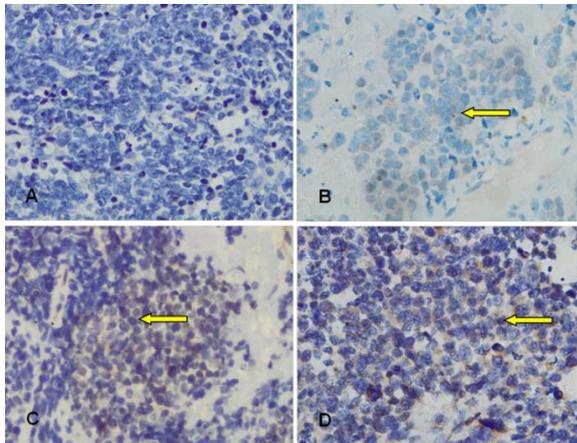
Tabel 3. Hubungan ekspresi MMP-9 dengan invasi ekstra okuler

Variabel	invasi ekstra okuler			Nilai $p=0,799$ $R^2 = 0,003$
	Ya (%)	Tidak (%)	Total (%)	
Ekspresi MMP-9				
0-3	6 (54,5)	5 (45,5)	11 (100)	
4-7	15 (78,9)	4 (21,1)	19 (100)	

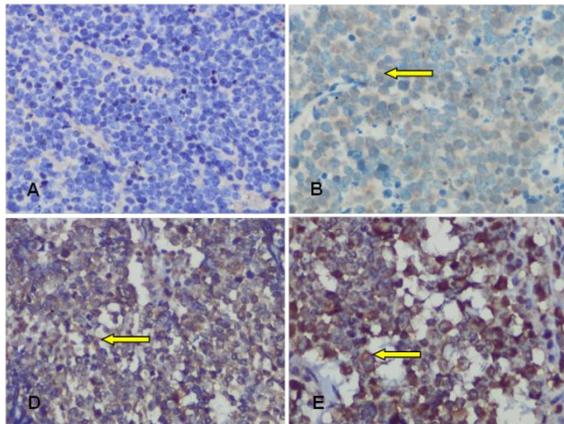
Pada Tabel 3 menunjukkan bahwa retinoblastoma dengan invasi ekstra okuler yang menunjukkan ekspresi VEGF pada skor 0-3 (54,5%) sedikit lebih tinggi daripada tanpa invasi ekstra okuler (45,5%), pada skor 4-7 (78,9%) juga lebih tinggi daripada tanpa invasi ekstra okuler (21,15%). Namun demikian, setelah dilakukan analisa statistik dengan menggunakan uji Regresi Logistik antara ekspresi MMP-9 dengan invasi ekstra okuler, didapatkan hasil  $p=0,799$  ( $p > 0,05$ ) yang berarti tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi MMP-9 dengan invasi ekstra okuler.

Pada Tabel 2 dan 3 menunjukkan walaupun pada analisa statistik tidak menunjukkan terdapat hubungan antara ekspresi VEGF maupun MMP-9 dengan invasi ekstra okuler, namun terdapat kecenderungan peningkatan ekspresi VEGF dan MMP-9 pada invasi ekstra okuler.

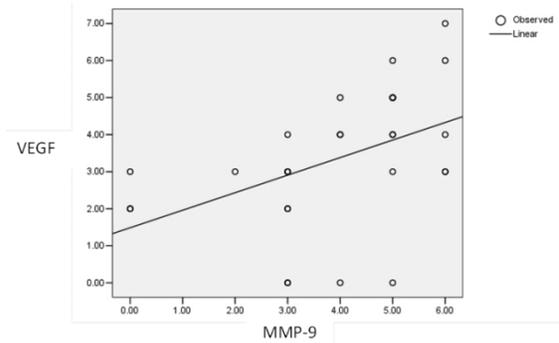
Pada penilaian korelasi antara VEGF dan MMP-9 didapatkan hasil  $p=0,012$  ( $p<0,05$ ), yang artinya terdapat korelasi positif yang bermakna antara ekspresi VEGF dengan MMP-9 yang menunjukkan adanya peningkatan ekspresi VEGF seiring dengan peningkatan MMP-9 (Gambar 3).



Gambar 1. Ekspresi VEGF pada retinoblastoma; A. Terpulas negatif; B. Terpulas dengan intensitas ringan; C. Terpulas dengan intensitas sedang; D. Terpulas dengan intensitas kuat (400x).



Gambar 2. Ekspresi MMP-9 pada retinoblastoma; A. Terpulas negatif; B. Terpulas dengan intensitas ringan; C. Terpulas dengan intensitas sedang; D. Terpulas dengan intensitas kuat (400x).



Gambar 3. Hubungan ekspresi VEGF dan MMP-9

**DISKUSI**

Penderita retinoblastoma di Amerika Serikat rata-rata berusia 18 bulan.<sup>7</sup> Usia yang lebih tua pada penelitian ini kemungkinan karena diagnosa pertama kali yang lebih lambat. Menurut penelitian Soebago HD dkk di RSUD Dr. Soetomo Surabaya, usia pasien retinoblastoma saat didiagnosa pertama kali yaitu 0- <12 bulan : 6,7 %, 12- <36 bulan: 33,3%, 36-60 bulan: 20%, >60 bulan: 40%.<sup>8</sup> Walaupun tidak ada predileksi seks yang signifikan tetapi pada penelitian *All India Institute of Medical Science* didapatkan rasio laki-laki : perempuan = 1,6 : 1.<sup>7</sup> Dari data sampel diketahui bahwa sebagian besar pasien sudah berada dalam stadium lanjut yaitu didapatkan invasi saraf optikus dan ekstra okuler. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya di Argentina sebagai negara yang sedang berkembang, frekuensi penderita lebih banyak pada stadium lanjut.<sup>6</sup>

*Vascular endothelial growth factor* (VEGF) adalah *homodimeric mitogenic glycoprotein* yang merangsang sel endotel pada arteri, vena, dan limfatik.<sup>20</sup> VEGF dihasilkan oleh sel tumor dan sel stroma. VEGF yang terikat pada VEGFR-2 mengawali sejumlah kaskade sinyal yang menghasilkan proliferasi, migrasi dan invasi, serta survival sel endotel dalam proses angiogenesis.<sup>21,22</sup> Proses angiogenesis berperan menyediakan sejumlah pembuluh darah sebagai pengantar oksigen dan nutrisi bagi sel tumor, sehingga tumor mampu tumbuh lebih besar. Proses angiogenesis juga berperan menyediakan sejumlah pembuluh darah sebagai pengantar oksigen dan nutrisi dari sel tumor yang telah menyebar sehingga sel tumor dapat bertahan hidup dan berkoloni di lokasi metastasis.<sup>13</sup>

Penelitian sebelumnya oleh Le Y dkk terhadap retinoblastoma menunjukkan tingkat ekspresi yang positif pada VEGF berhubungan dengan invasi dan metastasis tumor. VEGF membantu invasi dan metastasis retinoblastoma.<sup>23</sup>

Pada penelitian ini tidak terdapat hubungan antara ekspresi VEGF dengan invasi ekstra okuler pada retinoblastoma. Hal ini serupa dengan penelitian Arian C dkk yang menunjukkan tidak terdapat hubungan antara VEGF dan stadium tumor menunjukkan bahwa semua retinoblastoma tidak hanya terbatas pada retina dan kasus dengan invasi choroid dan saraf optikus mempunyai kemampuan memproduksi faktor angiogenik dan meluasnya sel tumor mampu menginduksi angiogenesis.<sup>11</sup>

Sampling histologi yang tidak adekuat tampaknya menjadi faktor kesalahan utama pada evaluasi faktor prognosa. Pada penelitian Marback EF dkk didapatkan 2 kasus retinoblastoma tanpa invasi choroid dan saraf optikus, berkembang menjadi invasi pada orbita rata-rata 10 bulan setelah dilakukan enukleasi.<sup>24</sup>

*Matrix Metalloproteinase* (MMP) adalah enzim proteolitik yang mendegradasi berbagai macam komponen matriks ekstra seluler.<sup>25</sup> MMP-9 adalah salah satu dari dua gelatinase (MMP-2 dan MMP-9) yang diproduksi dan disekresi oleh berbagai macam jenis sel ganas baik primer maupun metastasis, sel stromal pejamu dan sel radang. MMP-9 berperan pada metastasis tumor dengan membelah berbagai macam molekul matriks ekstraseluler sehingga sel menjadi lebih invasif.<sup>26</sup> MMP-9 mendegradasi gelatin, kolagen tipe IV, V, VII, X, XI, XIV, elastin, *proteoglycan*, yang berperan penting pada ikatan antara sel dan matriks.<sup>17</sup>

Sel normal secara erat melekat satu sama lain dan dengan jaringan di sekitarnya melalui beragam molekul perekat. Dari molekul tersebut, famili *cadherin* dari glikoprotein trans-membran adalah molekul yang penting. *E-cadherin* memperantarai perlekatan di jaringan epitel. Untuk menembus matriks ekstraseluler di sekitarnya, sel tumor mula-mula harus melekat pada komponen matriks. Perlekatan sel tumor ke laminin dan fibronectin melalui reseptor merupakan faktor penting untuk invasi dan metastasis. Sel tumor harus menciptakan jalan untuk migrasinya. Sel tumor mengeluarkan sendiri enzim proteolitik atau menginduksi sel pejamu (fibroblast stroma, makrofag) untuk

mengeluarkan protease.<sup>22</sup> Namun belum didapatkan literatur tentang hubungan *E-cadherin* dengan invasi pada retinoblastoma.

Penelitian Long H dkk pada retinoblastoma menggunakan antibodi MMP-2 dan MMP-9 yang dianalisa menggunakan metode kuantitatif dengan HMIAS-2000 *completely automatic medicine color image analysis system*. Ekspresi MMP-2 dan MMP-9 secara signifikan lebih tinggi pada tumor stadium ekstra okuler daripada tumor stadium glaukomatous atau stadium intra okuler.<sup>17</sup> Adithi dkk melakukan penelitian untuk mengetahui peran *extracellular MMP inducer* (EMMPRIN), MMP-2, MMP-9 dan TIMP-1, TIMP-2 pada retinoblastoma dan hubungannya dengan klinikopatologi. Adithi dkk menyimpulkan kedua MMP dan TIMP secara signifikan positif pada invasi retinoblastoma dan EMMPRIN berperan dalam peningkatan MMP-2 pada invasi retinoblastoma.<sup>9</sup>

Pada penelitian ini tidak terdapat hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan invasi ekstra okuler pada retinoblastoma. Tidak terdapatnya hubungan antara ekspresi VEGF dengan stadium retinoblastoma pada penelitian Arian dkk menunjukkan bahwa semua retinoblastoma tidak hanya terbatas pada retina.<sup>11</sup> Hal yang serupa bukanlah tidak mungkin juga didapatkan pada penelitian ini, dimana pada kasus invasi pada ekstra okuler maupun kasus yang tidak didapatkan invasi pada ekstra okuler tetapi tidak terbatas pada retina mempunyai kemampuan memproduksi MMP-9.

Pada penelitian ini, hubungan VEGF maupun MMP-9 dengan invasi saraf optikus dan stadium tumor tidak dianalisa karena jumlah sampel pada masing-masing kelompok tidak seimbang.

Dari hasil analisa statistik terdapat hubungan antara ekspresi VEGF dan MMP-9, yang artinya terdapat korelasi positif yang bermakna antara ekspresi VEGF dengan MMP-9 yang menunjukkan adanya peningkatan ekspresi VEGF seiring dengan peningkatan MMP-9.

Penelitian Lin Z dkk menggunakan teknik imunohistokimia untuk mendeteksi ekspresi protein MMP-2, MMP-9 dan VEGF pada retinoblastoma. Ekspresi yang tinggi dari MMP-2, MMP-9 dan VEGF berhubungan dengan invasi dan metastasis.<sup>14</sup> Zhen GE dkk menyelidiki ekspresi MMP-9, TIMP-1 dan VEGF pada

retinoblastoma. MMP-9 berkorelasi positif dengan ekspresi VEGF. MMP-9 mungkin mengaktifkan VEGF dan membantu angiogenesis tumor pada retinoblastoma dengan meningkatkan ekspresi VEGF.<sup>15</sup>

MMP berperan dalam degradasi basal membran pembuluh darah dan remodeling matriks ekstra seluler selama angiogenesis. MMP-9 telah menunjukkan peran penting dalam *angiogenic switch* dan sel tumor dapat memproduksi dan mensekresi sejumlah besar dari MMP-9 dengan cara parakrin dan/atau autokrin untuk merangsang angiogenesis dan melepaskan VEGF.<sup>27</sup>

Setelah sekresi, VEGF terikat pada matriks ekstra seluler.<sup>12</sup> Beberapa isoform VEGF terikat pada *heparan sulfate proteoglycans*.<sup>28</sup> MMP juga terlibat dalam pengaturan bioavailabilitas VEGF yang tersimpan di ekstraseluler. Namun, mekanisme langsungnya tetap sulit dipahami. Salah satu kemungkinan adalah pelepasan VEGF terjadi melalui degradasi protein matriks.<sup>12</sup> Proteolisis dari matriks ekstra seluler akan melepaskan VEGF yang terikat dan meningkatkan bioavailabilitasnya.<sup>28</sup> MMP dapat berpengaruh pada sinyal VEGF, menghasilkan perubahan pada *vascular density*, diameter pembuluh darah, dan *patterning* melalui perubahan langsung pada VEGF yang terikat atau terlarut.<sup>12</sup>

**KESIMPULAN**

Tidak terdapat hubungan ekspresi VEGF maupun MMP-9 dengan invasi ekstraokuler pada retinoblastoma namun terdapat kecenderungan peningkatan ekspresi VEGF dan MMP-9 pada sampel retinoblastoma dengan invasi ekstraokuler. Terdapat korelasi positif antara ekspresi VEGF dengan MMP-9 yang menunjukkan adanya peningkatan ekspresi VEGF seiring dengan peningkatan MMP-9, namun tidak terdapat hubungan dengan invasi ekstra okuler.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Sehu KW, Weng WR. Intraocular Tumor. Ophthalmic Pathology: An Illustrated Guide For Clinicians. 1<sup>th</sup> ed. Blackwell Publishing. 2005: 259-62.
2. Rosai J. Eye and Ocular Adnexa. In Rosai and Ackerman's. Surgical Pathology. Elsevier. 2011; 2490-3.

3. Balmer A, Zografos L, Munier F. Diagnosis and current management of retinoblastoma. *Oncogen*. 2006; 25: 5341-9.
4. Szilard K, Leiderman YI, Mukai S. Diagnosis, classification, and treatment of retinoblastoma. *Int Ophthalmol Clin*. 2008; 48: 135-47.
5. Pascoto A. Retinoblastoma. September 12, 2012. Diunduh dari [www.emedicine.medscape.com](http://www.emedicine.medscape.com)
6. 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.
7. Meel R, Radhakrishnan V, Bakhshi S. Current therapy and recent advances in the management of retinoblastoma. *Indian J Med Paediatric Oncol*. 2012; 33: 80-8.
8. Soebagjo HD, Husein F, Notobroto HB, Sumitro SB. Histopathologic profile grading of haematoxyline eosin on retinoblastoma stadium. *J Oftalmol Indon*. 2011; 7: 195-9.
9. Hanovar SG. Retinoblastoma. They Live And See. *All India Ophthalmol Society*. 2012; 25: 39-40.
10. Adithi M, Nalini V, Kandalam M, Krishnakumar S. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in retinoblastoma. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2007; 29: 399-405.
11. Arean C, Orellana ME, Abourbih D, Abreu C, Pifano I, Burnier MN. Expression of vascular endothelial growth factor in retinoblastoma. *Arch Ophthalmol*. 2010; 128: 223-9.
12. Lee S, Jilani SM, Nikolova GV, Carpizo D, Iruela-Arispe ML. Processing of VEGF-A by matrix metalloproteinases regulates bioavailability and vascular patterning in tumors. *J Cell Biol*. 2005; 169: 681-91.
13. Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, Wildiers H, Van Oosterom AT, De Bruijn EA *et al*. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Pharmacol Rev*. 2004; 56: 549-80.
14. Lin Z, Hao S, Jia X. Detection of MMP-2, MMP-9 and VEGF in retinoblastoma and its significance. *Mod Med Health*. 2010;
15. Zhen GE, Yu-jun L, Bo L. Expression of MMP-9, TIMP-1 and VEGF in retinoblastoma and its clinical significance. *J Bengbu Med College*. 2009.

16. Roskoski R. VEGF signaling in tumor progression. *Critical Rev Oncol Hematol*. 2007; 62: 179-213.
17. Long H, Zhou B, Jiang FB. Expression of MMP -2 and MMP -9 in retinoblastoma and their significance. *Int J Ophthalmol*. 2011; 4: 489-91.
18. Jackovljevic G, Culic S, Stepan J, Kosuta I, Seiwerth S. Relationship between tumor vascularity and vascular endothelial growth factor as prognostic factors for patients with neuroblastoma. *Coll Antropol*. 2011; 35: 1071-9.
19. Kunishio K, Okada M, Matsumoto Y, Nagao S. Matrix Metalloproteinase-2 and -9 expression in astrocytic tumor. *Brain Tumor Pathol*. 2004; 20: 39-45.
20. Moreira IS, Fernandes PE, Ramos MR. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Inhibition-A Critical Review. *Anticancer Agents Med Chem*. 2007; 7: 223-45.
21. Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH. Angiogenic and cell survival functions of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). *J Cell Mol Med*. 2005; 9: 777-94.
22. Stricker TP, Kumar V. *Robbin and Cotran Pathologic Basic of Disease*, 8<sup>th</sup> ed, 2010. Philadelphia: Elsevier Inc; 2010.
23. Le Y, Quan SJ, Hong CY. Expression of p-STAT3, MMP-2 and VEGF in Retinoblastoma. Abstract. *J Shandong University*. 2009; 47: 113-6.
24. Marback EF, Arias VEA, Paranhos Jr A, Soares FA, Murphree AL, Erwenne CM. Tumour angiogenesis as a prognostic factor for disease dissemination in retinoblastoma. *Br J Ophthalmol*. 2003; 87: 1224-8.
25. Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *J Cell Mol Med*. 2005; 9: 267-85.
26. Kim K, Kim JW. Tumor Metastasis: Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9). *Bio Wave*. 2007; 9: 1-15.
27. Zheng H, Takahashi H, Murai Y, Cui Z, Nomoto K, Niwa H, *et al*. Expressions of MMP-2, MMP-9 and VEGF are closely linked to growth, invasion, metastasis and angiogenesis of gastric carcinoma. *Anticancer Res*. 2006; 26: 3579-84.
28. Mott JD, Werb Z. Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases. *Curr Opin Cell Biol*. 2004; 16: 558-64.