



## Patofisiologi dan Diagnosis Infiltrasi Leukemia Limfoblastik Akut ke Sistem Saraf Pusat

### *Pathophysiology and Diagnosis of Acute Lymphoblastic Leukemia Infiltration to the Central Nervous System*

Tika Adilistya

*Department of Clinical Pathology, Medical Staff, Dr Kanujoso Djatiwibowo Hospital, Balikpapan, Indonesia*

KATA KUNCI  
KEYWORDS

*Patofisiologi, Leukemia Limfoblastik Akut, Sistem Saraf  
Pathophysiology, Acute Lymphoblastic Leukemia, Nervous System*

ABSTRAK

*Leukemia limfoblastik akut (LLA) adalah keganasan hematologi yang disebabkan oleh proliferasi prekursor sel limfoid yang menyebabkan akumulasi sel blas di darah tepi dan sumsum tulang. Berbagai kemajuan dalam terapi, seperti targeted therapy, telah berhasil menurunkan angka kematian pasien dengan LLA. Salah satu komplikasi fatal LLA adalah keterlibatan sistem saraf pusat (SSP). Pasien dengan keterlibatan SSP seringkali underdiagnosed baik secara klinis maupun laboratoris. Peranan laboratorium sangat penting untuk deteksi keterlibatan SSP mengingat sulitnya gejala klinis tidak khas bahkan sebagian pasien justru asimtomatis. Dengan adanya deteksi dini, pasien dapat diberikan terapi profilaksis sehingga angka kesintasan meningkat.*

*Meskipun memiliki banyak kelemahan, pemeriksaan sitologi pada spesimen sitosentrifugasi masih dipertimbangkan sebagai baku emas untuk diagnosis infiltrasi sel leukemik pada SSP. Pemeriksaan lain seperti immunophenotyping flow cytometry (FCM) dan polymerase chain reaction (PCR) memiliki nilai diagnostik yang dua kali lipat lebih baik apabila digunakan secara kombinasi dengan sitologi, namun tidak dapat menggantikan peran pemeriksaan sitologi. FCM dan PCR bermanfaat apabila volume sampel CSS atau jumlah sel pada CSS sangat sedikit. Hingga saat ini belum ada penanda biokimiawi yang handal untuk mendeteksi leukemia SSP.*

ABSTRACT

*Acute lymphoblastic leukemia (LLA) is a hematologic malignancy caused by the proliferation of lymphoid cell precursors that cause blast cell accumulation in peripheral blood and bone marrow. Various advances in therapy, such as targeted therapy, have managed to reduce the mortality rate of patients with LLA. One of the fatal complications of LLA is central nervous system involvement (CNS). Patients with CNS involvement are often underdiagnosed both clinically and laboratory. The role of the*

*laboratory is essential for detection of CNS involvement as the difficulty of clinical symptoms is not typical even some patients are asymptomatic. With early detection, patients can be given prophylactic therapy so that the survival rate increases. Despite its many weaknesses, cytologic examination of cytosentrifugation specimens is still considered the gold standard for the diagnosis of leukemic cell infiltration in the CNS. Other tests such as immunophenotyping flow cytometry (FCM) and polymerase chain reaction (PCR) have twice as many diagnostic values when used in combination with cytology, but can not replace the role of cytologic examination. FCM and PCR are useful when CSS sample volume or cell number in CSS is very small. Until now there has been no reliable biochemical marker to detect leukemia SSP.*

## PENDAHULUAN

Leukemia limfoblastik akut (LLA) adalah penyakit keganasan hematologi yang disebabkan oleh proliferasi prekursor sel limfoid yang menyebabkan akumulasi sel blas di darah tepi dan sumsum tulang. LLA dapat terjadi pada anak-anak maupun dewasa. Berbeda dengan anak-anak, LLA pada dewasa cenderung memiliki prognosis yang buruk. Berbagai kemajuan dalam terapi, seperti *targeted therapy*, telah berhasil menurunkan angka kematian pasien dengan LLA. Keterlibatan sistem saraf pusat (SSP) merupakan salah satu komplikasi fatal LLA. Pasien dengan keterlibatan SSP seringkali *underdiagnosed* baik secara klinis maupun laboratoris. Peranan laboratorium sangat penting untuk deteksi keterlibatan SSP mengingat sulitnya mengandalkan evaluasi klinis. Dengan adanya deteksi dini, pasien dapat diberikan terapi profilaksis sehingga angka kesintasan meningkat (Del Principe MI *et al.*, 2014).

Prosedur diagnostik rutin yang selama ini dikerjakan yaitu sitologi cairan serebrospinal (CSS) memiliki beberapa kelemahan. Oleh karena itu telah banyak dikembangkan metode

baru seperti *flow cytometry*, genetika molekular, serta penanda-penanda biokimiawi. Pada makalah ini akan dibahas mengenai struktur anatomi leptomeninges dalam kaitannya dengan leukemia SSP, patofisiologi dan manifestasi klinis leukemia SSP, serta diagnosis infiltrasi sel leukemik pada SSP.

## Definisi

Leukemia SSP adalah invasi sel leukemia pada leptomeninges dengan atau tanpa infiltrasi jaringan saraf yang terbatas. Dari berbagai penelitian, invasi sel leukemia pada SSP mengikuti suatu pola anatomik tertentu yang dapat diprediksi, baik pada lesi maupun manifestasi klinisnya. Invasi sel leukemia dapat terjadi pada saat diagnosis leukemia ditegakkan maupun sesudahnya (relaps) (Mastrangelo *et al.*, 2012).

*Correspondence:*

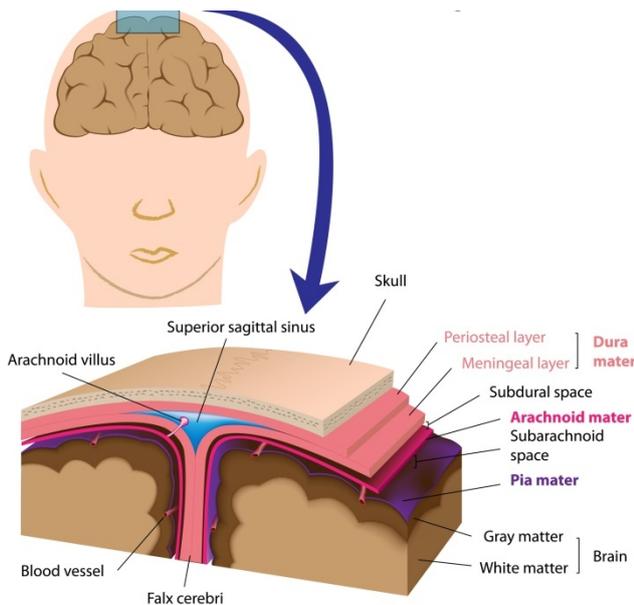
Tika Adilistya

Department of Clinical Pathology, Dr Kanujoso Djatiwibowo General Hospital, Balikpapan, Indonesia

Email: dr.adilistya@gmail.com

## Anatomi

Leptomeninges terdiri atas arachnoid dan piamater. Arachnoid terdiri atas dua bagian yaitu: membran permukaan dan jaringan ikat trabekula, di dalamnya terdapat pembuluh darah dan serabut saraf, dan kanal mesothelial berlapis sebagai tempat mengalirnya CSS (Mastrangelo *et al.*, 2012).



Gambar 1. Struktur meninges.

Membran arachnoid memiliki dua bagian yaitu: *Superficial portion*, yang menutupi permukaan otak, dan *deep portion*, yang mengelilingi pembuluh darah otak dan membentuk ruang perivaskular (Virchow-Robin). Sebagian besar kanal CSS, termasuk sisterna besar, berlokasi di *superficial portion*. Kanal-kanal tersebut tidak terlihat pada *deep portion*. Perbedaan anatomis antara kedua bagian tersebut perlu dipahami dalam kaitannya dengan terapi leukemia SSP, dimana kanal-kanal CSS pada *superficial portion* merupakan jalur utama pasase obat-obat intratekal (Mastrangelo *et al.*, 2012).

Jaringan SSP dibungkus erat oleh membran pial-gliial yang memisahkan arachnoid dari jaringan saraf. Membran ini memanjang ke dalam hingga ke parenkim otak dan bergabung dengan adventitia (bagian luar pembuluh darah) dari arteriole prekapiler dan venula postkapiler. Pada kapiler-kapiler inilah terdapat sawar darah otak atau *blood-brain barrier* (BBB). (Mastrangelo *et al.*, 2012)

## Patogenesis

Ditemukannya sel leukemik pada dinding pembuluh darah leptomeningeal oleh Dr. Fried pada tahun 1926 mengarah pada hipotesis bahwa sel-sel yang bersirkulasi mengalir di pembuluh darah dan menginvasi jaringan otak di sekitarnya. Sel leukemik yang berada di dinding vena pada leptomeninges superfisial merupakan temuan histologik pertama pada leukemia SSP. Dari gambaran klinis yang dikaitkan dengan temuan otopsi, disimpulkan bahwa invasi leptomeninges superfisial dapat terjadi pada saat diagnosis leukemia ditegakkan, atau sesaat sesudahnya.

Selama fase awal infiltrasi, hanya *superficial portion* dari leptomeninges yang terkena, sedangkan *deep portion* sepanjang pembuluh darah di dalam *gray matter* dan *white matter* masih bebas dari sel leukemik. Trabekula arachnoid masih intak dan CSS masih bersih dari sel ganas. (Mastrangelo *et al.*, 2012). Infiltrasi sel leukemik pada akhirnya akan menyebabkan destruksi pada trabekula yang diikuti terlepasnya sel leukemik ke CSS. Pada keadaan ini, diagnosis sitologik leukemia SSP dimungkinkan.

Schwab dan Weiss pada tahun 1935 menyimpulkan bahwa pemeriksaan CSS dapat mendiagnosis leukemia meningeal meskipun gejala klinis penyakit SSP belum tampak. Saat ini, pemeriksaan sitologi CSS merupakan prosedur rutin dan wajib dilakukan dalam tatalaksana LLA pada anak (Mastrangelo *et al.*, 2012).

Dengan semakin banyaknya sel leukemik yang menginvasi, arachnoid menjadi padat oleh sel-sel yang selanjutnya akan menjangkau *deep portion*, sampai ke bagian terjauh yaitu arteriole prekapiler dan venula postkapiler. Proses ini merupakan tahapan lanjut leukemia meningeal, dimana infiltrasi sel leukemik telah terjadi secara ekstraneural, terpisah dari parenkim oleh membran pial-glial. Pada keadaan ini, usaha pemberian obat tidak larut lemak melalui BBB menuju jaringan otak kemungkinan besar tidak efektif sebab pada sebagian besar kasus, sel-sel leukemik lebih banyak berada di meninges daripada di jaringan neural itu sendiri (Mastrangelo *et al.*, 2012).

Tahap akhir leukemia SSP terjadi apabila massa sel yang besar telah mendestruksi membran pial-glial sehingga akhirnya menginfiltrasi parenkim otak. Dari penelitian post mortem, gambaran seperti ini hanya terjadi pada kurang dari 15% anak dengan leukemia yang meninggal pada saat relaps (Mastrangelo *et al.*, 2012).

### Gambaran klinis

Terdapat lima fase leukemia meningeal, yaitu:

1. Destruksi trabekula arachnoid oleh sel-sel yang menginfiltrasi  
Dari anak-anak dengan leukemia yang ditemukan sel blas pada pemeriksaan pungsi lumbal rutin,

sebanyak 90% tidak menunjukkan gejala leukemia meningeal. Destruksi trabekula oleh sel leukemik akan diikuti oleh lepasnya sel leukemik ke CSS, sehingga dapat terdeteksi melalui pemeriksaan sitologi.

2. *Palsy* saraf kranial

Seluruh struktur yang masuk dan keluar dari otak harus berjalan melalui leptomeninges sehingga dapat terdampak apabila terjadi gangguan pada ruang subarachnoid. Saraf kranial dan spinal sangat rentan terhadap penyakit arachnoid dan dapat terdampak setidaknya melalui dua cara. Pertama, kompresi pada pembuluh darah di sekelilingnya sehingga menyebabkan iskemia. Kedua, infiltrasi langsung pada serabut saraf. Obstruksi aliran CSS

3. Obstruksi aliran CSS

Obstruksi aliran CSS hanya terjadi setelah trabekula arachnoid menjadi bengkak akibat penumpukan sel leukemik dan kanal CSS menjadi terkompresi atau rusak. Peningkatan pemakaian kemoterapi intratekal terbukti dapat menurunkan angka kejadian hidrosefalus secara dramatis.

4. Ensefalopati hipoperfusi

Oleh karena jaringan arachnoid menempati ruang yang terbatas, pembuluh darah di dalamnya dapat terkompresi oleh adanya penumpukan massa sel leukemik. Gangguan sirkulasi akibat kompresi pembuluh darah tersebut dapat menyebabkan leukemia arachnoid yang masif. Dari berbagai penelitian mengarah pada kesimpulan bahwa manifestasi neurologis yang timbul dapat dijelaskan melalui mekanisme

ensefalopati hipoperfusi ini. Defisit neurologis, baik sementara maupun menetap, tergantung pada faktor-faktor seperti durasi dan derajat hipoperfusi serta ada tidaknya sirkulasi kolateral setempat.

5. Destruksi membran pial-glial dan infiltrasi leukemik ke jaringan neural secara langsung

Penelitian postmortem menunjukkan bahwa sel leukemik secara langsung menginfiltrasi jaringan neural hanya apabila membran pial-glial telah terdestruksi. Terdapat hubungan antara derajat keparahan leukemia arachnoid secara histopatologik dengan jumlah relaps leukemia SSP klinis sebelumnya. Pasien dengan leukemia meningeal ekstensif biasanya telah mengalami tiga sampai empat kali relaps dibanding pasien tanpa leukemia meningeal.

### Faktor risiko

Telah diidentifikasi beberapa faktor risiko yang berhubungan dengan keterlibatan SSP pada LLA. Secara epidemiologis, insidens leukemia SSP lebih tinggi pada dewasa muda.

Pasien LLA dengan imunofenotipe sel B matur, atau LLA-L3 berdasarkan klasifikasi FAB, memiliki risiko tinggi mengalami keterlibatan SSP, dimana 12-42% pasien telah mengalaminya pada saat terdiagnosis LLA. Pasien tersebut juga lebih berisiko mengalami relaps SSP, yang terjadi pada 17-57% pasien. Imunofenotipe sel T juga berhubungan dengan risiko tinggi mengalami leukemia SSP (Alvarez RH *et al.*, 2008).

Translokasi t(9,22) (q34;q11.2), yang merepresentasikan kromosom Philadelphia (Ph+), terjadi pada 3-5%

anak dan 20-30% dewasa dengan LLA. Adanya kromosom Ph+ merupakan risiko tinggi terhadap keterlibatan SSP (Alvarez RH *et al.*, 2008).

Pada saat diagnosis, pasien leukemia dengan keterlibatan SSP cenderung telah mengalami pembesaran limfonodi, massa mediastinum, dan lokalisasi ekstrapedular lainnya. Peningkatan aktivitas laktat dehidrogenase (LDH), fosfatase alkali, asam urat, kadar  $\beta$ 2-mikroglobulin serum, dan tingginya laju proliferasi sel leukemik berhubungan dengan tingginya risiko berkembang menjadi leukemia SSP. Dari suatu analisis multivariat, LDH merupakan prediktor terbaik risiko SSP pada LLA. Pasien dengan satu faktor risiko memiliki probabilitas sebesar 13% untuk menjadi leukemia SSP dalam waktu satu tahun, namun apabila terdapat dua atau lebih faktor risiko, probabilitasnya meningkat menjadi lebih dari 20% (Del Principe MI *et al.*, 2014 & Alvarez RH *et al.*, 2008).

Di antara seluruh faktor risiko tersebut, adanya sel blas pada CSS merupakan faktor risiko yang paling krusial. Pasien dikatakan berisiko mengalami relaps SSP apabila terdeteksi sel blas pada CSS yang diikuti jumlah sel leukosit CSS lebih dari 5 sel/ $\mu$ L. Di sisi lain dikatakan bahwa ditemukannya sel blas pada CSS, tanpa memandang berapapun jumlah leukositnya, berhubungan dengan peningkatan risiko relaps SSP. Berdasarkan hal tersebut, disusun sebuah skor risiko yaitu: CNS1, tidak ditemukan sel blas pada CSS; CNS2, ditemukan sel blas pada CSS, jumlah leukosit <5 sel/ $\mu$ L; dan CNS3, jumlah leukosit  $\geq$ 5 sel/ $\mu$ L bersamaan dengan ditemukannya sel blas, atau tampak

adanya massa otak, atau *palsy* saraf kranial. Relevansi skor risiko SSP tersebut masih menjadi perdebatan mengingat tidak adanya perbedaan yang bermakna pada keluaran pasien, khususnya pasien CNS1 versus CNS2 (Del Principe MI *et al.*, 2014).

Terjadinya pungsi lumbal yang traumatik diikuti dengan penemuan sel blas pada CSS juga dihubungkan dengan peningkatan risiko relaps SSP, namun kemaknaan klinisnya masih belum jelas dan kontroversial (Del Principe MI *et al.*, 2014). Pungsi lumbal traumatik didefinisikan sebagai adanya lebih dari 10 eritrosit per  $\mu\text{L}$  CSS. Gajar *et al* melaporkan suatu kasus mengenai dampak buruk pungsi lumbal traumatik terhadap keluaran terapi anak dengan LLA. Angka kesintasan pasien dengan sampel CSS terkontaminasi blas lebih buruk dibanding pasien dengan sampel CSS tanpa kontaminasi. Pasien dengan riwayat lumbal pungsi traumatik memiliki angka kesintasan yang lebih rendah secara bermakna. Oleh karena itu, penting diingat bahwa pungsi lumbal harus dikerjakan oleh klinisi yang berpengalaman, khususnya pada saat diagnosis dimana jumlah sel blas di sirkulasi darah tepi sangat tinggi (Alvarez RH *et al.*, 2008).

### Diagnosis

Sebagian kasus keterlibatan SSP pada LLA tidak terdiagnosis karena tidak adanya gejala neurologis yang khas padahal sebenarnya telah terjadi infiltrasi sel leukemik ke SSP. Oleh karena itu, diagnosis dini keterlibatan SSP sangat penting karena kondisi ini secara umum akan merespon baik dengan kombinasi obat intratekal dan radioterapi. Terdapat tiga metode baku untuk mendeteksi leukemia SSP yang

telah diterapkan di negara-negara Eropa Utara yaitu pemeriksaan CSS yang meliputi hitung leukosit dan sitologi, pemeriksaan neurologik, dan MRI apabila ada gejala neurologik. Pemeriksaan lain yang banyak dikembangkan adalah *immunophenotyping flow cytometry* (FCM) dan penanda-penanda biokimiawi (Del Principe MI *et al.*, 2014, Hansen PB *et al.*, 1992, Ranta S *et al.*, 2015).

### Evaluasi klinis

Seperti telah diterangkan sebelumnya, manifestasi klinis keterlibatan SSP pada LLA sangat bervariasi tergantung besar kecilnya infiltrasi leukemik, lokasi, dan banyak sedikitnya lokasi yang terlibat. Infiltrasi leukemik ke otak menyebabkan nyeri kepala, gangguan status mental, abnormalitas cara berjalan, mual muntah, hilang kesadaran, kejang, gangguan sensorik, dan papiledema. Infiltrasi leukemik ke saraf kranial dapat menyebabkan diplopia, gangguan pendengaran, gangguan penglihatan, dan disfagia (Del Principe MI *et al.*, 2014). Keterlibatan spinal dapat menyebabkan kelemahan fokal (lebih sering pada tungkai daripada lengan), paraestesia, nyeri punggung, nyeri radikular, disfungsi kandung kemih dan saluran cerna. Interpretasi gejala neurologis ini cukup sulit, mengingat beberapa gejala dapat juga timbul karena penyebab lain, baik yang berhubungan maupun tidak berhubungan dengan LLA, seperti hiperleukositosis, ensefalopati metabolik, neuropati terkait terapi, dan infeksi oportunistik. Selain itu perlu diingat bahwa sebagian besar pasien tetap asimtomatik sampai ditemukannya sel blas pada

pemeriksaan rutin CSS (Del Principe MI *et al.*, 2014).

### Neuroradiologi

Beberapa pemeriksaan radiologi yang dapat dilakukan pada pasien dengan dugaan keterlibatan SSP antara lain: CT-scan otak dan *magnetic resonance imaging* (MRI) (Del Principe MI *et al.*, 2014). MRI dengan gadolinium merupakan metode *neuroimaging* yang disarankan untuk investigasi pasien dengan dugaan keterlibatan SSP pada tumor padat, namun dari beberapa penelitian dilaporkan bahwa MRI memiliki keterbatasan untuk mendeteksi infiltrasi SSP pada keganasan hematologik. (Galati D *et al.*, 2013)

### Pemeriksaan cairan serebrospinal

Pemeriksaan sitologi CSS merupakan baku emas untuk diagnosis keterlibatan SSP pada LLA. Selain itu, abnormalitas yang dapat ditemukan antara lain: peningkatan tekanan bukaan (>200 mmH<sub>2</sub>O), peningkatan protein (>50 mg/dL), penurunan glukosa (<60 mg/dL), dan peningkatan jumlah leukosit (>5 sel/ $\mu$ L), dimana hal-hal tersebut hanya bersifat sugestif, bukan diagnostik, terhadap leukemia SSP. Dari sebuah penelitian disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna pada kadar protein total, jumlah leukosit, dan jumlah eritrosit CSS pada pasien dengan dan tanpa keterlibatan SSP. (Del Principe MI *et al.*, 2014, Chamberlain MC *et al.*, 2009)

Pungsi lumbal wajib dikerjakan apabila secara klinis dan teknis memungkinkan. Waktu yang tepat untuk dilakukan pemeriksaan CSS antara lain:

1. Saat pasien baru terdiagnosis, dengan tujuan untuk penapisan

dan perlu tidaknya terapi profilaksis intratekal,

2. Saat pasien terdiagnosis mengalami relaps medular dan/atau ekstramedular
3. Saat secara klinis dicurigai terjadi infiltrasi leukemik ke SSP. (Cancela CSP *et al.*, 1980)

Ditemukannya sel leukemik pada CSS adalah diagnostik terhadap keterlibatan SSP. Leukemia SSP didefinisikan sebagai ditemukannya bukti morfologik yang jelas adanya blas leukemik pada CSS dan/atau hitung sel mononuklear  $\geq 5$  sel/ $\mu$ L. Pemeriksaan morfologik dilakukan pada preparat sitosentrifugasi yang dipulas dengan Wright. Teknik yang dinamakan sitologi konvensional ini memiliki spesifisitas ~100% namun sensitivitasnya sangat rendah (<50%). Angka negatif palsu dilaporkan mencapai 40%. Rendahnya sensitivitas disebabkan sedikitnya jumlah sel di CSS dan kesamaan morfologi sel ganas dengan limfosit reaktif yang menyebabkan sulitnya identifikasi morfologi. Kurangnya standarisasi teknik dalam memperoleh spesimen serta mengevaluasi sitologi CSS juga berkontribusi pada rendahnya sensitivitas pemeriksaan sitologi CSS. Hal ini dapat diperbaiki dengan memastikan kondisi yang optimal pada saat pengambilan sampel dan evaluasi. Jika kecurigaan cukup kuat terhadap keterlibatan SSP, pungsi lumbal dapat diulang sampai tiga kali. (Del Principe MI *et al.*, 2014, Alvarez RH *et al.*, 2008)

Dari suatu analisis prospektif terhadap 39 pasien meningitis neoplastik, dapat diidentifikasi empat penyebab utama kesalahan, yaitu: volume sampel kurang, penundaan pemeriksaan (lebih dari 2 jam), pengambilan CSS terlalu jauh dari

lokasi timbulnya gejala, dan pengambilan kurang dari dua spesimen. Diagnosis awal keterlibatan SSP sangat reliabel untuk ditegakkan apabila:

1. volume sampel CSS sedikitnya 10,5 mL,
2. CSS diambil dari lokasi yang dekat dengan penyakit, baik secara klinis maupun radiologis
3. spesimen dikerjakan sesegera mungkin
4. setidaknya dua sampel CSS diambil. Luruhnya sel ganas ke CSS dapat terjadi secara intermiten dan hanya dalam jumlah kecil sehingga terkadang spesimen yang diambil gagal menangkap sel ganas tersebut. (Galati D *et al.*, 2013, Chamberlain MC *et al.*, 2009)

### ***Immunophenotyping menggunakan flow cytometry***

*Immunophenotyping* menggunakan *flow cytometry* (FCM) merupakan pemeriksaan yang sangat sensitif untuk diagnosis dan *staging* penyakit hematologik yang melibatkan limfonodi, darah, dan sumsum tulang. Pemeriksaan menggunakan spesimen darah dan sumsum tulang telah rutin dikerjakan, namun penggunaan CSS sebagai spesimen masih jarang. Pemeriksaan ini hanya membutuhkan sampel CSS sebanyak 1,2-5 mL saja serta mampu mengidentifikasi sel ganas meskipun jumlah sel dalam spesimen sangat sedikit. Spesimen dimasukkan ke dalam tabung tanpa antikoagulan dan dibawa ke laboratorium sesegera mungkin. CSS harus langsung dipreparasi dalam satu jam untuk mencegah kerusakan sel.

Untuk mendapatkan jumlah sel yang maksimal untuk analisis, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan rendah. Salah satu hal yang masih kontroversial mengenai penggunaan FCM adalah penentuan positivitas sebagai bukti infiltrasi SSP. Di Noto dkk menggunakan nilai potong 30 *events*, sedangkan Qujiano dkk memakai 10 *events*. Subira dkk menyarankan setidaknya 9 *events* sel B atau 12 *events* sel T. (Del Principe MI *et al.*, 2014, Ranta S *et al.*, 2015, Chamberlain MC *et al.*, 2009, Cancela CSP *et al.*, 1980)

Deteksi populasi sel leukemik adalah berdasarkan ekspresi CD19, CD34, CD22, dan HLA-DR (Del Principe MI *et al.*, 2014). CSS normal tidak mengandung TdT+ (*terminal deoxynucleotidyl transferase*) atau sel progenitor CD34+. Ekspresi kedua protein tersebut menandakan adanya infiltrasi leukemik. Penggunaan TdT memiliki nilai prognostik yang tinggi dan bersifat melengkapi pemeriksaan sitologi. Sebaliknya, pasien dengan pleositosis (peningkatan jumlah leukosit) CSS dan/atau ditemukannya sel curiga ganas pada CSS namun negatif terhadap TdT tidak terbukti akan mengalami keterlibatan SSP. Oleh karena itu, pemeriksaan *immunophenotyping* menggunakan TdT merupakan uji yang sensitif untuk deteksi dini leukemia SSP sekaligus untuk eksklusi leukimia SSP pada pasien dengan peningkatan limfosit reaktif pada CSS. Sangat disarankan penambahan TdT pada pemeriksaan *immunophenotyping* pada pemeriksaan *work-up* diagnostik rutin saat diagnosis dan pemantauan LLA. (Alvarez RH *et al.*, 2008)

Untuk meningkatkan sensitivitas FCM dan menghasilkan lebih banyak informasi, sebaiknya digunakan 6-9

antibodi monoklonal. Secara umum, FCM lebih sensitif dibandingkan sitologi konvensional untuk deteksi sel ganas pada CSS. (Del Principe MI *et al.*, 2014)

### Diagnostik molekular

Penggunaan teknik biologi molekular telah banyak diteliti untuk diaplikasikan pada sampel CSS dengan harapan dapat meningkatkan akurasi diagnostik keterlibatan SSP pada berbagai keganasan hematologik termasuk LLA. Sulitnya membedakan morfologi sel, khususnya sel leukemik dan limfosit atipik, merupakan salah satu kelemahan pemeriksaan sitologi. Teknik molekular berbasis DNA mengidentifikasi DNA spesifik tumor sehingga tidak membutuhkan sel yang intak. DNA bersifat stabil dan masih dapat diambil dari sampel CSS meskipun sel telah lisis dan jumlah sel dalam sampel sedikit sehingga pemeriksaan ini sangat menguntungkan dalam praktik klinis karena lebih sensitif. Dari berbagai penelitian dilaporkan bahwa *polymerase chain reaction* (PCR) pada CSS merupakan pemeriksaan yang mampu laksana dalam praktik klinis sehingga dapat digunakan sebagai pemeriksaan komplementer untuk sitologi konvensional. (Galati D *et al.*, 2013)

Pine dkk meneliti penggunaan *real-time* PCR terhadap sampel CSS sebanyak 1 mL. Sebagai target digunakan *gene arrangement* dari *leukemia clone-specific antigen receptor*, yaitu IgH klonal, TCR $\delta$ , dan TCR $\gamma$ . Limit sensitivitas adalah  $1 \times 10^{-4}$ . Didapatkan hasil sebanyak 3 dari 23 pasien CNS1, 1 dari 4 pasien CNS2, dan 1 dari 1 pasien CNS3 adalah PCR positif. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa PCR memiliki kemampuan

mendeteksi leukemia SSP yang masih samar (*occult CNS leukemia*). Penggunaan PCR bersama dengan sitologi dapat meningkatkan akurasi diagnostik leukemia SSP dibandingkan dengan penggunaan sitologi saja. (Pine SR *et al.*, 2005)

### Penanda biokimiawi

Berbagai penanda biokimiawi telah banyak dievaluasi untuk mendeteksi keterlibatan SSP pada keganasan hematologik namun belum direkomendasikan dalam praktik klinis. Dari berbagai penanda tersebut, belum ada satu pun yang terbukti bermanfaat untuk keperluan diagnostik. Beberapa penanda yang banyak diteliti adalah  $\beta$ 2-mikroglobulin dan *soluble* CD27. Selain itu masih banyak lagi penanda lain yang sedang banyak diteliti seperti fibronektin, berbagai interleukin, serta reseptor-reseptor kemokin.

#### 1. $\beta$ 2-mikroglobulin

$\beta$ 2-mikroglobulin (B2M) adalah protein berat molekul rendah (11,8 kDa), antigen HLA MHC, yang disintesis sekaligus ditemukan pada permukaan semua sel berinti, khususnya sel limfatik. B2M dapat ditemukan pada darah, urin, saliva, CSS, serta cairan tubuh lainnya. Fungsi sebenarnya dari B2M belum diketahui secara pasti. B2M difiltrasi bebas oleh glomerulus, secara normal sekitar 99% akan direabsorpsi di tubulus proksimal. (Hansen PB *et al.*, 1992, Pagana KD & Pagana TJ 2009)

Produksi protein ini akan meningkat seiring dengan peningkatan *turnover* sel. Kadar B2M serum meningkat pada pasien dengan keganasan, khususnya limfoma sel B, leukemia, atau

mieloma), infeksi kronik, dan pasien dengan penyakit inflamasi kronik. B2M merupakan penanda yang akurat terhadap aktivitas mieloma, penentuan stadium serta prognosis. Peningkatan kadar B2M pada CSS mengindikasikan keterlibatan SSP pada pasien dengan leukemia, limfoma, HIV, atau sklerosis multiple (Pagana KD & Pagana TJ 2009). Pada cairan tubuh, selain darah dan urin, kadar B2M tampaknya menggambarkan produksi lokal. Oleh karena itu beberapa penelitian gagal mendapatkan korelasi yang baik antara kadar B2M serum dan CSS. Hal ini mengindikasikan bahwa SSP merupakan kompartemen lokal yang memproduksi B2M secara independen (Hansen PB *et al.*, 1992). Nilai rujukan B2M CSS adalah  $\leq 2,4$  mg/L. (Pagana KD & Pagana TJ 2009)

Dari penelitian Hansen dkk disimpulkan bahwa penggunaan B2M CSS sebagai pemeriksaan tunggal secara serial memiliki manfaat dan sensitivitas yang tinggi untuk mendeteksi keterlibatan SSP. Dengan menggunakan nilai potong B2M CSS 160 nmol/L, didapatkan sensitivitas 100% dan spesifisitas 76%, sedangkan apabila menggunakan rasio B2M CSS/serum  $>1$  didapatkan sensitivitas 75% dan spesifisitas 64%. Selain untuk deteksi dini infiltrasi leukemik ke SSP, B2M CSS

juga dilaporkan memiliki manfaat untuk deteksi relaps SSP dan pemantauan terapi intratekal. (Hansen PB *et al.*, 1992 & Cancela CSP *et al.*, 1980)

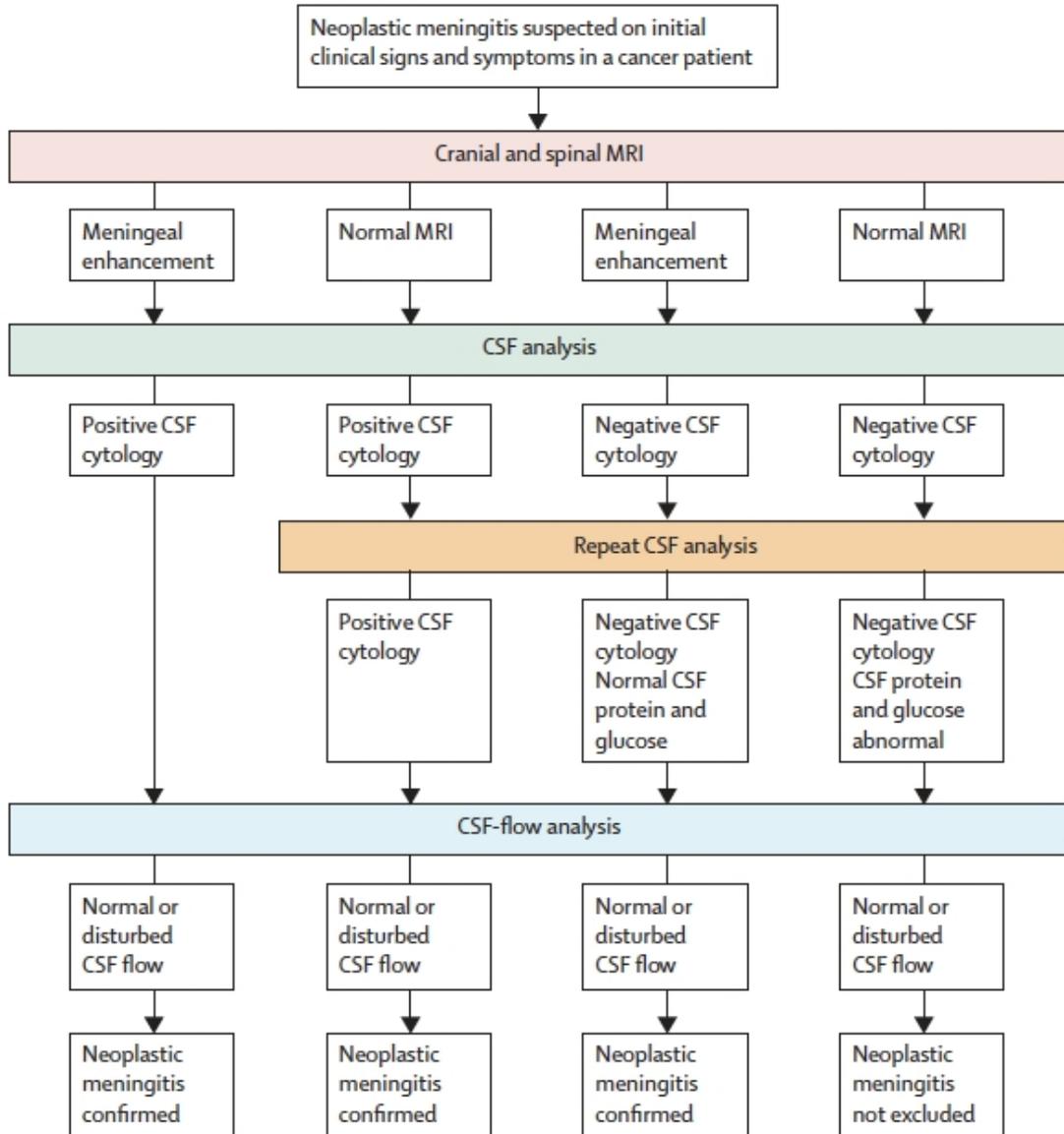
## 2. Soluble CD27

CD27 adalah protein homodimer dengan berat molekul 55 kDa yang terdapat pada sel T dan sel B di darah tepi. Aktivasi sel T via kompleks TCR/CD3 menyebabkan upregulasi ekspresi CD27 pada membran sel sehingga dilepaskanlah *soluble* CD27 (sCD27) dengan berat molekul 32 kDa. sCD27 dapat dideteksi pada limfosit yang teraktivasi serta cairan tubuh seperti darah, urin, dan CSS. Peningkatan ringan kadar sCD27 ditemukan pada serum dan CSS pasien dengan berbagai kondisi imunopatologis seperti sklerosis multipel dan HIV.

Dari penelitian Kersten dkk, disimpulkan bahwa kadar sCD27 CSS bermanfaat baik untuk diagnosis maupun pemantauan terapi pasien dengan keterlibatan SSP pada keganasan limfoid. Sensitivitas dan spesifisitasnya juga lebih tinggi dibandingkan pemeriksaan B2M CSS. Apabila kadar sCD27 normal, kemungkinan kecil terjadi infiltrasi sel leukemik ke SSP. (Kersten MJ *et al.*, 1996)

## Algoritma diagnosis

Berikut ini adalah pendekatan diagnosis leukemia SSP oleh Chamberlain dkk.



Gambar 2. Pendekatan Diagnosis Leukemia

## KESIMPULAN

Mengingat banyaknya kasus *occult* leukemia SSP, deteksi dini menjadi sangat penting agar pasien segera mendapat terapi profilaksis. Meskipun memiliki banyak kelemahan, pemeriksaan sitologi pada spesimen sitosentrifugasi masih dipertimbangkan sebagai “baku emas” untuk diagnosis infiltrasi sel leukemik pada SSP. Pemeriksaan lain seperti *immunophenotyping flow cytometry* (FCM) dan *polymerase chain reaction*

(PCR) memiliki nilai diagnostik yang dua kali lipat lebih baik apabila digunakan secara kombinasi dengan sitologi, namun tidak dapat menggantikan peran pemeriksaan sitologi. FCM dan PCR bermanfaat apabila volume sampel CSS atau jumlah sel pada CSS sangat sedikit. Hingga saat ini belum ada penanda biokimiawi yang handal untuk mendeteksi leukemia SSP.

## KEPUSTAKAAN

- Alvarez RH, Cortes JE. Central Nervous System Involvement in Adult Acute Lymphocytic Leukemia. *Acute Leukemias*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2008:263-274.
- Cancela CSP, Murao M. Central nervous system involvement in acute lymphoblastic leukemia: diagnosis by immunophenotyping. *New England Journal of Medicine*. 1980;303(13):718-722.
- Chamberlain MC, Glantz M, Groves MD, Wilson WH. Diagnostic tools for neoplastic meningitis: detecting disease, identifying patient risk, and determining benefit of treatment. *Seminars in oncology*. Aug 2009;36(4 Suppl 2):S35-45.
- Del Principe MI, Maurillo L, Buccisano F, et al. Central Nervous System Involvement in Adult Acute Lymphoblastic Leukemia: Diagnostic Tools, Prophylaxis, and Therapy. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*. 2014;6(1).
- Galati D, Di Noto R, Del Vecchio L. Diagnostic strategies to investigate cerebrospinal fluid involvement in haematological malignancies. *Leukemia Research*. 3 / / 2013;37(3):231-237.
- Gleissner B, Chamberlain MC. Neoplastic meningitis. *The Lancet Neurology*. 5(5):443-452.
- Hansen PB, Kjeldsen L, Dalhoff K, Olesen B. Cerebrospinal fluid beta-2-microglobulin in adult patients with acute leukemia or lymphoma: a useful marker in early diagnosis and monitoring of CNS-involvement. *Acta Neurologica Scandinavica*. 1992;85(3):224-227.
- Kersten MJ, Evers LM, DelleMijn PL, et al. Elevation of cerebrospinal fluid soluble CD27 levels in patients with meningeal localization of lymphoid malignancies. *Blood*. Mar 1 1996;87(5):1985-1989.
- Mastrangelo R, Poplack DG, Riccardi R. *Central Nervous System Leukemia: Prevention and Treatment*. Springer Netherlands; 2012.
- Pagana KD, Pagana TJ. *Mosby's Manual of Diagnostic and Laboratory Tests*. Mosby/Elsevier; 2009.
- Pine SR, Yin C, Matloub YH, et al. Detection of central nervous system leukemia in children with acute lymphoblastic leukemia by real-time polymerase chain reaction. *The Journal of molecular diagnostics : JMD*. Feb 2005;7(1):127-132.
- Ranta S, Nilsson F, Harila-Saari A, et al. Detection of central nervous system involvement in childhood acute lymphoblastic leukemia by cytomorphology and flow cytometry of the cerebrospinal fluid. *Pediatric blood & cancer*. Jun 2015;62(6):951-956.
- Samuel L. The meninges of the central nervous system. *Human Anatomy, Nervous System*. Vol 582012:1371-1372.