

Molekul Regulator Gen “microRNA”: Peranan pada Karsinogenesis dan Potensinya sebagai Marker Keganasan

Aina Angelina

Ria Kodariah

Departemen Patologi Anatomik
Fakultas Kedokteran
Universitas Indonesia

ABSTRAK

MicroRNA (miRNA) merupakan molekul RNA berukuran kecil yang tidak ditranslasikan menjadi protein dan terdapat pada seluruh sel eukariot. Peran miRNA adalah meregulasi ekspresi gen pada berbagai proses biologis meliputi siklus sel, diferensiasi, proliferasi, dan apoptosis. Struktur miRNA matang dengan panjang 22 nukleotida berikatan spesifik dengan mRNA target untuk meregulasi gen secara negatif melalui mekanisme *post transcriptional gene silencing* berupa degradasi mRNA atau penekanan translasi mRNA target. Beberapa miRNA diketahui meregulasi molekul aktivator dan inhibitor pada tiap tahapan siklus sel. Faktor-faktor genetik maupun epigenetik dapat mempengaruhi ekspresi miRNA. Abnormalitas ekspresi miRNA ditandai dengan perubahan kadaranya pada berbagai penyakit dan kanker. Pada kanker didapatkan peningkatan ekspresi miRNA tertentu yang berfungsi sebagai onkogen, atau penurunan ekspresi miRNA tertentu yang berfungsi sebagai supresor tumor. Berdasarkan sifatnya yang spesifik pada tumor tertentu, miRNA berpotensi sebagai marker diagnostik maupun prognostik. Metode hibridisasi *in situ* dapat memperlihatkan ekspresi miRNA pada jaringan kanker misalnya pada kanker kolorektal dan kanker gaster. Beberapa MiRNA juga telah diteliti pada tahap preklinik untuk penggunaannya sebagai terapi pada kanker.

Kata kunci : biomarker, kanker, microRNA.

PENDAHULUAN

Gen merupakan segmen DNA yang di dalamnya mengandung informasi yang akan diubah menjadi molekul fungsional pada makhluk hidup. Genom pada manusia hanya mengandung 1,5 % gen yang mengkode protein, sedangkan 98,5% gen lainnya tidak mengkode protein termasuk *non-protein coding* (ncRNA) dan diketahui memiliki aktivitas fungsional tertentu. Beberapa ncRNA yang telah diidentifikasi antara lain tRNA, rRNA: *small nucleolar RNA* (snRNA), *small nucleolar RNA* (snoRNA), *long ncRNA* (lncRNA), dan microRNA.¹⁻³

Micro RNA (miRNA) adalah RNA berukuran kecil terdiri atas 19-25 nukleotida dan terdapat pada seluruh eukariot. Fungsinya utamanya memodulasi translasi mRNA target melalui mekanisme *posttranscriptional gene silencing*.³ Sebanyak 2555 miRNA berhasil diidentifikasi pada genom manusia, dan sekitar 30%-80% mRNA pada manusia menjadi target miRNA. MiRNA berperan pada berbagai proses biologis seperti regulasi siklus sel, pertumbuhan, diferensiasi, serta apoptosis.^{4,5}

Pembentukan miRNA berlangsung melalui 2 tahapan, yaitu pada inti sel dan sitoplasma. Pada inti sel, gen *miRNA* ditranskripsikan menjadi *primary-miRNA* (pri-miRNA), kemudian diproses menjadi *precursor-miRNA* (pre-miRNA) dan selanjutnya ditranspor ke sitoplasma untuk dimatangkan sebagai miRNA matur dengan bantuan enzim *dicer*.⁶ MiRNA matang yang terdiri atas

rantai tunggal akan berikatan dengan berbagai agregat protein membentuk suatu kompleks yang disebut *RNA-induced silencing complex* (RISC) dimana miRNA dapat berikatan dengan *3' untranslated region* (3'-UTR) pada mRNA target. Ikatan komplementer yang sempurna menyebabkan degradasi mRNA dan ikatan yang tidak sempurna akan menghambat translasi protein.^{3,7}

Berbagai peristiwa genetik maupun epigenetik dapat mempengaruhi kadar miRNA, sehingga mengganggu fungsinya. Perubahan ekspresi miRNA pada jaringan tumor tertentu dibanding jaringan normal menjadi dasar berbagai studi untuk mempelajari keterlibatan miRNA pada karsinogenesis. Dua mekanisme keterlibatan miRNA pada karsinogenesis yaitu: ekspresi miRNA yang meningkat/*upregulation* pada kanker menunjukkan fungsinya sebagai onkogen, sedangkan ekspresinya yang menu run/*downregulation* pada kanker menjelaskan fungsinya sebagai supresor tumor.⁸

Penelitian pertama yang membuktikan keterlibatan miRNA pada kanker adalah penelitian Calin *et al*, (2002) yang dilanjutkan oleh Cimmino *et al*, (2006) yang menemukan bahwa miR-15a dan miR-16a yang memiliki target anti apoptotik BCL2, mengalami downregulasi pada pasien *Chronic Lymphocytic Leukemia* (CLL). Johnson *et al*, (2005) melaporkan downregulasi miRNA let-7 pada tumor paru, dimana let-7 meregulasi secara negatif protein onkogen RAS dan MYC dengan menekan translasi kedua protein tersebut. Perubahan ekspresi miRNA juga telah diteliti pada kanker payudara, kolon, tiroid, ovarium, sel germinal testis, hepar, dan lainnya.^{4,5,9}

Perubahan kadar miRNA pada kanker menjadi dasar pengembangan potensi miRNA untuk marker diagnosis, prognosis, serta untuk klasifikasi asal tumor pada metastasis. Sebagai biomarker miRNA dapat dideteksi pada darah, serum, jaringan segar, *formalin-fixed paraffin-embedded tissue* (FFPE), serta spesimen aspirasi jarum halus.¹⁰⁻¹² Pada sediaan FFPE kolorektal, identifikasi miR-21 dengan teknik hibridisasi *in situ* memperlihatkan peningkatan miR-21 pada adenoma hingga kanker tetapi negatif pada mukosa normal. Tujuan penulisan tinjauan pustaka ini adalah untuk mengetahui fungsi normal miRNA, peranan pada karsinogenesis dan potensinya sebagai biomarker untuk kepentingan diagnostik.

Biogenesis miRNA

MiRNA pertama kali ditemukan pada nematoda *Caenorhabditis Elegans*, tahun 1993. Diketahui juga bahwa miRNA terdapat pada seluruh eukariot, termasuk manusia. Sebagian besar miRNA pada mamalia berlokasi pada intron dan regio *non-coding* lainnya dari genom. Kedua regio ini dulu disebut “*junk DNA*” karena belum diketahui fungsinya.⁹

Penamaan miRNA diberikan dengan menuliskan awalan (prefiks) “miR” untuk miRNA matur serta “mir” untuk pri-miRNA dan pre-miRNA. Perbedaan angka yang menjadi identitasnya menunjukkan urutan penemuannya, contohnya miR-124 ditemukan lebih awal dari miR-456. MiRNA yang memiliki sekvens identik dengan beda panjang 1-2 nukleotida, diidentifikasi dengan huruf kecil dibelakangnya, contohnya miR-124a dan miR-124b. Penamaan lengkap diawali nama spesies misalnya: *hsa-mir-194-1* dan *hsa-mir-194-2* menunjukkan suatu pre-miRNA atau pri-miRNA yang berasal dari gen yang lokasinya berbeda pada genom dan *hsa* menunjukkan asal spesiesnya yaitu *homo sapiens*.¹

Biogenesis miRNA diawali transkripsi yang diperantara enzim RNA polymerase II, sehingga dihasilkan molekul transkripsi primer (pri-miRNA) dengan panjang 1-3 kb, memiliki cap pada ujung 5', dan poli adenilasi pada ujung 3', strukturnya mirip *protein-coding* mRNA. Selanjutnya pri-miRNA membentuk struktur hairpin dengan ujung berbentuk loop dan bergabung dengan kompleks mikroprosesor (500-650 kDa) yang terdiri atas enzim Drosha (suatu RNase III endonuclease) serta protein kofaktor *DiGeorge syndrome critical region 8* (DGCR8) menghasilkan pre-miRNA dengan panjang 65 nukleotida. Pre-miRNA ditranspor dari inti ke sitoplasma oleh Exportin-5 (XPO5) suatu keluarga reseptor Ran transport. Di sitoplasma, pre-miRNA dipotong oleh enzim bernama *dicer* (suatu RNase III endonuclease) menjadi *double strand* RNA/ds-RNA yang disebut *miRNA:miRNA** *duplex*. Pematangan miRNA terjadi melalui pemisahan ikatan duplex oleh enzim helikase, menjadi miRNA matang dan miRNA*.^{2,4}

Bentuk miRNA matang dalam bentuk rantai tunggal dengan panjang 22 nukleotida, bergabung dengan *RNA-induced silencing complex* (RISC) yang terdiri atas dicer, *transactivation-responsive RNA-binding protein* (TRBP), dan argonaute2 (AGO2) untuk meregu-

lasi ekspresi gen, sedangkan miRNA* akan segera didegradasi. Regulasi ekspresi gen oleh miRNA bergantung pada ikatan spesifik 6-7 nukleotida dari ujung 5'nya dengan 3' *untranslated region* (3'UTR) pada mRNA target. Jika miRNA berikatan sempurna dengan mRNA target, maka mRNA target akan didegradasi, jika ikatannya tidak sempurna menyebabkan inhibisi translasi, sehingga tidak terbentuk protein (Gambar 1).^{3,7}

Fungsi miRNA dalam regulasi siklus sel

Secara normal, siklus sel diatur oleh komplek molekul *Cyclin-dependent kinases* (CDKs)-cyclin yang aktivitasnya akan memfosforilasi berbagai protein, seperti protein supresor tumor RB, sehingga ikatan antara pRB dengan faktor transkripsi E2F akan terlepas. E2F yang bebas mendorong progresi fase G1 ke fase S. Beberapa miRNA seperti let-7, keluarga miR-15, miR-17, dan miR-125a berperan sebagai anti-proliferasi dengan menghambat cyclin D, cyclin E, dan CDC25a sehingga mencegah terbentuknya komplek CDK-cyclin. Sedangkan miR-24 dan miR-31 bersifat pro-proliferasi dengan menghambat inhibitor CDK (CDKI) p16 dan p19. Terdapat pula kelompok mir-17-92 yang memiliki target protein aktuator maupun inhibitor siklus sel.

Pada fase transisi dari S ke G2, beberapa miRNA seperti miR-24, miR-125a, dan let-7 menurunkan ekspresi cyclin A sehingga komplek cyclin A-CDK2 tidak terbentuk. MiR-195, miR-516-3p, miR-128A bekerja sebagai pro-proliferasi dengan menurunkan ekspresi WEE1 yaitu suatu kinase yang berfungsi sebagai regulator negatif cyclin B-CDK1. Sedangkan let-7, miR-125b, miR-322, dan miR-449a/b dapat menurunkan ekspresi protein *cell division cycle/CDC* yaitu CDC25A sehingga tidak dapat mengaktifkan komplek cyclin B-CDK1.

Sebagian kecil miRNA meregulasi tahap mitosis siklus sel. Protein target miRNA pada tahap mitosis diantaranya Polo-like kinase 1 (PLK1), aurora B, dan APC/C. PLK1 merupakan kinase yang memfosforilasi CDC25C sehingga mengaktifkan komplek cyclin B-CDK1. Mir-100 dapat menurunkan ekspresi PLK1. Sedangkan mekanisme regulasi miR-24 pada target protein aurora B belum jelas. Pada akhir fase mitosis, keempat protein kinase: cyclin B-CDK1, PLK-1, aurora A, dan aurora B akan didegradasi oleh APC/C.

Dalam mengatur siklus sel, miRNA juga berhubungan dengan protein supresor tumor , yaitu p53 dan pRB. Beberapa microRNA dapat menghambat fungsi protein supresor tumor sehingga fungsinya untuk mengontrol proliferasi sel berkurang. Pada kondisi normal, aktivitas berbagai molekul regulator ini berjalan seimbang. Namun pada kondisi patologis seperti kanker terjadi aktivitas proliferasi yang meningkat, salah satunya karena kegagalan regulasi siklus sel oleh miRNA. Secara keseluruhan aktivitas miRNA dalam meregulasi siklus sel tampak pada Gambar 2.¹³⁻¹⁶

Abnormalitas ekspresi miRNA

Peningkatan maupun penurunan ekspresi miRNA menandai adanya abnormalitas ekspresi miRNA. Perubahan ekspresi miRNA pada kanker pertama kali dibuktikan oleh Calin *et al*, tahun 2002 yaitu miR-15 dan miR-16 mengalami penurunan ekspresi pada 68% pasien CLL. Kedua miRNA tersebut terletak di regio yang sering mengalami delesi 13q14.3 pada CLL. Ekspresi abnormal miRNA dapat disebabkan oleh beberapa mekanisme, yaitu:^{11,17-19}

1. Abnormalitas kromosomal
Lebih dari 50% gen *miRNA* berlokasi pada regio kromosom yang rentan mengalami perubahan pada kanker misalnya: (a). Regio *loss of heterozygosity* (LOH) yang merupakan regio sebagian besar *tumor suppressor gene* berada; (b). Regio amplifikasi yang dapat mengandung onkogen; atau (c). *fragile sites* (lokasi yang sering mengalami pertukaran *sister chromatid*, translokasi, delesi, amplifikasi, atau integrasi plasmid DNA dan insersi virus).
2. Perubahan epigenetik
MiRNA dipengaruhi oleh perubahan epigenetik yaitu metilasi DNA maupun modifikasi histon. miR-21 dan miR 203 (meningkat pada kanker ovarium) terletak di regio yang berkaitan dengan *CpG islands*, dimana terdapat perangkat metilasi DNA yang bisa mempengaruhi ekspresi miRNA. Ekspresi mir-124a yang menurun berhubungan dengan hipermetilasi DNA pada kanker kolon, payudara, dan paru, serta hilangnya penanda histon aktif seperti asetilasi histon H3 dan H4 atau trimetilasi histon H3 pada lysine-4.
3. Mutasi dan *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP)

Mutasi pada miRNA jarang terjadi dibanding mutasi pada *protein-coding gene*. Mutasi yang diwariskan pada transkrip primer dari miR-15a dan miR-16-1 menyebabkan ekspresinya rendah secara *in vivo* dan *in vitro*. Pada kanker payudara tipe familial juga terdapat delesi alel normal dari miR-15a dan miR-16-1. Pada pasien kanker paru tipe non-small cell yang memiliki varian homozigot SNP yang berlokasi di regio 3p miRNA yaitu regio miR-196a-2, menyebabkan penurunan survival.

4. Defek pada biogenesis miRNA.

Beberapa kanker menunjukkan penurunan jumlah miRNA matur walaupun kadar pri-miRNA normal. Peningkatan aktivitas RNase III Drosha berhubungan dengan peningkatan ekspresi miR-191 pada Acute Lymphoblastic Leukemia. Penurunan aktivitas enzim dicer berkorelasi dengan penurunan ekspresi let-7 pada kanker paru *non-small cell*.

Peranan miRNA pada karsinogenesis

Mekanisme disregulasi mendasari peran miRNA pada karsinogenesis dimana miRNA dapat berfungsi sebagai onkogen atau supresor gen. Jika terjadi peningkatan ekspresi miRNA pada tumor maka akan berfungsi sebagai onkogen, hal ini terjadi karena miRNA tersebut menyebabkan penurunan ekspresi *tumor suppressor gene* atau gen lain yang terlibat dalam diferensiasi sel sehingga berkontribusi pada pembentukan tumor dengan menstimulasi proliferasi, angiogenesis, dan invasi. Sebaliknya miRNA akan berfungsi sebagai supresor tumor jika ekspresinya pada tumor berkurang melalui mekanisme downregulasi protein-protein yang memiliki aktivitas onkogenik.^{11,17,20}

Pada beberapa kanker seperti kanker kolorektal, telah diidentifikasi berbagai miRNA yang terlibat selektif dalam tahapan karsinogenesis dimulai dari transformasi mukosa normal menjadi adenoma, hingga kanker dan metastasinya. miR-135 berperan sebagai onkogen dengan menghambat supresor tumor *adenomatous polyposis coli* (APC) sehingga mukosa normal beresiko transformasi menjadi adenoma dengan epitel displastik. Penurunan ekspresi miRNA let-7 (supresor tumor) menyebabkan kehilangan fungsinya untuk menghambat onkogen K-RAS sehingga memudahkan perkembangan adenoma dengan displasia

berat. Peningkatan ekspresi miR-20a sebagai onkogen menghambat SMAD yang terlibat dalam lintasan pemberi sinyal TGF-β dan adanya miR-34 *dysregulation* dapat mempengaruhi pathway p53 sehingga terjadi progresi adenoma dengan displasia berat menjadi suatu karsinoma. Sedangkan mekanisme peningkatan ekspresi miR-21 pada karsinoma kolon belum terungkap. Beberapa miRNA seperti miR-148a, miR-9, dan miR-34 ekspresinya meningkat pada metastasis karsinoma. Masih belum jelas gen apa yang memegang berperan utama untuk terjadinya metastasis pada karsinoma kolorektal.²¹

Setiap jenis miRNA spesifik pada tumor tertentu, kecuali miR-21 yang disebut sebagai global onkogen karena diekspresikan oleh banyak jenis tumor solid. Di sisi lain keluarga let-7 dan miR-200 disebut global supresor tumor karena ditemukan menurun pada banyak tumor.¹² Berbagai penelitian telah menunjukkan peranan miRNA pada tumor solid maupun tumor hematolifatik. Penelitian Iorio *et al*, (2005) membuktikan penurunan ekspresi miR-125b, miR-145, miR-21, dan miR-155 pada kanker payudara setelah menganalisis ratusan profil ekspresi miRNA. Michael *et al*, (2003) mendapatkan penurunan ekspresi miR-143 dan miR-145 pada kanker kolon dibanding mukosa kolon normal. Beberapa kanker yang terkait miRNA serta gen yang menjadi target potensialnya dituliskan pada Tabel 1.

Aplikasi miRNA sebagai marker tumor

MiRNA bersifat spesifik untuk tumor tertentu dan terdapat perbedaan ekspresinya pada kanker dibanding normal. Sehingga diharapkan dapat digunakan sebagai marker diagnostik dan prognostik. Potensi miRNA sebagai obat juga masih dalam tahap preklinik. Terdapat dua bentuk modifikasi miRNA untuk pengobatan kanker, yaitu miRNA *mimics* untuk menghambat produksi protein dan meningkatkan kematian sel tumor serta bentuk 'antagomiR' yang menghambat miRNA melalui mekanisme yang belum diketahui.^{5,11}

MiRNA dapat dideteksi di sirkulasi, misalnya pada serum dan plasma (metode non-invasif) maupun pada spesimen jaringan dan biopsy aspirasi (FNA). Jaringan yang digunakan dapat berupa jaringan segar atau blok parafin/*formalin-fixed paraffin-embedded* (FFPE). Struktur miRNA kecil dan kuat, melindunginya dari degradasi selama fiksasi.

Yamamichi *et al* meneliti pola ekspresi miR-21 pada berbagai tahap kanker kolorektal menggunakan *Locked Nucleic Acid Hybridization in situ* (LNA-ISH). Sampel blok parafin (FFPE) berasal dari 39 tumor kolorektal yang dieksisi dan 34 polip kolorektal yang dieksisi dengan bantuan endoskopi. Didapatkan ekspresi miR-21 yang negatif pada polip non tumor dan peningkatan kadar miR-21 pada transisi dari adenoma hingga karsinoma kolorektal.²²

Penelitian Zhu *et al*²³ membandingkan level ekspresi miR-106a pada blok parafin dan potong beku dengan metode qRT-PCR. Hasil *mean Ct value* tidak berbeda signifikan pada kedua jenis sampel ($p=0,429$) serta didapatkan korelasi yang tinggi deteksi miR-106a pada kedua sampel ($r=0,982$, $p=0,000$). Kemudian

diteliti perubahan kadar miRNA pada berbagai tahap karsinogenesis gaster pada sediana blok parafin dengan teknik hibridisasi *in situ* pada 95 sampel jaringan yang terdiri atas 13 sampel mukosa gaster normal, 38 sampel gastritik atrofik kronik kombinasi dengan berbagai derajat displasia, 15 kanker gaster stadium dini, dan 29 kanker gaster stadium lanjut. Hasilnya pada mukosa gaster normal tidak didapatkan ekspresi yang positif, sedangkan pada beberapa lesi prekanker hasilnya positif, dan pada kanker gaster tahap lanjut hasilnya positif kuat (pada membran inti, sitoplasma, dan nukleus). Dari penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa miRNA berpotensi sebagai marker diagnostik awal keganasan pada gaster.²³

Tabel 1. Berbagai kanker dan miRNA yang terlibat.⁵

Kanker	MiRNA ^a	Target miRNA	Referensi
Kanker otak	miR-21↑, miR-221↓, miR-181↓		Ciafre <i>et al.</i> , 2005; Chan <i>et al.</i> , 2005
Kanker payudara	miR-125b↓, miR-145↓, miR-21↓, miR-155↓		Iorio <i>et al.</i> , 2005
Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL)	miR-15↓, miR16↓	BCL2	Calin <i>et al.</i> , 2002, 2004; Cimmino <i>et al.</i> , 2005
Kanker kolorektal	miR-143↓, miR-145↓ miR-21↑, miR-92↑, miR-20a↑, miR-106a↑, miR-223↑, miR-203↑, miR-145↑		Michael <i>et al.</i> , 2003 Visone <i>et al.</i> , 2008
Karsinoma hepatoselular	miR-18↑, miR-224↑, miR-199↓, miR-195↓, miR-200↓, miR-125↓		Murakami <i>et al.</i> , 2006
Kanker paru	let-7↓, miR-17-92↑	RAS, MYC	Takamizawa <i>et al.</i> , 2004; Johnson <i>et al.</i> , 2005; Hayashita <i>et al.</i> , 2005; O'Donnell <i>et al.</i> , 2005
Linfoma	miR-155↑, miR-17-92↑	BIC	Eis <i>et al.</i> , 2005; Metzler <i>et al.</i> , 2004; He <i>et al.</i> , 2005b
Karsinoma tiroid papiler	miR-146↑, miR-221↑, miR-222↑, miR-181↑	KIT	He <i>et al.</i> , 2005b; Pallante <i>et al.</i> , 2006
Tumor sel germinal testis	miR-372↑, miR-373↑	LAST2	Voorhoeve <i>et al.</i> , 2006

^amenunjukkan peningkatan miRNA, dan penurunan miRNA

RINGKASAN

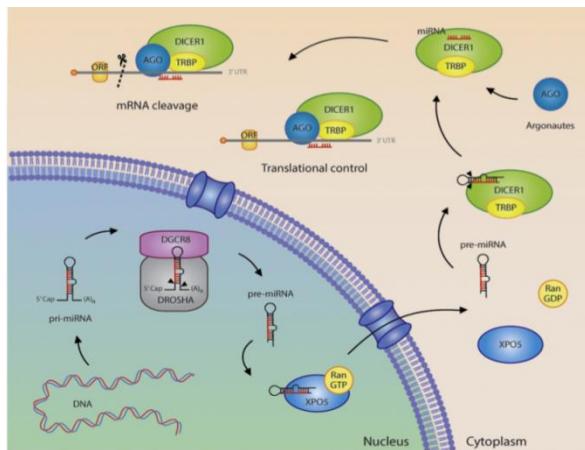
MicroRNA merupakan regulator gen yang berperan dalam berbagai fungsi biologis sel. MiRNA bekerja pada target mRNA. Jika berikatan sempurna dengan target maka terjadi degradasi langsung dan jika ikatannya tidak sempurna akan menghambat translasi mRNA. Peranannya pada karsinogenesis di berbagai organ masih terus diselidiki, namun secara umum mekanismenya adalah sebagai onkogen dan supresor tumor. Ekspresinya yang spesifik pada jaringan tumor tertentu menjadikannya sebagai biomarker potensial untuk membantu diagnosis, prognosis, maupun untuk menentukan asal jaringan pada metastasis kanker. Pemeriksaan miRNA dari blok parafin (FFPE) tumor dapat memperlihatkan perbedaan ekspresinya pada jaringan normal, lesi prekanker

dan kanker, sehingga bermanfaat untuk diagnosis dini keganasan.

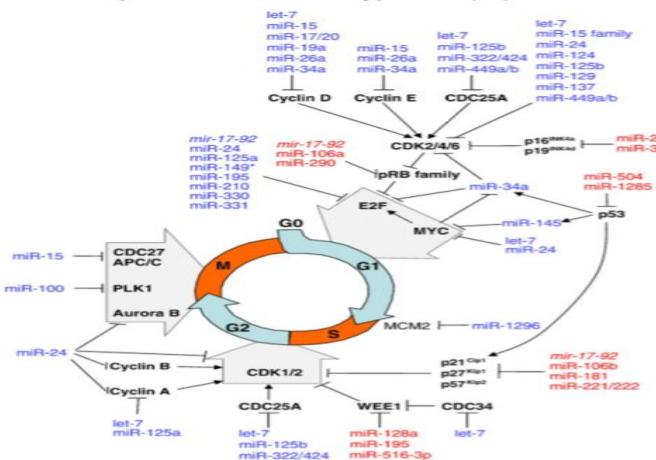
DAFTAR PUSTAKA

1. Gerstein MB, Bruce C, Rozowsky JS, et al. What is a gene, post-ENCODE?, history and updated definition. *Genom Res.* 2007; 17: 669-81.
2. Clark DP. Regulation at the RNA level. *Molecular biology* 2nd edition. Elsevier 2013; 18: 553-80.
3. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. *Robbins and Cotran Pathologic basis of disease*, 9th ed. Philadelphia: Saunders-Elsevier; 2013; 1-29.

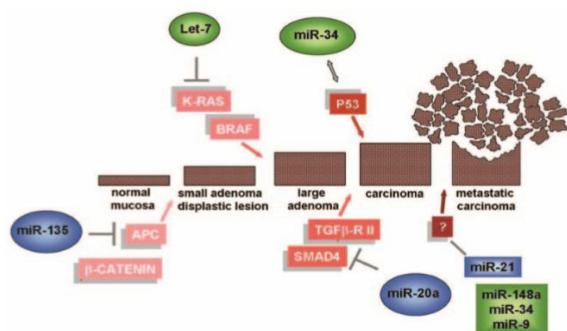
Daftar Pustaka bersambung ke halaman 56



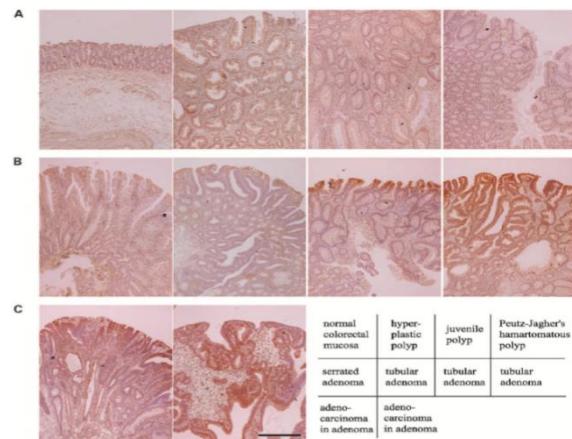
Gambar 1. Skema Biogenesis miRNA⁴



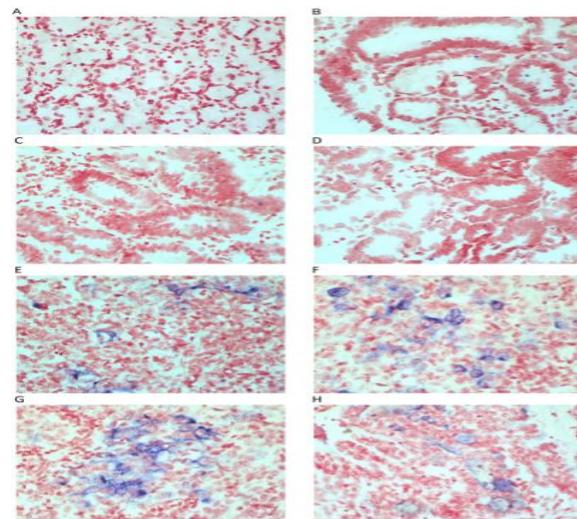
Gambar 2. Skema kontrol siklus sel oleh miRNA¹³



Gambar 3. Pengaruh miRNA pada tahapan karsinogenesis kolorektal.²¹



Gambar 4. LNA-ISH untuk mendeteksi miR-21 pada FFPE jaringan endoskopik kolorektal. A. Jaringan non tumor, dari kiri ke kanan: mukosa normal, polip hiperplastik, polip juvenile, polip Peutz-Jagher's (semua miR-21 negatif) B. Tumor kolorektal jinak, dari kiri-kanan: adenoma serata (miR-21 negatif), tubular adenoma (miR-21 negatif), tubular adenoma (miR-21 positif di tepi), tubular adenoma (miR-21 positif). C. Tumor kolorektal ganas, kedua gambar: adenoCa pada adenoma (miR-21 positif kuat).²²



Gambar 5. Deteksi miR-106a dengan LNA-ISH (*Locked nucleic acid in situ hybridization*) pada sampel jaringan gaster: A. Mukosa gaster normal; B, C, D. Displasia; E, F, G, H. Kanker gaster. Hasil positif berupa pewarnaan biru gelap pada nucleus pada lesi prekanker dan meluas ke sitoplasma pada kanker invasif.²³

Lanjutan Daftar Pustaka

4. Melo SA, Esteller M. Disruption of microRNA nuclear transport in human cancer. *Seminars in Cancer Biology* 2014; 27: 46-51.
5. Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. MicroRNAs as oncogen and tumor suppressors. *Developmental biology* 2007; 302 :1-12.
6. Di Leva G, Croce CM. Roles of small RNAs in tumor formation. *Trends in molecular medicine* 2010; 16(6): 257-67.
7. MacFarlane LA, Murphy PR. MicroRNA: biogenesis, function and role in cancer. *Current Genomics* 2010; 11: 537-61.
8. Visone R, Croce CM. Keynote lecture-miRNA and cancer. *Am J Pathol.* 2009; 174(4): dx.doi.org/10.2353/ajpath.2009.080794.
9. Olivieri F, Rippo MR, Valdia M, Salvioli S, Capri M, Procopio AD, et al. MicroRNAs linking inflamm-aging, cellular senescence and cancer. *Ageing research review* 2013; 12: 1056-68.
10. Sokilde R, Vincent M, Litman T, Hansen A, Hoibi PE, Blondal T, Nielsen BS, et al. Efficient identification of miRNAs for classification of tumor origin. *J Mol Diag.* 2014; 16(1): 106-13.
11. Hayes J, Peruzzi PP, Lawler S. MicroRNAs in cancer: biomarkers, function, and therapy. *Trends in Mol Med.* 2014; 20(8): 460-70.
12. Sethi S, Ali S, Kong D, Philip PA, Sharkar FH. Clinical implication of microRNAs in molecular pathology. *Clin Lab Med.* 2013; 33: 773-86.
13. Bueno MJ, Malumbres M. MiRNA and cell cycle. *Biochimica et Biophysica Acta* 1812 (2011); 592-601.
14. Yu Z, Baserga R, Chen L, et al. MicroRNA, cell cycle, and human breast cancer. *Am J Pathol.* 2010; 176(3): 1058-62.
15. Iorio MV, Visone R, Croce CM, et al. MicroRNA signatures in human ovarian cancer. *Cancer Res.* 2007; 67(18): 8699-8706.
16. Hamdani C, Maria FH, Nurjati CS. Patologi molekuler. Badan Penerbit FKUI 2012; 133-140.
17. Fearon ER. Genetic and epigenetic alterations in cancer. In: Niederhuber JE, Armitage JO, Doroshow JH, Kastan MB, Tepper JE, editors. *Abeloff's Clinical Oncology*, 5th ed. Elsevier 2014;13 : 188-203..
18. Lovat F, Valeri N, Croce CM. MicroRNAs in the pathogenesis of cancer. *Seminars in Oncology* 2011; 38 (6): 724-33.
19. Saetrom Pal, Snove O, Rossi JJ. Epigenetics and microRNA. *Pediatric research.* 2006; 61(5): 17-21.
20. DeVita V.T, Lawrence T.S, Rosenberg S.A. *DeVita, Hellman, and Rosenberg's Cancer principles and practice of oncology* 9th ed. Lippincott williams & wilkins 2012; 79-80.
21. Valeri N, Croce CM, Fabri M. Pathogenetic and clinical relevance of microRNA's in colorectal cancer. *Cancer Genomics and Proteomics* 2009; 6:195-204.
22. Yamamichi N, Shimomura R, Inada K, Sakurai K, Haraguchi T, Ozaki Y, et al. Locked nucleic acid in situ hybridization analysis of miR-21 expression during colorectal cancer development. *Clin Cancer Res* 2009; 15(12).
23. Zhu M, Zhang N, He S. Similarly up-regulated microRNA-106a in matched formalin-fixed paraffin-embedded and fresh frozen samples and the dynamic changes during gastric carcinogenesis and development. *Pathology-Research and Practice* 2014; <http://dx.doi.org/10.1016/j.prp.2014.07.008>