

ARTIKEL TINJAUAN PUSTAKA

BIOPSI CAIR PADA KANKER KOLOREKTAL:
HARAPAN DAN TANTANGAN

LIQUID BIOPSY IN COLORECTAL CANCER: HOPES AND CHALLENGES

Rebecca Noerjani Angka^{1,2}, Demak Lumban Tobing³, Aru Wisaksono Sudoyo⁴,
Nurjati Chairani Siregar^{5,*}, Wifanto Saditya Jeo⁶

¹ Program Doktor Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jl. Salemba Raya No.6, Kenari, Kec. Senen, Jakarta 10430

² Departemen Histopatologi Anatomi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Kristen Krida Wacana, Jl. Arjuna Utara No. 6, Jakarta 11510

³ Rumah Sakit Kanker Dharmais, Jl. Letjen S. Parman No.84, Kota Bambu Selatan, Jakarta 11420

⁴ Departemen Ilmu Penyakit Dalam Divisi Hematologi Onkologi Medik, FKUI/RSCM, Jl. Salemba Raya No.6, Kenari, Kec. Senen, Jakarta 10430

⁵ Departemen Patologi Anatomi, FKUI/RSCM, Jl. Salemba Raya No.6, Kenari, Kec. Senen, Jakarta 10430

⁶ Departemen Ilmu Bedah Divisi Bedah Digestif, FKUI/RSCM, Jl. Salemba Raya No.6, Kenari, Kec. Senen, Jakarta 10430

* **Korespondensi:** anisiregar@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: *Global Cancer Statistics 2020 shows that the incidence of colorectal cancer is in the third rank, with the second highest mortality rate. Liquid biopsy in colorectal cancer has begun to study circulating tumor cells, namely circulating tumor cells (CTCs) and cell-free circulating tumor DNA (ctDNA/cfDNA). This article aims to find and review the studies conducted on liquid biopsy regarding methods, results, and clinical benefits in colorectal cancer.*

Methods: *The literature searches were conducted through Embase, Scopus, and PubMed. From the 143 articles found during the initial search, after the final selection stage, 15 articles were determined that meet the inclusion criteria.*

Results: *Liquid biopsy can detect mutations not found in the primary tumor of colorectal cancer patients. Combined analysis of circulating cell-free DNA (ccfDNA) and ctDNA can increase the number of detected mutations. Analysis of serially collected plasma ctDNAs enables the detection of emerging mutant ctDNA, which can be used to monitor patient disease progression and discover resistance mechanisms. Serial sampling of patients showed a decrease in methylation in patients who responded well to surgery and chemotherapy treatment. In contrast, untreated or relapsed patients showed increased methylation. MSI status in colorectal cancer detected via cfDNA was relatively consistent with that in tumor tissue samples.*

Conclusion: *The advantage of liquid biopsy is that blood is easier to obtain, effective, and less invasive than a biopsy, especially in tumors that are difficult to reach by biopsy. Liquid biopsies can be repeated serially so that they can be used to monitor disease progression, determine treatment response and determine prognosis.*

Key Words: *colorectal cancer, liquid biopsy, mismatch repair*

ABSTRAK

Pendahuluan: Global Cancer Statistics 2020 menunjukkan angka kejadian kanker kolorektal menduduki peringkat ketiga dengan urutan kedua angka kematian. Pemeriksaan biopsi cair pada kanker kolorektal mulai dilakukan untuk mempelajari sel-sel tumor yang ada di dalam sirkulasi yaitu *circulating tumor cells* (CTCs) dan *cell-free circulating tumor DNA* (ctDNA/cfDNA). Tujuan dari penulisan artikel ini adalah untuk menemukan dan menelaah penelitian-penelitian yang telah dilakukan mengenai biopsi cair baik dari sisi metode, hasil maupun manfaat klinik pada kanker kolorektal.

Metode: Metode pencarian literatur dilakukan melalui Embase, Scopus dan PubMed. Dari 143 artikel yang ditemukan saat pencarian awal, setelah melalui tahap seleksi akhir ditentukan 15 artikel yang memenuhi kriteria inklusi.

Hasil: Biopsi cair dapat digunakan untuk mendeteksi mutasi yang tidak ditemukan pada tumor primer pasien kanker kolorektal serta analisis kombinasi *circulating cell-free DNA* (ccfDNA) dan ctDNA dapat meningkatkan jumlah mutasi yang terdeteksi. Analisis ctDNA dalam plasma yang dikumpulkan secara serial, memungkinkan mendeteksi ctDNA mutan yang muncul, sehingga dapat digunakan untuk memantau perkembangan penyakit

pasien serta menemukan mekanisme resistensi. Pengambilan sampel pasien secara serial menunjukkan bahwa penurunan metilasi terjadi pada pasien yang merespon baik terhadap pengobatan, baik operasi maupun kemoterapi. Sebaliknya pasien yang tidak diobati atau mengalami kekambuhan menunjukkan peningkatan metilasi. Status MSI pada kanker kolorektal yang terdeteksi melalui cfDNA relatif konsisten dengan yang ada di sampel jaringan tumor.

Simpulan: Keuntungan biopsi cair adalah darah lebih mudah didapat, efektif dan tidak invasif dibandingkan dengan biopsi terutama pada tumor yang sulit dijangkau dengan biopsi. Biopsi cair dapat dilakukan berulang secara serial sehingga dapat digunakan untuk memantau perkembangan penyakit, mengetahui respon pengobatan dan menentukan prognosis.

Kata Kunci: biopsi cair, kanker kolorektal, perbaikan ketidakcocokan.

PENDAHULUAN

Global Cancer Statistics (GLOBOCAN) 2020 menunjukkan angka kejadian kanker kolorektal menduduki peringkat ketiga setelah kanker payudara pada perempuan dan kanker paru, dengan urutan kedua angka kematian setelah kanker paru.¹ Kanker kolorektal di Indonesia menduduki peringkat ke empat dengan 396.914 kasus baru setelah kanker payudara pada perempuan, kanker serviks dan kanker paru.² Deteksi dini kanker kolorektal dilakukan melalui pemeriksaan darah samar dan kolonoskopi. Dressen K, et al. melakukan penelitian dengan menggunakan 24 panel biomarker untuk mengetahui biomarker mana yang lebih tepat untuk mendiagnosa kanker kolorektal. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa kombinasi pemeriksaan CEA dan CA 19-9 memberikan hasil yang cukup baik untuk menentukan diagnosa kanker kolorektal.³ Pemeriksaan darah samar melalui feses dirasakan tidak nyaman oleh pasien, demikian juga pemeriksaan kolonoskopi yang bersifat invasif. Biopsi cair mulai dilakukan untuk mempelajari sel-sel tumor yang ada di dalam sirkulasi. Ada 2 tipe materi kanker di dalam darah yang dapat digunakan untuk melakukan analisa molekuler, yaitu *circulating tumor cells* (CTCs) dan *cell-free circulating tumor DNA* (ctDNA/cfDNA). CTCs

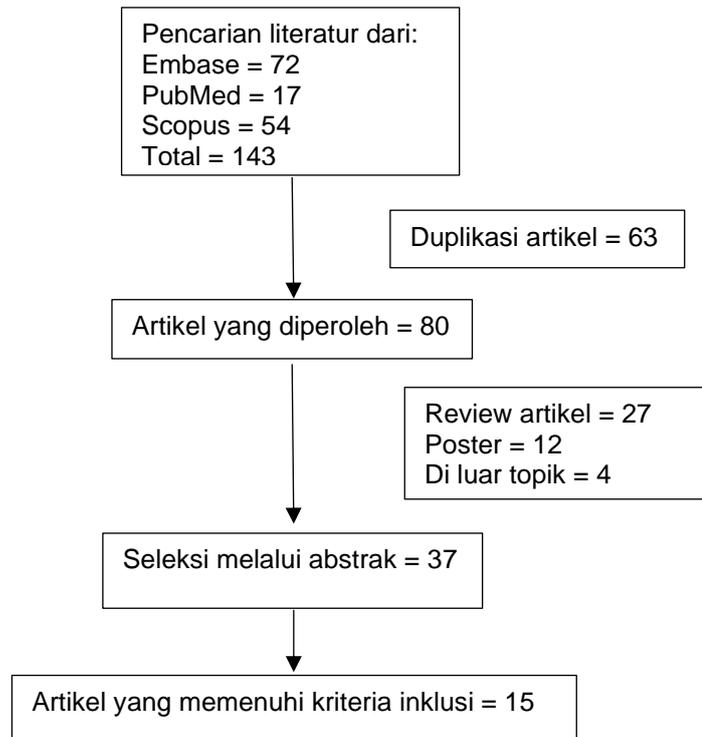
masuk ke dalam sirkulasi darah dari tumor primer atau metastasis, dan akan menetap dalam waktu singkat, di bawah 2,5 jam. Bagian DNA masuk ke sirkulasi darah berasal dari sel-sel mati dan pada pasien kanker, pecahan *cell-free DNA* (cfDNA) disebut *circulating-tumor DNA* (ctDNA). ctDNA akan berkurang jumlahnya setelah prosedur pengangkatan tumor dan pengobatan aktif lainnya.^{4,5-7} cfDNA dianggap sebagai petanda kanker yang dapat memonitor perjalanan penyakit, memprediksi kekambuhan dan mencerminkan heterogenitas genetik kanker yang kompleks.⁸ Analisis cfDNA yang dikenal sebagai biopsi cair, hemat biaya, invasif minimal, dan spesifitasnya dapat ditingkatkan dengan menyesuaikan analisis menuju deteksi mutasi spesifik tumor.^{8,9} Tujuan dari penulisan artikel ini adalah untuk menemukan dan menelaah penelitian-penelitian yang telah dilakukan mengenai biopsi cair baik dari sisi metode, hasil maupun manfaat klinik pada kanker kolorektal.

METODE

Metode pencarian literatur internasional dilakukan melalui data di dalam Embase, Scopus dan PubMed dengan menggunakan kata kunci: *liquid biopsy, colorectal cancer, mismatch repair*. Kriteria inklusi pada artikel ini

adalah jurnal yang memuat artikel penelitian kanker kolorektal dalam 5 tahun terakhir dengan topik mengenai biopsi cair dan sesuai dengan kata kunci. Kriteria eksklusi yang digunakan adalah jurnal membahas jenis

kanker kolorektal dan kanker lainnya. Setelah melalui tahap seleksi akhir dari 143 artikel yang ditemukan saat pencarian awal, ditentukan 15 artikel yang memenuhi kriteria inklusi.



Gambar 1. Metode pencarian literatur

HASIL

Tabel 1. Daftar artikel penelitian yang membahas mengenai biopsi cair pada kanker kolorektal

Peneliti	Metode	Sampel	Hasil
Strickler JH, <i>et al.</i> ⁵ 2018	Kohort	1397 pasien kanker kolorektal	Penataan genomik dan adanya mutasi pada pasien kanker dapat dilihat dari cfDNA walau hasil sedikit berbeda dengan jaringan tumor dan relevan secara klinis dalam heterogenitas tumor dan resistensi terapeutik.
Ladas I, <i>et al.</i> ¹⁰ 2018	In vitro	Sel lestari adenokarsinoma kolon manusia, HCT-15 dan sampel plasma pasien kanker kolon	NaME-Pro dikombinasikan dengan pra-PCR memberikan hasil pendekatan yang sangat sensitif untuk mendeteksi perubahan MSI dalam sampel klinis.
Myint NNM, <i>et al.</i> ⁸ 2018	Kohort	131 pasien diambil sampel darahnya sebelum dilakukan kolonoskopi atau pembedahan	Lesi kolon jinak tidak melepaskan DNA ke dalam sirkulasi, sehingga tidak dapat terdeteksi dengan biopsi cair

de Figueiredo Barros BD, <i>et al.</i> ⁶ 2018	Laporan kasus	Pasien pria, 57 tahun, adenokarsinoma sigmoid dengan metastasis	Biopsi cair mengungkapkan heterogenitas tumor dan prediksi perkembangan tumor, menunjukkan potensi analisis ctDNA menjadi sensitif dan dapat memantau respons pengobatan serta untuk identifikasi awal resistensi pengobatan.
Takeda K, <i>et al.</i> ¹¹ 2019	Kohort	56 pasien kanker kolorektal	Kombinasi analisa ccfDNA dan ctDNA meningkatkan sensitivitas untuk mendeteksi heterogenitas.
Choi IS, <i>et al.</i> ¹² 2019	Retrospektif	76 pasien kanker kolorektal	Lebih dari 80% pasien kanker kolorektal stadium IV dapat terdeteksi adanya ctDNA dan sebagian besar memiliki perubahan yang berpotensi dapat ditindaklanjuti.
Silveira AB, <i>et al.</i> ¹³ 2020	Retrospektif	185 sampel tumor yang sudah diketahui status MMR nya 72 sampel darah dari 42 pasien kanker kolorektal dan endometrium lanjut	Metode <i>droplet-digital PCR</i> (ddPCR) untuk mendeteksi MSI dapat digunakan untuk skrining diagnostik cepat, hemat biaya, non invasif sehingga pasien memperoleh manfaat untuk menentukan imunoterapi dan memantau pengobatan.
Luo H, <i>et al.</i> ¹⁴ 2020	Kohort	801 pasien kanker kolorektal dan 1021 orang normal sebagai kontrol	Pemeriksaan cfDNA bermanfaat sebagai penanda untuk diagnosis, prognostik, dan pengawasan kanker kolorektal, dengan potensi dapat digunakan untuk deteksi dini kasus asimtomatik.
Wei P, <i>et al.</i> ¹⁵ 2020	Retrospektif	Sel lestari kanker kolorektal HCT116. Sampel plasma dari 163 pasien kanker kolorektal dibandingkan dengan 46 kontrol sehat dan 51 adenoma.	Uji CD9-CD63 dan Epcam-CD63 SiMoa mendeteksi vesikel ekstraseluler sensitivitas tinggi. Deteksi CD9-CD63 merupakan faktor prognosis independen untuk <i>progression free survival</i> dan <i>overall survival</i> (OS), sedangkan deteksi Epcam-CD63 merupakan faktor prognosis independen untuk OS.
Fu Y, <i>et al.</i> ¹⁶ 2020	Retrospektif	6 pasien kanker kolorektal stadium I-III	Analisa MSI dan mutasi gen merupakan pemeriksaan invasif untuk membuktikan karakteristik molekuler kanker kolorektal
Lee Y, <i>et al.</i> ¹⁷ 2020	Retrospektif	994 pasien kanker kolorektal	Proyek K-MASTER memberikan hasil uji klinis dengan biomarker dan kesempatan terapeutik untuk pasien kanker kolorektal dengan metastasis.
Abdallah EA, <i>et al.</i> ¹⁸ 2021	Kohort	69 pasien kanker kolorektal stadium I-III	<i>Neutrophil-to-lymphocyte ratio</i> (NLR) tidak berhubungan secara signifikan dengan stadium atau kekambuhan. Analisis CTC dan <i>platelet-to-lymphocyte ratio</i> (PLR) berguna secara klinis untuk penanganan kanker usus besar.

Kasi PM ¹⁹ 2022	Laporan kasus	Pasien kanker kolon (rektosigmoid) stadium III, 66 tahun dengan melena dan anemia defisiensi besi	Biopsi cair dapat digunakan untuk mendeteksi adanya <i>minimal or molecular residual disease</i> (MRD)
Caputo V, <i>et al.</i> ²⁰ 2022	Kohort	398 pasien kanker	Tes <i>Next-generation sequencing</i> (NGS) <i>FoundationOne Liquid Analysis</i> (F1LA) sangat berguna, tidak invasif dan dapat dilakukan berulang untuk memandu pilihan terapi bagi pasien kanker
Hsu YC, <i>et al.</i> ²¹ 2022	Kohort	63 pasien neoplasia kolorektal stadium awal	Tes biopsi cair berbasis <i>clonal hematopoiesis</i> (CH) meningkatkan cakupan skrining dan deteksi neoplasia kolorektal tahap awal

DISKUSI

Pengujian profil genomik berbasis darah memiliki tantangan tersendiri ketika seseorang tidak dapat memastikan bahwa mutasi yang terdeteksi pada cfDNA sebenarnya berasal dari tumor pasien atau bukan. Namun beberapa penelitian secara keseluruhan menunjukkan kesamaan yang sangat tinggi antara profil berbasis cfDNA dan berbasis jaringan, dan secara keseluruhan mendukung utilitas potensial dan validitas pendekatan profil genom cfDNA skala besar. Penelitian yang dilakukan oleh Strickler JH, *et al.* memberikan wawasan tentang peran heterogenitas tumor dalam pengaturan resistensi yang didapat terhadap antibodi anti-EGFR pada kanker kolorektal.⁴ Beberapa mutasi ditemukan pada cfDNA tapi tidak di jaringan tumor karena memang mutasi gen tersebut umumnya terjadi pada keganasan hematopoietik.⁵ Laporan sebuah kasus kanker sigmoid menginfokan adanya mutasi KRAS dan TP53 yang dideteksi melalui ctDNA sebelum tindakan operasi dilakukan, kemudian menghilang setelah operasi dan di

awal pengobatan kemoterapi tapi ditemukan kembali sejalan dengan adanya metastasis yang terdeteksi melalui pemeriksaan MRI.⁶ Takeda K, *et al.* membuktikan bahwa mutasi yang tidak ditemukan pada tumor primer pasien kanker kolorektal dapat dideteksi menggunakan biopsi cair, analisis kombinasi *circulating cell-free DNA* (ccfDNA) dan ctDNA meningkatkan jumlah mutasi yang terdeteksi.¹¹ Dibuktikan juga bahwa sensitivitas mendeteksi mutasi spesifik kanker lebih tinggi pada ccfDNA dibandingkan dengan ctDNA dan metode penangkapan CTCs multi-antibodi merupakan teknik yang menjanjikan untuk mendeteksi sejumlah besar CTCs. Mutasi yang diidentifikasi dalam jaringan pada kanker dengan beban tumor kecil mungkin tidak terdeteksi dalam ctDNA karena kandungan ctDNA rendah. Analisis ctDNA dalam plasma yang dikumpulkan secara serial, memungkinkan mendeteksi ctDNA mutan yang muncul, sehingga dapat digunakan untuk memantau perkembangan penyakit pasien serta menemukan mekanisme resistensi.¹²

Diketahui bahwa sistem imun terlibat dalam komponen tumor di dalam darah. Tingginya nilai *platelet-to-lymphocyte ratio* (PLR) menunjukkan prognosis yang lebih buruk, terutama bila dievaluasi bersama dengan CTCs dan karakteristik klinis. Distribusi PLR yang lebih tinggi pada pasien dengan *circulating tumor microemboli* (CTM), bahkan pada tahap awal kanker kolorektal, mendukung hipotesis bahwa mungkin ada sinyal antara CTCs dan trombosit. CTM adalah sel-sel tumor yang ditemukan dalam sirkulasi darah tepi. Pasien dengan PLR tinggi (>124) memiliki angka harapan bebas penyakit yang secara signifikan lebih rendah dibandingkan dengan PLR rendah, menunjukkan interaksi antara rasio trombosit dan kekambuhan kanker.¹⁸

Metilasi DNA merupakan modifikasi epigenetik utama yang terlibat dalam diferensiasi dan perkembangan, penuaan, tumorigenesis, dan penyakit lainnya. Metilasi yang menyimpang merupakan gambaran utama dari karsinogenesis dan biasanya menyebabkan ekspresi gen yang rusak. Profil metilasi ctDNA memberikan beberapa keunggulan dibandingkan analisa mutasi somatik untuk mendeteksi kanker. Penelitian yang dilakukan oleh Luo H, *et al.* mengevaluasi potensi manfaat petanda metilasi cfDNA dalam pengawasan kanker kolorektal dan petanda CpG untuk skrining kanker kolorektal.¹⁴ Sampel pasien yang diambil secara serial menunjukkan bahwa penurunan metilasi terjadi pada pasien yang berespon baik terhadap pengobatan baik operasi maupun kemoterapi. Sebaliknya

pasien yang tidak diobati atau mengalami kekambuhan menunjukkan peningkatan metilasi. Penelitian ini juga membuktikan bahwa pemeriksaan metilasi yang dilakukan bersamaan dengan kolonoskopi pada pasien berisiko tinggi, bermanfaat untuk skrining kanker kolorektal.¹⁴

Laporan kasus pasien kanker rektosigmoid yang telah menjalani operasi pengangkatan usus dan terapi tambahan tapi pada pemeriksaan biopsi cair ditemukan positif. Tidak ditemukan kekambuhan di daerah usus tapi ditemukan dua keganasan lain yaitu kanker hepatoseluler dan orofarinks sel skuamosa, yang bukan merupakan metastasis dari kanker ususnya. Dua keganasan ini ditemukan dengan pemeriksaan *positron emission tomography* (PET/CT) dan pada kasus pasien dengan lebih dari satu keganasan, pemeriksaan patologi sangat penting dilakukan untuk konfirmasi.¹⁹

Tumor dengan defisiensi DNA MMR mengandung sejumlah kesalahan replikasi DNA terutama delesi pada rantai DNA berulang yang disebut mikrosatelit. Metode *droplet-digital PCR* (ddPCR) secara kuantitatif dapat mendeteksi MSI dengan sampel jaringan maupun cairan tubuh.¹³ Mendeteksi MSI menggunakan probe NaME-Pro dapat menghilangkan alel yang mengganggu analisa dan sangat bermanfaat saat dikombinasikan dengan *high resolution melting* (HRM) untuk mengidentifikasi adanya perubahan MSI.¹⁰ Status MSI pada kanker kolorektal yang terdeteksi melalui cfDNA relatif konsisten dengan yang ada di sampel

jaringan tumor. Meskipun biopsi cair tidak efisien untuk melacak mutasi tumor stadium awal, tapi hal ini dapat memberikan petunjuk noninvasif dalam pengawasan perkembangan kanker kolorektal.¹⁶

Tidak ada peningkatan bermakna dari cfDNA dan ctDNA pada kondisi adenoma kolon, tidak dapat dideteksi menggunakan ddPCR. Terbukti bahwa cfDNA tidak dapat digunakan untuk mendeteksi lesi prakanker dan jinak.⁸

Clonal hematopoiesis (CH) mengacu pada ekspansi klonal sel hematopoietik bermutasi dan umum terjadi pada manusia yang menua. Dibuktikan bahwa CH dalam darah perifer dapat merugikan lingkungan mikro penyakit. Pasien kanker memiliki tingkat CH yang lebih tinggi dan ini mungkin terkait dengan paparan mutagen lingkungan, radiasi atau kemoterapi. *Clonal hematopoiesis* dilaporkan relevan dengan kanker padat dan sekitar 30% pasien dengan kanker padat memiliki mutasi CH. Deteksi neoplasia kolorektal stadium dini berbasis biopsi cair dengan teknik NGS bersifat non invasif, lebih baik dibandingkan dengan tes *fecal immunochemical test* (FIT) tradisional dan memberikan potensi dalam praktik klinis.²¹

Vesikel ekstraseluler (EV) disekresikan dari sel-sel normal dan tidak normal ke dalam berbagai cairan tubuh. Ada dua golongan utama EV yang ditentukan oleh asalnya dari intraseluler atau biogenesis, yaitu eksosom dan mikrovesikel (MV). EV membawa beberapa membran-terikat dan molekul intravesicular yang mewakili asal selulernya. Protein Tetraspanin seperti CD63, CD9 dan

CD81, digunakan sebagai penanda EV/eksosom. Penanda permukaan tumor, seperti *epithelial cell adhesion molecule* (Epcam), *epidermal growth factor receptor* (EGFR) dan CA125, juga diekspresikan dan dianalisis pada EV yang diturunkan dari tumor (T-EVs). *The Single Molecule array* (SiMoa) adalah teknologi immunoassay ultrasensitif yang memungkinkan pengukuran protein melalui ELISA menggunakan peralatan otomatis. Dengan metode SiMoa, biomarker protein dengan tingkat ekspresi yang sangat rendah dapat dideteksi pada kanker setelah pengobatan untuk memprediksi prognosis. Penelitian yang dilakukan oleh Wei P, *et al.*¹⁵ untuk pertama kalinya menggunakan SiMoa, dikembangkan dua deteksi EV yang sensitif terhadap penanda EV, memungkinkan untuk pembuatan profil EV atau T-EV langsung dari sel kanker atau plasma pasien kanker. Teknologi SiMoa ini membuat penanda permukaan EV ganda-positif CD9 atau Epcam dengan CD63 diekspresikan tinggi dalam EV dan eksosom, dan dilaporkan bahwa tingkat vesikel seluler dalam darah lebih tinggi pada pasien kanker dibandingkan pada individu yang sehat.¹⁵

Proyek *K-MASTER* di Korea dimulai sebagai platform uji klinis onkologi kedokteran, yang menggunakan uji *next-generation sequencing* (NGS) untuk menyaring mutasi dan digunakan untuk diagnosis serta menentukan pengobatan kanker disesuaikan dengan perubahan genomik molekuler. Menggunakan sistem penyaringan genom yang efisien, perubahan genom kanker yang relatif kecil diperlukan

untuk keberhasilan pengembangan terapi target dengan menggunakan sampel jaringan tumor dalam blok parafin maupun darah bila jaringan tumor tidak memungkinkan.¹⁷

Uji *FoundationOne Liquid* (F1L) adalah target spesifik perangkat berbasis NGS untuk biopsi cair *FoundationMedicine*, yang menggunakan cfDNA dari plasma dan dapat mendeteksi status ketidakstabilan mikrosatelit tinggi (MSI-H). Dengan *FoundationOne Liquid Analysis* (F1LA) dari cfDNA darah tepi dari pasien kanker dapat diselidiki berbagai perubahan molekuler berbagai jenis kanker. F1LA merupakan uji profil genomik yang komprehensif dan mampu menjadi pelengkap pengujian berbasis jaringan untuk mengevaluasi terapi yang berpotensi memperpanjang hidup pasien kanker. Poin penting adalah menentukan waktu yang tepat untuk melakukan F1LA yaitu saat awal pengobatan lini pertama. F1LA mungkin paling tepat untuk pemantauan respons pengobatan, dan untuk mengidentifikasi perubahan genomik yang menunjukkan respons atau resistensi terhadap terapi.²⁰

Salah satu metode untuk mengisolasi CTCs antara lain adalah mengumpulkan sampel darah di dalam tabung *ethylenediamine tetraacetic acid* (EDTA), kemudian diisolasi menggunakan ukuran sel tumor (*isolation by size of epithelial tumor cells*, ISET®) dan diidentifikasi melalui reaksi imunositokimia menggunakan mikroskop cahaya.¹⁸ Sampel plasma dapat disimpan pada suhu -80°C dan digunakan saat dibutuhkan.¹⁵ Pengekstrasian cfDNA dari plasma menggunakan *QIAamp Circulating*

Nucleic Acid Kit (Qiagen)^{8,10,13,16}, *EliteHealth cfDNA extraction Kit* (*EliteHealth*)¹⁴ atau *Guardant360™ cfDNA assay* (*Guardant Health*).⁵ Setelah berhasil mengisolasi CTCs dan cfDNA, beberapa penelitian melanjutkan dengan metode NGS.^{6,16,17,20}

SIMPULAN

Berbagai jenis biomarker dapat diamati dari pemeriksaan biopsi cair sesuai dengan kebutuhannya. Keuntungan biopsi cair adalah darah lebih mudah didapat, efektif dan tidak invasif dibandingkan dengan biopsi terutama pada tumor yang sulit dijangkau dengan biopsi jaringan. Biopsi cair dapat dilakukan berulang secara serial sehingga dapat digunakan untuk memantau perkembangan penyakit, mengetahui respon pengobatan dan menentukan prognosis, tetapi kurang dapat dipakai sebagai deteksi stadium prakanker. Tantangan dari pemeriksaan biopsi cair saat ini adalah biaya pemeriksaan yang masih cukup mahal bila dikerjakan sebagai pemeriksaan rutin dan masih diperlukan penelitian-penelitian lebih lanjut untuk dapat menentukan standard pemeriksaan baku yang berguna bagi penanganan pasien selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, *et al.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-49.
2. Dressen K, Hermann N, Manekeller S, Walgenbach-Bruenagel G, Schildberg FA, Hettwer K, *et al.* Diagnostic performance of a novel multi-

- plex immunoassay in colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2017;37(5):2477-86.
3. Haber DA, Velculescu VE. Blood-based analyses of cancer: circulating tumor cells and circulating tumor DNA. *Cancer Discov.* 2014;4(6):650-61.
 4. Strickler JH, Loree JM, Ahronian LG, Parikh AR, Niedzwiecki D, Pereira AAL, *et al.* Genomic landscape of cell-free DNA in patients with colorectal cancer. *Cancer Discov.* 2018;8(2):164-73.
 5. de Figueiredo Barros BD, Kupper BEC, Aguiar Junior S, de Mello CAL, Begnami MD, Chojniak R, *et al.* Mutation detection in tumor-derived cell-free DNA anticipates progression in a patient with metastatic colorectal cancer. *Front Oncol.* 2018;8:306.
 6. Stott SL, Lee RJ, Nagrath S, Yu M, Miyamoto DT, Ulkus L, *et al.* Isolation and characterization of circulating tumor cells from patients with localized and metastatic prostate cancer. *Sci Transl Med.* 2010;2(25):25ra3.
 7. Myint NNM, Verma AM, Fernandez-Garcia D, Sarmah P, Tarpey PS, Al-Aqbi SS, *et al.* Circulating tumor DNA in patients with colorectal adenomas: assessment of detectability and genetic heterogeneity. *Cell Death Dis.* 2018;9(9):894.
 8. Wan JCM, Massie C, Garcia-Corbacho J, Mouliere F, Brenton JD, Caldas C, *et al.* Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA. *Nat Rev Cancer.* 2017;17(4):223-38.
 9. Ladas I, Yu F, Leong KW, Fitarelli-Kiehl M, Song C, Ashtaputre R, *et al.* Enhanced detection of microsatellite instability using pre-PCR elimination of wild-type DNA homo-polymers in tissue and liquid biopsies. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(12):e74.
 10. Takeda K, Yamada T, Takahashi G, Iwai T, Ueda K, Kuriyama S, *et al.* Analysis of colorectal cancer-related mutations by liquid biopsy: Utility of circulating cell-free DNA and circulating tumor cells. *Cancer Sci.* 2019;110(11):3497-509.
 11. Choi IS, Kato S, Fanta PT, Leichman L, Okamura R, Raymond VM, *et al.* Genomic profiling of blood-derived circulating tumor DNA from patients with colorectal cancer: Implications for response and resistance to targeted therapeutics. *Mol Cancer Ther.* 2019;18(10):1852-62.
 12. Silveira AB, Bidard FC, Kasperek A, Melaabi S, Tanguy ML, Rodrigues M, *et al.* High-accuracy determination of microsatellite instability compatible with liquid biopsies. *Clin Chem.* 2020;66(4):606-13.
 13. Luo H, Zhao Q, Wei W, Zheng L, Yi S, Li G, *et al.* Circulating tumor DNA methylation profiles enable early diagnosis, prognosis prediction, and screening for colorectal cancer. *Sci Transl Med.* 2020;12(524).
 14. Wei P, Wu F, Kang B, Sun X, Heskia F, Pachot A, *et al.* Plasma extracellular vesicles detected by single molecule array technology as a liquid biopsy for colorectal cancer. *J Extracell Vesicles.* 2020;9(1):1809765.
 15. Fu Y, Ye Y, Liu X, Zhu G, Xu Y, Sun J, *et al.* Analyzing microsatellite instability and gene mutation in circulating cell-free DNA to monitor colorectal cancer progression. *Transl Cancer Res.* 2021;10(6):2812-21.
 16. Lee Y, Lee S, Sung JS, Chung HJ, Lim AR, Kim JW, *et al.* Clinical application of targeted deep sequencing in metastatic colorectal cancer patients: Actionable genomic alteration in K-MASTER project. *Cancer Res Treat.* 2021;53(1):123-30.
 17. Abdallah EA, Souza ESV, Braun AC, Gasparini VA, Kupper BEC, Tariki MS, *et al.* A higher platelet-to-lymphocyte ratio is prevalent in the presence of circulating tumor microemboli and is a potential prognostic factor for non-metastatic colon cancer. *Transl Oncol.* 2021;14(1):100932.
 18. Kasi PM. Tumor-informed versus plasma-only liquid biopsy assay in a patient with multiple primary malignancies. *JCO Precis Oncol.* 2022; 6:e2100298.
 19. Caputo V, De Falco V, Ventriglia A, Famiglietti V, Martinelli E, Morgillo F, *et al.* Comprehensive genome profiling by next generation sequencing of circulating tumor DNA in solid tumors: a single academic institution experience. *Ther Adv Med Oncol.* 2022;14:17588359221096878.
 20. Hsu YC, Huang SM, Chang LC, Chen YM, Chang YH, Lin JW, *et al.* Screening of early-staged colorectal neoplasia by clonal hematopoiesis-based liquid biopsy and machine-learning. *Am J Cancer Res.* 2022;12(3):1088-101.