

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker paru merupakan salah satu jenis kanker yang paling umum di dunia, dengan tingkat kejadian dan mortalitas yang tinggi. Menurut GLOBOCAN 2012 dan *American Cancer Association*, kanker paru menyebabkan 1.825.000 kasus baru setiap tahunnya dan merupakan penyebab utama kematian terkait kanker, mencapai 1,6 juta kematian per tahun.¹ Diperkirakan bahwa pada tahun 2040, kejadian kanker paru di seluruh dunia akan meningkat dari 2 menjadi lebih dari 3 juta kasus per tahun, dengan jumlah kematian tahunan meningkat dari 1,8 menjadi lebih dari 2,9 juta kasus.² Pada tahun 2020, 2.252.981 kasus baru dan 1.444.528 kematian akibat kanker dilaporkan di wilayah WHO Asia Tenggara. Di antara kasus-kasus baru, kanker payudara, leher uterus, dan paru adalah yang paling sering dilaporkan. Transisi ekonomi, perubahan gaya hidup (seperti kurangnya aktivitas fisik), dan meningkatnya prevalensi obesitas meningkatkan risiko kanker di wilayah ini.^{3,4}

Terdapat dua subtype utama kanker paru, karsinoma paru sel kecil dan karsinoma paru non-sel kecil (NSCLC), masing-masing menyumbang 15% dan 85% dari seluruh kanker paru. Karsinoma paru non-sel kecil selanjutnya diklasifikasikan menjadi tiga jenis, antara lain karsinoma sel skuamosa, adenokarsinoma, dan karsinoma sel besar.⁵ Tingkat kelangsungan hidup untuk NSCLC relatif lebih rendah dibandingkan kanker lainnya dan masing-masing sekitar 16,8% dan 25,1% untuk pria dan wanita, dari periode 2012 hingga 2015. Sebagai perbandingan, tingkat kelangsungan hidup yang lambat disebabkan oleh sebagian besar kasus NSCLC, sekitar dua pertiga yang terdeteksi pada stadium lanjut atau pada stadium IIIB dan IV yang tidak dapat

Untuk NSCLC, tingkat kelangsungan hidup 5 tahun adalah 25%
dihubungkan oleh berbagai faktor, yaitu subtype dan perkembangan penyakit.⁶



Proses terbentuknya kanker paru melibatkan perubahan genetik dan reaksi oksidatif yang menghasilkan radikal bebas dan stres oksidatif, yang berperan dalam mengubah sel-sel normal menjadi sel kanker. *Reactive oxygen or nitrogen species* (ROS, RNS) dan stres oksidatif dalam sistem pernapasan meningkatkan produksi mediator peradangan paru serta memulai atau memperkuat mekanisme karsinogenesis. Risiko terkena kanker paru meningkat secara signifikan pada perokok karena adanya efek sinergis dalam pembentukan ROS, yang menyebabkan stres oksidatif dan peradangan dengan potensi kerusakan DNA yang tinggi.

Nuclear factor erythroid 2 like 2 (NRF2) adalah elemen penting dalam melawan stres oksidatif dengan mengendalikan produksi enzim antioksidan dan protein perlindungan sel melalui *antioxidant response element* (ARE). *Nuclear factor erythroid 2 like 2* (NRF2), yang bertindak sebagai pemimpin dalam merespon stres antioksidan di dalam sel, berperan kunci dalam membersihkan radikal bebas dan mengurangi kerusakan yang dihasilkan dari reaksi oksidatif.⁷⁻⁹

Pada penelitian yang dilakukan oleh Santoso dkk. terhadap tikus, NRF2 memainkan peran kunci dalam mekanisme terapi regeneratif yang melibatkan *syndecan 4* dan bronkiolar progenitor dalam mengurangi peradangan paru-paru dan meningkatkan jumlah sel progenitor. Meskipun demikian, kompleksitas peran NRF2 dalam kanker paru mengindikasikan bahwa aktivasi berlebihan dari mekanisme ini dapat memiliki dampak negatif.¹¹ Studi oleh Wang dan kolega menemukan bahwa ekspresi positif NRF2 dikaitkan dengan respons pengobatan yang rendah terhadap kemoterapi berbasis platinum, menyiratkan bahwa regulasi NRF2 harus diperhatikan dengan cermat dalam konteks pengembangan strategi pengobatan.⁹

Dalam rangka mengatasi tantangan ini, pemahaman lebih lanjut regulasi NRF2 diperlukan. Oleh karena itu, penelitian ini bermaksud menganalisis dan mengidentifikasi hubungan antara ekspresi NRF2 dan



respons terhadap terapi pada pasien dengan kanker paru bukan sel kecil stadium lanjut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan di atas, maka dapat ditetapkan masalah atau pertanyaan penelitian yaitu, apakah kadar NRF2 bilasan bronkus dan serum dapat menjadi marker diagnostik dan prognostik pada KPKBSK.

1.3 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah kadar NRF2 bilasan bronkus dan serum dapat menjadi marker diagnostik dan prognostik pada KPKBSK. Kadar NRF2 meningkat pada pasien KPKBSK dibandingkan dengan pasien kontrol dan peningkatan kadar NRF2 berkaitan dengan prognosis buruk pada pasien KPKBSK.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Membandingkan kadar NRF2 dalam bilasan bronkus dan serum darah pada pasien dengan karsinoma paru bukan sel kecil (KPKBSK).

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui kadar NRF2 serum dan bilasan bronkus berdasarkan karakteristik demografi pasien KPKBSK.
2. Mengetahui kadar NRF2 serum dan bilasan bronkus berdasarkan gambaran klinis, radiologis, dan bronkoskopi pasien KPKBSK.
3. Mengetahui kadar NRF2 serum dan bilasan bronkus berdasarkan histopatologi pasien KPKBSK.
4. Menganalisis hubungan kadar NRF2 serum dan bilasan bronkus dengan stadium pasien KPKBSK.
5. Menilai perbandingan kadar NRF2 serum dan bilasan bronkus pasien KPKBSK.



6. Mengetahui hubungan kadar NRF2 dengan prognosis berdasarkan Progression-free survival (PFS) dan kesintasan pasien KPKBSK di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Pendidikan

Dengan adanya penelitian tentang kadar NRF2 pada KPKBSK ini, diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai kadar NRF2 sebagai parameter diagnostik pada KPKBSK.

1.6 Penelitian

Data yang terkumpul dari penelitian ini diharapkan dapat dipakai sebagai bahan literatur atau pertimbangan dan membuka wawasan untuk penelitian lebih lanjut tentang NRF2 pada KPKBSK.

1.7 Pelayanan / Pengabdian Masyarakat

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar NRF2 pada KPKBSK. Selanjutnya, penelitian ini sangat bermanfaat bagi para dokter secara umum dan khususnya bagi dokter spesialis paru untuk mengetahui karakteristik dan peran NRF2 pada KPKBSK.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker Paru

2.1.1 Definisi dan Klasifikasi Kanker Paru

Kanker paru merujuk pada semua penyakit keganasan yang terjadi di paru- paru, termasuk keganasan yang berasal langsung dari jaringan paru itu sendiri (primer). Kanker paru primer umumnya merupakan tumor ganas yang berasal dari epitel bronkus, yang dikenal sebagai karsinoma bronkus atau bronchogenic carcinoma.¹² Kanker paru bersifat sangat heterogen dan dapat muncul di berbagai lokasi di dalam pohon bronkial, menyebabkan gejala dan tanda yang sangat bervariasi tergantung pada lokasi anatomi spesifiknya.¹³

Kanker paru secara umum dibagi menjadi dua kelompok utama, yaitu kanker paru sel kecil (KPSK) dan kanker paru bukan sel kecil (KPBSK).¹³ Kanker paru bukan sel kecil mencakup sejumlah subjenis, antara lain adenokarsinoma, karsinoma sel skuamosa, dan karsinoma sel besar.¹⁴ Klasifikasi ini membantu dalam memahami ragam histologis dan karakteristik biologis yang berbeda dari berbagai jenis kanker paru, memungkinkan pendekatan diagnosis dan pengelolaan yang lebih terarah.

2.1.2 Stadium KPBSK

Saat ini, prognosis dan pemilihan pengobatan terutama didasarkan pada sistem penentuan stadium TNM, yang mengklasifikasikan luasnya kanker dalam empat kategori, stadium I-IV, berdasarkan ukuran tumor primer (T), bukti adanya sel kanker di wilayah kelenjar getah bening (N), dan adanya metastasis distal (M). Meskipun demikian, hasil klinis sangat bervariasi antar pasien dalam stadium TNM yang sama.¹⁶



Karakteristik tumor dalam kategori T2 mencakup adanya atelektasis atau inflasi paru yang tidak lengkap di sebagian paru. Tumor dapat menyerang pleura visceral dan bronkus utama lebih dari 2 cm dari carina yang meluas di T3, di mana atelektasis berkembang ke seluruh paru. Pada T4, atau stadium invasi, tumor menyerang saraf frenikus, diafragma, dinding dada, pleura mediastinum, dan mendekati lebih dekat ke bronkus utama, kurang dari 2 cm dari carina.¹⁷

Keadaan Tumor Primer (T)		Batasan
Tx	Tumor primer	tidak dapat dinilai
T0	Tidak terdapat tumor primer.	
Tis	Karsinoma in situ.	
T1	Tumor terbatas pada nasofaring atau meluas ke orofaring dan/atau kavitas nasal, tanpa ekstensi parafaringeal.	
T2	Tumor meluas ke parafaringeal.	
T3	Tumor masuk ke struktur tulang pada dasar tengkorak dan/atau sinus paranasal.	
T4	Tumor dengan perluasan intrakranial, hipofaring, orbita, atau infratemporal fossa.	
Kelenjar Getah Bening Regional (N)		Batasan
Nx	Kelenjar getah bening regional tidak dapat dinilai.	
N0	Tidak terdapat metastasis ke kelenjar getah bening regional.	
N1	Metastasis unilateral di kelenjar getah bening servikal, 6cm atau kurang di atas fosa supraklavikula, atau keterlibatan kelenjar getah bening retrofaringeal bilateral atau unilateral, < 6 cm pada dimensi terbesarnya.	
N2	Metastasis bilateral di kelenjar getah bening, 6 cm atau kurang dalam dimensi terbesar diatas fosa supraklavikula.	
N3	Metastasis di kelenjar getah bening, ukuran > 6 cm.	
N3a	Ukuran > 6 cm	
N3b	Perluasan ke fosa supraklavikula	
Metastasis Jauh (M)		Batasan
Mx	Metastasis jauh tidak dapat dinilai	
M0	Tidak terdapat metastasis jauh	
M1	Metastasis jauh.	

Sumber : Perhimpunan Onkologi Indonesia: Edisi 1, 2010.

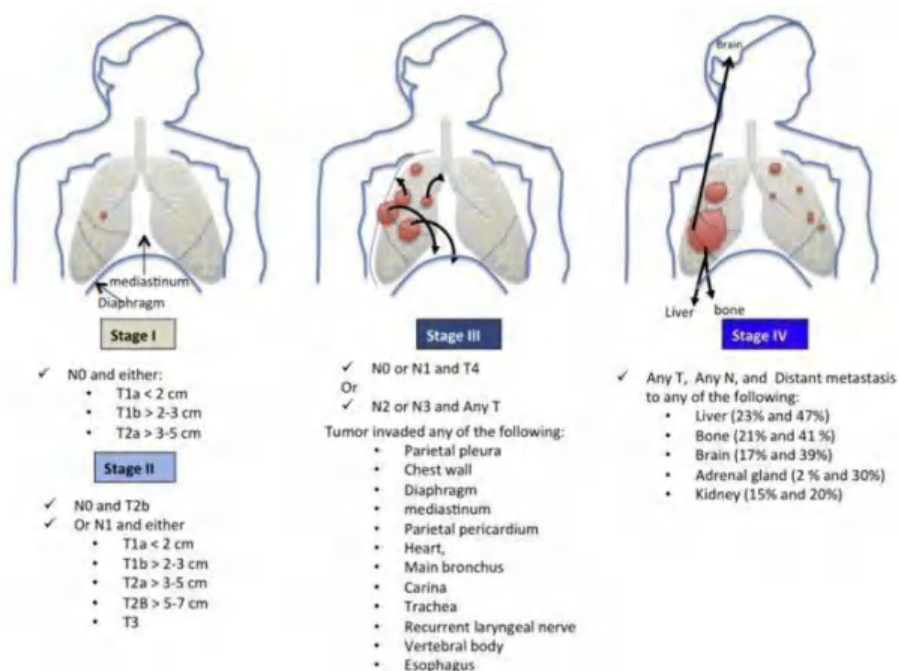
Tabel 2.1. Sistem penegakan diagnosis berbasis TNM. Dikutip dari ¹⁸

Keterlibatan kelenjar getah bening didefinisikan sebagai N0 hingga N3, yang bervariasi dari tidak adanya keterlibatan hingga keterlibatan ipsilateral hingga kontralateral sesuai dengan stadium.¹⁷ Metastasis ditunjukkan dengan keberadaan M1, di mana dapat terlihat lesi bilateral, metastasis jauh, dan efusi pleura ganas. Sebaliknya, tidak adanya metastasis didefinisikan sebagai M0. Tantangan utama yang dihadapi oleh dokter paru dalam kesehatan masyarakat adalah prognosisnya yang buruk karena kebanyakan pasien (> 75%) memiliki penyakit pada stadium III atau



IV saat diagnosis. Prognosis pasien sangat berkorelasi dengan stadium penyakit, misalnya, pasien dengan stadium klinis IA memiliki kelangsungan hidup 5 tahun sekitar 60%, sementara penyakit klinis stadium II-IV memiliki tingkat kelangsungan hidup 5 tahun berkisar antara 40% hingga kurang dari 5%.¹⁷

Keuntungan memasukkan parameter kekebalan tubuh dalam menentukan tingkat stadium TNM melibatkan personalisasi pengobatan. Kemajuan terbaru dalam menggunakan penghambat checkpoint kekebalan tubuh, seperti antibodi yang menghalangi CTLA-4 atau PD-1/PD-L1, telah meningkatkan efektivitas pengobatan kanker dan memperpanjang harapan hidup pasien. Namun, respons terhadap blokade checkpoint di KPBSK baru mencapai sekitar 20%. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan metode yang dapat diandalkan untuk mengkarakterisasi respons kekebalan tubuh terhadap tumor KPBSK, guna memprediksi harapan hidup dan respons terhadap imunoterapi secara individual bagi setiap pasien.¹⁶



Gambar 2.1. Ilustrasi skema stadium Kanker Paru Bukan Sel Kecil (KPBSK). Dikutip dari ¹⁸



2.1.3 Terapi KPBSK

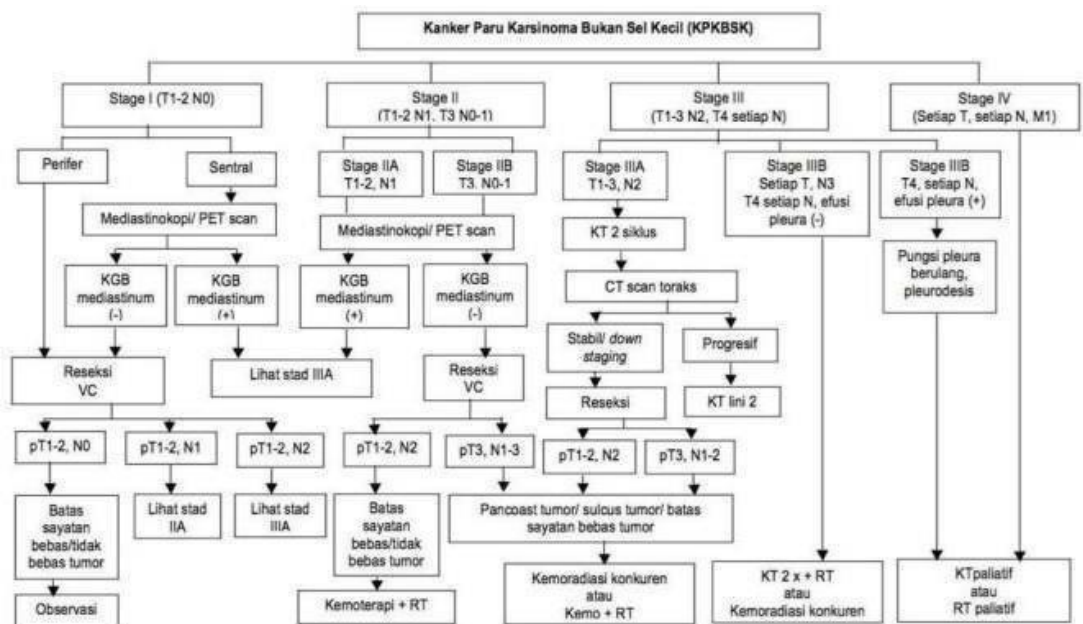
Perawatan KPBSK bervariasi tergantung pada status fungsional pasien, adanya penyakit penyerta, stadium tumor, dan karakteristik molekuler penyakit. Pasien dengan KPBSK stadium I, II, atau III diberikan perawatan dengan tujuan penyembuhan, yang dapat mencakup pembedahan, kemoterapi, terapi radiasi (RT), atau kombinasi modalitas tersebut. Terapi sistemik direkomendasikan untuk pasien dengan metastasis jauh dan penyakit stadium IV, atau jika terjadi kambuh setelah penatalaksanaan awal. Lobektomi umumnya dianggap sebagai pendekatan bedah pada KPBSK stadium awal. Pasien dengan KPBSK stadium klinis I atau II yang dapat menjalani pembedahan awal akan diobati dengan reseksi, dan penentuan stadium patologis akan dilakukan selanjutnya. Jika pasien berada pada stadium patologis IA, pengawasan mungkin diindikasikan. Jika ditemukan stadium IB patologis atau stadium II/III, kemoterapi tambahan dapat diberikan.¹⁴

Jika pasien memiliki margin positif setelah pembedahan, terapi radiasi pasca operasi atau reseksi ulang yang diikuti dengan kemoterapi tambahan mungkin diperlukan. Pada pasien dengan stadium klinis I atau II yang bukan kandidat pembedahan, fokus pengobatan akan pada *stereotactic body radiation therapy* (SBRT) atau RT definitif. Pada stadium klinis III, pendekatan multidisiplin diperlukan, melibatkan konsultasi dengan onkologi medis, onkologi radiasi, dan bedah toraks untuk menentukan pendekatan gabungan terbaik terhadap penyakit. Biopsi jaringan penting untuk menganalisis mutasi yang dapat dijadikan target, membantu dalam penentuan pengobatan untuk pasien dengan KPBSK stadium IV. Sebagai contoh, jika terdeteksi positif untuk *epidermal growth factor receptor* (EGFR), inhibitor tirosin kinase seperti mertinib, erlotinib, gefitinib, atau afatinib dapat digunakan. Jika terdeteksi positif untuk mengandung fusi onkogen *anaplastic lymphoma kinase*



(ALK), pengobatan dengan inhibitor tirosin kinase ALK lebih diindikasikan, yang dapat mencakup alectinib, ceritinib, atau brigatinib.¹⁴

Berbagai mutasi lain, termasuk ROS1, BRAF, RET, TRK, MET, dan KRAS, juga dapat ditemukan, sehingga penggunaan inhibitor yang spesifik perlu diintegrasikan ke dalam rencana pengobatan. Jika tidak ada atau tidak diketahui mutasi penggerak, tingkat *programmed cell death ligand 1* (PD-L1) harus diukur. Jika lebih besar dari 50 persen, pembrolizumab atau atezolizumab dapat digunakan dalam rencana pengobatan, baik sebagai pengobatan tunggal tanpa kemoterapi maupun dalam kombinasi. Pasien juga harus secara aktif dievaluasi untuk kelayakan uji klinis selama perjalanan penyakit mereka.¹⁴



Gambar 2.2. Algoritma Tatalaksana KPBSK. Dikutip dari ¹²



MOLECULAR AND BIOMARKER-DIRECTED THERAPY FOR ADVANCED OR METASTATIC DISEASE	
PD-L1 ≥50% First-line Therapy ADENOCARCINOMA, LARGE CELL, NSCLC NOS Preferred • Pembrolizumab • (Carboplatin or cisplatin) + pemetrexed + pembrolizumab • Atezolizumab • Cemiplimab-rwlc Other Recommended • Carboplatin + paclitaxel + bevacizumab + atezolizumab • Carboplatin + albumin-bound paclitaxel + atezolizumab • Nivolumab + ipilimumab + pemetrexed + (carboplatin or cisplatin) • Cemiplimab-rwlc + paclitaxel + (carboplatin or cisplatin) • Cemiplimab-rwlc + pemetrexed + (carboplatin or cisplatin) • Tremelimumab-actl + durvalumab + carboplatin + albumin-bound paclitaxel • Tremelimumab-actl + durvalumab + (carboplatin or cisplatin) + pemetrexed Useful in Certain Circumstances • Nivolumab + ipilimumab	PD-L1 ≥1%–49% First-line Therapy ADENOCARCINOMA, LARGE CELL, NSCLC NOS Preferred • (Carboplatin or cisplatin) + pemetrexed + pembrolizumab Other Recommended • Carboplatin + paclitaxel + bevacizumab + atezolizumab • Carboplatin + albumin-bound paclitaxel + atezolizumab • Nivolumab + ipilimumab + pemetrexed + (carboplatin or cisplatin) • Nivolumab + ipilimumab • Cemiplimab-rwlc + paclitaxel + (carboplatin or cisplatin) • Cemiplimab-rwlc + pemetrexed + (carboplatin or cisplatin) • Tremelimumab-actl + durvalumab + carboplatin + albumin-bound paclitaxel • Tremelimumab-actl + durvalumab + (carboplatin or cisplatin) + pemetrexed Useful in Certain Circumstances • Pembrolizumab
SQUAMOUS CELL CARCINOMA Preferred • Pembrolizumab • Carboplatin + (paclitaxel or albumin-bound paclitaxel) + pembrolizumab • Atezolizumab • Cemiplimab-rwlc Other Recommended • Nivolumab + ipilimumab + paclitaxel + carboplatin • Cemiplimab-rwlc + paclitaxel + (carboplatin or cisplatin) • Tremelimumab-actl + durvalumab + carboplatin + albumin-bound paclitaxel • Tremelimumab-actl + durvalumab + (carboplatin or cisplatin) + gemcitabine Useful in Certain Circumstances • Nivolumab + ipilimumab	SQUAMOUS CELL CARCINOMA Preferred • Carboplatin + (paclitaxel or albumin-bound paclitaxel) + pembrolizumab Other Recommended • Nivolumab + ipilimumab + paclitaxel + carboplatin • Nivolumab + ipilimumab • Cemiplimab-rwlc + paclitaxel + (carboplatin or cisplatin) • Tremelimumab-actl + durvalumab + carboplatin + albumin-bound paclitaxel • Tremelimumab-actl + durvalumab + (carboplatin or cisplatin) + gemcitabine Useful in Certain Circumstances • Pembrolizumab

Gambar 2.3. Penatalaksanaan imunoterapi saat ini direkomendasikan¹⁹ untuk KPBSK lanjut. Dikutip dari

2.1.4 Evaluasi Hasil Terapi KPBSK

Berdasarkan pedoman yang direkomendasikan oleh Kementerian Kesehatan, evaluasi dan tindak lanjut hasil terapi dapat diamati setelah terapi awal, yaitu setelah penilaian respon lengkap atau respon parsial. Pasien diharapkan menjalani pemeriksaan setiap 3-4 bulan selama 2 tahun pertama, kemudian dapat dilakukan setiap 6 bulan selama 3 tahun berikutnya. Pemeriksaan rutin melibatkan anamnesis, pemeriksaan fisik, CT Scan, pemeriksaan laboratorium, dan pemeriksaan lain sesuai kebutuhan. Jika ditemukan lesi baru, pemeriksaan lebih lanjut akan dilakukan. Pada pasien yang mengalami rekurensi, radioterapi atau

noterapi lini kedua dapat dianggap sebagai opsi.¹²



Penting untuk memahami bahwa pada penggunaan agen sitotoksik, pertumbuhan awal tumor yang meningkat atau munculnya lesi baru dapat dianggap sebagai perkembangan penyakit yang progresif, menandakan kegagalan pengobatan. Mekanisme kerja yang tertunda dari imunoterapi melibatkan ekspansi sel T sebagai langkah awal, diikuti oleh perkembangan sel T yang bisa muncul sebagai beban tumor, atau menyebabkan pembengkakan sel karena infiltrasi sel tumor, yang dapat membingungkan hasil radiografi. Untuk menegaskan hasil evaluasi, kriteria evaluasi hasil terapi berdasarkan WHO, RECIST, dan IRRC dilampirkan.²⁰

Meskipun terapi target dan terapi imun sering digunakan dalam pengobatan kanker paru, banyak pasien masih menerima protokol kemoterapi klasik, terutama jika status tumor molekuler tidak secara jelas menunjukkan jenis terapi inovatif.²¹

2.2 Nuclear Factor Erythroid 2-Like Factor 2 (NRF2)

2.2.1 Struktur & Fisiologi NRF2

Nuclear Factor Erythroid 2-Like Factor 2 (NRF2) termasuk dalam famili faktor transkripsi *cap'n'collar* (CNC)-*basic region/leucine zipper* (bZIP). Ekspresi NRF2 ditemukan relatif melimpah di jaringan seperti usus, paru-paru, dan ginjal. Organ-organ tersebut merupakan tempat terjadinya reaksi detoksifikasi secara rutin. NRF2 diaktifkan oleh modifikasi fosforilasi melalui beberapa jalur protein kinase yang mengarah pada terjadinya disosiasi Keap1-NRF2, translokasi nuklear NRF2, dan responsivitas ARE.¹³

Protein NRF2 manusia tersusun dari 589 atau 605 asam amino. Berat molekul NRF2 yang diprediksi adalah 66 kDa, namun juga terdapat NRF2 yang terdeteksi dengan berat molekul 96 kDa pada elektroforesis gel S-poliakrilamida. Hal ini mungkin terjadi akibat modifikasi catranskripsi dan/atau melimpahnya keasaman asam amino. NRF2



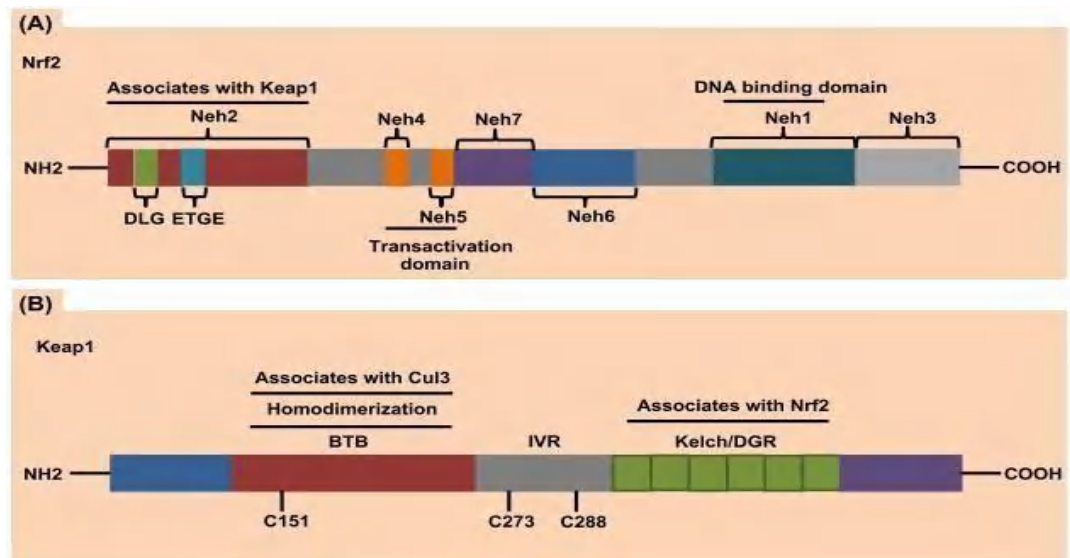
terdiri dari tujuh protein turunan sel NRF2 -eritroid fungsional dengan domain homologi CNC (Neh).¹⁴

NRF2 membentuk sebuah pasangan dengan faktor transkripsi bZIP lainnya untuk mengikat ARE dan mengatur ekspresi gen target. Ketika bergabung dengan NRF2, c-Jun dan faktor transkripsi aktivator (ATF)-4 secara positif mengatur induksi yang melibatkan ARE, sedangkan c-Fos dan Fra-1 melakukan pengaturan yang lebih negatif. Namun, arah regulasi ARE oleh heterodimer kecil NRF2 ·Maf ini bervariasi tergantung pada jenis sel, rangsangan, atau gen target. Lebih lanjut, protein koaktivator CREB binding protein (CBP)/p300 dan protein pengikat ARE- 1 juga berinteraksi dengan Nrf2·Maf untuk mengatur ekspresi gen yang tergantung pada ARE. Selain itu, NRF2 berinteraksi dengan faktor transkripsi lain seperti *peroxisome proliferator-activated receptor* (PPAR) dan *retinoic acid X receptor* (RXR) pada ARE dan *PPAR-response element* (PPRE), berturut-turut, untuk mengatur regulasi gen antioksidan di hilirnya.¹⁵

Nuclear Factor Erythroid 2-Like Factor 2 (NRF2) mengaktifkan banyak gen pertahanan antioksidan yang mengkode enzim antioksidan klasik, enzim detoksifikasi fase 2, protein respons terhadap stres, dan lain-lain. Enzim antioksidan klasik secara langsung menonaktifkan ROS dan mencegah reaksi yang diinisiasi oleh ROS. Antioksidan "langsung" ini termasuk *superoxide dismutases* (SODs) 1, 2, dan 3, katalase, *glutathione peroxidase* (GPx), dan GSH reduktase. Enzim detoksifikasi fase 2 diklasifikasikan sebagai enzim antioksidan "tidak langsung" karena mereka berkontribusi pada biosintesis/daur ulang tiol atau memfasilitasi pengeluaran metabolit sekunder yang teroksidasi, reaktif (misalnya, kuinon, epoksi, aldehida, peroksida) melalui reaksi reduksi/konjugasi atau detoksifikasi xenobiotik. Enzim fase 2 termasuk *isozim glutathione-S-transferase* (GST), *NADP(H):kuinon oksidoreduktase* (QO1). Selain itu, protein respons terhadap stres seperti *heme*



oxygenase (HO)-1 dan rantai berat (FTH) serta rantai ringan (FTL) dari ferritin bersifat sitoprotektif terhadap berbagai rangsangan oksidatif atau pro-oksidatif.¹⁵



Gambar 2.4. Struktur domain NRF2 dan Keap1. (A) NRF2 terdiri dari tujuh domain, Neh1eNeh7. (B) Keap1 berisi tiga domain. Dikutip dari ¹⁴

2.2.2 Mekanisme Reaksi NRF, Peran Pada Sel Normal, dan Peran Pada Sel Kanker

Nuclear Factor Erythroid 2-Like Factor 2 (NRF2) memiliki peran ganda dalam konteks kanker paru non-sel kecil (NSCLC). NRF2 berperan sebagai pelindung sel normal, mencegah transformasi ganas pada jaringan sehat, namun, setelah beberapa jenis tumor terbentuk, NRF2 juga memiliki peran penting dalam menjaga keadaan kanker dengan melindungi sel kanker dari *reactive oxygen species* (ROS) dan membatasi kerusakan yang diinduksi oleh kemoterapi. Dalam konteks inisiasi tumor, NRF2 berfungsi sebagai penekan tumor, tetapi pada tahap lanjut, NRF2 cenderung memiliki fungsi pro-onkogenik. Beberapa laporan menunjukkan bahwa sel tumor paru memperoleh ketergantungan la ekspresi NRF2 untuk menjaga fenotip ganasnya, disebut sebagai RF2 *addiction*." Perlindungan tumor yang diberikan



oleh NRF2 mendukung pertumbuhan kanker melalui mekanisme molekuler yang beragam.

Penelitian lebih lanjut mengenai peran ganda NRF2 ini diperlukan untuk memahami lebih baik fungsinya pada setiap tahap kanker. Meskipun upaya sebelumnya telah dilakukan untuk mengembangkan inhibitor NRF2 secara langsung, namun belum ada yang memberikan hasil yang kuat dan efisien. Selain itu, terapi imunologi yang diarahkan oleh status aktivasi NRF2 juga perlu dipertimbangkan, mengingat sel kanker paru yang kecanduan NRF2 menunjukkan tingkat tinggi protein imunosupresif, seperti PD-L1.

Meskipun demikian, penggunaannya pada pasien masih terlalu dini karena kurangnya studi klinis. Strategi terapeutik lain yang tidak berfokus pada inhibisi NRF2 langsung juga dapat dipertimbangkan, termasuk penghambatan tidak langsung melalui protein kinase hulu dan/atau hilir. Penggunaan teknologi pengeditan gen seperti sistem CRISPR-CAS dapat menjadi alat bantu penting untuk menentukan regulasi NRF2 yang baru. Selain itu, pemblokiran regulator genetik lainnya, seperti mikroRNA, long non-coding RNA, atau interaksi dengan mitra interaksi juga dapat dianggap sebagai target yang layak untuk sel kanker paru yang kecanduan NRF2.⁹

2.2.3 Regulasi Aktivitas NRF2

Terdapat berbagai regulasi pada aktivitas NRF2, di mana regulasi ini merupakan bagian penting dari kontrol dan aktivasi NRF2, yang bertanggung jawab untuk mengaktifkan gen-gen perlindungan sel terhadap stres oksidatif dan kerusakan sel.¹⁶

1. Regulasi Stabilitas Protein NRF2

Protein NRF2 di dalam sel diatur oleh kompleks enzim yang mengatur penghancuran protein. Pada kondisi normal, protein NRF2 rendah karena diuraikan oleh KEAP1. Namun, saat terjadi stres oksidatif, NRF2 terkumpul di inti sel dan mengaktifkan gen perlindungan.



2. Regulasi Transkripsi NRF2

NRF2 mengikat area khusus dalam gen pertahanan sel untuk mengaktifkan gen tersebut. Gen NFE2L2 juga diatur oleh faktor-faktor lain seperti AhR dan NF- κ B.

3. Regulasi Post-Transkripsi NRF2

RNA kecil (miRNA) dan protein pengikat RNA (RBPs) memengaruhi ekspresi NRF2 dengan cara berikatan pada pesan RNA. Pengaturan alternatif splicing juga bisa memengaruhi aktivitas NRF2.

4. Regulasi Aktivasi Transkripsi Target NRF2

Aktivitas NRF2 diatur dengan ketat. Gen di sekitar NRF2 tidak semuanya diaktifkan oleh NRF2. Faktor-faktor seperti sMAF dan BACH1 mempengaruhi cara NRF2 mengaktifkan gen perlindungan sel.

2.2.4 NRF2 Meregulasi Respon Stres Antioksidan dan Detoksifikasi Obat

Sejak penemuan NRF2 pada tahun 1994 sebagai anggota famili dari faktor transkripsi CNC-bZIP manusia, penelitian selama beberapa decade terakhir mengungkap peran utama NRF2 dalam respons antioksidan dan detoksifikasi obat. NRF2 merangsang ekspresi gen sitoprotektif dalam merespons stress sel, membentuk jaringan enzim yang bekerja sama untuk detoksifikasi obat serta menghilangkan pro-oksidan guna menjaga keseimbangan seluler. Enzim fase I mengkatalisis reaksi oksidasi, reduksi, dan hidrolisis xenobiotik, sementara enzim fase II melibatkan reaksi konjugasi. Enzim fase III berperan dalam mengangkut metabolit terkonjugasi setelah fase II. NRF2 juga memicu jalur antioksidan melalui produksi, penggunaan, dan regenerasi glutathione reduksi (GSH), serta mengatur enzim yang menghilangkan spesies oksigen reaktif (ROS) dalam rangka perlindungan terhadap kerusakan oksidatif. Penelitian terus mengungkapkan fungsi baru NRF2 dalam berbagai penyakit, termasuk penyakit kardiovaskular, sindrom metabolik, degenerasi saraf, gangguan imun, dan kanker.¹⁶



Protein NRF2 mengontrol tingkat oksidan dalam sel dan sinyal oksidan dengan mengatur ekspresi tiga kelompok gen yang tergantung pada ARE: enzim/transporter pengurai obat, enzim/protein antioksidan, dan protein sinyal oksidan. Sinyal NRF2-Keap1 ini ada sejak evolusi dan melibatkan penekanan NRF2 melalui degradasi ubiquitinasi/ proteasomal yang tergantung pada Keap1/Cul3, serta aktivasi NRF2 oleh zat penyebab melalui modifikasi kode sistein Keap1/NRF2. NRF2 berperan dalam mengatur fungsi-fungsi program seperti autophagy yang dipicu oleh oksidan, perakitan inflammasome, stress ER/UPR, biogenesis mitokondria, dan regulasi sel punca. Secara luas, NRF2 melindungi dari toksisitas dan penyakit kronis pada sel normal atau melalui intervensi farmakologis. Mekanisme ini juga dimanfaatkan dalam beberapa kondisi patologis dengan mengganggu ikatan NRF2-Keap1 atau Keap1-Cul3 melalui mutasi somatik, penumpukan protein pengganggu, dan pengurangan ekspresi Keap1, yang mengakibatkan aktivasi NRF2 yang persisten dalam kanker dan defisiensi autofagi.¹⁷

2.2.5 NRF2 dan Inflamasi

Nuclear Factor Erythroid 2-Like Factor 2 (NRF2) berperan penting dalam mengendalikan respons anti-inflamasi dalam tubuh. Ia berinteraksi dengan berbagai molekul dan enzim yang terlibat dalam peradangan, membantu menjaga keseimbangan antara peradangan dan perlindungan sel. Berikut adalah beberapa sifat NRF2 pada inflamasi:¹⁸

1. Peran Sistem NRF-2/HO-1 dalam Peradangan

HO-1 adalah enzim yang penting dalam mengurai heme dan menghasilkan zat-zat yang mengatur peradangan. NRF2 mengontrol ekspresi HO-1, yang memiliki dampak positif dalam mengendalikan reaksi peradangan. Aktivasi HO-1 pada sel makrofag dapat menghasilkan efek anti-inflamasi yang bermanfaat.

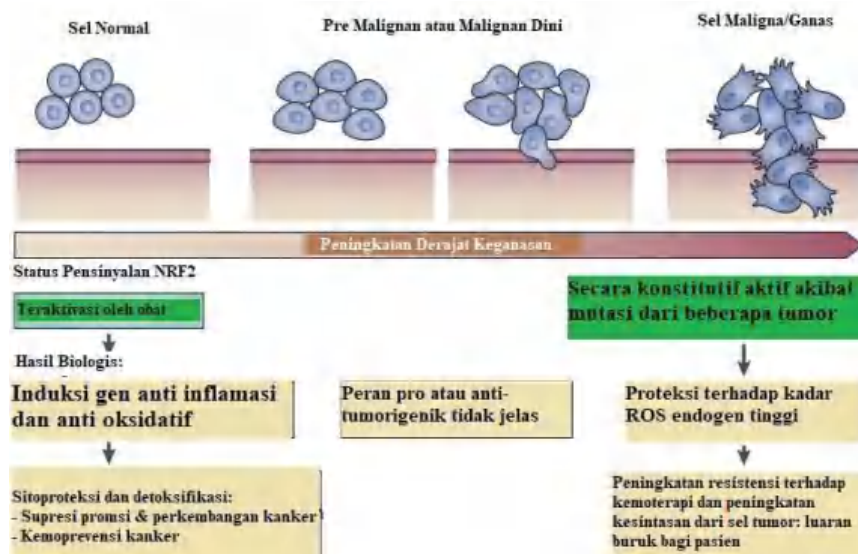


2. Hubungan Sistem NRF2/HO-1 dengan Inflamasi
NRF2 membantu mengurangi produksi zat-zat inflamasi dalam respons terhadap rangsangan peradangan. Selain itu, NRF2 juga memainkan peran dalam menjaga keseimbangan enzim proteolitik yang terlibat dalam peradangan.
3. Interaksi Fungsional NRF2 dengan Mediator Inflamasi
NRF2 mempengaruhi produksi sitokin dan molekul adhesi sel yang berperan dalam respons peradangan. NRF2 juga berinteraksi dengan enzim proteolitik yang terlibat dalam merusak jaringan selama peradangan.
4. Peran NRF2 dalam Regulasi Sitokin
NRF2 membantu mengurangi produksi sitokin pro-inflamasi, yang membantu mengendalikan peradangan. NRF2 juga bisa berinteraksi dengan faktor transkripsi yang mengatur gen-gen sitokin.
5. Peran NRF2 dalam Regulasi Molekul Adhesi Sel
NRF2 memainkan peran dalam mengendalikan ekspresi molekul adhesi sel yang membantu sel-sel peradangan menempel pada dinding pembuluh darah, yang mengatur respons inflamasi.
6. Peran NRF2 dalam Regulasi Keseimbangan Protease/Antiprotease
NRF2 berperan dalam menjaga keseimbangan antara enzim proteolitik yang merusak jaringan dan enzim antiprotease yang melindungi jaringan. Ini membantu mengatur respon peradangan.

2.2.6 Ekspresi NRF-2 dan KEAP1 pada Kanker Paru

Peningkatan ekspresi NRF-2 cukup penting dalam proses pencegahan kanker, terutama jika pengobatan dosis rendah digunakan selama tahap awal karsinogenesis. Namun, pada sel yang sepenuhnya ganas, peningkatan aktivitas NRF2 yang disebabkan oleh mutasi dapat memproteksi tumor dari efek sitotoksik ROS yang diinduksi oleh kemoterapi atau yang dapat diproduksi secara endogen oleh sinyal kogenik pada tumor stadium lanjut. Efek penginduksi NRF2 pada sel di ap tumorigenesis intermediat sebagian besar masih belum diketahui dan merlukan penelitian lebih lanjut.⁴





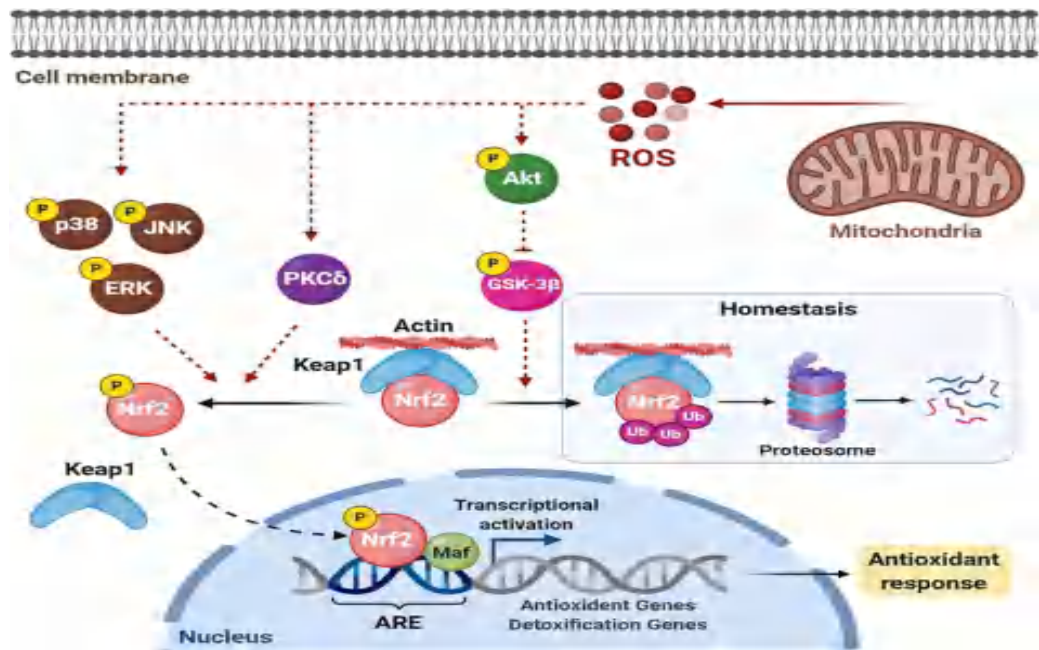
Gambar 2.5. Bagan pentingnya konteks stadium tumor terhadap konsekuensi biologis dari aktivasi NRF2. Dikutip dari ⁴

Untuk lebih memahami karakteristik genetik kanker paru-paru sel skuamosa, *The Cancer Genome Atlas Network* (TCGA) berusaha mengungkap perubahan genom pada kasus ini. *Kelch-like ECH-associated protein 1* (Keap1)/*nuclear factor erythroid 2-like factor 2* (NRF-2)/Perubahan jalur Cullin3 terjadi pada sepertiga dari kanker paru-paru sel skuamosa berdasarkan penemuan TCGA tersebut.¹⁹

Seperti yang telah disebutkan di atas, NRF2 meregulasi transkripsi beragam gen. Misalnya, baik heme oksigenase-1 (HO-1) dan NAD(P)H kuinon oksidoreduktase 1 (NQO1). Protein NRF-2 sitoplasma dipertahankan pada tingkat yang sangat rendah melalui regulator negatif selektifnya, yakni Keap1. Keap1 dapat menyerap NRF2 dalam sitoplasma dan menyebabkan ligase CUL3 E3 dan degradasi seku ester oleh proteasome. Di bawah kondisi stres oksidatif atau dengan adanya senyawa teraktivasi NRF2, aktivitas E3 mereduksi regulasi dan menstabilkan NRF2, sehingga meningkatkan jumlah protein NRF2 relatif terhadap Keap1.

NRF2 bebas bertranslokasi ke nukleus, kemudian mengaktifkan ekspresi gen antioksidannya.²⁰





Gambar 2.6. Mekanisme Nrf2/Keap1/ARE pada stres oksidatif Dikutip dari ⁴

Dalam kondisi homeostatis, NRF2 diasingkan oleh Keap1 dalam sitoplasma yang menghasilkan degradasi yang dimediasi oleh proteasome. dibawah tekanan oksidatif, tingkat spesies oksigen reaktif (ROS) antar sel yang tinggi memicu aktivasi beberapa jalur seperti Akt/PI3K, protein kinase C delta (PKC δ), dan MAPK (p38, JNK, dan ERK). Jalur ini menginduksi aktivasi Nrf2 melalui disosiasi dari kompleks Keap1. Nrf2 kemudian mentranslokasi ke dalam nukleus dan berikatan dengan antioxidant response element (ARE) untuk mengaktifkan gen antioksidan secara transkripsi dan kemudian memicu respon antioksidan. ²⁰

2.3 NRF2 pada Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT)

Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) adalah suatu proses biologis dasar di mana sel-sel kehilangan sifat "perlekatan/adhesi"-nya antar sel dan mendapatkan kemampuan untuk bergerak serta menyebar.

relitian yang menggabungkan komputasi dan eksperimen menunjukkan rwa NRF2, yang merupakan faktor transkripsi yang biasanya dipelajari am hubungannya dengan metabolisme sel, sebenarnya berfungsi sebagai



penstabil dan tanda dari fenotipe campuran antara epitel dan mesenkim (E/M). Fenotipe ini cenderung memiliki kemampuan maksimal untuk membentuk metastasis.²¹

Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) adalah karakteristik utama dari berbagai proses, baik yang terjadi secara normal seperti perkembangan embrio maupun yang bersifat patologis seperti perkembangan tumor. Selama EMT, sel-sel biasanya kehilangan "perlekatan" yang mengikat satu sama lain dan mendapatkan sifat-sifat yang memungkinkan mereka untuk bergerak dan menyebar. Namun, proses EMT ini tidak bersifat biner; sel-sel juga dapat mengambil satu atau lebih fenotipe campuran antara epitel dan mesenkim yang mungkin lebih mirip dengan sel punca, lebih cenderung untuk menjadi metastatik, dan lebih agresif daripada sel-sel yang sepenuhnya epitel atau mesenkim. Sel dalam fenotipe E/M campuran ini menunjukkan campuran sifat-sifat epitel dan mesenkim, sehingga memungkinkan migrasi kolektif dari sel-sel ini yang kemudian membentuk gugus *circulating tumour cells* (CTCs). CTCs ini dapat menjadi penyebab utama dari terjadinya metastasis dan biasanya berkaitan dengan prognosis atau hasil klinis yang buruk pada pasien.²⁴

Meskipun demikian, cara bagaimana sel-sel kanker dapat menjaga fenotipe E/M campuran ini masih belum sepenuhnya dipahami. Penelitian terbaru menyoroti peran NRF2, yang juga dikenal sebagai factor transkripsi NFE2L2, dalam mencegah sel-sel untuk mengalami EMT secara penuh saat penyembuhan luka yang disebabkan oleh cedera.²¹ NRF2 terkait dengan proses EMT melalui beberapa mekanisme berikut ini:²⁴

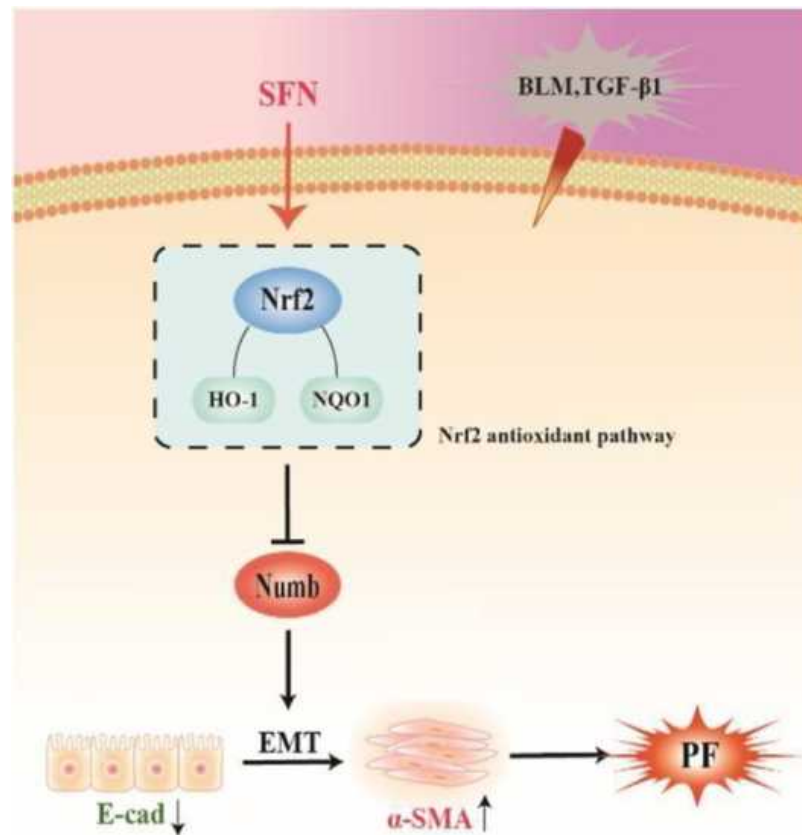
- a) NRF2 bisa menghambat aktivitas *EMT-TF Snail*.
- b) Anggota dari famili miR-200, yang berperan penting dalam mengatur fenotipe epitel, dapat meningkatkan kadar NRF2 dengan cara mengincar KEAP1 untuk diubikitinasi, sehingga mencegah NRF2 untuk dihancurkan di dalam sel.



- c) Akumulasi NRF2 di dalam inti sel dan aktivitasnya dalam proses transkripsi dapat diregulasi oleh keberadaan E-kadherin. Oleh karena itu, ZEB1, yang merupakan faktor transkripsi kunci dalam EMT dan dapat menghambat E- kadherin secara langsung, mungkin dapat meningkatkan kadar NRF2 dan aktivitasnya di dalam inti sel.

Hasil penelitian oleh Bocci dkk. dengan menggunakan pendekatan yang menggabungkan komputasi dan eksperimen menunjukkan bahwa faktor transkripsi NRF2 dapat mencegah terjadinya EMT secara penuh dan justru menjaga fenotipe E/M campuran. Ketika NRF2 dihilangkan dalam sel-sel kanker paru bukan sel kecil H1975 dan sel kanker kandung kemih RT4 yang memiliki fenotipe E/M campuran, hal ini mengganggu kemampuan sel-sel tersebut untuk bermigrasi secara kolektif dan menutup luka dalam percobaan in vitro. Perlu diperhatikan, ketika NRF2 ditingkatkan dalam sel RT4 secara individu, fenotipe E/M campuran justru menjadi lebih dominan dengan peningkatan baik dalam E-kadherin dan ZEB-1. Selain itu, mereka juga memprediksi bahwa NRF2 diekspresikan pada tingkat tertinggi dalam fenotipe E/M campuran ini, dan bahwa dinamika bipolar ini muncul dari hubungan antara NRF2 dan sirkuit regulasi EMT. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa NRF2 tampaknya memiliki peran penting dalam menjaga sel-sel agar tidak berubah menjadi sel-sel yang sepenuhnya mesenkim, yang biasanya lebih berbahaya dalam konteks kanker. NRF2 membantu mempertahankan karakteristik campuran antara sel epitel dan mesenkim, yang bisa memiliki dampak positif dalam menghambat pergerakan dan penyebaran sel kanker.²





Gambar 2.7. Peran ganda NRF2 pada kanker. Dikutip dari ³

2.4 Peran NRF2 pada Respon Imunitas

Berbagai studi terkini mengungkapkan NRF2 yang penting dalam mengatur sistem imunitas alami tubuh (*innate immunity*). Sistem imunitas alami adalah pertahanan pertama tubuh kita terhadap infeksi dan kerusakan jaringan. NRF2 membantu mengontrol respons pertahanan ini dengan berinteraksi langsung atau tidak langsung dengan komponen-komponen penting yang menjaga keseimbangan sel. Selama beberapa dekade terakhir, penelitian telah menemukan bahwa terdapat senyawa-senyawa dari proses metabolisme sel yang dapat merangsang NRF2. Sebagai contoh, senyawa-senyawa yang berasal dari siklus asam sitrat seperti itakonat atau fumarat telah terbukti memiliki efek anti-oksidasi pada sel-sel makrofag yang diaktifkan oleh lipopolisakarida (LPS) atau sel yang terinfeksi virus.



Itakonat, yang berasal dari siklus Krebs, menjadi terkenal ketika sebuah enzim bernama immune-responsive gene-1 (IRG1) ditemukan. Enzim ini berperan dalam produksi itakonat dan penelitian menunjukkan bahwa produksi itakonat meningkat secara signifikan pada makrofag yang diaktifkan oleh LPS, yang meningkatkan kemampuan mereka dalam melawan mikroorganisme dan menghubungkan proses metabolisme dengan respons kekebalan tubuh. Selanjutnya, derivatif itakonat yang lebih mudah menembus sel, 4-oktil itakonat (4-OI), juga terbukti mengaktifkan NRF2 dan memiliki sifat anti-inflamasi dengan cara membatasi produksi IL-1 β . Namun, beberapa penelitian menunjukkan bahwa itakonat asli tidak dapat mengaktifkan NRF2 dengan cara yang sama, karena perbedaan sifat kimianya.²²

Selain itu, NRF2 juga memengaruhi produksi sitokin pro-inflamasi seperti IL-6 dan IL-1 β pada sel-sel makrofag yang diaktifkan oleh LPS. Hal ini terjadi dengan cara mengikat wilayah promotor sitokin-sitokin ini, sehingga menghambat produksi mereka. Meskipun sebelumnya dianggap bahwa NRF2 menghambat inflamasi melalui respons terhadap stres oksidatif, beberapa penelitian menunjukkan bahwa peran anti-inflamasi NRF2 terpisah dari pengaruhnya terhadap keseimbangan oksidasi-reduksi. Selain itu, NRF2 juga meningkatkan stabilitas mRNA sitokin IL-8, sehingga membantu dalam produksi sitokin pada tingkat post-transkripsi.²²

2.5 Peran NRF2 dalam Mencegah Mutasi DNA

Nuclear Factor Erythroid 2-Like Factor 2 (NRF2) memiliki peran yang penting dalam menjaga kesehatan sel dan mencegah mutasi DNA yang dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan. Namun, regulasi dari aktivitas NRF2 ini harus dilakukan dengan hati-hati, tergantung pada kondisi kesehatan dan tahap penyakit yang dialami oleh pasien.²²



Banyak penelitian menyarankan bahwa senyawa yang dapat mengaktifkan NRF2 dapat digunakan dalam pencegahan kanker, serta dalam pengobatan gangguan neurodegeneratif dan peradangan kronis. Senyawa-senyawa ini diyakini bekerja dengan berbagai mekanisme, seperti menghambat fungsi KEAP1 yang mengendalikan NRF2. Namun, perlu dicatat juga bahwa aktivasi berlebihan dari NRF2 ini juga dapat berdampak negatif, terutama pada pasien kanker. Oleh karena itu, pengembangan senyawa yang dapat menghambat aktivitas NRF2 juga menjadi fokus penelitian dalam pengobatan kanker yang berkaitan dengan hiperaktivasi NRF2.²³

□ Aktivitas NRF2 Rendah

- Aktivitas NRF2 yang rendah dapat menyebabkan peningkatan kadar ROS di dalam sel. ROS adalah molekul yang dapat merusak struktur sel, seperti DNA, mitokondria, protein, dan lipid.²³
- Akibatnya, sel dengan aktivitas NRF2 rendah dan kadar ROS yang tinggi memiliki risiko mengalami masalah kesehatan seperti neurodegenerasi, penyakit jantung, dan inflamasi kronis.²³

□ Aktivitas NRF2 Tinggi

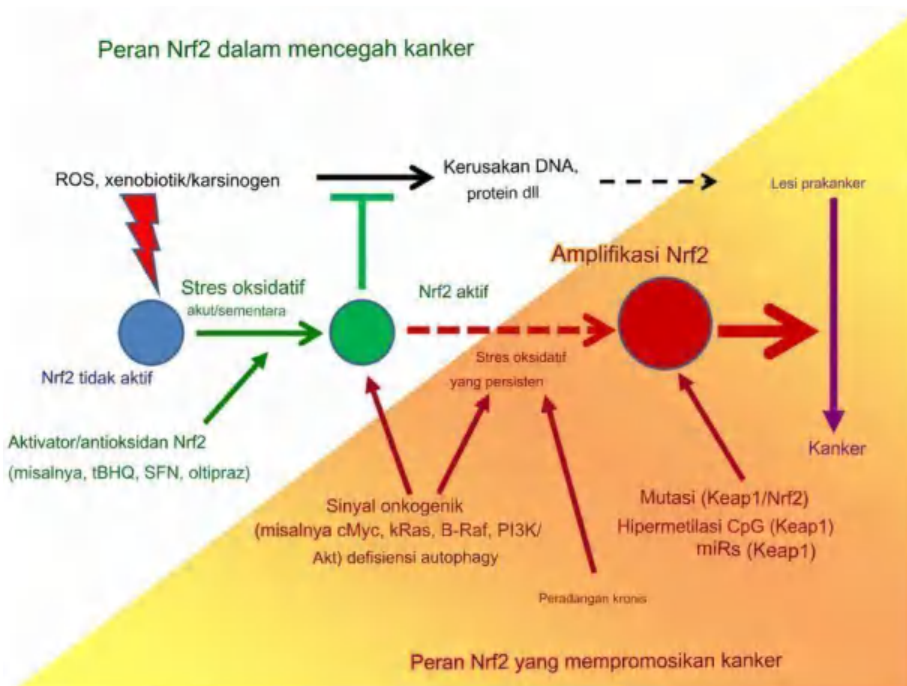
- Sebaliknya, aktivitas NRF2 yang tinggi membuat sel lebih tahan terhadap berbagai stres, termasuk stres yang disebabkan oleh ROS, stres genotoksik, dan stres metabolik.^{23,22}
- Namun, dalam konteks kanker, aktivasi NRF2 dapat memiliki efek yang berbeda tergantung pada tahap perkembangan tumor. Aktivasi NRF2 sebelum tumor muncul atau berkembang dapat bersifat preventif terhadap kanker, tetapi aktivasi NRF2 pada tumor yang sudah ada dapat meningkatkan pertumbuhan tumor dan resistensi terhadap kemoterapi dan radioterapi.²³



Diketahui pula bahwa NRF2 adalah factor transkripsi penting yang memiliki peran besar dalam terapi GBM dengan cara memengaruhi negatif kemoterapi melalui aktivasi mekanisme detoksifikasi fase II endogen. Pada sel normal, NRF2 diekspresikan pada tingkat fisiologis untuk menjaga keseimbangan seluler dan mencegah penyakit, termasuk kanker. Protein NRF2 tetap berada di sitoplasma dalam bentuk kompleks tidak aktif dengan cara berikatan pada molekul represor yang dikenal dengan KEAP1.²⁴

Ketika terjadi stres oksidatif, jalur NRF2/KEAP1 teraktivasi. NRF2 difosforilasi oleh protein kinase C dan berpindah ke inti sel, di mana ia berikatan dengan domain pengikatan DNA enzim fase-II untuk mengatur ekspresi mereka melalui *antioxidant response elements* (ARE). Proses ini mencegah terjadinya mutasi/kerusakan DNA yang disebabkan oleh ROS dan menjaga keseimbangan seluler. Namun, penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa mutasi somatic pada NRF2 dalam sel kanker mengganggu interaksinya dengan KEAP1 dan mencegah ubiquitinasi, sehingga menyebabkan penumpukan NRF2 yang lebih tinggi dalam sel. Dalam terapi kanker, peningkatan kadar NRF2 dengan jalur antioksidan yang teraktivasi akan mengakibatkan sel kanker memperoleh perlindungan dari efek sitotoksik dari obat kemoterapi dan perkembangan resistensi terhadap kemoterapi.²⁴





Gambar 2.8. Skema peran NRF2 terhadap mutasi DNA. Dikutip dari (12)

Apabila tetap terjaga dalam kendali homeostatik, aktivasi Nrf2 berfungsi sebagai perlindungan terhadap komponen-komponen seluler, seperti DNA, dari kerusakan yang disebabkan oleh stres oksidatif dan xenobiotik akut/sesaat. Dengan demikian, NRF2 berperan dalam mencegah pembentukan tumor. Namun, ketika mengalami deregulasi akibat perubahan epigenetik dan genetik yang memengaruhi jalur Keap1–NRF2, kondisi stres yang berkelanjutan, dan/atau jalur onkogenik, aktivasi NRF2 justru memfasilitasi pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel-sel yang telah mengalami transformasi, sehingga mendukung terjadinya tumorigenesis.²³

2.6 Peran Ekspresi NRF2 pada Kanker Paru

Nuclear Factor Erythroid 2-Like Factor 2 (NRF2) dalam kanker ditemukan memiliki peran ganda. Fungsi NRF2 ditemukan bermanfaat⁹ mun juga merugikan tumorigenesis, tergantung pada stadium kankernya:

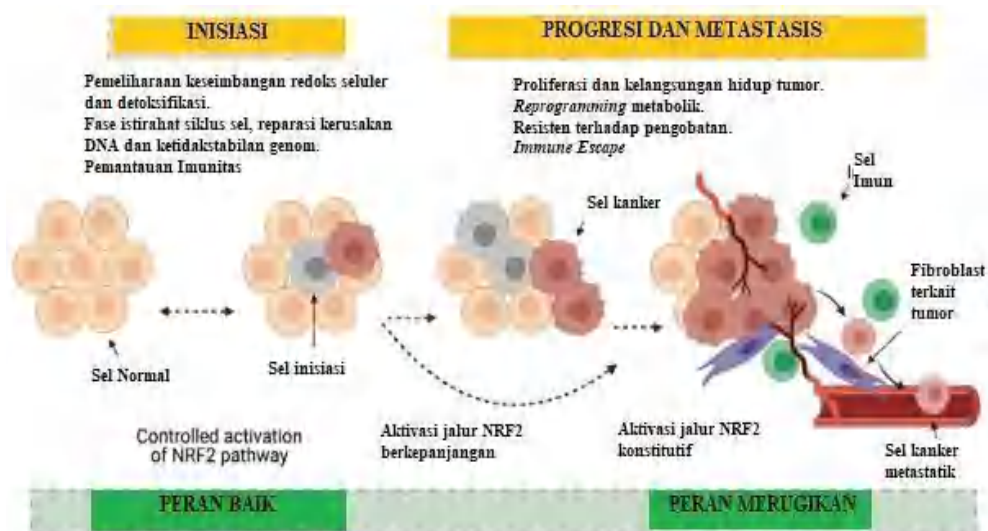
- **Manfaat NRF2 pada kanker:** Pada kanker stadium awal, NRF2 bersifat protektif dalam karsinogenesis pra-malignansi dan menjaga



keseimbangan sel redoks yang membantu dalam proses detoksifikasi, kerusakan DNA, penangkapan sel, ketidakstabilan genom serta pengawasan imunitas.

- **Kerugian NRF2 pada kanker:** Aktivasi NRF2 yang berkepanjangan atau konstitutif dapat berkontribusi pada terjadinya perkembangan kanker dan metastasis, karena NRF2 mendukung terjadinya proliferasi dan kelangsungan hidup tumor, pemrograman ulang metabolik, resistensi terhadap pengobatan dan pelarian imunitas (*immune escape*).

Pensinyalan NRF2 diketahui sangat penting dalam menginisiasi dan perkembangan kanker paru-paru. Peningkatan aktivitas sinyal NRF2 ditemukan berkorelasi dengan hasil pengobatan yang lebih buruk pada kanker paru berdasarkan pengamatan klinis. Kadar NRF2 yang tinggi dapat memfasilitasi pertumbuhan sel kanker dan kelangsungan hidup sel sebagai akibat dari terjadinya transaktivasi gen sitoprotektif. Dalam kasus KPKSB, ekspresi NRF2 berlebih terutama disebabkan oleh perubahan genetik dan epigenetik serta hilangnya fungsi supresornya, yaitu KEAP1.²⁵



Gambar 2.9. Peran ganda NRF2 pada kanker. Dikutip dari ⁷



Pada sel kanker, pensinyalan NRF2 dapat diaktifkan oleh stres endogen maupun eksogen, disertai dengan adanya aktivasi berbagai gen sitoprotektif. Lebih lanjut, *crosstalk* telah dilaporkan antara NRF2 dan jalur pensinyalan onkogenik seperti phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), sekuens DNA terkait retrovirus Kirsten (K-RAS), dan Notch.²⁶

Terdapat pendapat kuat bahwa pengembangan farmakologi lebih lanjut terhadap obat-obatan yang meningkatkan aktivitas NRF2 harus dilakukan. Hal ini tidak hanya mencegah kanker saja, tetapi juga banyak penyakit lainnya di mana stres oksidatif dan inflamasi berperan sangat penting dalam patogenesisnya. Sejauh ini, terdapat beberapa obat baru yang dapat mengaktifkan NRF2 yang sedang berada dalam fase uji klinis untuk berbagai indikasi. Beberapa obat-obatan ini meliputi:⁴

- ☐ Sulphoraphane dan curcumin (untuk pencegahan kanker)
- ☐ Dimetil fumarat (untuk pengobatan *multiple sclerosis*)
- ☐ Bardoxolone methyl (untuk pengobatan nefropati diabetik)
- ☐ Resveratrol (untuk beberapa indikasi)

Meskipun demikian, analisis genetik terkini menunjukkan bahwa mutasi pada NRF2 atau KEAP1 ditemukan pada beberapa jenis kanker. Mutasi ini meningkatkan aktivitas NRF2 dan dikaitkan dengan resistensi terhadap kemoterapi standar dan kesintasan yang buruk pada pasien kanker. Gina dkk. dalam studi mereka, menemukan bahwa aktivasi NRF2 dalam garis NSCLC mutan KEAP1 mempromosikan biosintesis serin, yang diperlukan dalam proses sintesis antioksidan utama, seperti GSH. Selain itu, regulasi NRF2 xCT, TXN dan TXNRD1 ditemukan mampu mempromosikan akumulasi sistein, fitur yang berkorelasi dengan prognosis buruk pada garis sel KPKSBK dan
10r.²⁵



Penelitian pada hewan tikus telah menggunakan berbagai model untuk memahami jalur NRF2. Mutasi NRF2 yang teraktivasi pada manusia

juga memiliki efek terhadap hewan, menyebabkan pertumbuhan tumor yang kurang terdiferensiasi dengan banyak pembuluh darah mikro dan kemungkinan metastasis. Mutasi KEAP1 pada tikus juga menghasilkan efek negatif dominan pada gen-gen yang terkait dengan NRF2. Dalam model kanker paru, tikus dengan defisiensi NRF2 ditemukan kurang rentan terhadap tumor, namun memiliki kejadian inflamasi dan kematian sel yang lebih tinggi. Tikus yang memiliki NRF2, sebaliknya, memiliki pertumbuhan tumor yang lebih kuat dan perlindungan sel yang lebih baik.³

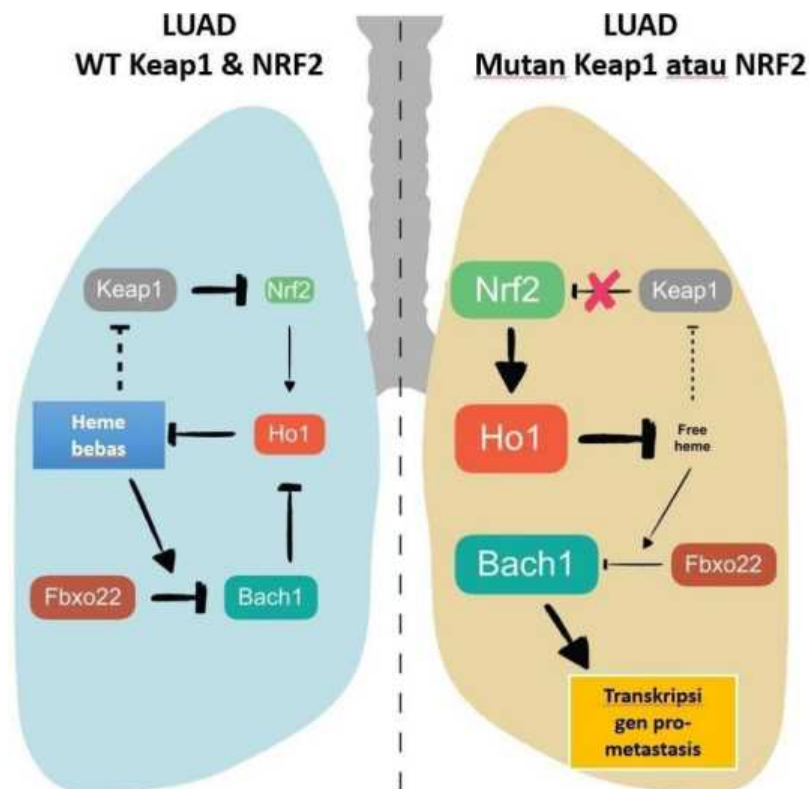
Hubungan antara NRF2 terhadap prognosis pasien kanker paru telah dipelajari oleh Wang et al pada studi mereka di tahun 2020. Mereka melakukan meta-analisis untuk menentukan nilai prognostik NRF2 pada pasien dengan KPKSBK. Hubungan antara ekspresi NRF2 pada pasien KPKSBK dan gambaran klinikopatologi juga diselidiki. Hasil dari meta-analisis mereka menunjukkan bahwa NRF2 dapat bertindak sebagai indikator potensial dari agresivitas tumor KPKSBK dan membantu prognosis serta desain strategi pengobatan yang lebih baik untuk pasien KPKSBK.³

2.7 Peran NRF2 pada Proses Metastasis

Reprogramasi metabolik merupakan salah satu ciri khas dari kanker. Metabolisme kanker memegang peranan penting dalam proses terbentuknya tumor, yang sangat berkaitan dengan jalur-jalur yang mengatur proliferasi sel, respons terhadap stres, stabilitas genom, tanggapan terhadap zat beracun, dan bioenergetika. Perubahan-perubahan dalam metabolisme ini tidak hanya meningkatkan jalur-jalur metabolisme utama seperti glikolisis, *pentose phosphate pathway* (PPP), dan glutaminolisis, tetapi juga berinteraksi dengan beberapa jalur sinyal onkogenik seperti jalur fosfoinositida 3-kinase/protein kinase B (PI3K/AKT), Ras, p53, Myc, dan jalur-jalur terkait reactive oxygen species (ROS).²⁷



Salah satu pengendali utama sinyal respons antioksidan seluler, yaitu jalur NRF2/KEAP1, memengaruhi beberapa aspek dari perubahan metabolisme. Jalur NRF2/KEAP1 mengontrol baik ekspresi dasar maupun ekspresi yang dipicu oleh stres serta fungsi komponen metabolisme utama yang terkait dengan reaksi metabolisme seperti biosintesis dan daur ulang glutathione, reduksi thioredoxin, dan sinyal thioredoxin. Selain itu, NRF2 mengontrol enzim metabolisme utama yang terkait dengan inhibisi adipogenesis, memfasilitasi aliran/*pathway* melalui jalur PPP, regenerasi *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH), dan peningkatan biosintesis purin.²⁷



Gambar 2.10. Skema peran NRF2 terhadap proses metastasis. Dikutip dari²⁴



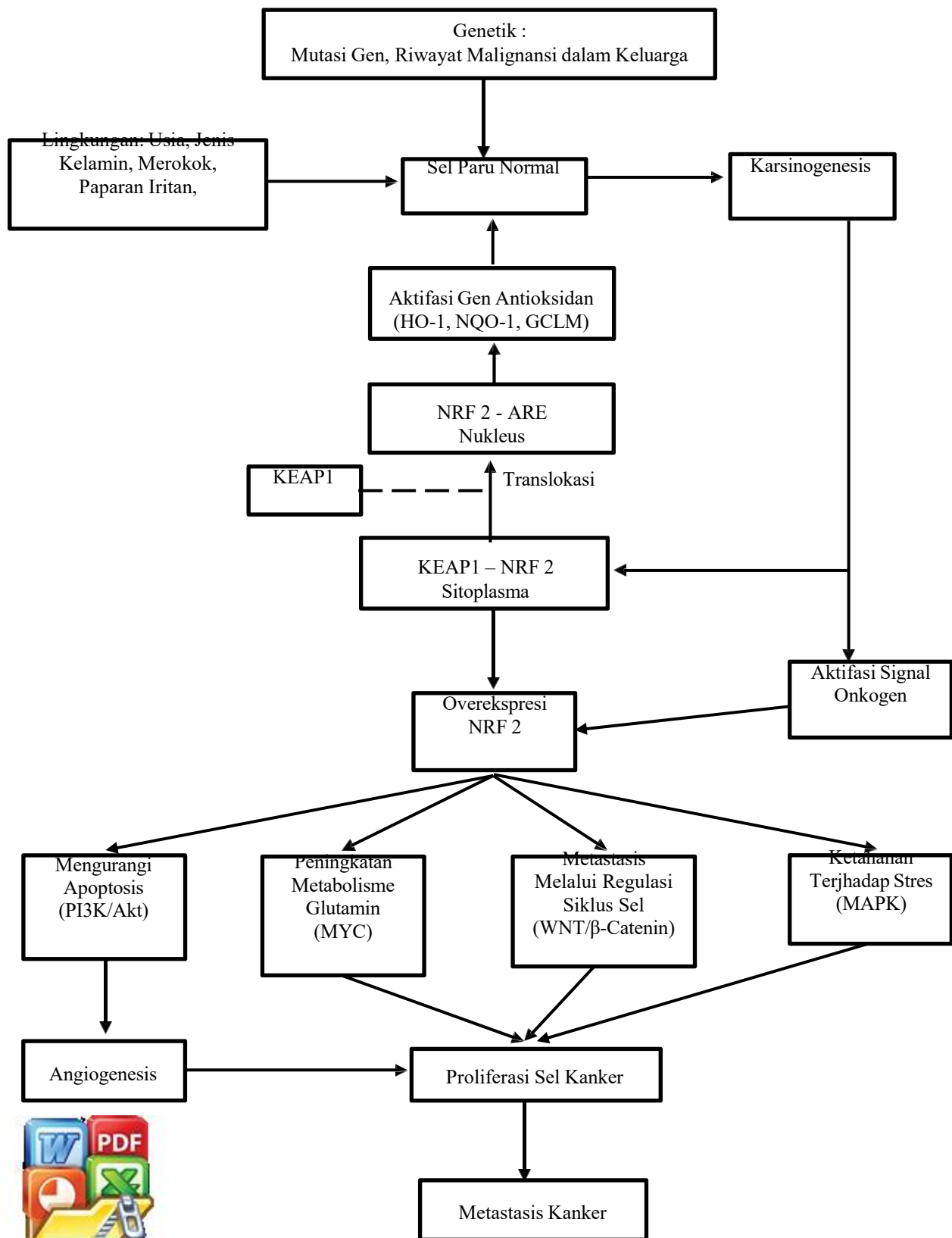
Hilangnya Keap1 dan pengaktifan NRF2 memainkan peran penting dalam proses metastasis pada adenokarsinoma paru dengan mengakumulasi Bach1. Saat NRF2 diaktifkan, Bach1 yang seharusnya didegradasi oleh Fbxo22 tetap stabil, dan mekanisme ini bergantung pada aktivitas Ho1.

Penanda Bach1 yang khas dikaitkan dengan kejadian metastasis dan penurunan kelangsungan hidup pada pasien adenokarsinoma paru. Inhibisi Ho1 terbukti efektif mengurangi metastasis pada penyakit ini dengan ketergantungan pada Fbxo22 dan Bach1, menyoroti peran kunci NRF2 dalam mengatur jalur-jalur terkait.²⁴

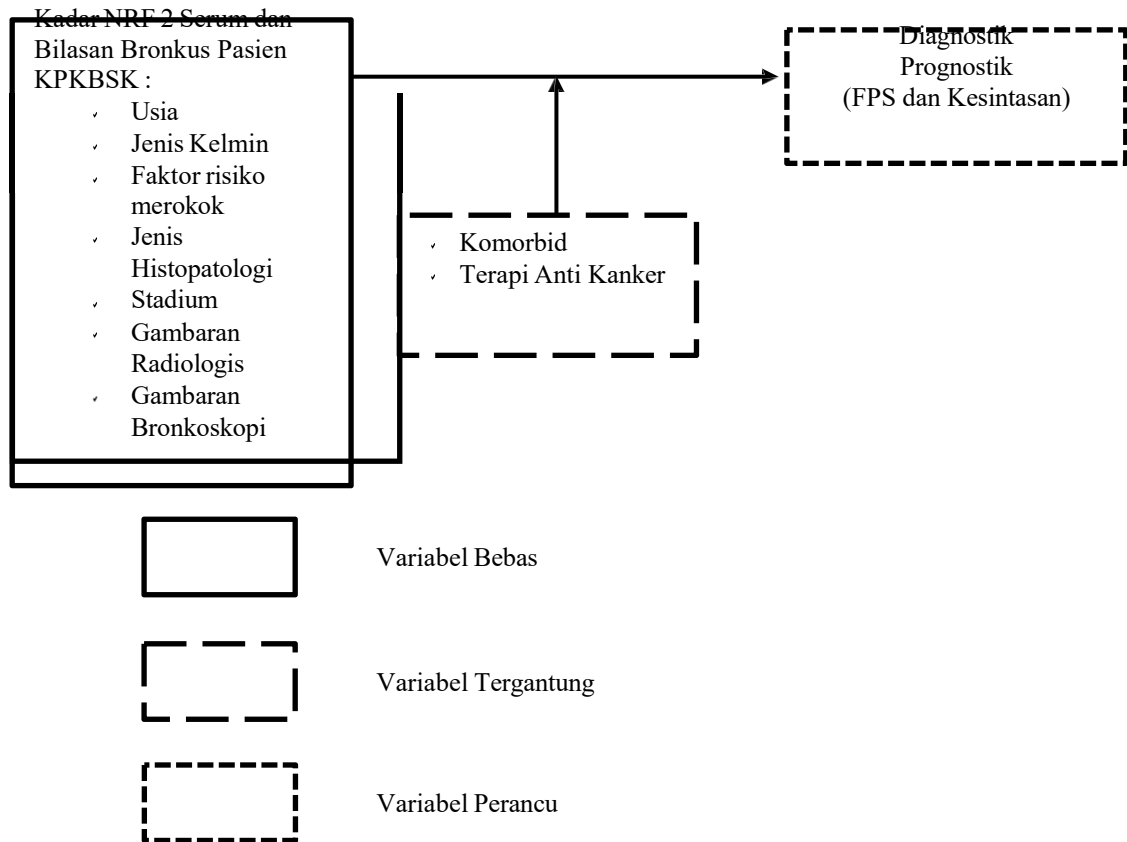
NRF2 juga dikenal sebagai faktor kunci dalam menjaga keseimbangan zat besi dalam tubuh. NRF2 mengendalikan tingkat enzim HO-1 di dalam sel dan pengaturan penyimpanan zat besi dengan mengontrol ferritin. Yang menarik, NRF2 mengatur pembentukan heme, yang kemudian diubah menjadi zat besi dan biliverdin. NRF2 juga mengontrol produksi biliverdin reductase yang mengubah biliverdin menjadi bilirubin, serta ferrochelatase yang kemudian dibuang sebagai limbah. Di sisi lain, pembentukan heme memerlukan asam amino glycine melalui jalur sintesis serin NRF2-ATF4. Peningkatan produksi zat besi selama perkembangan kanker dapat memicu karsinogenesis, perkembangan kanker, dan pembentukan metastasis. Dilaporkan bahwa kadar ferroportin, yang bertanggung jawab atas ekspor zat besi dari sel, menurun secara signifikan pada sel kanker payudara, yang berhubungan dengan percepatan perkembangan dan metastasis kanker. Selain itu, NRF2 juga dilaporkan mengatur secara transkriptional protein- protein yang terlibat dalam metabolisme zat besi dan heme seperti ferritin, ferrochelatase, gen responsif heme 1, ferroportin, dan lainnya. Data ini menunjukkan bahwa NRF2 mungkin memainkan peran penting dalam melindungi sel dan mengatur metabolisme melalui proses metabolisme zat besi.²⁷



2.8 Kerangka Teori



2.9 Kerangka Konsep



Gambar 2.12. Bagan kerangka konsep



1.



Optimized using
trial version
www.balesio.com