

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Kanker kolorektal merupakan jenis keganasan gastrointestinal yang berasal dari usus besar atau rektum (Mattiuzzi, Sanchis-Gomar dan Lippi, 2019). Secara global, kanker kolorektal menempati urutan ketiga sebagai kanker paling banyak terjadi dengan angka kejadian sebesar 9,6% dan menjadi penyebab kematian terbesar kedua sebesar 9,3% kematian. Kanker kolorektal merupakan masalah kesehatan global yang utama dengan 1,93 juta kasus baru dan 903 ribu kematian setiap tahunnya di seluruh dunia (Bray *et al.*, 2024). Berdasarkan data Globocan tahun 2022 di Indonesia, kejadian kanker kolorektal sebanyak 35.676 (8,7%) kasus baru yang menempati urutan keempat sebagai kanker paling banyak terjadi pada laki-laki dan perempuan (Ferlay *et al.*, 2022). Tingginya angka kejadian dan mortalitas kanker kolorektal menuntut penelitian terarah untuk mengoptimalkan protokol screening, intervensi terapeutik, dan manajemen pasca-operasi. Kanker kolorektal, yang tercatat sebagai neoplasma maligna dominan kedua pada laki-laki, mendapatkan prioritas dalam penelitian onkologi gastrointestinal untuk mengembangkan pendekatan bedah dan adjuvan terpersonalisasi yang dapat mengurangi beban klinis dan sosioekonomi penyakit ini (Mattiuzzi, Sanchis-Gomar dan Lippi, 2019).

Kejadian kanker kolorektal berhubungan dengan faktor genetik dan lingkungan; jenis kelamin, geografi, etnis, usia, dan status sosial ekonomi semuanya mempengaruhi kejadian tersebut (Dohrn dan Klein, 2023). Kanker kolorektal tidak bergejala dalam waktu lama pada sejumlah besar pasien, setidaknya sampai kanker tersebut tumbuh dan menyebar secara signifikan, sehingga berdampak buruk pada prognosis. Pada pasien yang bergejala, penyakit ini dapat menimbulkan perubahan pada motilitas usus (misalnya diare atau konstipasi), sensasi ingin buang air besar yang terus-menerus, perdarahan kolorektal yang tersembunyi atau nyata, serta ketidaknyamanan perut, kram, penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan, kelemahan dan kelelahan, terutama pada pasien dengan kanker stadium lanjut (Mattiuzzi, Sanchis-Gomar dan Lippi, 2019).

Metastasis merupakan penyebab utama kematian pada pasien kanker kolorektal. Lokasi metastasis yang paling umum adalah hati dan peritoneum. Metastasis di peritoneum ditemukan pada 25% pasien dengan prognosis yang lebih rendah jika dibandingkan dengan lokasi metastasis lainnya (Pretzsch *et al.*, 2019). Metastasis hati pada kanker kolorektal berkisar antara 25–30% kasus (Engstrand *et al.*, 2018). Invasi tumor dan metastasis adalah proses yang kompleks di mana sel-sel tumor transit dan bermigrasi dari lokasi tumor primer ke dalam sirkulasi darah, bertahan hidup di dalamnya, melekat dan bermigrasi melintasi endotel vaskular, dan akhirnya berkembang biak dan berkembang menjadi lokasi metastasis yang terlihat. Mekanisme metastasis tumor dapat dijelaskan bahwa sel-sel tumor menyerang sirkulasi darah. Sel tumor memanfaatkan berbagai mekanisme untuk menginduksi aktivasi trombosit. Trombosit

yang teraktivasi meningkatkan transisi epitel-mesenkim (EMT) sel tumor. Kombinasi sel tumor dan trombosit teraktivasi membentuk metastasis awal, dan serangkaian perubahan trombosit teraktivasi memediasi terjadinya EMT (Wang *et al.*, 2022).

Dalam kondisi fisiologis normal, trombosit yang bersirkulasi tidak berinteraksi dengan sel endotel yang tidak aktif. Ketika kanker terjadi, sel tumor melepaskan sitokin dan faktor pertumbuhan yang mengaktifkan sel endotel vaskular, sehingga mendorong proliferasi sel tumor. Trombosit yang teraktivasi seperti asam lisofosfatidat (LPA) dan TANK-binding kinase 1 (TBK1) melepaskan faktor proangiogenik, yang selanjutnya mengaktifkan sel-sel endotel, mendukung angiogenesis, dan mengatur permeabilitas pembuluh darah dan tonus pembuluh darah. Pada saat yang sama, faktor proangiogenik, bersama dengan faktor teraktivasi yang disimpan di dalam trombosit, dilepaskan ke TME, yang selanjutnya mendorong revaskularisasi dan peradangan (Liao *et al.*, 2023).

Interaksi komunikasi trombosit aktif dengan EMT sel tumor telah dilaporkan oleh beberapa peneliti. LPA berhubungan dengan invasi dan metastasis tumor, yang dapat menghambat apoptosis sel tumor dan mendorong proliferasinya *in situ*. LPA menginduksi EMT dengan mengikat LPAR2 dan mengaktifkan jalur pensinyalan Notch (Wang *et al.*, 2022). LPA berikatan dengan reseptornya LPA2, dan merekrut Notch1 untuk mempercepat EMT (Ren *et al.*, 2019). Sementara itu, TBK1 mendorong proliferasi dan kelangsungan hidup sel kanker dengan mengaktifkan sinyal intrinsik di dalam sel kanker. Dalam sitoplasma sel kanker, TBK1 mendorong perkembangan dan perkembangan tumor dengan menstimulasi jalur kelangsungan hidup dan proliferasi sel, termasuk AKT-mTOR1, NF- κ B, p62/autophagy, MYC, dan JAK/STAT. TBK1 meningkatkan kelangsungan hidup dan proliferasi sel kanker dengan mengaktifkan jalur NF- κ B dan mTOR1. Aktivasi NF- κ B meningkatkan ekspresi Bcl-XL anti-apoptosis yang berkaitan dengan tumorigenesis (Runde *et al.*, 2022).

Trombosit dilaporkan membantu sel tumor untuk bermetastasis. Trombosit yang teraktivasi dapat terakumulasi dan meningkatkan invasi dan metastasis sel tumor (Liao *et al.*, 2023). Tingkat LPA yang tinggi terdapat pada tumor menunjukkan adanya peran LPA dalam regulasi migrasi, invasi dan metastasis (Karalis dan Poulogiannis, 2024). Pada penelitian Yun dan Kumar (2018) dilaporkan bahwa LPA mendorong proliferasi dan migrasi sel kanker kolorektal manusia, termasuk HCT116, LS174T, SW480, dan LoVo, melalui LPA2 atau LPA3. Peran TBK1 terhadap metastasis kanker kolorektal belum pernah dilaporkan sebelumnya namun TBK1 dilaporkan dapat mendorong metastasis kolangiokarsinoma melalui induksi EMT yang dimediasi β -catenin dan bahwa TBK1 berpotensi menjadi faktor prognostik dan target terapi kanker (Gao *et al.*, 2023).

Identifikasi hubungan trombosit aktif seperti LPA dan TBK 1 dengan EMT sel tumor seperti Notch dan NF- κ B dalam konteks hasil klinis dan respons terhadap terapi berguna untuk identifikasi pola yang mungkin berperan sebagai penanda prognostik atau prediktif perkembangan dan metastasis kanker kolorektal. Namun penelitian terkait interaksi komunikasi trombosit aktif dengan EMT sel tumor pada pasien kanker kolorektal belum pernah dilakukan sebelumnya. Oleh karena itu, penelitian ini tertarik untuk menganalisis interaksi komunikasi trombosit aktif dengan EMT sel tumor pada pasien kanker kolorektal.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu mengetahui interaksi kadar trombosit aktif LPA dan TBK1 dengan EMT (CDH2) sel tumor Notch dan NF – kB pada pasien kanker kolorektal?

1.3 Tujuan penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Menganalisis interaksi komunikasi trombosit aktif LPA dan TBK1 dengan EMT (CDH2) sel tumor Notch dan NF-kB pada pasien kanker kolorektal.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Menilai dan menganalisis hubungan antara LPA2, TBK1, dan CDH2 sel tumor dengan metastasis kanker kolorektal.
2. Menilai dan menganalisis hubungan antara Notch, NF-KB dan CDH2 sel tumor dengan metastasis kanker kolorektal.
3. Menilai dan menganalisis korelasi antara LPA2, TBK1, dan CDH2 sel tumor berdasarkan metastasis kanker kolorektal.
4. Menilai dan menganalisis korelasi antara Notch, NF-KB dan CDH2 sel tumor berdasarkan metastasis kanker kolorektal.
5. Menilai dan menganalisis korelasi antara LPA2, TBK1, Notch, NF-KB dan CDH2 sel tumor berdasarkan metastasis kanker kolorektal.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini memiliki manfaat terhadap beberapa *stakeholder* yang terkait, diantaranya:

1.4.1. Manfaat bagi Institusi Pendidikan

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber referensi mengenai kanker kolorektal dan sebagai tambahan referensi terhadap penelitian lanjutan yang terkait dengan topik penelitian ini.

1.4.2. Manfaat bagi Institusi Kesehatan

Hasil penelitian ini akan memberikan wawasan tambahan bagi tenaga kesehatan dan dapat membantu deteksi prognosis pasien kanker kolorektal.

1.4.3. Manfaat bagi penelitian selanjutnya

1. Dapat menjadi data dasar bagi penelitian selanjutnya dalam memahami interaksi komunikasi trombosit aktif dengan EMT sel tumor pada pasien kanker kolorektal.
2. Dapat menjadi acuan untuk penelitian selanjutnya terkait patofisiologi kanker kolorektal melalui pemahaman terkait interaksi komunikasi trombosit aktif dengan EMT sel tumor.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kanker kolorektal

Kolon dipersarafi oleh saraf vagus dan panggul. Fungsi utama kolon kanan adalah untuk menyerap air dan beberapa nutrisi, sedangkan fungsi utama kolon kiri adalah untuk menyimpan dan mengeluarkan feses. Khususnya, kolon mengeluarkan hormon gastrointestinal dan zat lendir basa. Rektum bergabung dengan kolon sigmoid, dan ujung bawahnya bergabung dengan saluran anus pada garis dentate. Suplai darah rektal terutama berasal dari arteri rektal superior dan inferior. Berdasarkan lokasi timbulnya, kanker rektal sekitar 49,66%, kanker kolon sekitar 49,09%, dan kanker kolorektal sekitar 1,25%. Di antara kanker kolorektal, lokasi yang paling umum adalah kolon sigmoid (55%), diikuti oleh kolon asendens (23,3%), kolon transversal (8,5%), kolon desendens (8,1%), sekum (8,0%), dan lokasi persilangan (2,1%). Kanker kolorektal merupakan kanker ketiga yang paling banyak didiagnosis di seluruh dunia, dimana laki-laki menduduki peringkat ketiga dan perempuan menempati peringkat kedua. Kanker kolorektal menjadi penyebab kematian terkait kanker kedua yang paling umum di seluruh dunia. Kanker kolorektal sangat berhubungan dengan faktor lingkungan, gaya hidup, dan pola makan (Duan *et al.*, 2022).

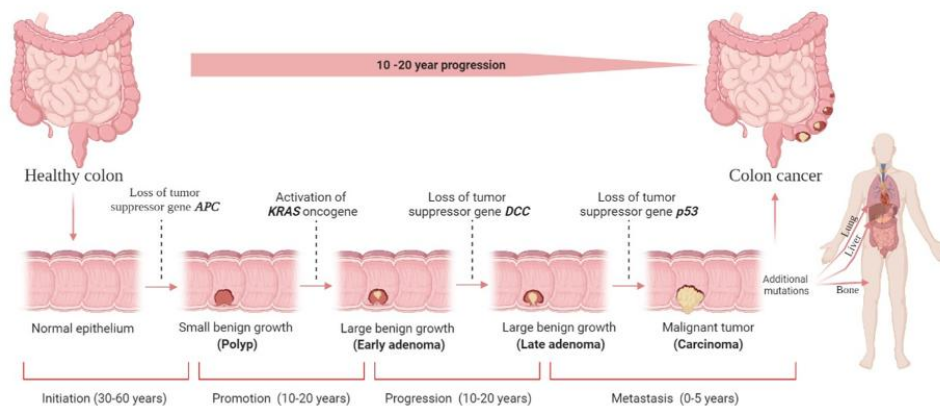
Kanker kolorektal dini seringkali tidak menunjukkan gejala. Seiring berkembangnya penyakit, gejala-gejala berikut umumnya akan muncul meliputi (Duan *et al.*, 2022):

1. Hematochezia: Pada hematochezia dalam jumlah kecil, tinja secara umum tidak menunjukkan perubahan yang terlihat, tetapi tes okultasi tinja bisa positif; tinja berdarah, tinja berdarah, lendir, atau tinja seperti selai dapat muncul jika terdapat banyak darah di tinja.
2. Obstruksi usus: Seringkali merupakan ciri dari kanker kolorektal stadium lanjut; sakit perut, perut kembung, mual, muntah, kelelahan, dan buang air besar akan terjadi bila obstruksi usus disebabkan oleh pembesaran massa.
3. Massa perut: Biasanya terjadi pada kanker usus besar kanan; gejala ini berupa pembesaran massa sampai batas tertentu, teraba massa perut.
4. Gejala sistemik: Kanker kolorektal umumnya tidak menunjukkan gejala yang jelas pada tahap awal, sehingga perjalanan penyakitnya relatif lama, menyebabkan proliferasi tumor, cachexia, anemia, kekurusan, dan gejala lainnya.

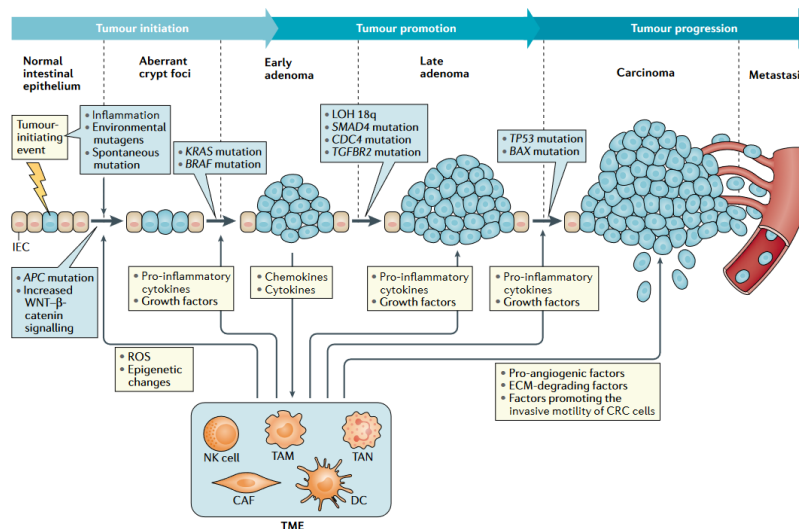
Karena perbedaan fungsi anatomi dan fisiologis kolon dan rektum, manifestasi klinis tumor di lokasi anatomi yang berbeda juga berbeda. Umumnya massa perut dan gejala sistemik lebih sering terjadi pada kanker usus besar kanan, tinja berdarah dan sumbatan lebih sering terjadi pada kanker usus besar kiri, dan perubahan kebiasaan buang air besar lebih sering terjadi pada kanker rektal (Duan *et al.*, 2022).

Kanker kolorektal berkembang ketika sel epitel mengalami serangkaian perubahan genetik atau epigenetik yang memungkinkannya menjadi hiperproliferatif. Sel-sel yang berkembang pesat ini membentuk adenoma jinak, yang dapat berkembang menjadi kanker dan bermetastasis melalui beberapa jalur berbeda, termasuk ketidakstabilan mikrosatelit (MSI), ketidakstabilan kromosom (CIN), dan neoplasia bergerigi. Urutan adenoma-karsinoma adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan perkembangan kanker. Jalur tradisional bertanggung jawab atas sebagian besar kasus kanker kolorektal yang sporadis. Kanker dimulai dari adenoma kecil yang kemudian menjadi adenoma raksasa dan akhirnya menjadi kanker. Ada hubungan yang kuat antara jalur ini dan perkembangan subtipe ketidakstabilan kromosom (CIN)-positif (CIN-positif). Menurut National Cancer Institute, model ini menyumbang 10-15% dari CRC sporadis. Hal ini didefinisikan oleh perkembangan dari sel normal menjadi polip hiperplastik, adenoma bergerigi sessile, dan akhirnya kanker. Rute tersebut biasanya terlibat dalam pengembangan subtipe tinggi metilator pulau CpG (CIMP), jalur yang terlibat dalam peradangan. Peradangan yang berkepanjangan menyebabkan sel-sel normal mengalami displasia tak tentu, yang berkembang lebih jauh

menjadi displasia tingkat rendah, berkembang lebih jauh menjadi displasia tingkat tinggi, dan akhirnya menjadi kanker. Penyakit radang usus dan meluasnya penggunaan kolektomi profilaksis menyebabkan kurang dari 2% kasus kanker kolorektal di seluruh dunia. Terdapat lesi prekursor jinak yang dapat diakses dan dihilangkan di semua jalur, meskipun lebih terlihat pada jalur adenoma-karsinoma dan jalur bergerigi. Karena kanker kolorektal membutuhkan waktu bertahun-tahun untuk berkembang menjadi kanker, terdapat peluang untuk pencegahan sekunder kanker kolorektal. Ketika adenokarsinoma menjadi invasif dapat menyebar ke bagian tubuh lain melalui arteri darah dan limfatik. Adenokarsinoma terjadi sekitar 96% dari seluruh kanker kolorektal. Namun, dibutuhkan waktu hingga 18 tahun antara berkembangnya polip dan kanker invasif. Rata-rata, dibutuhkan waktu sembilan tahun untuk membentuk metastasis. Ada empat tahap dalam perkembangan karsinogenesis CRC: inisiasi, promosi, perkembangan, dan metastasis. Hati adalah tempat metastasis yang paling umum, diikuti oleh paru-paru dan tulang (Gambar 1) (Hossain *et al.*, 2022).



Gambar 1. Perkembangan kanker kolorektal
Sumber: (Hossain *et al.*, 2022)

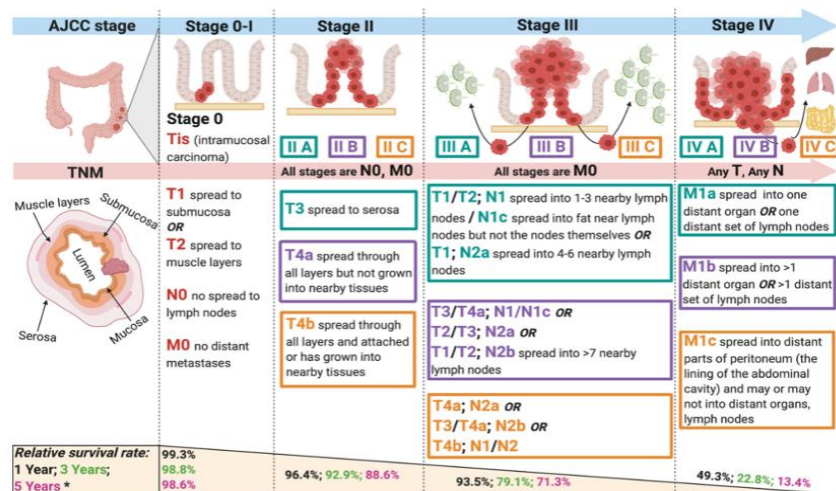


Gambar 2. Mekanisme inisiasi dan promosi tumor pada kanker kolorektal
Sumber: (Schmitt dan Greten, 2021)

Tumorigenesis kolorektal memerlukan peristiwa pemicu tumor yang mengubah sel epitel usus normal (IEC) melalui mutasi spontan, mutagen lingkungan, atau perubahan genetik yang disebabkan oleh

peradangan. Ekspansi klonal dari sel-sel yang diinisiasi didorong oleh mutasi yang menyebabkan hiperproliferasi, seperti pada APC atau gen lain yang mengkode komponen sinyal jalur WNT, mutasi tambahan seperti KRAS, TP53 atau TGFBR2, dan faktor perangsang pertumbuhan dari tumor lingkungan mikro (TME) menyebabkan pertumbuhan klon ini menjadi tumor ganas, yang dikenal sebagai promosi tumor. Mutasi lebih lanjut dan perubahan pada TME memungkinkan tumor ini kemudian bermetastasis ke organ jauh. Jaringan tumor epitel terus berinteraksi dengan sel-sel di TME melalui efek sitokin, kemokin, dan faktor pertumbuhan. Lingkungan inflamasi tidak hanya berkontribusi terhadap inisiasi tumor, misalnya melalui produksi spesies oksigen reaktif (ROS) atau perubahan epigenetik, namun juga mendorong tumorigenesis dengan menyediakan faktor pertumbuhan dan sitokin proinflamasi. Selain itu, pertumbuhan tumor dapat menstimulasi TME inflamasi melalui produksi sitokin dan kemokin sehingga menciptakan umpan balik positif yang mendorong perkembangan tumor (Gambar 2) (Schmitt dan Greten, 2021).

Seperti tumor atau kanker lainnya, kanker kolorektal diklasifikasikan berdasarkan stadium 0 (karsinoma in situ) hingga stadium IV. Biasanya, perkembangan non-kanker menghasilkan pembentukan jaringan displastik (tumor), yang mengarah pada perkembangan kanker kolorektal setelah sel mengalami beberapa perubahan DNA abnormal. Tumor jaringan lunak non-kanker (jinak) adalah pertumbuhan yang tidak menyebar (bermetastasis) ke bagian tubuh lain. Hiperproliferasi menyebabkan terbentuknya polip atau adenoma (jinak) (stadium 0). Sepuluh persen polip adenomatosa dapat menjadi ganas, membentuk adenokarsinoma yang menyerang muskularis propria (stadium I). Tumor tumbuh dalam volume dan selanjutnya menyerang jaringan di serosa (stadium II) dan peritoneum visceral (stadium III). Kemudian, ada kemungkinan berkembangnya metastasis limfatik atau pembuluh darah (stadium IV) (Hossain et al., 2022). Stadium kanker kolorektal menurut American Joint Committee on Cancer (AJCC), edisi ke-8 (Gambar 3). Penentuan stadium TNM didasarkan pada ukuran tumor, pertumbuhan kelenjar getah bening dan metastasis jauh ke organ dan/atau jaringan. Tingkat kelangsungan hidup relatif adalah karakteristik epidemiologi yang membandingkan orang-orang dengan tipe histologis dan stadium kanker tertentu dengan populasi keseluruhan di suatu wilayah/wilayah tertentu di negara kita. Tingkat kelangsungan hidup relatif 1, 3, dan 5 tahun menurun secara drastis seiring dengan kemajuan kanker kolorektal dari stadium 0 ke IV (Shek et al., 2021).



Gambar 3. Stadium kanker kolorektal menurut American Joint Committee on Cancer (AJCC) edisi ke-8
Sumber: (Shek et al., 2021)

Stadium menentukan tingkat keparahan penyakit dan pilihan terapi yang tersedia. Meskipun pembedahan adalah pilihan pengobatan standar untuk kanker kolorektal stadium 0–II, kanker kolorektal stadium III memerlukan pembedahan dan kemoterapi tambahan, sedangkan stadium IV dan kanker

kolorektal berulang memerlukan pembedahan, kemoterapi, dan terapi bertarget. Hingga saat ini belum diketahui secara pasti obat yang dapat menyembuhkannya (Hossain *et al.*, 2022).

Pada tahap awal, kanker kolorektal terbatas pada mukosa usus dan submukosa. Metastasis limfatik biasanya tidak terjadi pada kanker kolorektal awal. Ketika tumor menembus submukosa, metastasis limfatik terjadi pada sekitar 10% pasien. Tipe *gross* kanker kolorektal terutama mencakup pengangkatan, ulserasi, dan infiltrasi. Jenis histologis patologis terutama meliputi adenokarsinoma papiler, adenokarsinoma tubular, adenokarsinoma musinosa, karsinoma sel cincin meterai, karsinoma tidak berdiferensiasi, karsinoma adenoskuamosa, karsinoma sel skuamosa, dan karsinoid karsinoid. Adenokarsinoma memiliki insiden tertinggi, yaitu lebih dari 90% (kanker usus besar). Pada kanker kolorektal, adenokarsinoma 93,4%, adenokarsinoma musinosa dan signet ring cell carcinoma masing-masing sekitar 3,9% dan 0,6%, dan karsinoid sekitar 0,2% (Duan *et al.*, 2022).

Etiologi kanker kolorektal terkait dengan faktor-faktor berikut (Duan *et al.*, 2022):

1. Faktor genetik: Sekitar 20% kasus kanker kolorektal berhubungan dengan faktor genetik, dan penelitian menunjukkan peningkatan risiko kanker tiga kali lipat pada kerabat generasi pertama pasien kanker kolorektal. Familial Adenomatous Polyposis (FAP) telah diidentifikasi sebagai sindrom genetik yang merupakan predisposisi kanker kolorektal, dan Mismatch Repair Gene (MMR) juga berhubungan dengan kanker kolorektal.
2. Faktor pola makan: Tinggi lemak, tinggi protein hewani, dan rendahnya pola makan selulosa berhubungan dengan kejadian kanker kolorektal. Asupan lemak yang berlebihan akan meningkatkan sekresi empedu, dekomposisi asam empedu, peningkatan karsinogen usus, dan aktivitas bakteri anaerob usus.
3. Penyakit non-kanker: Penyakit non-kanker seperti polip kolorektal, adenoma kolorektal, kolitis ulseratif dan penyakit Crohn, dll. dapat berkontribusi terhadap kanker kolorektal. Penelitian menunjukkan bahwa sekitar 3-5% pasien kolitis ulserativa akan mengalami kanker kolorektal, dan kejadian transformasi ganas lebih besar dari 10% pada pasien dengan kolitis ulserativa yang berlangsung lebih dari 20 tahun. Sekitar 15–40% kanker usus besar berasal dari polip kolon, dengan perjalanan prakanker selama 2–5 tahun. Adenoma yang berdiameter kurang dari 1 cm memiliki peluang kurang dari 2% untuk menjadi kanker, sedangkan adenoma yang berukuran lebih dari 3 cm memiliki peluang lebih dari 40% untuk menjadi kanker.
4. Faktor lain: Paparan karsinogenik dan gaya hidup, seperti kurang gerak dan kelebihan berat badan, merupakan faktor risiko kanker kolorektal, dan kejadian kanker sigmoid dan rektal lebih tinggi pada pasien yang menjalani terapi radiasi panggul.

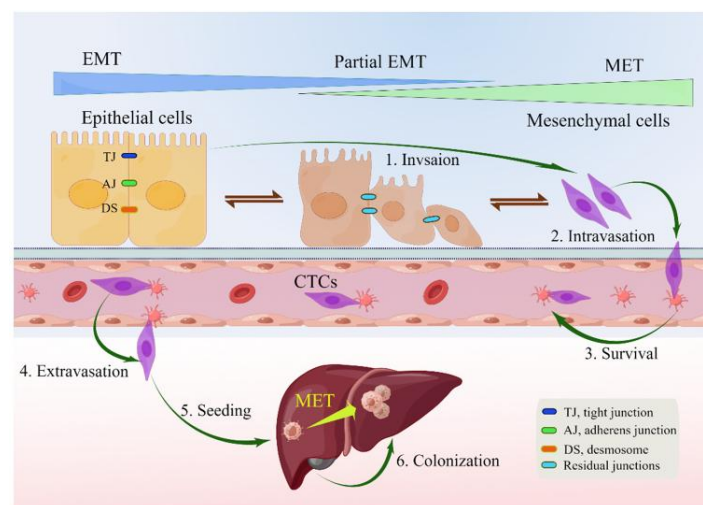
Kanker kolorektal menyebar dan bermetastasis terutama melalui empat jalur berikut (Duan *et al.*, 2022):

1. Invasi lokal: Tumor menyusup ke area lokal lesi primer dan struktur di sekitarnya.
2. Metastasis limfatik: Sel-sel neoplastik menggunakan sistem limfatik intramukosa untuk mencapai kelenjar getah bening regional, yang pada akhirnya menyebabkan metastasis kelenjar getah bening jauh; sekitar 60% metastasis kanker kolorektal terjadi melalui jalur tersebut.
3. Metastasis hematogen: Sel kanker menyebar melalui pembuluh darah. Organ target kanker kolorektal yang paling umum melalui metastasis hematogen adalah hati dan paru-paru; sekitar 30% kanker kolorektal ditransfer melalui rute tersebut.
4. Implantasi dan metastasis: Setelah sel kanker terlepas, sel tersebut ditanamkan di perut dan peritoneum panggul untuk membentuk fokus metastasis.

2.2. Epithelial–mesenchymal transition pada kanker kolorektal

Transisi epitel-mesenkim atau *epithelial–mesenchymal transition* (EMT) merupakan proses biologis kompleks yang berperan dalam karsinogenesis. EMT memberikan kemampuan metastasis pada

sel kanker dengan meningkatkan motilitas dan invasi serta memperoleh sifat sel induk. EMT juga memberikan sel kanker resistensi terhadap terapi. EMT disertai dengan penurunan regulasi molekul adhesi antar sel epitel, seperti epitel-cadherin (E-cadherin), bersama dengan perolehan penanda mesenkim seperti Vimentin. Koordinasi jaringan kompleks yang terdiri dari kaskade sinyal molekuler dan regulator diperlukan untuk EMT. (Emile *et al.*, 2024) EMT merupakan proses biologis reversibel yang mengubah sel epitel untuk sementara menjadi keadaan transisi mesenkim-epitel (MET), suatu proses pembalikan yang memungkinkan sel-sel mesenkim ekstra bergeser kembali ke keadaan epitel. Dalam perkembangan dari tumor primer ke metastasis, sel-sel kanker harus beradaptasi dengan perubahan dan seringkali kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan. Plastisitas sel tumor ini ditunjukkan oleh transisi reversibel dari fenotip sel kanker yang berdiferensiasi menjadi tidak berdiferensiasi atau sebagian terkait dengan EMT. Kelompok sel kanker kolorektal manusia dalam keadaan E/M berkontribusi terhadap metastasis (Gambar 4), dan hilangnya ekspresi E-cadherin selama kultur sering kali menginduksi EMT dalam sel tumor mesenkim murni. Dengan demikian, karakteristik invasi lokal dan inisiasi tumor tercapai (Lu, Kornmann dan Traub, 2023).



Gambar 4. Penggambaran plastisitas epitel-mesenkim (EMP) dan kaskade invasi-metastasis dalam sel kanker kolorektal

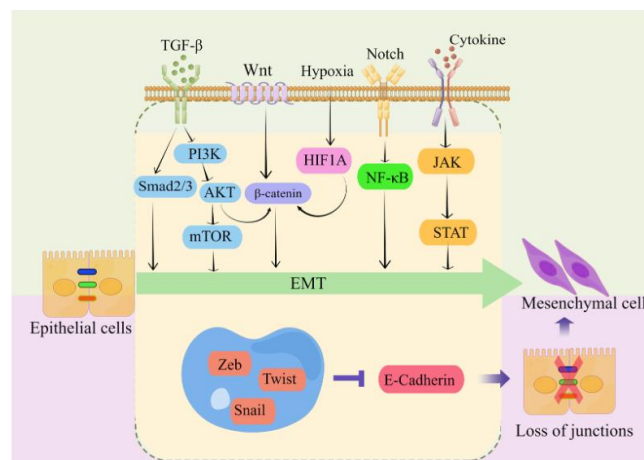
Sumber: (Lu, Kornmann dan Traub, 2023)

Sepanjang spektrum EMT, sel kanker kolorektal memiliki tingkat pertumbuhan dan metastasis yang berbeda. Sel dapat bergerak sepanjang dua keadaan dengan fleksibilitas karena EMT dan MET adalah proses non-biner yang dapat dibalik. Sel ganas adalah sel yang menunjukkan karakteristik lebih epitel dan transisi mesenkim yang lebih sedikit. Sel kanker kolorektal primer yang menjalani EMT mengalami serangkaian perubahan antarmolekul yang menyebabkan hilangnya adhesi antar sel, termasuk pembubaran sambungan antar sel, yaitu sambungan rapat (biru tua), sambungan patuh (hijau), dan desmosom (merah oranye); melalui proses ini, sel memperoleh fenotip mesenkim yang mendorong migrasi dan invasi lokal. Sel-sel tersebut kemudian memasuki pembuluh darah (intravasasi), bertahan hidup di pembuluh darah sebagai sel tumor yang bersirkulasi, dan meninggalkan pembuluh darah (ekstravasasi) untuk berkembang biak dan berkoloni di parenkim hati. Setelah berkembang biak secara lokal di hati, sel-sel kanker yang menjalani EMT dapat berdiferensiasi ulang menjadi fenotip epitel melalui MET, sebuah langkah yang memfasilitasi kolonisasi sel di hati dan perkembangan metastasis lokal (Lu, Kornmann dan Traub, 2023).

EMT parsial terdapat di lebih dari 90% garis sel kanker kolorektal manusia, yang merupakan suatu kondisi yang mendorong pembentukan kelompok sel selama penyebaran kanker kolorektal. EMT merupakan target prospektif untuk mencegah kanker menjadi agresif atau untuk mencegah metastasis dan

kekambuhan setelah reseksi tumor. Fitur EMT, termasuk overekspresi TGF- α , peningkatan sinyal reseptor tirosin kinase (AXL) dan reseptor protein tirosin kinase (EPHA2), dan peningkatan sinyal TGF- β , telah dikaitkan dengan resistensi terhadap obat anti-EGFR. EMT memiliki dampak signifikan terhadap perkembangan tumor, metastasis, dan resistensi obat pada kanker kolorektal. Ada semakin banyak bukti bahwa indikator EMT dapat bertindak sebagai prediktor hasil dan target pengobatan pada kanker kolorektal dari penelitian praklinis dan klinis awal. EMT yang disebabkan oleh peningkatan ekspresi gen mesenkim pada tumor epitel merupakan tanda prognosis buruk pada kanker kolorektal. Pola ekspresi sel mesenkim yang terdapat dalam lingkungan mikro tumor (TME) dan sel kanker epitel tercermin dalam transkriptome jaringan tumor. Dalam data kanker kolorektal berbasis transkriptome, sel TME, khususnya fibroblas terkait kanker (CAF), terutama bertanggung jawab atas ekspresi gen mesenkim dibandingkan dengan sel kanker (Lu, Kornmann dan Traub, 2023).

Regulasi transkripsional, kontrol pasca-translasi, modifikasi epigenetik, dan regulasi yang dimediasi RNA nonkode adalah beberapa komponen jaringan kompleks yang mengatur EMT secara ketat. Snail, Twist, Zeb, dan faktor transkripsi terkait EMT lainnya diekspresikan pada tingkat pasca-transkripsional dan pasca-translasi di bawah regulasi banyak jalur pensinyalan (Gambar 5). Jalur tersebut juga mengatur jaringan transkripsional hilir, yang selanjutnya mengontrol dampak biologis EMT, bersama dengan variabel epigenetik lainnya. Mereka menekan produksi gen yang mendukung keadaan epitel dan meningkatkan keadaan mesenkim (Lu, Kornmann dan Traub, 2023).



Gambar 5. Jalur utama yang mengatur EMT-TF selama pengembangan EMT di kanker kolorektal
Sumber: (Lu, Kornmann dan Traub, 2023)

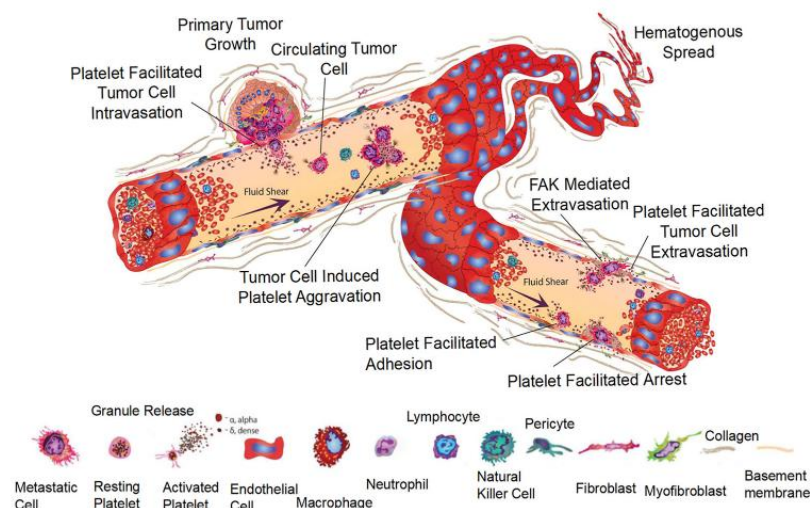
Ada beberapa EMT-TF (seperti ZEB, SNAIL, dan TWIST) yang bekerja sama dengan jalur sinyal dalam sel, dan di bawah stimulasi faktor-faktor seperti TGF- β , Wnt, Notch, hipoksia, dll., menekan gen yang terkait dengan epitel. status (seperti E-cadherin), yang menyebabkan hilangnya koneksi antar sel dan memungkinkan sel epitel berdiferensiasi menjadi keadaan mesenkim. Faktor transkripsi tersebut bersifat pleiotropik, menginduksi transisi ke keadaan seluler mesenkim atau sebagian mesenkim. Beberapa jalur pensinyalan, termasuk TGF- β /SMAD, WNT/ β -catenin, Notch, dan reseptor tirosin kinase, dapat diaktifkan oleh rangsangan ekstraseluler dari lingkungan mikro tumor. Jalur pensinyalan ini menginduksi serangkaian inti faktor transkripsi EMT untuk memulai program EMT dalam sel tumor. Program EMT yang diarahkan oleh EMT-TF dapat memberikan berbagai kualitas penting bagi evolusi ganas sel tumor, termasuk sifat pemicu tumor, motilitas, kemampuan penyebaran, dan resistensi yang lebih besar terhadap obat kemoterapi yang sering digunakan (Lu, Kornmann dan Traub, 2023).

2.3. Trombosit aktif pada kanker kolorektal

2.3.1 Trombosit aktif pada kanker

Trombosit adalah sel kecil, berinti, aktif secara metabolik dan mewakili hubungan penting antara kerusakan jaringan dan respons inflamasi. Trombosit mewakili hubungan antara kerusakan jaringan dan respons inflamasi yang berperan dalam tumorigenesis (Cariello *et al.*, 2021). Trombosit berukuran kecil dengan diameter sekitar 2-5 μm dan cenderung terpinggirkan pada tepi luar aliran darah di pembuluh darah. Sitoplasma trombosit mengandung sejumlah besar butiran α dan butiran padat. Butiran α kaya akan protein yang terikat pada membran dan larut, yang terlibat dalam adhesi trombosit, koagulasi, angiogenesis, dan rekrutmen sel imun. Butiran padat mengandung agonis trombosit seperti ADP dan serotonin, yang terlibat dalam aktivasi dan agregasi trombosit (Wang *et al.*, 2022).

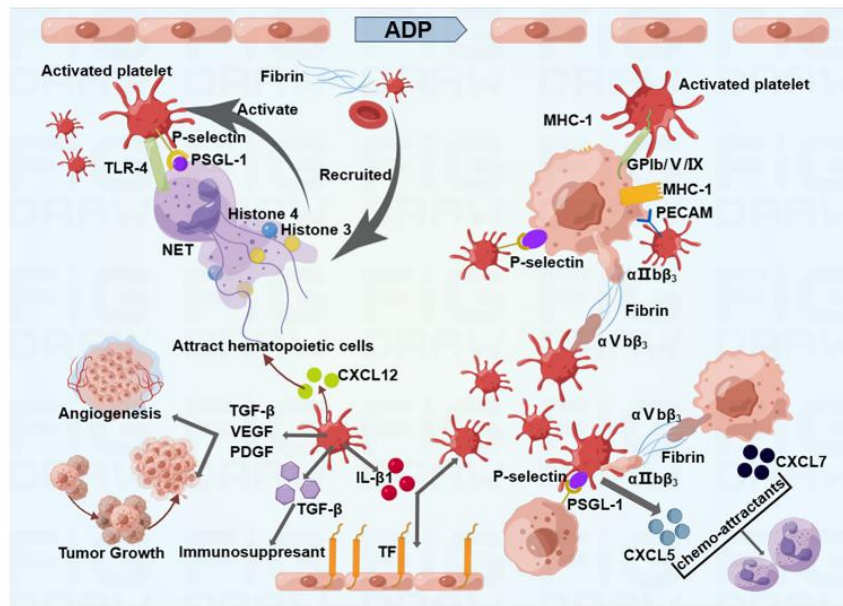
Trombosit, sebagai sel pengatur trombosis berperan pada perkembangan kanker. Aktivasi trombosit yang diinduksi sel kanker juga memfasilitasi perkembangan dan penyebaran tumor. Rata-rata volume trombosit dan lebar distribusi trombosit berkaitan erat dengan prognosis karsinoma sel ginjal, kanker kolorektal, melanoma, dan tumor lainnya. Trombosit juga berperan penting dalam pertumbuhan tumor dan metastasis, sangat mempengaruhi perilaku sel kanker, sementara fisiologi dan fenotipe trombosit juga terpengaruh oleh sel kanker. Dalam TME, trombosit diaktifkan dan diagregasi oleh sel-sel tumor dan membantu keluarnya sel-sel tumor melalui sekresi parakrin dan kontak langsung, sehingga meningkatkan kelangsungan hidup sel-sel tumor selama metastasis. Trombosit berinteraksi dengan sel tumor melalui reseptor permukaan dan membantu metastasis tumor. Agregasi trombosit di sekitar sel tumor melindunginya dari gaya geser dan sel pembunuh alami (NK) dalam darah, dan menyediakan *scaffold* bagi sel tumor untuk menempel pada dinding pembuluh darah. Selain itu, faktor angiogenesis dan faktor pertumbuhan yang disekresikan oleh trombosit yang teraktivasi dapat mendorong pertumbuhan tumor dan angiogenesis, sehingga menciptakan lingkungan mikro yang baik untuk metastasis tumor. Pada saat yang sama, sel tumor akan mengaktifkan trombosit lebih lanjut dan menstimulasi trombosit untuk melepaskan zat aktif guna mengoptimalkan lingkungan pertumbuhan tumor itu sendiri (Gambar 1). Trombosit dapat melepaskan sitokin dan molekul lain untuk memfasilitasi pertumbuhan sel tumor. Dengan demikian, trombosit berfungsi sebagai komponen stroma yang penting dalam TME melalui interaksi dengan anggota lain (Liao *et al.*, 2023).



Gambar 6. Presentasi fungsi trombosit dalam pertumbuhan dan invasi kanker

Sumber: (Liao *et al.*, 2023)

Gambar 6 menjelaskan trombosit dan tumor berinteraksi untuk mendorong pertumbuhan sel tumor dan keluarnya sistem kekebalan tubuh, dan Gambar 4 menjelaskan interaksi trombosit dan tumor dalam mendorong pembentukan pembuluh darah baru dan membantu sel tumor dari situs sel primer melalui stroma epitel ke situs baru. Tumor dan lingkungan mikronya berinteraksi dan berevolusi bersama untuk mendorong tumorigenesis. Dalam kondisi fisiologis normal, trombosit yang bersirkulasi tidak berinteraksi dengan sel endotel yang tidak aktif. Ketika kanker terjadi, sel tumor melepaskan sitokin dan faktor pertumbuhan yang mengaktifkan sel endotel vaskular, sehingga mendorong proliferasi sel tumor. Ekspresi tinggi faktor hemofilia vaskular, P-selektin, protein integrin, dan faktor jaringan (TF) diaktifkan oleh sel endotel, yang memediasi penggulungan trombosit di sepanjang endotel dengan mengikat reseptor adhesi pada permukaan trombosit. Interaksi trombosit dengan sel endotel yang teraktivasi menginduksi aktivasi lengkap trombosit dan ekspresi P-selektin yang tinggi pada permukaannya, sehingga memungkinkan trombosit melekat erat pada endotel, sehingga memfasilitasi rekrutmen trombosit secara lokal. Trombosit yang teraktivasi penuh melepaskan faktor proangiogenik, yang selanjutnya mengaktifkan sel-sel endotel, mendukung angiogenesis, dan mengatur permeabilitas pembuluh darah dan tonus pembuluh darah. Pada saat yang sama, faktor proangiogenik, bersama dengan faktor teraktivasi yang disimpan di dalam trombosit, dilepaskan ke TME, yang selanjutnya mendorong revaskularisasi dan peradangan (Gambar 7). Misalnya, asam lisofosfatidat (LPA), yang diproduksi oleh trombosit yang teraktivasi, dapat berikatan dengan reseptor LPA (misalnya, LAP1) pada sel kanker dan interaksi ini berkontribusi pada proliferasi dan metastasis tulang osteolitik sel kanker. Selain melepaskan kandungannya, trombosit juga berkomunikasi dengan sel tumor melalui reseptor berpasangan protein G pada permukaan trombosit dan hilangnya dua protein G penting (G_{i2} dan $G_{\alpha 13}$) secara substansial mengurangi ekstravasasi trombosit dan pertumbuhan tumor. Trombosit berinteraksi dengan sel tumor untuk menghasilkan peradangan pada kanker (Liao *et al.*, 2023).

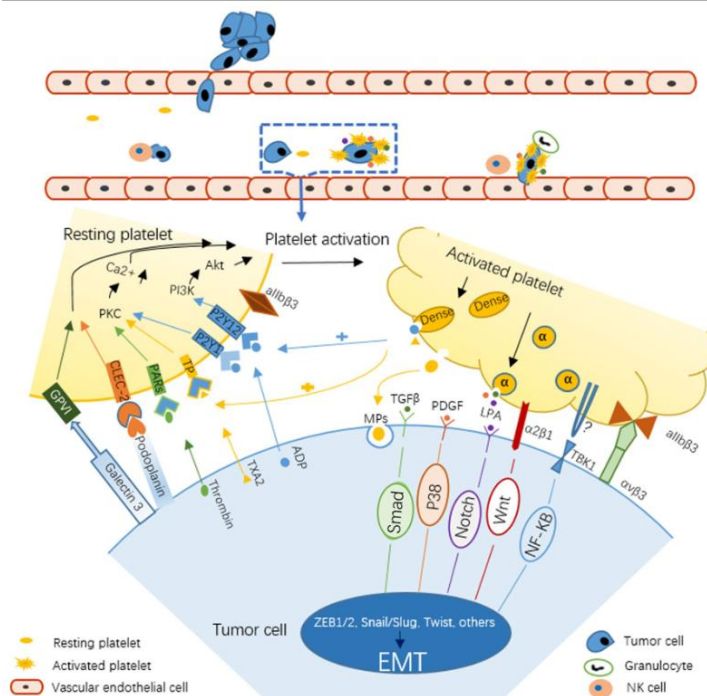


Gambar 7. Berbagai mekanisme aktivasi trombosit
Sumber: (Liao *et al.*, 2023)

2.3.2 Interaksi trombosit aktif dengan EMT sel tumor pada kanker kolorektal

Setelah sel-sel tumor menyerang sirkulasi darah, sel tumor pertama kali berinteraksi dengan trombosit yang terpinggirkan. Sel tumor memanfaatkan berbagai mekanisme untuk menginduksi aktivasi trombosit (Gambar 8). Sel tumor dapat melepaskan agonis trombosit yang dapat larut seperti ADP,

tromboksan A2 (TXA2), atau trombin, yang masing-masing berikatan dengan reseptor trombosit P2Y1 dan P2Y12, tromboksan-prostanoid (TP), dan reseptor teraktivasi proteinase (PAR). Adhesi tersebut mengaktifkan jalur pensinyalan reseptor berpasangan protein G dan akhirnya menyebabkan perubahan konformasi membran integrin $\alpha\text{IIb}\beta3$ dari afinitas rendah menjadi afinitas tinggi. Integrin dengan afinitas tinggi pada trombosit yang teraktivasi dapat membentuk adhesi yang kuat dengan sel tumor, seperti “selubung trombosit”, yang memfasilitasi kelangsungan hidup dan metastasis sel tumor dalam sirkulasi. Sel tumor juga dapat mengekspresikan protein pengikat (seperti podoplanin, PDPN) yang dapat berikatan dengan protein adhesi permukaan trombosit (seperti reseptor mirip lektin tipe C 2, CLEC-2) untuk mendorong aktivasi trombosit. Setelah aktivasi trombosit, butiran intraseluler dengan cepat menyatu dengan membran plasma. Protein yang terikat membran dari butiran α terpapar ke permukaan trombosit, dan protein terlarut dilepaskan ke lingkungan mikro ekstraseluler. Agonis trombosit dalam partikel padat, seperti ADP dan TXA2, akan bertindak sebagai mediator umpan balik positif untuk selanjutnya menginduksi aktivasi trombosit (Wang *et al.*, 2022).



Gambar 8. Ilustrasi skema interaksi antara trombosit dan sel tumor dalam sistem sirkulasi untuk meningkatkan EMT

Sumber: (Wang *et al.*, 2022)

Trombosit yang teraktivasi meningkatkan EMT sel tumor. Kombinasi sel tumor dan trombosit teraktivasi membentuk metastasis awal, dan serangkaian perubahan trombosit teraktivasi memediasi terjadinya EMT. Selain trombosit, terjadi pengendapan fibrin dalam "selubung trombosit", sehingga membentuk lingkungan mikro lokal yang mempertahankan konsentrasi sinyal EMT yang relatif tinggi. Serangkaian efek biologis diwujudkan oleh berbagai faktor yang disekresikan dari trombosit yang diaktifkan. Beberapa protein yang diekspresikan oleh trombosit juga dilaporkan melibatkan EMT dengan mendorong pelepasan faktor sekretorik tersebut (Wang *et al.*, 2022).

Pada kanker kolorektal dilaporkan bahwa ada peran crosstalk sel kanker-trombosit dalam model *in vivo*. Ketika tumor diinokulasi dengan trombosit, ablasi P-selectin secara signifikan mengurangi pertumbuhan tumor dibandingkan dengan kontrol trombosit. Selain itu, dalam model genetik, serta karsinogenesis kolorektal terkait kolitis kronis, tikus ablasi P-selectin menunjukkan penurunan jumlah dan

ukuran tumor yang signifikan dibandingkan dengan tikus kontrol. Trombosit penting dalam lingkungan mikro tumor untuk tumorigenesis kolorektal (Cariello *et al.*, 2021).

Penelitian lain mengamati efek interaksi trombosit dengan sel tumor kolorektal. Trombosit diekstravasasi ke dalam lingkungan mikro tumor dan berinteraksi dengan sel-sel tumor dengan cara yang bergantung pada cadherin-6. Interaksi tersebut menginduksi penyebaran trombosit, pelepasan kandungan granulanya, dan pembentukan tiga jenis mikropartikel (iMP) yang mengekspresikan penanda trombosit, penanda tumor, atau keduanya. Adanya iMP dikonfirmasi pada spesimen jaringan kanker kolorektal. Trombosit secara signifikan mengurangi pertumbuhan tumor dan meningkatkan makrofag intratumoral. Hal ini dimediasi oleh perekrutan makrofag iMP melalui kemoatraktan RANTES, MIF, CCL2, dan CXCL12 dan aktivasi kapasitas membunuh sel tumor melalui IFN γ dan IL4, yang menyebabkan penghentian siklus sel sel tumor dengan cara yang bergantung pada p21. Sebaliknya, dalam aliran darah, iMP mengaktifkan sel endotel dan trombosit serta menginduksi transisi sel tumor dari epitel ke mesenkim, sehingga mendorong metastasis. Secara keseluruhan, lingkungan, lokal atau aliran darah, konsekuensi interaksi antara trombosit dan tumor dapat mendorong atau mencegah perkembangan kanker. Sel kanker mengaktifkan trombosit dengan kuat, sehingga menyebabkan TCIPA, yang terutama bergantung pada interaksi $\alpha\text{IIb}\beta_3$ dan bukan cadherin-6. Trombosit terutama berinteraksi dengan sel kanker melalui cadherin-6, tidak tergantung pada TCIPA. Trombosit (dan juga iMP) yang dilepaskan dalam aliran darah selama perkembangan kanker dapat berkontribusi pada proses metastasis dengan memfasilitasi interaksi antara sel tumor dan endotelium. iMP, dengan hadir dalam lingkungan mikro tumor dan menyebarkan informasi (melalui sitokin dan integrin) dalam aliran darah berperan penting dalam perilaku tumor dan mewakili target yang menarik untuk keberhasilan pengobatan kanker kolorektal serta biomarker kanker kolorektal (Plantureux *et al.*, 2020). Trombosit menjadi sumber utama LPA sedangkan Autotaxin (ATX) adalah glikosilase yang berpartisipasi dalam memodulasi tingkat LPA dalam plasma dan memiliki aktivitas fosfolipase D, yang dapat mengkatalisis serangkaian prekursor lisofosfolipid untuk menghasilkan LPA (Wang *et al.*, 2022).

2.3.3 Interaksi trombosit aktif LPA dengan sel tumor Notch

Asam lisofosfatidat (LPA) adalah fosfolipid bioaktif yang diproduksi selama sintesis membran sel dan digambarkan sebagai molekul pemberi sinyal ekstraseluler kuat yang terdapat di semua sel jaringan eukariotik dan plasma darah. LPA adalah lipid bioaktif terkecil yang memberikan sinyal ekstraseluler yang kuat melalui interaksinya dengan enam reseptor berpasangan protein G (GPCR) spesifiknya, yang memediasi respons penting, seperti proliferasi sel, migrasi, dan reorganisasi sitoskeletal. 3–5 molekul LPA dicirikan oleh tulang punggung gliserol dengan penambahan gugus fosfat pada posisi sn-3 dan gugus hidroksil serta rantai asam lemak pada posisi sn-1 atau sn-2, dengan variasinya disebabkan oleh rantai asam lemak yang berbeda. LPA ada secara intraseluler maupun ekstraseluler dengan jalur produksi berbeda. Jalur utama yang terlibat dalam sintesis ekstraseluler LPA yaitu fosfolipid membran seperti fosfatidilkolin, fosfatidilserin, dan fosfatidiletanolamin merupakan molekul prekursor untuk menghasilkan lisofosfatidilkolin (LPC), lisofosfatidilserin (LPS), dan lisofosfatidiletanolamin, masing-masing melalui aksi fosfolipase A1 (PLA 1) atau PLA2. Lisofosfolipid (LP) ini kemudian diubah menjadi LPA melalui autotoksin (ATX), yang terutama bertanggung jawab untuk pemeliharaan LPA pada konsentrasi fisiologis dalam plasma setelah lahir dan juga selama perkembangan pembuluh darah dan embrio. ATX adalah sumber utama LPA yang disintesis, yang berasal dari fosfolipid membran. Selain itu, produksi LPA ekstraseluler oleh ATX penting karena perannya sebagai lipid bioaktif dengan memediasi respons seluler melalui reseptor LPA (Geraldo *et al.*, 2021).

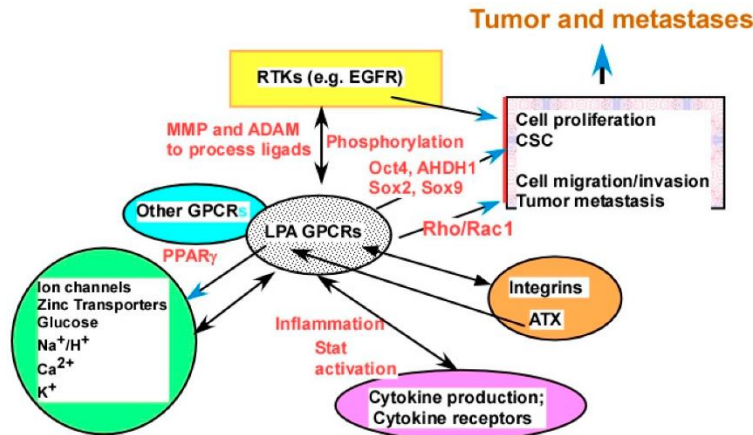
Produksi LPA intraseluler terdiri dari empat jalur yaitu (1) jalur monoacylglycerol kinase (MAGK); (2) asam fosfatidat-fosfolipase A1 (PA-PLA1) atau A2 (PA-PLA 2); (3) jalur sintesis gliserofosfat asil-transferase (GPAT); dan (4) modifikasi oksidatif jalur low-density lipoprotein (LDL). Jalur MAGK mendaur ulang monoasilgliserol (MAG) yang dihasilkan oleh aksi lipid fosfatase fosfatase (LPP), memungkinkan

pergantian LPA yang sudah dikatalisis untuk putaran pensinyalan berikutnya. Jalur kedua melibatkan produksi asam fosfatidat (PA) dari fosfolipid karena aktivitas fosfolipase D (PLD1 dan PLD 2) atau dari diacylglycerol oleh diacylglycerol kinase. Setelah itu, PA diubah menjadi LPA melalui aksi PLA1 atau PLA2 (Geraldo *et al.*, 2021).

Sintesis dan degradasi LPA intraseluler berfungsi sebagai sumber prekursor untuk sintesis gliserolipid dan bukan molekul pemberi sinyal ekstraseluler. LPA terdapat di semua jaringan dan cairan eukariotik baik dalam kondisi fisiologis maupun patofisiologis (Geraldo *et al.*, 2021). LPA merupakan lipid bioaktif yang terlibat dalam mengatur berbagai respons biologis dalam sel neoplastik serta sel yang tidak berubah. Ada efek LPA terhadap transformasi keganasan, migrasi, metastasis, invasi, proliferasi, kelangsungan hidup, angiogenesis, dan resistensi terapi. LPA memunculkan efek fisiologis dan patologisnya melalui reseptor ekstraseluler atau intraseluler serumpun yang diekspresikan di hampir setiap jenis sel dan jaringan. Reseptor ini termasuk reseptor berpasangan G-protein ekstraseluler (GPCR) LPAR1-6 dan gamma reseptor teraktivasi proliferasi peroksisom intraseluler (PPAR γ). LPA disekresi oleh berbagai jenis sel seperti trombosit, adiposit, fibroblas, serta sel kanker. Meskipun demikian, enzim lisofosfolipase D berperan terhadap produksi utama LPA dalam cairan biologis, disebut autotaxin (ATX) dan dikenal sebagai ectonucleotide pyrophosphatase/fosfodiesterase 2 (ENPP2). Pada kanker terjadi peningkatan kadar LPA (Lee *et al.*, 2020).

LPA dikaitkan dengan perilaku ganas termasuk invasi dan metastasis tumor, yang dapat menghambat apoptosis sel tumor dan mendorong proliferasinya in situ. Reseptor LPA dibagi menjadi enam sub tipe, termasuk LPA1-LPA6. LPA1-LPA3 adalah anggota keluarga gen diferensiasi sel endotel (EDG), sedangkan LPA4-LPA6 termasuk dalam keluarga reseptor purin. Ketika reseptor LPA spesifik berikatan dengan LPA, hal ini dapat menyebabkan efek biologis yang sesuai. LPA2 (juga dikenal sebagai EDG4) telah dipelajari secara luas dan memiliki ekspresi yang tinggi pada sejumlah jenis jaringan tumor yang berbeda, termasuk kanker payudara, kanker hati, kanker lambung, dan kanker kolorektal. LPA2 juga terlibat dalam perilaku biologis, termasuk proliferasi, anti-apoptosis, resistensi obat, metastasis, dan invasi banyak sel kanker, yang mengakibatkan hasil klinis yang buruk. LPA meningkatkan regulasi ekspresi matriks metalloprotein-9 melalui pengaktifan jalur faktor nuklir- κ B dengan cara yang bergantung pada LPA2 (Ren *et al.*, 2019).

LPA melakukan cross-talk dengan molekul pemberi sinyal lain pada berbagai tingkat dengan mekanisme yang berbeda. Pertama, interaksi melalui ikatan/interaksi langsung. Homo dan heterodimerisasi reseptor LPA/S1P, kanker ovarium G protein coupled receptor-1 (OGR1) dan GPR4. Kedua, transaktivasi dimediasi melalui aktivitas enzimatik yang mengatur fosforilasi dan/atau pemrosesan ligan. LPA menginduksi transaktivasi reseptor EGF melalui metalloproteinase (MMP) dan pelepasan membran yang dikatalisis disintegrin dan metalloproteinase (ADAM) dari EGF pengikat heparin dan aktivasi autokrin/parakrin dari EGF, dan EGF juga dapat memodulasi fungsi LPAR1 dan keadaan fosforilasi. Ketiga, transkriptom yang diatur LPA terlibat. LPA mengatur banyak sitokin, termasuk IL-6, IL-8, onkogen yang diatur pertumbuhan (GRO)- α , dan faktor penghambat leukemia sitokin (LIF). Keempat, interaksi jalur pensinyalan hilir cross-talk LPA meliputi PI3K/Ras, protein kinase teraktivasi mitogen (MAP kinase) adhesi fokus, Wnt, integrin, jalur Rho/Rock, dan YAP, spesies oksigen reaktif (ROS), jalur perbaikan DNA, dan jalur glikolitik, serta interaksi Rho-cAMP (Gambar 9) (Xu, 2019).



Gambar 9. Cross-talk LPA

Sumber: (Xu, 2019)

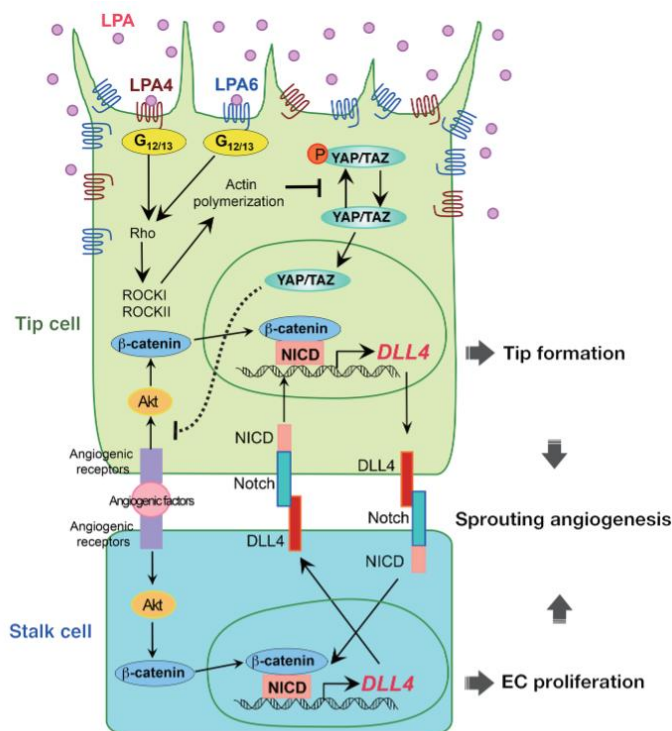
LPA berinteraksi dengan tipe utama reseptor membran plasma, termasuk saluran ion, pengangkut ion logam, pengangkut lain, reseptor tirosin kinase (RTK), GPCR lain, integrin, dan reseptor sitokin. Molekul pemberi sinyal lain dapat mengatur enzim metabolisme untuk LPA dan molekul lipid lainnya. Neurotransmitter, sitokin, dan faktor pertumbuhan mengatur aktivitas serangkaian enzim pemetabolisme lipid, seperti fosfolipase, untuk mempengaruhi LPA dan molekul pemberi sinyal lipid lainnya. Selain itu, asilgliserol kinase yang menghasilkan LPA memodulasi cross-talk dengan EGFR dalam sel kanker prostat. Penargetan satu atau lebih dari perundingan silang dan/atau jalur sinyal hilir utama LPA berperan penting dan/atau lebih efisien dibandingkan menargetkan LPA atau LPAR secara langsung (Xu, 2019).

LPA terlibat dalam beberapa jalur pensinyalan sel induk/sel induk kanker. LPA terlibat dalam jalur batang klasik, seperti jalur Wnt, Notch, dan Hippo (Xu, 2019). Jalur pensinyalan Notch terlibat dalam diferensiasi sel, proliferasi, apoptosis dan adhesi. Jalur pensinyalan Notch juga memiliki fungsi kunci dalam menjaga fungsi sel dan jaringan normal. Aktivasi abnormal jalur pensinyalan Notch dikaitkan dengan patogenesis sejumlah keganasan yang berbeda. Ada empat reseptor transmembran beruntai tunggal (Notch1-4) di jalur pensinyalan Notch. Reseptor ini dapat dibelah oleh γ -sekretase setelah berikatan dengan ligan Jagged1, Jagged2, Delta1, Delta3 dan Delta4. Setelah pengikatan, domain intraseluler Notch (NICD) dilepaskan dan memasuki nukleus, di mana ia menstimulasi transkripsi gen target hilir, termasuk Hes Family BHLH Transcription Factor 1 (Hes-1), protein kinase B (Akt) dan Cyclin D1, antara lain. Asam lisofosfatidat (LPA), suatu gliserofosfolipid sederhana yang larut dalam air dengan aktivitas seperti faktor pertumbuhan, mengatur perilaku tertentu dari berbagai jenis kanker dengan mengikat reseptornya, reseptor LPA 2 (LPA2). Notch1 adalah mediator utama dalam berbagai jenis sel kanker manusia. Hubungan antara LPA2 dan Notch1 pada sel kanker lambung belum diketahui secara pasti. Penelitian ini bertujuan untuk menyelidiki fungsi LPA2 dan Notch1 dalam mengendalikan aktivitas migrasi dan invasi sel kanker lambung SGC-7901 setelah stimulasi dengan LPA. LPA dapat merangsang ekspresi faktor transkripsi bHLH keluarga Notch1 dan Hes 1, dan fosforilasi protein kinase B yang termasuk dalam jalur Notch. Selain itu, dengan melakukan uji migrasi dan invasi transwell, pewarnaan imunofluoresen, menganalisis ekspresi penanda transisi epitel-mesenkimal (EMT) dan menurunkan regulasi ekspresi LPA2 dan Notch1 (Ren *et al.*, 2019).

Dalam sel kanker lambung, LPA diamati menginduksi EMT dengan mengikat LPAR2 dan mengaktifkan jalur pensinyalan Notch (Wang *et al.*, 2022). Setelah pengobatan LPA, ekspresi LPA2, Notch1 dan Hes-1 ditingkatkan dalam sel SGC-7901, dan fosforilasi Akt meningkat, yang menunjukkan bahwa LPA dapat mengaktifkan jalur Notch melalui LPA2. Pensinyalan Notch diprediksi menjadi target potensial LPA oleh model jaringan sel kanker lambung endogen, dan regulasi jalur LPA-LPA2-Notch

memiliki fungsi penting dalam perilaku ganas SGC-7901 sel. LPA berikatan dengan reseptornya LPA2, dan merekrut Notch1 untuk mempercepat EMT. Selain itu, jalur Notch juga diaktifkan setelah pengobatan LPA, sehingga perilaku ganas sel semakin diperkuat, dan pada sel SGC-7901 di mana molekul ganda diturunkan regulasinya juga menunjukkan peningkatan kemampuan migrasi dan invasi, yang disebabkan oleh untuk interaksi antara LPA2 dan Notch1 (Ren *et al.*, 2019).

Aktivasi YAP/TAZ yang diinduksi asam lisofosfatida mendorong perkembangan angiogenesis dengan menekan ligan Notch DLL4. LPA4 dan LPA6 endotel mengaktifkan pensinyalan $G_{12/13}$ -Rho-ROCK, yang menginduksi polimerisasi aktin dan lokalisasi nuklir YAP/TAZ. Nuclear YAP/TAZ menekan ekspresi DLL4 dengan menghambat pensinyalan Akt. Reseptor berpasangan $G_{12/13}$ -LPA4 dan LPA6 secara sinergis mengatur ekspresi DLL4 endotel melalui aktivasi YAP/TAZ. Hal ini sebagian dapat menjelaskan mekanisme angiogenesis perkembangan yang dimediasi oleh YAP/TAZ (Gambar 10) (Yasuda *et al.*, 2019).



Gambar 10. LPA mengatur pertumbuhan angiogenesis melalui mekanisme yang melibatkan LPA4/LPA6, $G_{12/13}$, Rho, ROCK, polimerisasi aktin, YAP/TAZ, dan DLL4

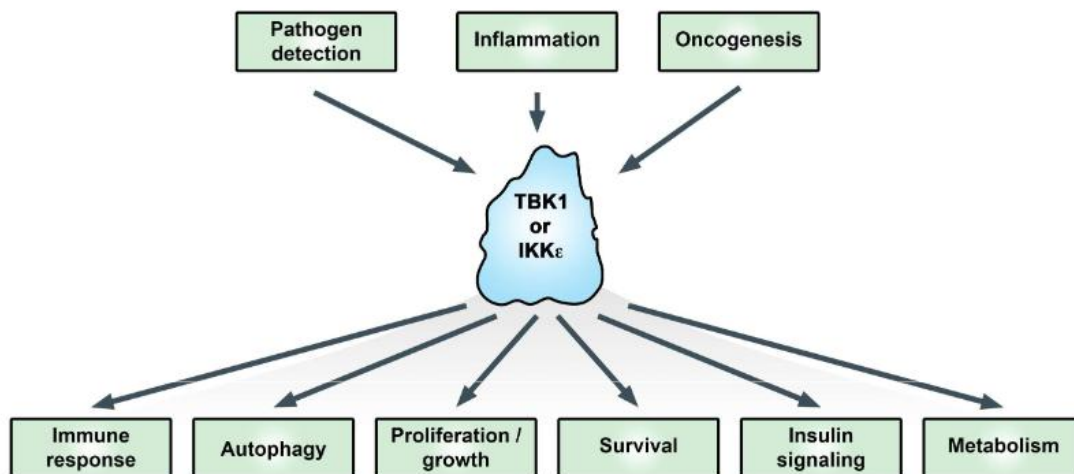
Sumber: (Yasuda *et al.*, 2019).

2.3.4 Interaksi trombosit aktif TBK 1 dengan sel tumor NF-KB

TANK-binding kinase 1 (TBK1) adalah serin/treonin kinase yang termasuk dalam inhibitor non-kanonik dari keluarga faktor nuklir- κ B (I κ B) kinase (IKK) (Runde *et al.*, 2022). TBK1 adalah protein panjang asam amino 84 kDa, 729 yang mengandung domain N-terminal kinase, domain mirip ubiquitin, dan dua domain koil-koil terminal-C. TBK1 adalah kinase pengaktif NF- κ B, yang secara konstitutif diekspresikan di banyak jaringan normal, termasuk sel kekebalan, otak, paru-paru, saluran pencernaan, dan organ reproduksi. Tikus yang kekurangan TBK1 menunjukkan kematian embrio karena apoptosis hati yang meluas (Muva $\ddot{a}$ ffak *et al.*, 2014).

TBK1 dapat diaktifkan oleh pola molekuler terkait patogen (PAMPs), sitokin inflamasi, dan kinase onkogenik, termasuk mutan K-RAS/N-RAS yang teraktivasi. TBK1 terutama memediasi aktivasi IRF3/7 dan

sinyal NF- κ B untuk mengatur produksi sitokin inflamasi dan aktivasi imunitas bawaan (Runde *et al.*, 2022). TBK1 dan homolog I κ B kinase (IKK) epsilon (IKK ϵ , aslinya IKKi) telah dipelajari secara ekstensif dalam kaitannya dengan fungsinya dalam mendorong respon interferon tipe I. Aktivasi TBK1 dan IKK ϵ mendorong fosforilasi faktor pengatur interferon (IRF3 dan 7) dan translokasi nuklir, yang mengarah pada peningkatan regulasi transkripsional interferon tipe I dalam respon imun bawaan. TBK1 berkaitan dengan imunitas adaptif, autophagy, dan onkogenesis (Gambar 11). TBK1 ditemukan berdasarkan interaksinya dengan TANK. Selain respons imun, IKK ϵ dan TANK-binding kinase 1 (TBK1) adalah protein pemberi sinyal penting untuk proses seluler penting yang terkait dengan kanker (Durand, Zhang dan Baldwin, 2018).

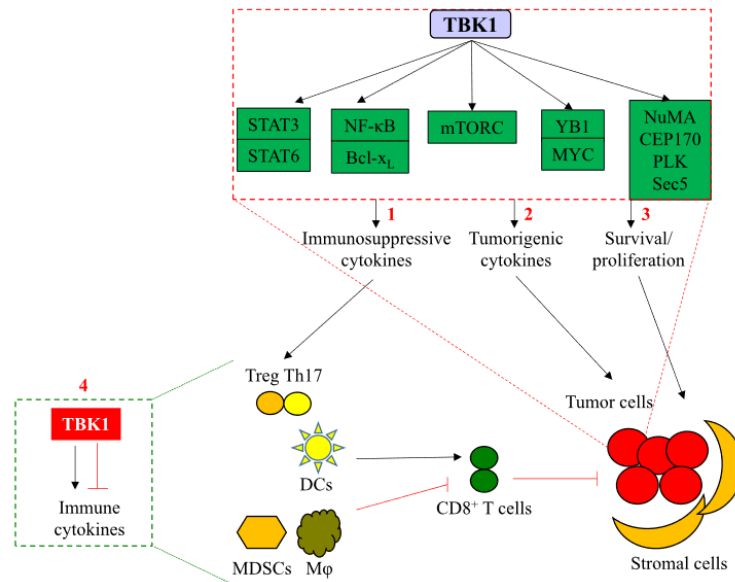


Gambar 11. Efek fungsional dari kinase terkait TBK1

Sumber: (Durand, Zhang dan Baldwin, 2018)

Meskipun mutasi TBK1 belum dilaporkan pada kanker manusia, aktivasi TBK1 yang menyimpang telah terlibat dalam onkogenesis beberapa jenis kanker, termasuk leukemia dan tumor padat dengan mutasi pengaktif KRAS. Dengan demikian, TBK1 telah diusulkan menjadi target yang layak untuk pengobatan farmakologis jenis kanker. Penghambatan TBK1 menekan perkembangan kanker tidak hanya dengan secara langsung menekan proliferasi dan kelangsungan hidup sel kanker tetapi juga dengan mengaktifkan kekebalan sel T antitumor (Runde *et al.*, 2022).

Dalam sel kanker, TBK1 mendorong pertumbuhan sel tumor dengan: 1) menstimulasi proliferasi dan sinyal kelangsungan hidup; 2) menginduksi produksi sitokin pemicu tumor; dan 3) mendorong sekresi sitokin inflamasi immunosupresif. Dalam sel imun, 4) TBK1 mengatur produksi faktor imunoregulasi yang menghambat atau meningkatkan efek antikanker sel T CD8⁺ (Gambar 12). Mekanisme molekuler dimana TBK1 diregulasi dan diaktifkan pada jaringan kanker Seperti halnya pada sel normal, aktivasi TBK1 pada sel kanker dapat distimulasi oleh PAMP, DAMP, dan sitokin inflamasi. Selain itu, beberapa kinase onkogenik dan reseptor tirosin kinase (seperti K-RAS/N-RAS dan AXL) juga dapat mengaktifkan TBK1 dalam sel neoplastik. KRAS bermutasi pada beragam jenis kanker pada manusia, termasuk pada kanker kolorektal yang sebagian besar bersifat agresif dan resisten terhadap terapi antineoplastik konvensional. TBK1 rentan terhadap hiperaktivasi pada sel kanker yang mengandung mutasi pengaktif KRAS. Aktivitas TBK1 dimediasi K-RAS.



Gambar 12. Peran TBK1 dalam patogenesis kanker
Sumber: (Runde et al., 2022)

TBK1 mendorong proliferasi dan kelangsungan hidup sel kanker dengan mengaktifkan sinyal intrinsik di dalam sel kanker. Dalam sitoplasma sel kanker, TBK1 mendorong perkembangan dan perkembangan tumor dengan menstimulasi jalur kelangsungan hidup dan proliferasi sel, termasuk AKT-mTOR1, NF- κ B, p62/autophagy, MYC, dan JAK/STAT. Selain itu, TBK1 juga dapat menginduksi produksi sitokin tumorigenik, termasuk IL-6, yang dapat meningkatkan kelangsungan hidup dan proliferasi sel secara autokrin. Dalam sel kanker yang mengandung mutasi pengaktif KRAS, TBK1 diamati meningkatkan kelangsungan hidup dan proliferasi sel kanker dengan mengaktifkan jalur NF- κ B dan mTOR1. Aktivasi NF- κ B meningkatkan ekspresi Bcl-XL anti-apoptosis sementara aktivasi mTOR1 menginduksi jalur sintetik protein, yang keduanya berkontribusi terhadap tumorigenesis (Runde *et al.*, 2022).

TBK1 mengaktifkan pensinyalan NF- κ B dengan memfosforilasi regulator penting jalur NF- κ B, termasuk I κ B α , RelA, dan IKK β . Selain itu, TBK1 telah terbukti kompleks dengan beberapa elemen regulasi AKT-mTORC1, termasuk AKT, Raptor, RagD, dan S6K. TBK1 dapat mengaktifkan pensinyalan mTORC1 secara langsung (dengan memfosforilasi mTOR pada Ser2481), atau secara tidak langsung (dengan memfosforilasi AKT pada Tyr308 dan Ser473, atau dengan fosforilasi AKT yang dimediasi mTORC2 pada Ser473). AKT mengaktifkan pensinyalan mTORC1 melalui jalur kanonik. Selain itu, TBK1 dapat secara langsung mempromosikan fosforilasi S6K C-terminal Thr421/Ser424 (Runde *et al.*, 2022).

Peran TBK1 dalam aktivasi jalur NF- κ B dalam sel imun melalui fosforilasi I κ B dan IRF3/IRF7 telah didokumentasikan secara luas; namun, mekanisme yang mengaktifkan protein dan jalur downstream TBK1 pada kanker masih belum sepenuhnya dipahami. Beberapa penelitian telah menempatkan TBK1 di bagian downstream pensinyalan RAS, sehingga meningkatkan potensi terapi TBK1 pada kanker. Setelah aktivasi pensinyalan RAS, RafB, target TBK1, dilaporkan mengalami penurunan regulasi dan ini terbukti mengontrol ekspresi target downstream lainnya, yang penting dalam regulasi apoptosis dan kelangsungan hidup sel (yaitu, Bcl-XL dan Akt). TBK1 terkait dengan protein hilir RAS, yang terlibat dalam regulasi kelangsungan hidup sel kanker (Muvaffak *et al.*, 2014).

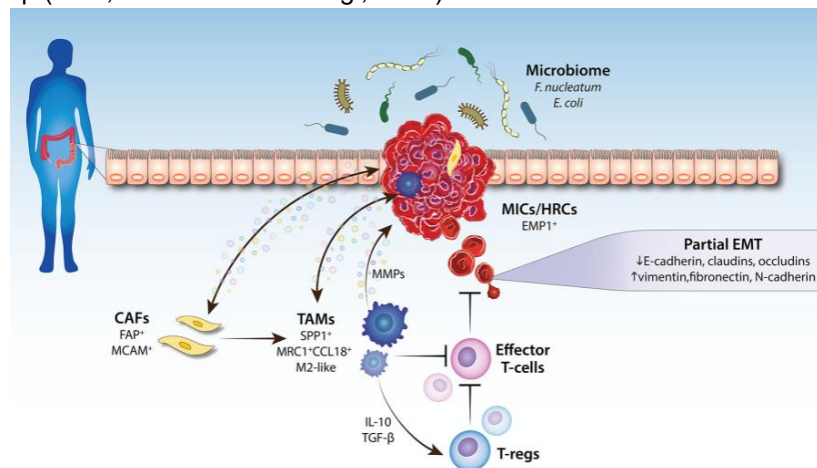
Pensinyalan NF- κ B dimediasi di bagian hilir beberapa substrat IKK ϵ /TBK1. TBK1 terbukti meningkatkan kelangsungan hidup sel melalui kemampuannya untuk mengaktifkan NF- κ B (mengontrol fosforilasi Ser536 dari RelA), dengan selanjutnya peningkatan regulasi PAI-2/serpinB2 dan transglutaminase 2 (Duran *et al.*, 2023). Selain itu, TBK1 membentuk kompleks terner dengan aktivator

NF- κ B (TANK) yang terkait dengan anggota keluarga TRAF, dan TRAF2 dan berperan di upstream kompleks NIK dan IKK, pengganti kompleks pensinyalan reseptor untuk aktivasi NF- κ B yang dimediasi TRAF. Kinase TBK1 yang tidak aktif menghambat aktivasi NF- κ B yang dimediasi TANK namun tidak menghambat aktivasi NF- κ B yang dimediasi TNF α , IL-1, atau CD40. Dengan demikian, sebagian besar mekanisme pengaturan jalur NF- κ B didasarkan pada regulasi molekul atau proses utama jalur ini, seperti IKK, NIK, dan ubiquitinasi (Zhang *et al.*, 2021).

2.4. Metastasis kanker kolorektal

2.4.1 Mekanisme metastasis kanker kolorektal

Pembentukan metastasis merupakan puncak dari proses multistep yang melibatkan penyebaran sel kanker ke berbagai organ, diikuti dengan adaptasi dan proliferasinya di lingkungan mikro jaringan asing (Lu, Kornmann dan Traub, 2023). Kaskade invasi-metastasis menggambarkan perubahan sel kanker dan stroma yang mendorong perkembangan tumor menjadi metastasis. Pada langkah pertama kaskade invasi-metastasis, sel-sel kanker kolorektal melepaskan diri satu sama lain dan sel-sel normal atau sel kanker yang berdekatan dengan menurunkan regulasi E-cadherin dan komponen fungsional epitel lainnya. Sel kanker mendegradasi membran basal dengan mensekresi atau mengaktifkan matriks metalloproteinase (MMPs) dan aktivator plasminogen urokinase (u-PA) secara lokal dan menyerang melalui ECM interstisial yang mendasarinya. Degradasi periseluler dan ECM melepaskan faktor pro-angiogenik seperti VEGF dan sitokin pro-angiogenik lainnya, menghasilkan pembentukan pembuluh darah dan limfatik baru dan memfasilitasi intravasasi sel tumor ke dalam sirkulasi. Oleh karena itu, sel-sel tumor dapat mengakses pembuluh darah secara langsung atau dengan mengkolonisasi kelenjar getah bening lokoregional. Begitu berada dalam sirkulasi, sel tumor berasosiasi dengan leukosit dan trombosit melalui berbagai mekanisme adhesi. Kelompok sel tumor lebih cocok untuk ditangkap dalam mikrosirkulasi organ target, menghasilkan pertumbuhan intravaskular yang menginfiltrasi stroma organ target. Hanya sebagian kecil sel kanker yang mampu bertahan dari tekanan lingkungan mikro asing dan serangan imun untuk mengkolonisasi lokasi sekundernya dan membentuk pertumbuhan metastasis. Setelah ekstrasvasi ke lokasi sekunder, pada banyak jenis kanker, sel tumor yang telah menyebar ke lokasi organ target (sel tumor disebarluaskan) memasuki keadaan tidak aktif, yang ditandai dengan keluarnya siklus sel dan aktivasi jalur kelangsungan hidup (Shin, Giancotti dan Rustgi, 2023).

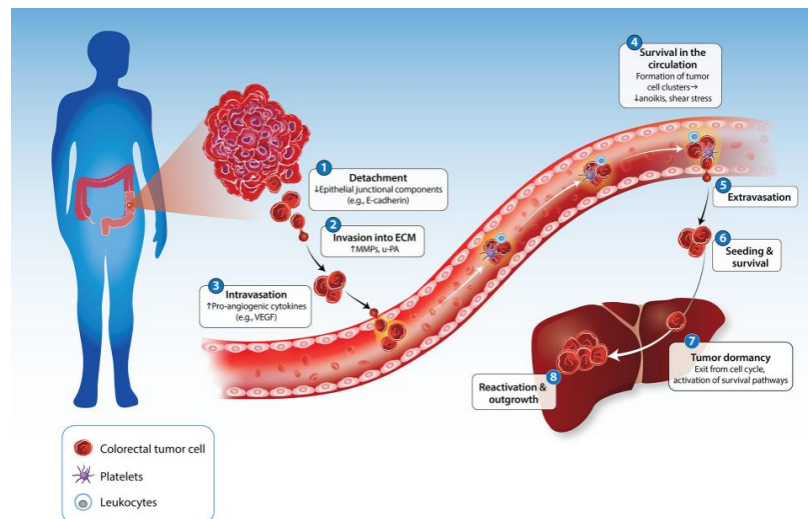


Gambar 13. Interaksi EMT dan sel tumor terhadap metastasis kanker kolorektal

Sumber: (Shin, Giancotti dan Rustgi, 2023)

Pada Gambar 13 menunjukkan bahwa TME terdiri dari sel tumor, sel inang residen (epitel kolon), sel imun, sel endotel, neuron, adiposit, faktor yang disekresikan, dan matriks ekstraseluler (ECM). Interaksi antara sel-sel dalam TME dan sel-sel tumor, serta interaksi antara mikrobioma usus dan sel-sel tumor, mengatur invasi tumor dan metastasis (yaitu, intravasasi ke dalam pembuluh darah). Perubahan ekspresi gen transisi epitel-mesenkim (EMT) terjadi dalam subset sel tumor yang memperoleh sifat metastasis. Langkah-langkah kaskade invasi-metastasis pada kanker kolorektal meliputi (Gambar 14):

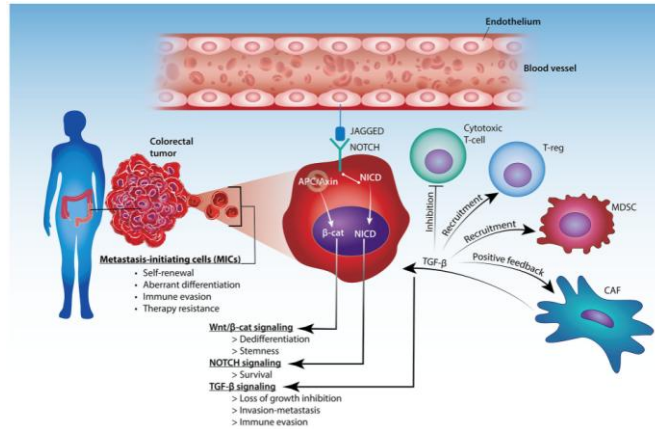
1. Langkah 1: sel-sel tumor terlepas satu sama lain.
2. Langkah 2: sel tumor menyerang ke dalam ECM dengan mendegradasi membran basal.
3. Langkah 3: sel tumor menginduksi angiogenesis dan memasuki sirkulasi.
4. Langkah 4: sel-sel tumor bertahan hidup dalam sirkulasi dengan berkumpul satu sama lain, leukosit, dan trombosit.
5. Langkah 5: sel tumor yang selamat dari sirkulasi keluar dari aliran darah menuju stroma organ target.
6. Langkah 6: sel tumor menyebar ke situs sekunder.
7. Langkah 7: sel tumor memasuki keadaan tidak aktif, ditandai dengan keluarnya siklus sel dan aktivasi jalur kelangsungan hidup.
8. Langkah 8: sel tumor diaktifkan kembali, memungkinkan pertumbuhan dan kolonisasinya di lokasi sekunder.



Gambar 14. Kaskade invasi-metastasis pada kanker kolorektal

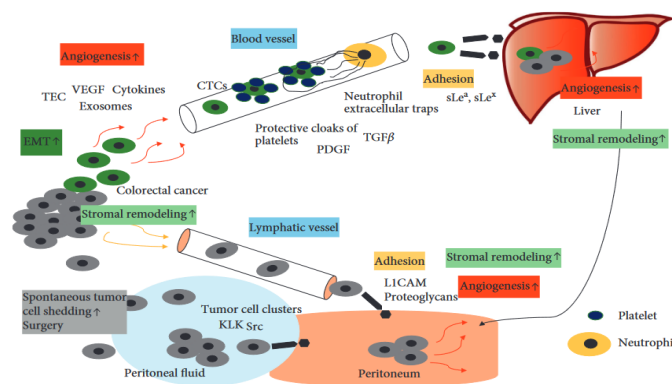
Sumber: (Shin, Giancotti dan Rustgi, 2023)

Pada Gambar 15 menunjukkan bahwa metastasis timbul dari subset sel tumor yang menjadi invasif karena aktivasi jalur pensinyalan NOTCH, Wnt/ β -catenin, dan TGF- β . Interaksi antara JAGGED (diekspresikan oleh sel endotel) dan NOTCH (diekspresikan oleh sel tumor) memungkinkan sel tumor bertahan hidup di sekitar pembuluh tumor. Hilangnya APC atau Axin mendorong pensinyalan Wnt/ β -catenin dan menginduksi dedifferensiasi dan batang MIC. MIC resisten terhadap efek sitostatik dari pensinyalan TGF- β , yang juga dapat menciptakan lingkungan mikro yang menekan kekebalan dan selanjutnya mendorong invasi MIC (Shin, Giancotti dan Rustgi, 2023).



Gambar 15. Sel pemicu metastasis (MIC) pada kanker kolorektal
Sumber: (Shin, Giacotti dan Rustgi, 2023)

Metastasis kanker kolorektal dapat terjadi melalui penyebaran hematogen dan peritoneum. Penyebaran hematogen terjadi ketika sel tumor menjalani EMT dan meninggalkan tumor primer. Melalui angiogenesis sel tumor menemukan jalan masuk ke dalam sistem peredaran darah. Selama transportasi, sirkulasi sel tumor (*Circulating tumor cells/CTC*) dilindungi oleh trombosit dan neutrofil dari serangan kekebalan dan tegangan geser. Menggunakan molekul adhesi yang berbeda, CTC kemudian menempel pada stroma hati dan membentuk koloni. Sedangkan penyebaran peritoneum terjadi ketika sel tumor meninggalkan tumor primer melalui pelepasan sel tumor secara spontan, intervensi bedah, atau pengelupasan kulit ke dalam sistem limfatik. Dalam cairan peritoneum, sel tumor membentuk kelompok untuk menghindari anoikis. Menggunakan molekul adhesi tertentu, sel tumor menempel pada peritoneum dan menggunakan angiogenesis untuk menyebar lebih lanjut di peritoneum. Faktor-faktor yang telah diidentifikasi berperan dalam bagian tertentu dari proses multistep di CRC disorot dengan warna abu-abu (Gambar 16) (Pretzsch *et al.*, 2019).



Gambar 16. Mekanisme metastasis kanker kolorektal terkait penyebaran hematogen dan peritoneum
Sumber: (Pretzsch *et al.*, 2019)

Interaksi sel tumor dengan trombosit merupakan prasyarat keberhasilan penyebaran metastasis hematogen. Saat sel tumor masuk ke dalam darah, sel tumor segera mengaktifkan trombosit untuk membentuk lingkungan mikro yang permisif. Trombosit melindungi sel tumor dari gaya geser dan serangan sel NK, merekrut sel myeloid melalui sekresi kemokin, dan memediasi penangkapan embolus trombosit sel tumor pada dinding pembuluh darah. Selanjutnya, faktor pertumbuhan turunan trombosit memberikan

fenotip mirip mesenkim pada sel tumor dan membuka endotel kapiler untuk mempercepat ekstrasvasi pada organ jauh (Schlesinger, 2018).

2.4.2 Hubungan antara EMT dan metastasis sel tumor

EMT merupakan langkah pertama dalam kaskade metastasis, khususnya dalam proses sel kanker kolorektal memperoleh fenotip migrasi (Lu, Kornmann dan Traub, 2023). EMT berperan utama dalam tahap awal penyebaran tumor dengan memungkinkan mobilitas dan invasif. Semakin banyak bukti menunjukkan bahwa TME memainkan peran penting dalam semua tahap perkembangan tumor mulai dari proliferasi tumor hingga pembentukan metastasis hingga kolonisasi peritoneum atau organ jauh. Sel tumor, sel imun, faktor terlarut, dan komponen ECM tampaknya merupakan bagian dari ekosistem yang disediakan oleh TME dan proses yang dijelaskan seperti EMT atau angiogenesis tampaknya bergantung pada interaksi dua arah dengan TME. Bukti yang berkembang menunjukkan bahwa karsinomatosis peritoneum pada kanker kolorektal adalah tahap akhir dari perkembangan tumor lokal yang lanjut, sedangkan metastasis hati mungkin merupakan kanker kolorektal yang menyebar secara hematogen yang masih dapat dikontrol secara lokal (Pretzsch *et al.*, 2019).

Protein adhesi E-kalsium (E-cadherin) merupakan molekul penting dalam pembentukan ikatan adhesi seluler dan merupakan faktor kunci dalam pembentukan kontak antar sel. Pada permulaan EMT pada tumor ganas, ekspresi E-cadherin mengalami penurunan atau hilang, mengakibatkan penurunan adhesi antar sel tumor dan peningkatan invasi, infiltrasi, dan metastasis sel tumor. Semakin rendah ekspresi E-cadherin, semakin buruk prognosis pasien. Oleh karena itu, downregulasi atau hilangnya E-cadherin dianggap sebagai peristiwa khas EMT. Perbedaan lingkungan mikro tumor yang menyebabkan perbedaan dalam proses EMT yang mendorong terjadinya metastasis tumor (Ni, Li dan Yu, 2022).

Pada penelitian sebelumnya membuktikan bahwa ada keterlibatan EMT parsial pada bagian depan tumor invasif, dan MET parsial dalam metastasis di kanker kolorektal, berdasarkan keluarga miR-200 dan ekspresi gen targetnya (Pavlič *et al.*, 2021). Kanker kolorektal merupakan kanker yang kaya TGF- β , dan tumor serta garis sel kanker kolorektal mengekspresikan lebih banyak TGF- β dibandingkan epitel kolon normal. TGF- β adalah sitokin yang banyak diteliti terkait dengan EMT. Pensinyalan TGF- β lebih banyak terlihat pada CAF dengan subtipe kanker kolorektal prognostik buruk sebagai bagian dari profil stroma yang terkait dengan kekambuhan penyakit. TGF- β adalah sitokin yang paling banyak dipelajari yang dikeluarkan oleh CAF. Dalam jalur GTPase dan PI3K, MAPK/ERK, WNT, dan AKT/mTOR, pensinyalan TGF- β dapat memulai EMT dengan mengaktifkan EMT-TF seiring waktu. Aktivasi pensinyalan Wnt/ β -catenin sangat penting untuk induksi EMT pada kanker kolorektal. Ada dampak yang signifikan untuk mengurangi pertumbuhan kanker kolorektal ketika sumbu Wnt/ β -catenin ditargetkan (Lu, Kornmann dan Traub, 2023).

2.4.3 Hubungan trombosit aktif LPA dengan metastasis kanker

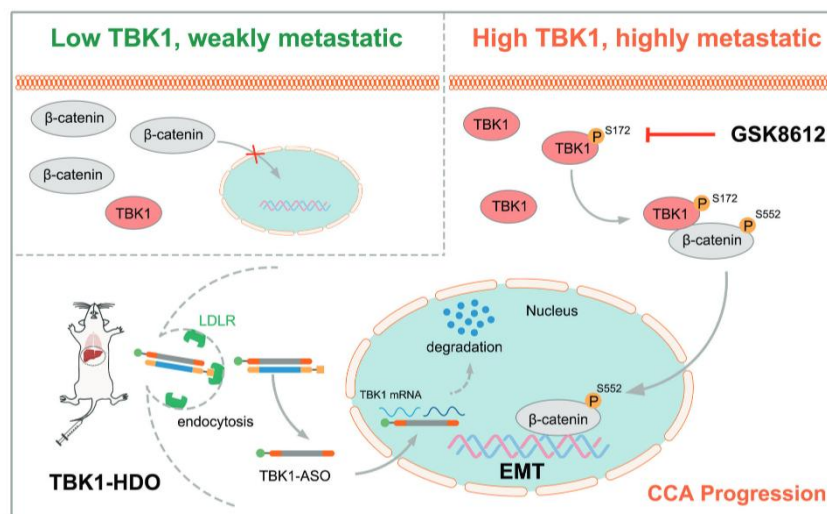
Selama metastasis tumor, sel-sel tumor individu tidak mampu melawan serangan tubuh. Mayoritas sel tumor yang memasuki aliran darah mati dalam waktu singkat akibat pengaruh sistem kekebalan tubuh dan perubahan mekanis aliran darah. Hanya sejumlah kecil sel tumor dengan viabilitas tinggi dan potensi metastasis yang berinteraksi dengan trombosit dan sistem koagulasi dalam aliran darah dapat membantu membentuk gumpalan kanker kecil yang lolos dari pembersihan kekebalan, sehingga bermetastasis ke tempat yang jauh. Trombosit dapat membantu sel tumor untuk bermetastasis. Trombosit yang teraktivasi dapat terakumulasi dan meningkatkan invasi dan metastasis sel tumor. Sinyal kimia, seperti NF- κ B dan sinyal transforming growth factor- β (TGF- β) yang dilepaskan oleh trombosit, dapat membuat sel tumor lebih invasif (Liao *et al.*, 2023). Tingkat LPA yang tinggi terdapat pada tumor menunjukkan adanya peran LPA dalam regulasi migrasi, invasi dan metastasis (Karalis dan Poulogiannis, 2024).

Kanker kolorektal dihasilkan dari akumulasi beberapa ketidakstabilan genetik independen dan aktivasi jalur onkogenik yang mengubah sel epitel menjadi sel kanker. Selain itu, faktor pertumbuhan, faktor

angiogenik, dan faktor motilitas yang dihasilkan oleh sel tumor atau lingkungan sekitarnya memainkan peran penting dalam transformasi keganasan. Sejumlah bukti mendukung bahwa LPA merupakan faktor yang merangsang proliferasi, kelangsungan hidup, dan migrasi sel-sel ganas. LPA mendorong proliferasi dan migrasi sel kanker kolorektal manusia, termasuk HCT116, LS174T, SW480, dan LoVo, melalui LPA2 atau LPA3. Metastasis hepatic sel kanker kolorektal oleh LPA bergantung pada faktor penghambat migrasi makrofag (MIF). LPA juga merangsang migrasi sel kanker lambung SGC-7901 yang sebagian besar mengekspresikan LPA2. Proliferasi sel kanker kolorektal dicapai sebagian melalui aktivasi β -catenin, suatu ko-aktivator faktor transkripsi TCF/LEF pada jalur Wnt. LPA mengaktifkan β -catenin dengan menghambat glikogen sintase kinase 3 β (Yun dan Kumar, 2018).

2.4.4 Hubungan trombosit aktif TBK1 dengan metastasis kanker

TBK1 diregulasi dalam kanker dan berkorelasi dengan metastasis kanker. Ekspresi TBK1 menstimulasi potensi metastasis sel kanker melalui induksi proses EMT. TBK1 secara langsung berinteraksi dan mengaktifkan β -catenin dan mendorong translokasi nuklirnya. Selain itu, ada korelasi positif antara TBK1 dan ekspresi inti β -catenin. Penghambatan TBK1 oleh GSK-8612 dan Cho-TBK1-HDO secara efektif menekan metastasis intrahepatik kanker. Secara keseluruhan, ekspresi berlebih dari TBK1 mendorong metastasis CCA melalui induksi EMT yang dimediasi β -catenin dan bahwa TBK1 berpotensi menjadi faktor prognostik dan target terapi kanker (Gao *et al.*, 2023).



Gambar 17. Peningkatan regulasi TBK1 pada metastase

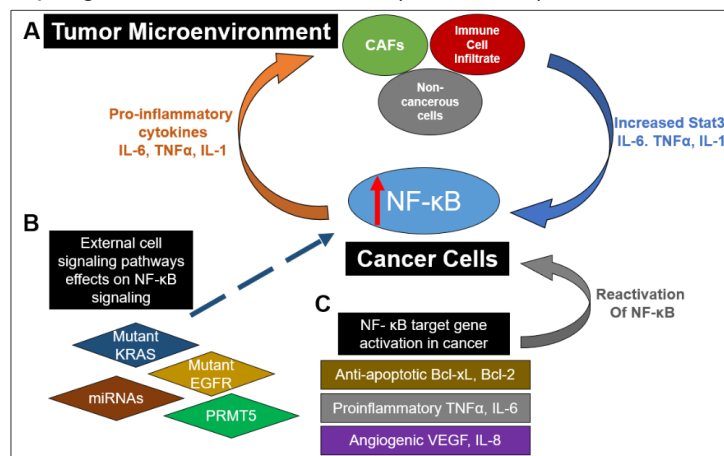
Sumber: (Gao *et al.*, 2023)

Proses EMT yang dimediasi β -catenin berperan penting dalam metastasis kanker. TBK1, regulator baru di bagian upstream β -catenin, mengaktifkan β -catenin melalui interaksi protein-protein dan kemudian mendorong metastasis EMT dan sel kanker (Gambar 17). Sebaliknya, menghambat ekspresi TBK1 memberikan efek sebaliknya. Dalam kondisi hipoksia, TBK1 menjadi hiperaktif (meningkatkan pSer172) dan menjadi stabil, sehingga mendorong pertumbuhan sel kanker. TBK1 merupakan aktivator jalur pensinyalan NF κ B dan NF κ B juga dikenal sebagai stimulator proses EMT. TBK1 dapat lebih mendorong perkembangan kanker melalui regulasi EMT (Gao *et al.*, 2023). TBK1 berkontribusi terhadap invasi tumor dan menjadi pendorong penyebaran metastasis pada kanker. TBK1 menjadi mediator penting EMT yang diinduksi trombosit dan metastasis pada sel kanker. Dengan demikian, TBK1 merupakan target terapi yang menarik untuk pencegahan penyakit metastasis (Zhang *et al.*, 2019).

2.5. Hubungan LPA, TBK 1 dengan Notch & NF-KB dalam konteks hasil klinis dan respons terhadap terapi

Kemoterapi adalah pengobatan tradisional untuk semua jenis kanker. Meskipun banyak strategi kemoterapi baru telah dikembangkan, tingkat respons terhadap pengobatan untuk banyak tumor stadium lanjut masih rendah karena munculnya kemoresistensi intrinsik. Berbagai mekanisme dapat menyebabkan kemoresistensi pada kanker, termasuk penurunan aktivitas obat, peningkatan penghabisan agen antikanker, perubahan target obat, perubahan mekanisme perbaikan DNA, dan penghindaran apoptosis yang diinduksi obat (Q. Shi *et al.*, 2024).

NF- κ B berperan dalam perkembangan kanker kolorektal dan potensi yang dimilikinya sebagai target yang layak untuk pengobatan kanker kolorektal (Gambar 18).

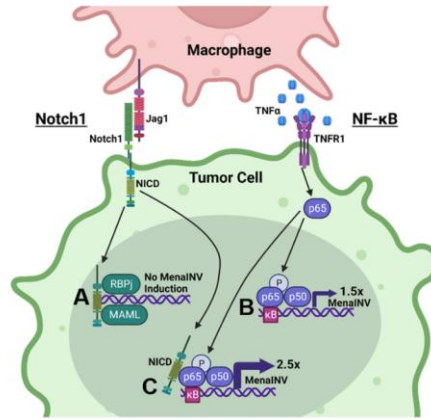


Gambar 18. Interaksi yang sangat banyak dan bervariasi antara sinyal NF- κ B pada kanker dan lingkungan mikro tumor (TME)

Sumber: (Martin *et al.*, 2021)

Interaksi yang banyak sekali dan bervariasi antara pensinyalan NF- κ B pada kanker dan lingkungan mikro tumor (TME). (A) Peningkatan aktivasi NF- κ B pada sel kanker dapat mengakibatkan pelepasan sitokin proinflamasi ke TME. Hal ini menghasilkan stimulasi fibroblas terkait kanker (CAF), infiltrat sel imun (seperti makrofag) dan sel non-kanker untuk melepaskan IL-6 dan TNF α , serta mendorong aktivasi STAT3. Pelepasan faktor-faktor ini kembali ke TME selanjutnya meningkatkan aktivasi NF- κ B dalam sel kanker. (B) Mutasi protein pada jalur lain atau kurangnya ekspresi protein tersebut telah terbukti meningkatkan aktivasi NF- κ B. Ini termasuk EGFR dan KRAS mutan di jalur pensinyalan RAS-RAF serta miRNA di berbagai jalur pensinyalan. Disregulasi regulator utama dalam pensinyalan NF- κ B seperti PRMT5 juga dapat berkontribusi terhadap peningkatan regulasi aktivitas NF- κ B. (C) Gen target hilir NF- κ B dapat bertindak untuk mendorong lingkungan mikro proinflamasi dengan mendorong pelepasan faktor antiapoptosis seperti Bcl-xL dan Bcl-2, faktor proinflamasi TNF α dan IL-6, faktor angiogenik VEGF dan IL8, serta kemokin proinflamasi. Selain itu, pelepasan sitokin pro-inflamasi dapat merangsang kembali aktivasi NF- κ B. Semua faktor ini berkontribusi terhadap stimulasi sinyal NF- κ B yang terus-menerus dan lingkungan yang semakin pro-inflamasi (Martin *et al.*, 2021).

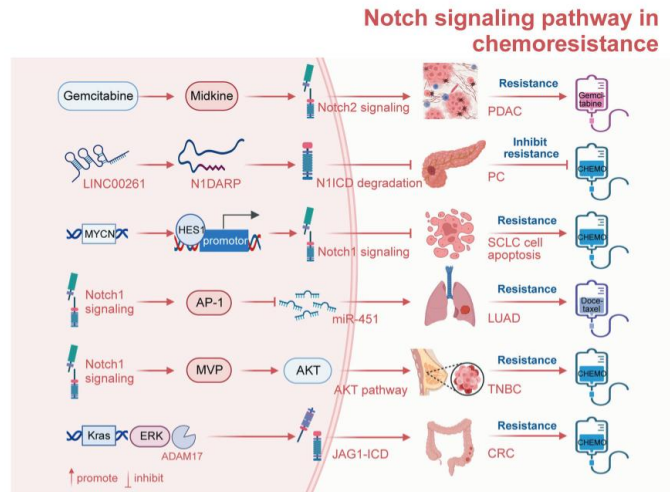
Terkait dengan respon pengobatan, makrofag meningkatkan ekspresi MenaINV, isoform pro-metastatik Mena, dalam sel kanker payudara melalui perpanjangan aktivasi NF- κ B yang dimediasi Notch1. Sinyal NF- κ B berkelanjutan yang dimediasi makrofag dan ditingkatkan dengan kemoterapi neoadjuvan (Duran *et al.*, 2023).



Gambar 19. Ekspresi MenaINV dalam sel kanker diinduksi oleh kooperatif NF-κB dan pensinyalan Notch1 yang dimediasi makrofag
Sumber: (Duran et al., 2023)

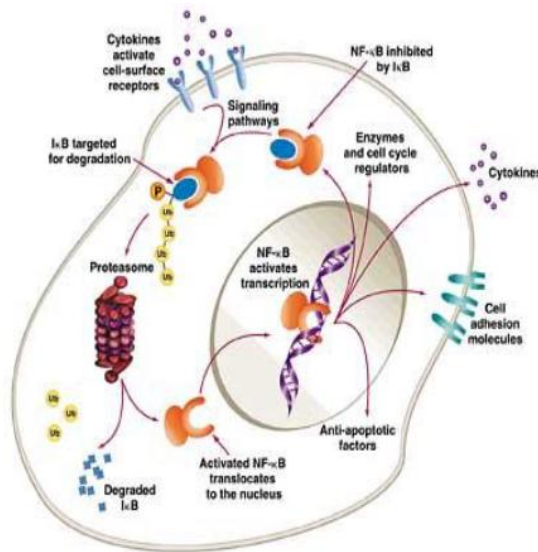
Pada Gambar 19, pensinyalan juxtacrine dan paracrine antara makrofag dan sel tumor mengaktifkan jalur Notch1 dan NF-κB yang bekerja sama untuk menginduksi ekspresi MenaINV dalam sel kanker. Pensinyalan Notch1 saja tidak menginduksi ekspresi MenaINV dalam sel tumor. Pensinyalan NF-κB, diaktifkan oleh pengikatan TNFα ke reseptor TNFR1, menyebabkan translokasi nuklir faktor transkripsi p65 dan peningkatan ekspresi MenaINV sebesar 1,5 kali lipat. C Notch1 dan NF-κB memberi sinyal crosstalk untuk meningkatkan ekspresi MenaINV hingga 2,5 kali lipat. Domain intraseluler Notch1 (NICD) meningkatkan retensi nuklir faktor transkripsi NF-κB p65 yang mengarah pada pensinyalan NF-κB yang berkelanjutan dan induksi ekspresi MenaINV. Mekanisme induksi MenaINV ini terjadi secara *in vivo* dan menjelaskan peningkatan ekspresi MenaINV yang diamati sebelumnya pada pengobatan kemoterapi (Duran *et al.*, 2023).

Kemoresistensi melibatkan mekanisme yang kompleks, seperti pengembangan fenotip mirip EMT dalam sel kanker, pemrograman ulang metabolik, karakterisasi sel induk, dan perubahan jalur molekuler. Mengidentifikasi jalur sinyal spesifik yang diaktifkan secara abnormal pada kemoresistensi sangat penting untuk menyesuaikan rejimen terapi. Ekspresi komponen yang menyimpang dalam jalur Notch berperan penting dalam berkontribusi terhadap kemoresistensi (Gambar 20). Pada kanker kolorektal dengan mutasi Kras, JAG1 telah terbukti memicu transduksi sinyal balik intrinsik melalui JAG1-ICD yang ditargetkan pada nuklir, menjaga perkembangan dan kemoresistensi kanker kolorektal. miR-195-5p menghambat batang sel kanker kolorektal dan 5-resistensi fluorouracil dengan menghambat Notch2 dan RBPJ. Dengan menghambat jalur Notch menjanjikan dapat pemulihan kemanjuran kemoterapi pada kanker kolorektal (Q. Shi *et al.*, 2024).



Gambar 20. Jalur pensinyalan takik pada kemoresistensi
Sumber: (Q. Shi *et al.*, 2024)

Pada kanker kolorektal telah dilaporkan bahwa induksi aktivasi NF- κ B menyebabkan resistensi terhadap kemoterapi. NF- κ B yang diaktifkan secara konstitutif sering kali dapat dilihat pada berbagai sel kanker, garis sel, model hewan xenograft, atau lokasi klinis. NF- κ B teraktivasi secara konstitutif di hampir 60 hingga 80% kanker kolorektal (Gambar 21) (Hassanzadeh, 2011).



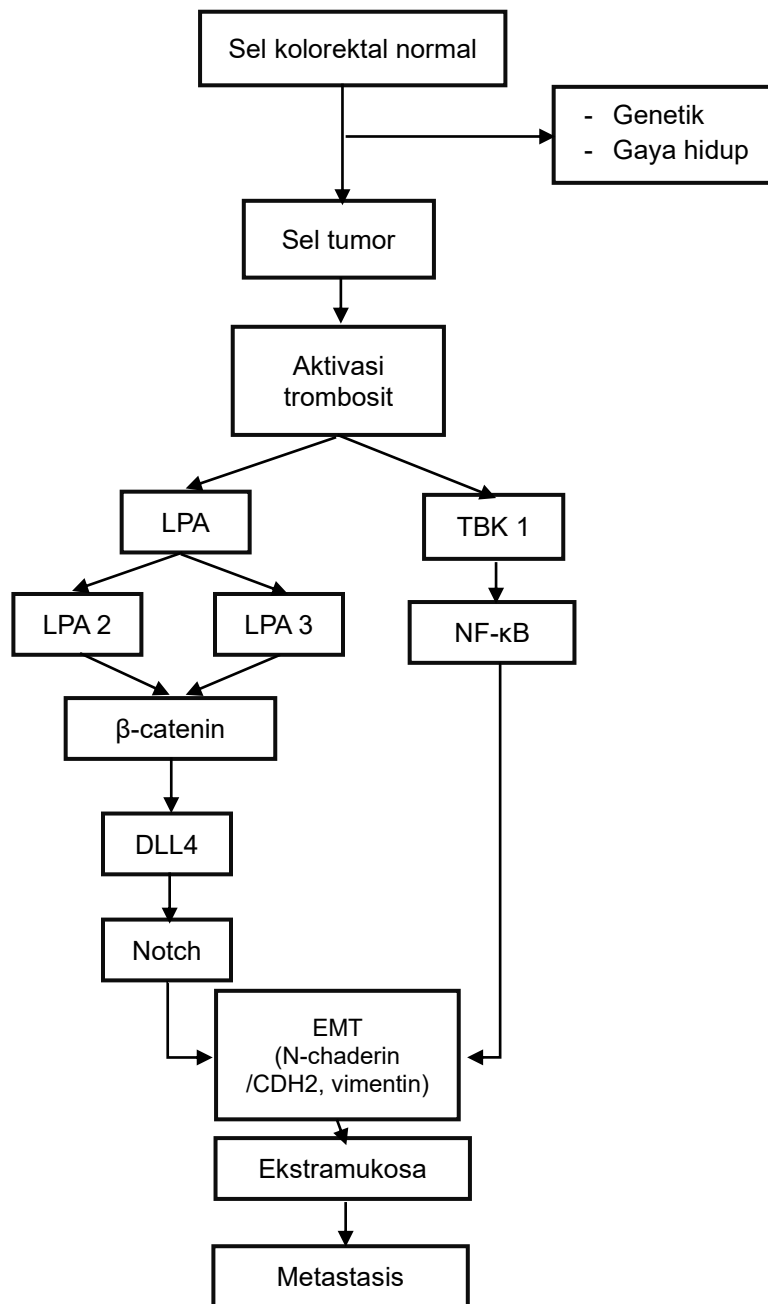
Gambar 21. Aktivasi NF- κ B konstitutif kanker kolorektal
Sumber: (Hassanzadeh, 2011)

NF- κ B yang diaktifkan secara konstitutif mendorong proliferasi sel kanker dan menyelamatkan sel kanker dari kematian sel. Ketika aktivasi konstitutif NF- κ B dihambat dengan merobohkan IKKg dengan siRNA (sel KD), apoptosis yang lebih besar diinduksi dalam sel KD dibandingkan sel kontrol dengan stimulasi dengan TNF- α atau 5-FU. Pada tumor sel KD, lebih banyak kematian sel yang diamati dibandingkan pada tumor sel kontrol. Karena aktivasi konstitutif NF- κ B terdapat pada sejumlah besar pasien kolorektal, banyak pasien yang menunjukkan resistensi terhadap kemoterapi dapat menyebabkan

aktivasi konstitutif NF- κ B. Oleh karena itu, terapi anti-NF- κ B dapat menyelamatkan banyak kasus kanker kolorektal (Hassanzadeh, 2011).

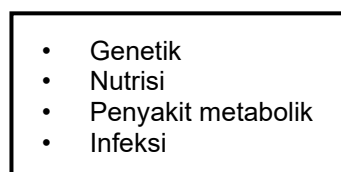
NF- κ B adalah pemain utama dalam respons imun, penghambatan langsung NF- κ B dapat menyebabkan penekanan kekebalan yang tidak diinginkan. Meskipun efek samping ini sebagian dapat diatasi dengan pengobatan yang lebih sering dan dosis rendah, menargetkan regulator daripada NF- κ B sendiri masih merupakan pilihan yang lebih baik untuk pengobatan kanker kolorektal. Faktanya, beberapa upaya telah dilakukan untuk pengembangan penghambat jalur pensinyalan NF- κ B dalam pengobatan kanker kolorektal. Misalnya, fitokimia tertentu, seperti kurkumin, ekstrak ginseng, resveratrol, dan ekstrak teh hijau telah menunjukkan efek menguntungkan pada pasien kanker kolorektal dengan menghambat aktivitas IKK/NF- κ B. C086 adalah senyawa yang lebih kuat yang berasal dari kurkumin yang dapat menurunkan aktivitas NF- κ B pada sel kanker kolorektal dan tumor xenograft. Selain itu, inhibitor proteasome, seperti bortezomib, telah menunjukkan beberapa keberhasilan dengan menghalangi degradasi I κ B, sehingga menghambat pelepasan heterodimer NF- κ B ke nukleus.. Agen penghambat NF- κ B lainnya seperti obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) juga digunakan untuk menurunkan risiko keseluruhan perkembangan kanker kolorektal terkait kolitis. Penghambatan jalur NF- κ B sebagai pendekatan terapi yang menjanjikan untuk kanker kolorektal. Adanya peran NF- κ B, yang terlibat dalam banyak proses fisiologis, pendekatan yang dapat menghindari penghambatan NF- κ B sistemik lebih diinginkan (Martin *et al.*, 2021).

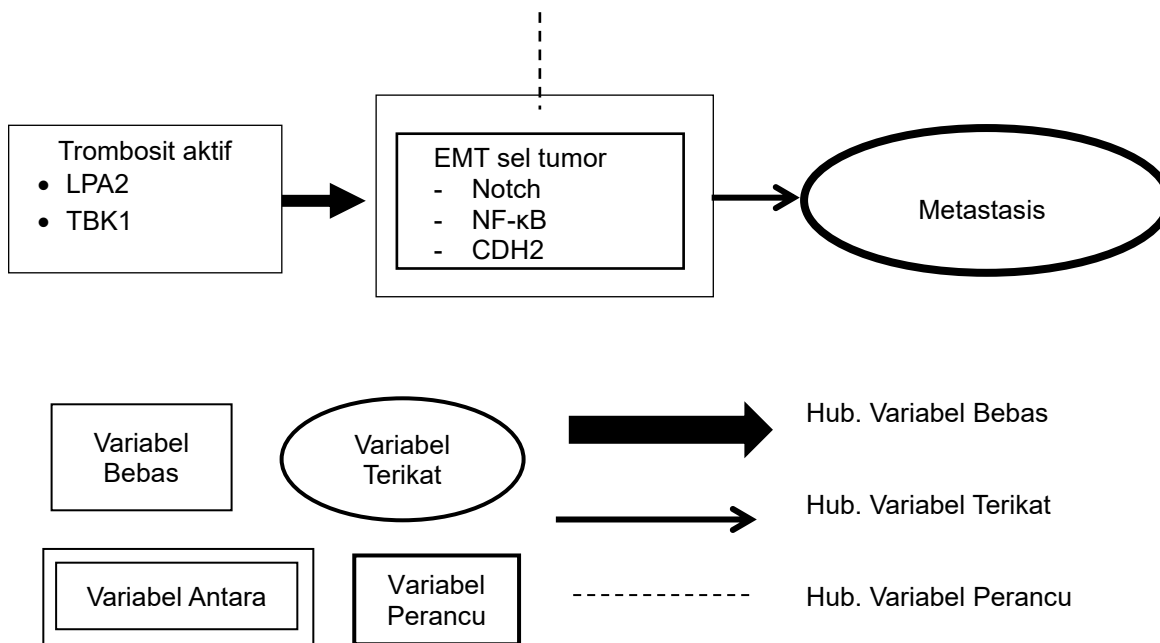
2.6. Kerangka Teori



Gambar 22. Kerangka Teori

2.7. Kerangka Konsep





Gambar 23. Kerangka Konsep

2.8. Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur
Metastasis	Sel-sel tumor yang bermigrasi dari lokasi tumor primer ke dalam sirkulasi darah, bertahan hidup, dan akhirnya berkembang ke organ lain.	Pemeriksaan radiologi, CT scan, USG, dan torax rontgen	Nominal 1 = Ya 2 = Tidak
Asam lisofosfatidat (LPA2)	Kadar fosfolipid bioaktif yang diproduksi selama sintesis membran sel dan sebagai molekul pemberi sinyal ekstraselluler.	ELISA kit	nominal Dalam satuan ng/mL
TANK-binding kinase 1 (TBK1)	Kadar serin/treonin kinase dalam sistem regulasi sinyal seluler, inflamasi, dan imunitas.	ELISA kit	nominal Dalam satuan ng/mL
Notch	Kadar reseptor trans membran yang mengatur diferensiasi sel dan koordinasi sel-sel kanker.	ELISA kit	nominal Dalam satuan ng/mL

Faktor nuklir kappa B (NF-κB)	Kadar protein sebagai pengatur imunitas, inflamasi, kelangsungan hidup sel kanker.	ELISA kit	nominal Dalam satuan ng/mL
CDH2 (EMT)	Kadar N-kadherin protein transmembran sebagai adhesi antar sel-sel, sebagai indikator dan bagian dari epitelial mesenkimal transision (EMT) yang menjadi petanda proses awal metastasis.	ELISA kit	nominal Dalam satuan ng/mL
Usia	Lama hidup subjek penelitian dari sejak lahir sampai penelitian dilakukan	Kuesioner terkait demografi	nominal Dalam satuan tahun
Jenis kelamin	Jenis kelamin yang terdapat pada data identitas diri pasien	Kuesioner terkait demografi	Nominal 1. Laki-laki 2. Perempuan
IMT	Indeks masa tubuh yang dihitung dari perbandingan berat badan terhadap tinggi badan kuadrat	Timbangan badan dan meteran	Ordinal 1. < 18,5 kg/m ² = underweight 2. 18,5-22,9 kg/m ² = normal 3. 23-24,9 kg/m ² = overweight 4. > 25 kg/m ² = obesitas

2.9. Hipotesis

Hipotesis penelitian ialah kadar trombosit aktif (LPA2 dan TBK 1), kadar EMT (CDH2) dan sel tumor (Notch dan NF-κB) mempunyai korelasi dengan metastasis pasien kanker kolorektal.

