

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Kanker adalah penyebab utama kematian di seluruh dunia (Torre *et al.*, 2015). Kanker didefinisikan sebagai pertumbuhan sel abnormal yang muncul dari organ atau jaringan tubuh, dimana pertumbuhan sel kanker dapat meningkat dengan cepat (Tufail *et al.*, 2021). Menurut World Health Organization, terhitung hampir 10 juta kematian pada tahun 2020 disebabkan oleh kanker. Perawatan utama saat ini untuk terapi kanker diantaranya operasi, radioterapi dan kemoterapi. Operasi dan radioterapi adalah pengobatan yang paling efektif untuk kanker lokal dan non-metastasis, tetapi tidak efisien ketika kanker telah menyebar ke seluruh tubuh. Penggunaan agent antikanker (kemoterapi) menjadi pilihan saat ini untuk pengobatan kanker metastatik, karena mampu menjangkau setiap organ dalam tubuh melalui aliran darah (Pérez-herrero dan Fernández-medarde, 2015)

Agen kemoterapi, juga dikenal sebagai agen antineoplastik, digunakan di seluruh dunia sebagai lini pertama pengobatan kanker klinis (Hu *et al.*, 2018). Agen ini bekerja dengan menargetkan pertumbuhan dan pembelahan sel kanker secara aktif. Agen antikanker efektif karena memiliki banyak target dan mekanisme aksi yang ditujukan untuk menghentikan perkembangan kanker dengan menghambat perkembangan sel-sel kanker yang membelah dengan cepat. Sayangnya, jenis obat ini juga mempengaruhi sel dan struktur tubuh yang normal sehingga menyebabkan berbagai efek samping yang merugikan misalnya neuropati perifer. Kondisi neuropati ini yang diinduksi agent kemoterapi ini dikenal dengan sebutan *Chemotherapy Induced Peripheral Neuropathy* (CIPN) (Zajackowska *et al.*, 2019)

Secara klinis, CIPN dimanifestasikan sebagai berkurangnya fungsi sensorik, motorik dan atau otonom dengan intensitas yang bervariasi. Gejala sensorik biasanya berkembang terlebih dahulu, melibatkan kaki dan tangan dan umumnya hadir sebagai neuropati yang khas di bagian paling distal ekstremitas. Gejalanya terdiri dari mati rasa, kesemutan, perubahan sensasi sentuhan, gangguan getaran, parestesia dan disestesia yang disebabkan oleh sentuhan dan suhu hangat atau dingin. Selain itu, sensasi nyeri termasuk rasa terbakar spontan, tertembak atau nyeri seperti sengatan listrik serta *mechanical allodynia* atau termal atau *hyperalgesia* sering terjadi (Zajackowska *et al.*, 2019)

Salah satu agen antikanker yang banyak digunakan dan berpotensi menyebabkan neurotoksisitas yang parah adalah golongan Platinum (Zhou *et al.*, 2019). Oxaliplatin adalah contoh agent antikanker berbasis platinum yang banyak digunakan untuk pengobatan kanker salah satunya untuk kanker *colorectal* (Yamamoto *et al.*, 2016). Aktivitas antikanker berbasis platinum yaitu muncul dari kemampuan kompleks ini untuk menghasilkan adisi kovalen dengan DNA inti dimana akan mempengaruhi pasangan basa DNA, replikasi, dan transkripsi gen, yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel (Riddell dan Lippard, 2018; Rogers *et al.*, 2019). Oxaliplatin banyak digunakan dalam pengobatan berbagai jenis kanker saluran pencernaan lainnya. Karena aplikasinya yang luas, maka efek samping dari Oxaliplatin semakin diperhatikan, terutama efek samping paling umum yaitu neuropati perifer dengan tingkat kejadiannya adalah 85% ~ 95% (Zhang *et al.*, 2019). Neurotoksisitas Oxaliplatin muncul dalam dua bentuk yang berbeda, yaitu akut dan kronis (Sałat, 2020). Karena karakteristik Oxaliplatin yang bergantung pada dosis, gejala neuropati kronis dapat muncul pada pasien setelah 4 hingga 6 siklus setelah kemoterapi pada sekitar 70% pasien (Wei *et al.*, 2021). Sedangkan neuropati akut berkembang pada hampir 90% pasien dalam beberapa jam setelah injeksi Oxaliplatin dan hilang secara spontan dalam beberapa hari (Ventzel *et al.*, 2016; Sałat, 2020). Diperkirakan bahwa perkembangan CIPN akibat pemberian Oxaliplatin kemungkinan terjadi pada dosis kumulatif melebihi 780-850 mg/m² (Sałat, 2020).

Dalam beberapa tahun terakhir, beberapa hipotesis telah diajukan untuk menjelaskan neurotoksisitas Oxaliplatin. Oxaliplatin membuat neuron sensorik *hyperexcitable* dan akhirnya menghasilkan pelepasan ektopik spontan (Zhou *et al.*, 2019). Akumulasi senyawa platinum dianggap sebagai faktor kunci dalam pengembangan neuropati. Platinum mudah terakumulasi di *Dorsal Root Ganglion* (DRG) (Kang *et al.*, 2020). DRG adalah struktur penting dalam transduksi sensorik dan modulasi, termasuk transmisi nyeri. DRG merupakan pembesaran akar dorsal yang menampung somata (badan sel) dari neuron sensorik primer yang mentransmisikan sensasi seperti rasa sakit dan sentuhan dari tubuh ke otak. Peran neuron sensorik perifer adalah untuk menghantarkan potensial aksi dari neuron sensorik perifer ke terminal pusat untuk transmisi ke sistem saraf pusat (Esposito *et al.*, 2019). Berbeda dengan sistem saraf pusat (SSP), pada DRG tidak memiliki perlindungan sawar darah-otak, sehingga obat kemoterapi dan obat toksik lainnya dapat dengan mudah masuk ke badan sel neuron sensorik DRG. Akumulasi obat ini dalam DRG menyebabkan kerusakan neurologis (Wei *et al.*, 2021). Diketahui hingga 15.000 neuron hadir di setiap DRG pada tingkat segmental yang mempersarafi

ekstremitas (Esposito *et al.*, 2019). Beberapa penelitian menunjukkan gangguan terkait homeostasis Ca^{2+} turut berperan dalam neurotoksisitas yang disebabkan pemberian Oxaliplatin, dimana terjadi peningkatan kritis Ca^{2+} intraseluler setelah pengobatan dengan senyawa platinum. Ca^{2+} intraseluler berfungsi *sebagai second messenger* untuk pelepasan transmitter, regulasi apoptosis, dan pensinyalan intraseluler. Masuknya Ca^{2+} ekstraseluler terutama dimediasi oleh *Voltage-Gated Calcium Channels* (VGCC) (Schmitt *et al.*, 2018 ; Bouchenaki *et al.*, 2021)

Potensial aksi berperan dalam memproses informasi di sepanjang sistem saraf. Potensial aksi dipicu oleh depolarisasi membran sel. Saluran VGCC dipicu selama induksi potensial aksi, yang menyebabkan masuknya Ca^{2+} dan depolarisasi potensial membran. Diketahui data dari penelitian menunjukkan peningkatan yang signifikan dalam amplitudo potensial aksi dan perubahan karakteristik potensial aksi yang berbeda setelah paparan oxaliplatin selama 24 atau 48 jam. Setelah itu, blokade VGCC diketahui dapat mengurangi amplitudo potensial aksi yang menunjukkan bahwa VGCC terlibat dalam perubahan potensial aksi yang dimediasi oxaliplatin sehingga VGCC juga berperan penting dalam proses neurotoksisitas (Schmitt *et al.*, 2018).

VGCC kemudian muncul sebagai target saluran ion potensial untuk pengobatan nyeri neuropati. Hal ini juga berkaitan dengan sub unitnya $\alpha 2\delta 1$ yang diregulasi di DRG dalam model cedera saraf perifer (Yamamoto *et al.*, 2016). Temuan terbaru menunjukkan bahwa Glutamat reseptor *N-methyl-D-aspartate Acid* (NMDAr) memainkan peran penting dalam nyeri neuropatik dan diketahui dapat membentuk kompleks dengan subunit $\alpha 2\delta 1$ sehingga mempotensiasi aktivitas NMDAr baik di presinaps dan pasca eesinaps (Chen *et al.*, 2018). Selain itu diduga bahwa salah satu metabolitnya, *dichloro-diaminocyclohexane platinum* (dach-Cl2-platin) atau oksalat, dapat mengubah sifat saluran natrium yang diketahui terlibat dalam pembangkitan potensial aksi dan menyebabkan cedera saraf perifer, *hyperalgesia* dingin dan *mechanical allodynia* (Grolleau *et al.*, 2001). Oksalat adalah chelator Ca^{2+} yang terkenal, dan nyeri yang diinduksi oksalat dianggap sebagai konsekuensi dari khelasi ion Ca^{2+} ekstraseluler (yaitu, penghapusan ion Ca^{2+} ekstraseluler), yang kemudian menyebabkan peningkatan konduktansi natrium, depolarisasi neuron dan *hyperexcitable* (Sałat, 2020). Selain melibatkan *Ion channel*, Ca^{2+} *signalling*, dan kerusakan DNA, mekanisme lain terkait Oxaliplatin yang menyebabkan Neurotoksisitas juga melibatkan *Transient Receptors Potential* (TRP), Stress Oksidatif, Caspases, MAP-kinases and protein kinase C, *drug membrane transporters*, dan central glia (Carozzi *et al.*, 2015).

Saluran TRP (*Transient Receptor Potential*) adalah saluran kationik yang bertindak sebagai transduser sinyal dengan mengubah potensial membran atau konsentrasi Ca^{2+} intraseluler (Samanta, Hughes and Moiseenkova-Bell, 2018). Pada pemberian Oxaliplatin, terjadi peningkatan ekspresi *Transient Receptor Potential Ankyrin 1* (TRPA1) di DRG (Carozzi *et al.*, 2015). Saluran TRP merupakan saluran/transporter permeabel Ca^{2+} . Selektivitas dari Ca^{2+} yang tinggi pada saluran TRP disebabkan oleh residu asam amino yang penting (Carozzi *et al.*, 2015). Sebagai anggota keluarga saluran TRP, TRPA1 memiliki beberapa fitur umum, termasuk kesamaan dalam struktur yang terdiri dari enam transmembrane domain dengan N- dan C-termini intraseluler dan permeabilitas ion terhadap kation secara nonselektif. Dalam keluarga saluran TRP vertebrata, TRPA1 ditandai dengan N-terminus panjang dengan beberapa pengulangan ankyrin bersama dengan tiga residu sistein kritis. TRPA1 yang diekspresikan dalam subkelompok spesifik neuron DRG bertanggung jawab untuk deteksi dan transduksi rangsangan berbahaya (Hung and Tan, 2018). Adapun peran saluran TRP dalam nyeri inflamasi, mediator inflamasi dapat membuat peka atau mengubah ambang saluran TRP, menyebabkan perilaku nyeri termasuk *hyperalgesia*, termal *allodynia*, *mechanical allodynia* dan nyeri spontan (Julius, 2013). Dalam penelitian lain, ekspresi TRPA1 ditemukan meningkat pada *Trigeminal Ganglion* (TG) setelah cedera saraf trigeminal dan dihambat oleh downregulasi $\alpha 2\delta 1$ yang merupakan subunit VGCC pada TG. Kemudian, ekspresi berlebih $\alpha 2\delta 1$ yang dimediasi adenovirus dalam neuron TG menginduksi peningkatan ekspresi TRPA1 di TG. Hasil ini menunjukkan bahwa TRPA1 di saraf perifer berkontribusi terhadap hiperalgesia dingin, termal, dan mekanis dalam model nyeri neuropatik dan bahwa $\alpha 2\delta 1$ berpotensi menjadi upstream dari TRPA1 (Cui *et al.*, 2020). Keberadaan ion Ca^{2+} memainkan peran penting dalam modulasi TRPA1. Contohnya arus TRPA1 yang dibangkitkan oleh seperti icilin membutuhkan adanya Ca^{2+} , dan penambahan BAPTA yang merupakan chelator Ca^{2+} intraseluler secara signifikan mengurangi arus yang ditimbulkan icilin. Hal ini menunjukkan bahwa Ca^{2+} intraseluler berfungsi sebagai *co-agonis* TRPA1 (Hung and Tan, 2018). Penggunaan pregabalin dalam model *Chronic Neuropathic Pain of Chronic Constriction Injury* diketahui dapat menurunkan kembali ekspresi TRPA1 di DRG (D. Zhang *et al.*, 2020). Pregabalin merupakan obat yang banyak digunakan untuk nyeri neuropati.

Pregabalin adalah turunan struktural dari *asam butirat γ -amino* (GABA), *neurotransmitter* alami yang dianggap memainkan peran utama dalam penghambatan

aktivitas neuron yang berlebihan (Sonnett *et al.*, 2006). Efek analgesik yang kuat dari pregabalin pada neuropati perifer yang diinduksi oleh Paclitaxel dan Oxaliplatin telah dilaporkan. Pemberian oral Pregabalin (dengan dosis target 150 mg / hari dalam tiga dosis terbagi) secara signifikan mengurangi keparahan neuropati sensorik diinduksi oleh Oxaliplatin dengan tingkat 1-2 (Hu *et al.*, 2018). Pregabalin memiliki aktivitas antikonvulsan dan diperkirakan memberikan efek yang diinginkan dengan mengurangi pelepasan neurotransmitter yang bergantung pada Ca^{2+} , melalui blokade VGCC subunit $\alpha 2\delta 1$ (Sonnett *et al.*, 2006) dimana diketahui neurotoksisitas yang ditimbulkan oleh pemberian Oxaliplatin salah satunya dimediasi oleh VGCC. Seiring dengan penemuan terbaru yang menunjukkan bahwa subunit $\alpha 2\delta 1$ dapat membentuk kompleks dengan NMDAr) sehingga mempotensiasi aktivitas NMDAr dan menyebabkan hipersensitivitas nyeri yang dimediasi NMDAr, Penggunaan pregabalin diketahui juga mampu mengganggu kompleks yang terbentuk antara $\alpha 2\delta 1$ -NMDAr (Chen *et al.*, 2018). Baik TRPA1 maupun VGCC subunit $\alpha 2\delta 1$, keduanya banyak diekspresikan di DRG.

Berdasarkan mekanisme diatas, Pregabalin prospektif sebagai terapi nyeri neuropati yang diinduksi Oxaliplatin. Namun pemberian secara *co-treatment* sebagai upaya preventif pengurangan neurotoksisitas belum banyak diteliti. Melalui mekanisme modifikasi VGCC, pemberian secara *co-treatment* diharapkan mampu berperan sebagai upaya preventif dari neurotoksisitas yang akan terjadi setelah pemberian Oxaliplatin. Oleh sebab itu penelitian ini berusaha untuk mengetahui pengaruh pemberian *co-treatment* Pregabalin pada neuropati yang diinduksi Oxaliplatin dimana melibatkan TRPA1 sebagai saluran permeabel Ca^{2+} .

1.2. Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian Pregabalin secara *co-treatment* dapat mencegah neurotoksisitas yang terjadi setelah penggunaan Oxaliplatin?
2. Bagaimana efek pemberian Pregabalin secara *co-treatment* terhadap ekspresi mRNA TRPA1 di DRG pada mencit dengan model CIPN yang diinduksi oleh Oxaliplatin?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui apakah pemberian Pregabalin secara *co-treatment* dapat mencegah neurotoksisitas yang terjadi setelah penggunaan Oxaliplatin.
2. Menganalisis efek pemberian Pregabalin secara *co-treatment* terhadap ekspresi mRNA TRPA1 di DRG pada mencit dengan model CIPN yang diinduksi oleh Oxaliplatin.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi terkait efek pemberian Pregabalin secara *co-treatment* pada model mencit CIPN yang diinduksi Oxaliplatin dimana secara prospektif, terapi melalui modifikasi VGCC ini dapat berkembang pada target site yang lain seperti TRPA1 di DRG sehingga pemberian Pregabalin dapat mencegah neurotoksisitas yang terjadi.