

ARTIKEL REVIEW: SENYAWA NITROGEN REAKTIF DAN PERANNYA DALAM KANKER PANKREAS

Hilma Awalia Rahmah^{1,2}, Zelika Mega Ramadhania³, Mutakin⁴, Jutti Levita²

¹Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran

²Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik Universitas Padjadjaran

³Departemen Biologi Farmasi Universitas Padjadjaran

⁴Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung Sumedang KM 21, Jatinangor, Sumedang, Jawa Barat 45363

e-mail : hilma.awalia@gmail.com

Diserahkan 23/01/2020, diterima 24/01/2020

ABSTRAK

Spesies nitrogen reaktif (SNR) merupakan beberapa senyawa yang diturunkan dari oksida nitrat yang kehadirannya dalam tubuh dapat mengakibatkan stress nitro-oksidatif. Oksida nitrat (NO) dalam jumlah berlebih dapat dengan mudah memicu produksi SNR yang selanjutnya berkontribusi dalam mekanisme patofisiologis beberapa penyakit, salah satunya adalah kanker pankreas. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa spesies nitrogen reaktif merupakan faktor non genetik yang penting pada tumorigenesis pankreas yang diinduksi defisiensi *Breast Cancer 2 (BRCA2)*. SNR dapat dicegah atau dikurangi pembentukannya melalui perawatan menggunakan antioksidan secara signifikan. Selain mampu mencegah pembentukan SNR, perawatan antioksidan secara signifikan juga mampu mengurangi *adduct* oksidatif DNA dan mengurangi lesi DNA sehingga dapat menunda onset tumor.

Kata Kunci : BRCA2, Oksida Nitrat, Senyawa, Tumorigenesis.

ABSTRACT

Reactive nitrogen species are some compounds derived from nitric oxide whose presence in the body can result in nitro-oxidative stress. Excessive amounts of nitric oxide (NO) can easily trigger the production of RNS which further contributes to the pathophysiological mechanisms of several diseases, one of which is pancreatic cancer. Several studies have shown that reactive nitrogen species are important non-genetic factors in pancreatic tumorigenesis induced by Breast Cancer 2 (BRCA2) deficiency. SNR can prevent or regulate its formation through treatment using antioxidants significantly. In addition to being able to prevent the formation of SNR, the treatment of antioxidants significantly also can reduce the oxidative level of DNA and reduce DNA lesions so that it can delay tumor onset.

Keywords: BRCA2, Compound, Oxide Nitrate, Tumorigenesis.

PENDAHULUAN

Dalam beberapa tahun terakhir, bahasan mengenai radikal bebas dalam ilmu biomedik banyak diminati. Radikal bebas adalah suatu elektron yang tidak berpasangan

seperti spesies oksigen reaktif (SOR), yang menyebabkan stress oksidatif, dan spesies nitrogen reaktif (SNR), yang menyebabkan stress nitrooksidatif. Stres nitrooksidatif sendiri sekarang dianggap sebagai mekanisme yang

lebih berbahaya daripada stres oksidatif. Telah dilakukan peninjauan pada interaksi molekuler RNS dan konsekuensi selulernya bahwa oksida nitrat berperan penting dalam sel hidup. Namun, jika dalam jumlah besar, SNR dapat merusak protein, lipid ataupun karbohidrat dengan perubahan konsekuensi baik di homeostasis intraseluler ataupun antar sel yang mengarah pada kemungkinan kematian dan regenerasi sel sehingga dapat menyebabkan beberapa peradangan sampai kanker (Hardeland, 2014; Federico et al., 2007).

Peradangan kronis berkaitan erat dengan angiogenesis. Angiogenesis merupakan proses alamiah dalam tubuh manusia untuk membentuk pembuluh darah baru, berperan penting dalam proses penyembuhan luka dan reproduksi. Selain itu, angiogenesis juga berperan dalam pertumbuhan dan penyebaran sel kanker. Makrofag, trombosit, fibroblast dan sel tumor sendiri merupakan sumber utama faktor angiogenik seperti faktor pertumbuhan fibroblas dasar, faktor pertumbuhan endotel pembuluh darah, prostaglandin 1 dan 2 selain dari sitokin inflamasi, kemokin dan NO (Zouki et al., 2001). Ada interaksi dan sinergi yang signifikan antara mediator peradangan hingga dapat menyebabkan terjadinya kanker. Sebagai contoh, studi telah menunjukkan bahwa prostaglandin yang berasal dari metabolisme oksidatif asam arakidonat dalam sel peradangan berkontribusi pada perkembangan kanker. Sintesis prostaglandin dapat distimulasi dari peroksinitrit, dimana senyawa ini merupakan radikal bebas dari senyawa NO. Prostaglandin menginduksi ekspresi sitokin inflamasi tertentu,

yang pada gilirannya dapat meningkatkan produksi spesies reaktif salah satunya yaitu spesies reaktif nitrogen. Siklooksigenase-2 (COX-2) adalah enzim utama yang merespons peradangan melalui sintesis prostaglandin dalam monosit dan makrofag. Namun, COX-2 juga diekspresikan dalam sel noninflamasi seperti fibrosa, sel epitel dan endotel. Secara in vitro, ekspresi COX-2 diinduksi oleh produk sel bakteri dan sitokin inflamasi (Howe dan Dannenberg, 2002). COX-2 diketahui terlibat dalam biologi kanker, dan diregulasi dalam banyak jenis kanker termasuk kanker usus besar, payudara, paru-paru, pankreas, kerongkongan, kanker pada kepala dan leher (Lin et al., 2002).

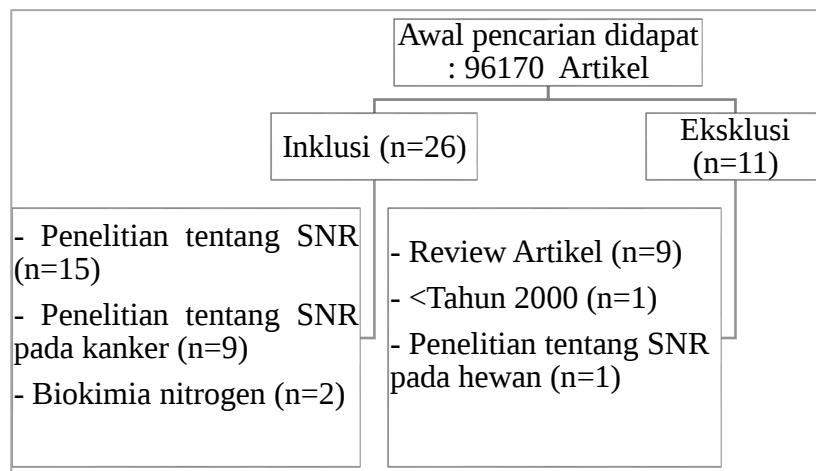
Artikel ini bertujuan untuk membahas SNR dan perannya pada patofisiologi penyakit kanker pankreas serta pencegahan ataupun terapi yang dapat dilakukan agar SNR dapat dihambat pembentukannya sehingga beberapa penyakit seperti kanker pankreas dapat dicegah dan diobati. Dikarenakan RNS mampu menginduksi kerusakan DNA dan ketidakstabilan genom dalam sel pankreas, maka pengobatan dengan antioksidan harus mampu menekan lesi DNA dan tumorigenesis. Terbukti bahwa penggunaan antioksidan dapat menurunkan tingkat nitrit seluler sehingga lebih jauhnya, lesi DNA dan tumorigenesis dapat ditekan.

METODE

Bagan dari pencarian terdapat pada **Gambar 1**. Pencarian artikel dilakukan pada Google, Google Scholar, PubMed dengan detail pencarian "*reactive nitrogen species*"[MeSH Terms] OR ("*reactive*"[All Fields] AND

"nitrogen"[All Fields] AND "species"[All Fields]) OR "reactive nitrogen species"[All Fields] didapat 96170 artikel terkait dan dengan ScopeMed pada bidang apapun dengan kata kunci "Reactive Nitrogen Species". Didapatkan 26 jurnal inklusi dengan kriteria yang membahas tentang spesies nitrogen reaktif,

spesies nitrogen reaktif pada penyakit kanker dan biokimia nitrogen. Dan didapatkan 11 artikel eksklusi dengan kriteria sebelum tahun 2000, merupakan review artikel, SNR yang bukan pada manusia, dan artikel selain Bahasa Indonesia dan Bahasa Inggris.



Gambar 1. Bagan dari Pencarian Sumber Literatur (n = jumlah artikel)

SPEKIES NITROGEN REAKTIF

SNR adalah molekul keluarga antimikroba yang berasal dari oksida nitrat (NO) yang diproduksi melalui aktivitas enzimatis oksida nitrat sintase 2 yang dapat diinduksi (NOS₂) (Fang, 2004). SNR dihasilkan dari metabolisme sel aerob yang normal. Spesies organik reaktif ini diproduksi di organel seperti mitokondria dan mikrosom. Biasanya, spesies nitrogen reaktif bermanfaat karena berhubungan dengan proses seluler seperti ekspresi gen, transduksi sinyal, tonus pembuluh darah, pemantauan ketegangan O₂ dan aktivasi enzim. Pada tingkat tinggi, spesies nitrogen reaktif dapat merusak sel-sel sehingga mereka perlu dilawan dengan berbagai anti-oksidan (Valavanidis *et al.*, 2013).

SNR dibentuk sebagai produk sampingan dari banyak proses seluler endogen,

sebagai respons terhadap infeksi, dan setelah terpapar berbagai faktor lingkungan. Peningkatan SNR dapat menjenuhkan sistem antioksidan dan menyebabkan stres oksidatif. Dikatakan bahwa stres oksidatif tidak cukup untuk menjelaskan kerusakan sel sedangkan antioksidan konvensional kurang bermanfaat dari yang diharapkan, dan bahwa stres nitro-oksidatif sekarang dianggap sebagai mekanisme dasar yang lebih berbahaya daripada stres oksidatif. (Korkmaz dan Manchester, 2011; Valez *et al.*, 2013; Liaudet *et al.*, 2013). Spesies reaktif yang merupakan bagian dari fisiologi normal sering dikaitkan dengan kerusakan oksidatif mitokondria, yang mendasari konsep bahwa stres oksidatif identik dengan disfungsi mitokondria atau sitotoksitas. Lebih lanjut, RNS mampu mengubah respon seluler (Lee dan Zang, 2012).

JENIS-JENIS UTAMA SNR

a. Oksida Nitrat

NO dihasilkan selama pemecahan arginin menjadi sitrullin oleh famili NADPH yang bergantung pada enzim yang disebut *nitric oxide synthase* (Drew dan Leuweunburg, 2002; Bolisetty dan Jaimes, 2013). NO adalah molekul lipofilik tanpa muatan yang mengandung satu elektron tak berpasangan, yang membuatnya menjadi reaktif dengan molekul lain seperti oksigen, radikal superoksida dan *glutathion*. Meskipun NO bukan radikal bebas yang sangat reaktif, ia dapat membentuk zat antara reaktif lainnya, yang memiliki efek pada fungsi protein dan pada fungsi seluruh organisme. Intermediet reaktif ini dapat memicu kerusakan nitrosatif pada biomolekul (Drew dan Leuweunburg, 2002). Oleh karena itu, NO bisa berfungsi sebagai oksidan atau antioksidan. NO adalah neurotransmitter dan pengatur tekanan darah yang dapat menghasilkan oksidan kuat selama keadaan patologis (Salman dan Ashraf, 2013). Overproduksi NO terlibat dalam reperfusi iskemia, penyakit inflamasi neurodegeneratif dan kronis, seperti rheumatoid arthritis dan penyakit radang usus (Salman dan Ashraf, 2013; Lee, Koo, dan Min, 2004).

b. Peroksida Nitrit

NO bereaksi dengan O_2^- berkonstanta laju tinggi untuk

menghasilkan peroksinitrit ($O_2^- + NO \rightarrow OONO^-$) (Barbusiński, 2009), yang dapat terurai secara spontan untuk menghasilkan NO_2 dan radikal hidroksil (OH). Pada pH fisiologis, $ONOO^-$ adalah oksidan yang lebih kuat daripada O_2^- atau NO karena ia dapat mengoksidasi lipid, protein, asam amino nitration dan DNA (Ozscan dan Ogun, 2015). Peroxynitrite bersifat sitotoksik yang dapat menyebabkan cedera jaringan dan mengoksidasi lipoprotein densitas rendah. Pentingnya $ONOO^-$ sebagai oksidan biologis berasal dari difusibilitasnya yang tinggi melintasi membran sel. $ONOO^-$ tampaknya merupakan spesies perusak jaringan penting yang dihasilkan di lokasi peradangan dan telah terbukti terlibat dalam berbagai gangguan neurodegeneratif dan beberapa penyakit ginjal. Molekul ini dapat menyebabkan oksidasi protein langsung dan oksidasi basa DNA dan modifikasi yang bertindak sebagai oksidan "mirip radikal hidroksil". Nitrotyrosine, yang dapat dibentuk dari reaksi yang dimediasi peroksinitrit dengan asam amino telah ditemukan dalam jaringan yang berhubungan dengan usia (Lee, Koo, dan Min, 2004). Peroksinitrit sebagai biomarker potensial kanker terkait peradangan dan produk yang dibentuk oleh reaksi antara anion NO radikal dan superoksida dapat menyebabkan kerusakan DNA dengan menghasilkan

8-nitroguanin. Dengan demikian, produk kerusakan DNA oksidatif dan nitrosatif telah terlibat dalam inisiasi karsinogenesis yang digerakkan oleh peradangan (Salman dan Ashraf, 2013).

c. Nitrogen Dioksida

Nitrogen dioksida (NO_2) terbentuk dari reaksi radikal peroksil dan NO. NO_2 memulai peroksidasi lipid untuk produksi radikal bebas dan juga mengoksidasi asam askorbat (Lee, Koo dan Min, 2004). NO_2 merupakan produk dekomposisi utama dari NO dan oksidan yang sangat reaktif, mampu mengoksidasi tirosin menjadi 3-nitrotyrosine. Selain itu, NO_2 adalah substrat untuk peroksidase mamalia dan laktoperoksidase yang membentuk NO_2 melalui oksidasi NO yang dikatalisis peroksidase. Hal ini memberikan jalur tambahan yang berkontribusi terhadap sitotoksitas atau pertahanan inang terkait dengan peningkatan produksi NO dan jalur alternatif untuk pembentukan 3-nitrotyrosine (Drew dan Leeuwenburg, 2002).

PERAN SNR PADA KANKER PANKREAS

Studi menunjukkan bahwa stres oksidatif berkontribusi terhadap patogenesis berbagai penyakit karena dapat menghasilkan kekacauan metabolisme, kerusakan protein, lipid, karbohidrat dan lipid membran serta kerusakan pada DNA, RNA dan mtDNA yang semuanya terlibat dalam patogenesis penyakit (Lambeth, 2004; Ottaviano, 2008). Peningkatan

kadar SNR dapat menyebabkan stres nitro-oksidatif (Schieber dan Chandel, 2014). Contohnya, sebagai hasil dari respon inflamasi terhadap patogen, SNR diproduksi oleh nitrat oksida sintase, yang mengarah ke stres nitro/oksidatif (Liaudet, Vassalli dan Pacher, 2009). Peradangan dan stres nitro/oksidatif merupakan ciri khas dari kanker, yang merupakan penyakit ketidakstabilan genom (Federico *et al.*, 2007). Secara khusus, peradangan berkorelasi dengan perkembangan kanker dan telah terbukti meningkatkan kejadian kanker, berkontribusi terhadap 25% kasus kanker (Eiro dan Vizoso, 2012).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa SNR adalah faktor non genetik penting untuk tumorigenesis pankreas yang diinduksi defisiensi-BRCA2. SNR kemungkinan dihasilkan oleh sel asinar pankreas, makrofag, dan neutrofil. Sel asinar secara unik mengeluarkan sejumlah besar ion bikarbonat (HCO_3^-) ke dalam saluran pankreas, yang melindungi sel-sel di sekitarnya dari asam chyme (Li *et al.*, 2017).

NO dan O_2^- bersifat tidak stabil dan bereaksi satu sama lain menghasilkan peroxynitrite (ONOO^-) di lokasi peradangan (Lim, Dedon dan Deen, 2008). ONOO^- dapat bereaksi dengan HCO_3^- dari sel asinar pankreas untuk menghasilkan nitrosoperoksikarbonat (ONOOCO_2^-), spesies nitrogen reaktif utama (SNR) untuk membentuk radikal karbonat (CO_3^-) dan nitrit (NO_2^-). Baik CO_3^- dan NO_2^- merupakan radikal bebas dan sangat berbahaya terhadap integritas DNA genomik. Di antara empat basis DNA yang berbeda, deoksiganin (dG) memiliki potensi reduksi paling kecil

(Geacintov dan Broide, 2010) yang membuatnya menjadi basa yang paling mudah teroksidasi oleh CO_3^- dan NO_2^- . Selanjutnya, sejumlah lesi kecil yang dihasilkan dapat menginduksi DNA Single Strand Break atau DSB (Maynard et al., 2009). Dengan tidak adanya perbaikan DSB seperti rekombinasi homolog yang tergantung pada BRCA2, lesi ini pada akhirnya akan menyebabkan ketidakstabilan genom pada pankreas dan kemudian menginduksi tumorigenesis pankreas.

Dalam studi Li Mo et al (2017), dilakukan pendekatan kemoprevensi yang layak untuk kanker pankreas. Jika RNS menginduksi kerusakan DNA dan ketidakstabilan genom dalam sel pankreas, pengobatan dengan antioksidan harus mampu menekan lesi DNA dan tumorigenesis. Perawatan antioksidan secara signifikan dapat mengurangi RNS, *adduct* oksidatif DNA, dan lesi DNA. Lebih penting lagi, perawatan antioksidan secara signifikan dapat menunda onset tumor. Strategi kemoprevensi ini adalah salah satu pendekatan yang paling efektif untuk memperpanjang umur dalam model kanker pankreas yang diuji coba pada tikus. Pengujian dilakukan dengan menggunakan sel asinar pankreas primer dari tikus dengan 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-N-oxyl, suatu membran permeabel pengambil radikal bebas. Hasilnya, senyawa diatas mampu menurunkan tingkat nitrit seluler secara signifikan, efek ini juga bergantung dengan dosisnya yaitu semakin tinggi dosis yang dipakai maka penekanan DSB juga semakin kuat.

SIMPULAN

SNR merupakan radikal bebas yang dapat menyebabkan stress nitrooksidatif dan dianggap lebih berbahaya dibandingkan dengan stress oksidatif. Senyawa ini dalam jumlah berlebih dapat menyebabkan berbagai kerusakan dengan membentuk senyawa CO_3^- dan NO_2^- yang mengoksidasi deoksiganin pada DNA sehingga menyebabkan lesi. Lebih jauh, lesi ini dapat menginduksi tumorigenesis pankreas. SNR dapat dicegah atau dikurangi pembentukannya melalui perawatan menggunakan antioksidan secara signifikan. Selain mampu mencegah pembentukan SNR, perawatan antioksidan secara signifikan juga mampu mengurangi *adduct* oksidatif DNA dan mengurangi lesi DNA sehingga dapat menunda onset tumor.

PUSTAKA

- Barbusiński, K. 2009. Fenton reaction controversy concerning the chemistry. *Ecological Chemistry and Engineering Science* 16(3): 309–314.
- Bolisetty, S., dan Jaimes, EA. 2013. Mitochondria and reactive oxygen species: physiology and pathophysiology. *International Journal of Molecular Science* 14: 6306–6344.
- Drew, B., dan Leeuwenburgh, C. 2002. Aging and the role of reactive nitrogen species. *Annals of the New York Academy Science* 959: 66–81.
- Eiro, N., dan Vizoso, F. J. 2012. Inflammation and cancer. *World J Gastrointest Surg*, 4 62-72.
- Fang, F. C. 2004. Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: concepts and controversies. *Nat. Microbiol.* 2:820–832
- Federico, A., et al. 2007. Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *Int J Cancer* 121 2381-2386.

- Geacintov, NE., dan Broyde S, eds. 2010. *The Chemical Biology of DNA Damage*. WileyVCH, Weinheim. Germany pp 7–12.
- Hardeland R. 2011. Melatonin and its metabolites as antinitrosating and antinitrating agents. *J Exp Integr Med* 1:67-81
- Howe, LR., dan Dannenberg, AJ. 2002. A role for cyclooxygenase-2 inhibitors in the prevention and treatment of cancer. *Semin Oncol* 29:111–19.
- Korkmaz, A., dan Manchester, LC. 2011. Reactive nitrogen species; devastating intracellular players and melatonin as a defender. *J Exp Integr Med* 1:63-5.
- Lambeth, DJ. 2004. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nat* 4:181-9.
- Lee J., N Koo., dan DB Min. 2004. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 3:21–33.
- Lee, J., Giordano, S dan Zhang, J. 2012. Autophagy mitochondria and oxidative stress: cross-talk and redox signalling. *Biochem J* 441:523-40.
- Li, Mo., et al. 2017. Targeting Reactive Nitrogen Species Suppresses Hereditary Pancreas Cancer. *PNAS*. Vol 114 No 27 7106–7111
- Liaudet, L., Rosenblatt-Velin., dan N. Pacher, P. 2013. Role of peroxynitrite in the cardiovascular dysfunction of septic shock. *Curr Vasc Pharmacol* 11:196-207.
- Liaudet, L., Vassalli, G., dan Pacher, P. 2009. Role of peroxynitrite in the redox regulation of cell signal transduction pathways, *Front Biosci* (Landmark Ed), 14 4809-4814.
- Lim, CH., Dedon, PC., dan Deen, WM. 2008. Kinetic analysis of intracellular concentrations of reactive nitrogen species. *Chem Res Toxicol* 21:2134–2147.
- Lin, DT., et al. 2002. Cyclooxygenase-2: a novel molecular target for the prevention and treatment of head and neck cancer. *Head Neck* 24:792–9.
- Maynard, S., et al. 2009. Base excision repair of oxidative DNA damage and association with cancer and aging. *Carcinogenesis* 30:2–10.
- Ottaviano, FG., Handy, DE., dan Loscalzo, J. 2008. Redox regulation in the extracellular environment. *Cir J*. 72(1):1-16.
- Ozcan, A dan Ogun, M. 2015. Biochemistry of Reactive Oxygen and Nitrogen Species. *Biochem*
- Salman, KA., dan Ashraf, S. 2013. Reactive oxygen species: A link between chronic inflammation and cancer. *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*. 21(2): 42-49.
- Schieber, M., dan Chandel, N. S. 2014. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol* 24 R453-462.
- Valavanidis, A., et al. 2013. Pulmonary oxidative stress, inflammation and cancer: respirable particulate matter, fibrous dusts and ozone as major causes of lung carcinogenesis through reactive oxygen species mechanisms. *Intern J Environ Res Pub Health*. 10(9):3886-907.
- Valez, V., et al. 2013. Peroxynitrite formation in nitric oxide-exposed submitochondrial particles: detection, oxidative damage and catalytic removal by Mn-porphyrins. *Arch Biochem Biophys* 529:45-54.
- Zouki, C., et al. 2001. Peroxynitrite mediates cytokine-induced IL-8 gene expression and production by human leukocytes. *J Leukoc Biol* 69:815–24.