

POTENSI BIOMARKA METILASI *CELL-FREE* DNA SEBAGAI MODALITAS DETEKSI DINI KANKER PARU

Muhammad Yusuf,¹ Nasim Amar¹, Shintya Octaviana Baliulina¹

¹Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang

ABSTRAK

Korespondensi:

Muhammad Yusuf

Email author:

muhyusuf31301@student.ub.ac.id

Riwayat Artikel

Diterima: 11 April 2021
Selesai revisi: 10 Juni 2021

DOI :

10.53366/jimki.v9i1.369

Pendahuluan: Kanker paru masih menjadi penyebab utama kematian akibat kanker. Metode skrining terkini masih memiliki banyak kekurangan dalam mendiagnosis kanker paru, sehingga dibutuhkan metode skrining yang lebih cermat dan aplikatif dalam mendiagnosis individu dengan kanker paru. Salah satu metode skrining yang berpotensi membantu penegakkan diagnosis kanker paru adalah metilasi DNA yang diduga memiliki keunggulan sebagai biomarka pada kanker paru.

Metode: Pencarian dan seleksi jurnal sesuai kriteria inklusi melalui *database* PubMed, ScienceDirect, dan Cochrane Library. Ditemukan sejumlah 13 studi yang memenuhi kriteria inklusi.

Pembahasan: Metilasi DNA terjadi pada fase awal perkembangan kanker dan bersifat spesifik pada jenis tumor yang berbeda. Pada kanker paru, regulasi DNA metiltransferase (DNMT) dan enzim *ten-eleven translocation* (TET) mengalami disrupsi sehingga terjadi inaktivasi *tumor suppressor gene* dan perkembangan kanker. Secara keseluruhan, metilasi DNA pada gen HOXD10 / PAX9 / PTPRN2 / STAG3, SHOX2 / PTGER4 / FOXL2, SOX17 / TAC1 / HOXA7 / CDO1 / HOXA9 / ZFP42, dan CDO1 / SOX17 / HOXA7 memiliki sensitivitas hingga >90%. Beberapa panel metilasi DNA lainnya seperti DCC, TMEM196, SHOX2 / PTGER4, dan CDO1 / SOX17 / HOXA7 memiliki spesifisitas yang tinggi hingga 90-100%. Selain itu, nilai AUC menunjukkan angka diatas 0,80 pada mayoritas studi. Metilasi DNA sebagai penunjang metode skrining dapat meningkatkan efektivitas deteksi dini dan dapat menurunkan tingkat *false positive*.

Simpulan: Biomarka metilasi DNA efektif sebagai metode deteksi dini kanker paru.

Kata Kunci: Kanker Paru, Metilasi DNA, Deteksi Dini, Serum, Plasma

THE POTENTIAL OF CELL-FREE DNA METHYLATION BIOMARKER AS AN EARLY DETECTION FOR LUNG CANCER

ABSTRACT

Background: Lung cancer is still the leading cause of cancer deaths. Current screening methods still have many limitations in diagnosing lung cancer, thus a more precise and applicable screening method is needed in diagnosing individuals with lung cancer. One of the screening methods that has the potential to help diagnose lung cancer is DNA methylation which is thought to have an advantage as a biomarker in lung cancer.

Method: This literature review was conducted by including validated studies extracted through PubMed, ScienceDirect, and Cochrane Library databases. A total of 13 studies fulfilled the inclusion criteria.

Discussion: DNA methylation could occur in the early stages of cancer development and was specific to different tumor types. In lung cancer, DNA methyltransferase (DNMT) regulation and ten-eleven translocation (TET) enzymes were disrupted resulting in tumor suppressor gene inactivation and cancer development. Overall, DNA methylation in the genes HOXD10 / PAX9 / PTPRN2 / STAG3, SHOX2 / PTGER4 / FOXL2, SOX17 / TAC1 / HOXA7 / CDO1 / HOXA9 / ZFP42, and CDO1 / SOX17 / HOXA7 had a sensitivity above 90%. Several other DNA methylation panels such as DCC, TMEM196, SHOX2 / PTGER4, and CDO1 / SOX17 / HOXA7 had a high specificity of up to 90-100%. AUC scores were above 0.80 in the majority of studies. DNA methylation as a support for screening methods could increase the effectiveness of early detection and reduce the rate of false positives.

Conclusion: DNA methylation biomarker is an effective method for an early detection of lung cancer.

Keywords: Lung Cancer, DNA Methylation, Early Detection, Serum, Plasma

1. PENDAHULUAN

Kanker paru merupakan penyebab utama kematian akibat kanker. Diperkirakan terdapat 1,8 juta kematian akibat kanker paru (18% dari seluruh kematian akibat kanker) di dunia.^[1] Di Indonesia, kanker paru masih menempati peringkat pertama sebagai penyebab kematian akibat kanker dengan persentase sebesar 13,2%. Berdasarkan data terkini dari Globocan 2020, sejumlah 30.843 orang di Indonesia meninggal karena kanker paru.^[1]

Selain beban mortalitas yang tinggi, kanker paru turut memberikan dampak pada peningkatan beban ekonomi yang signifikan. Di Eropa, biaya pengobatan kanker paru mencapai angka 1,8 miliar euro atau sekitar 323 triliun rupiah, merepresentasikan 15% dari total biaya pengobatan kanker.^[2] Berdasarkan studi *ASEAN Costs in Oncology*, lebih dari 75% pasien di negara-negara ASEAN yang terdiagnosis kanker mengalami kematian atau kerugian finansial 12 bulan setelah diagnosis.^[3]

Kanker paru adalah tumor ganas (karsinoma) akibat pertumbuhan sel yang tidak terkendali di paru-paru. Terdapat dua klasifikasi kanker paru yaitu *small-cell lung carcinoma* (SCLC) and *non-small-cell lung carcinoma* (NSCLC). Sekitar 80-85% kanker paru adalah tipe NSCLC. Subtipe utama NSCLC adalah adenokarsinoma, karsinoma sel skuamosa, dan karsinoma sel besar.^[4] Gejala umum pada saat munculnya kanker paru termasuk batuk, dispnea, kelelahan, nyeri dada, demam, hemoptisis dan penurunan berat badan.^[5]

Terjadinya kanker paru bermula dari aktivasi onkogen atau inaktivasi gen penekan tumor akibat mutasi pada gen tersebut yang diakibatkan oleh karsinogen.^[6,7] Faktor risiko kanker paru meliputi kebiasaan merokok ataupun paparan asap rokok, usia ≥ 50 tahun, riwayat kanker paru dalam keluarga, paparan terhadap radiasi dan bahan-bahan karsinogenik, serta riwayat penyakit paru seperti PPOK atau fibrosis paru.^[8] Dari sekian banyak faktor risiko, penyebab utama terjadinya kanker paru adalah kebiasaan merokok. Di

Indonesia sendiri, hampir 29% penduduk berusia ≥ 15 tahun adalah perokok.^[9] Hal ini menunjukkan tingginya risiko terjadi kanker paru di Indonesia.

Tingkat kelangsungan hidup lima tahun (*5-year survival rate*) kanker paru lebih rendah dibandingkan jenis-jenis kanker di lokasi lain, yaitu 18,6% persen. Salah satu tantangan yang berdampak pada rendahnya tingkat kelangsungan hidup kanker paru adalah penundaan penegakan diagnosis, sedangkan untuk kasus yang dapat terdeteksi dini saat penyakit masih terlokalisir, tingkat kelangsungan hidup lima tahunnya meningkat hingga 56%. Pada kenyataannya hanya 16% kasus kanker paru yang terdiagnosis pada stadium awal.^[10] Selain itu, biasanya penegakan diagnosis baru dilakukan dalam keadaan darurat, padahal pasien yang didiagnosis pada keadaan darurat memiliki risiko lebih dari lima kali lipat untuk meninggal dalam satu tahun setelah diagnosis dibandingkan pasien yang dirujuk untuk perawatan oleh dokter umum sebelumnya.^[11] Gejala-gejala kanker paru yang tumpang tindih dengan kondisi pernapasan kronis lainnya seperti penyakit paru obstruktif kronik (PPOK) turut berkontribusi pada keterlambatan dalam diagnosis kanker paru.^[12]

Tatalaksana diagnosis terkini sesuai rekomendasi *National Lung Screening Trial* (NLST) adalah dengan menggunakan LDCT (*low dose CT Scan*). Metode skrining ini masih memiliki kelemahan karena didasarkan pada gambaran volume atau ukuran nodul paru-paru saja, sehingga berpeluang besar terjadinya *false-positive rate*.^[13] Selain itu, LDCT diketahui masih membutuhkan biomarka untuk mendukung hasil penilaian risiko *pre* dan *post-test*.^[14] Permasalahan lain yang timbul adalah skrining kanker paru dengan CT Scan tidak direkomendasikan pada individu dengan usia kurang dari 55 tahun dan terdapat komorbiditas yang parah serta dengan riwayat merokok kurang dari 30 bungkus setiap tahunnya. Dapat disimpulkan bahwa dibutuhkan suatu metode lain yang lebih aplikatif dalam mendiagnosis individu dengan kanker paru-paru.^[15]

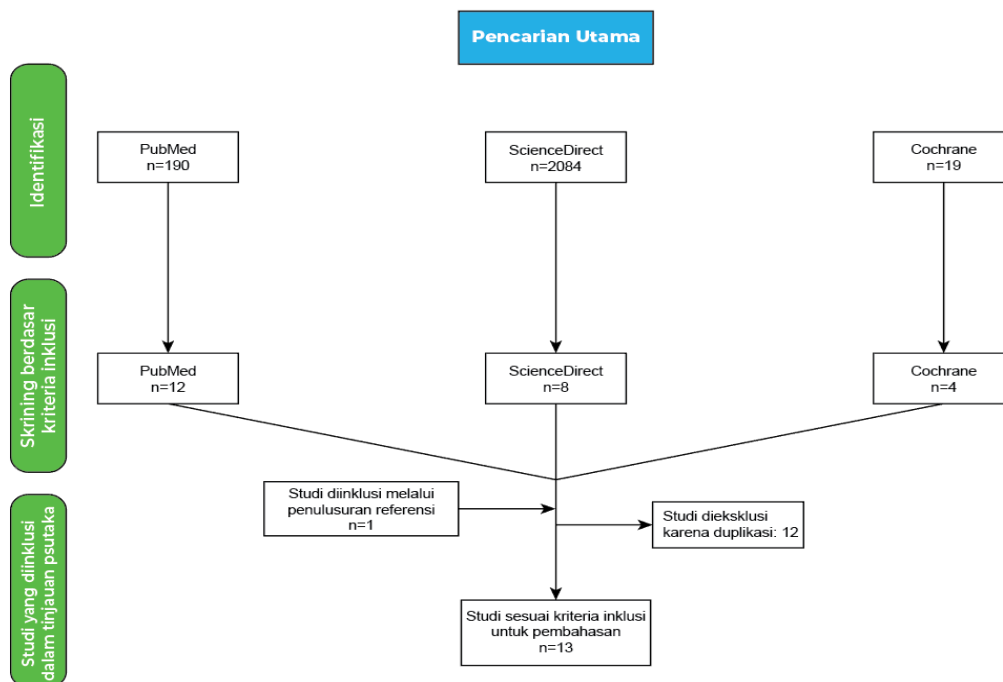
Studi terdahulu oleh Vera *et al* menunjukkan bahwa biomarka dapat digunakan sebagai metode deteksi dini kanker paru yang dinilai efektif.^[16] Terdapat beberapa biomarka yang digunakan dalam mendeteksi kanker pada paru-paru diantaranya autoantibodi, fragmen komplemen, dan *ctDNA*, namun studi oleh Seijo *et al* menunjukkan bahwa biomarka yang telah disebutkan sebelumnya masih kurang efektif dikarenakan sensitivitasnya yang rendah.^[13] Penelitian terkini oleh Kneip *et al* tengah berfokus pada metilasi DNA yang diduga memiliki keunggulan sebagai biomarka pada kanker paru-paru dibandingkan biomarka lainnya.^[17]

Metilasi DNA didefinisikan sebagai kondisi terjadinya hipometilasi global DNA yang bersamaan dengan hipermetilasi spesifik *CpG islands* pada daerah *promoter* gen penekan tumor. Kondisi metilasi DNA ini mengakibatkan supresi dari ekspresi gen penekan tumor yang pada akhirnya akan mampu berkembang menjadi *carcinogenesis* atau pertumbuhan dari sel tumor.^[13] Tes metilasi DNA dapat dilakukan menggunakan sampel berupa sputum, *bronchoalveolar lavage*, hingga serum dan plasma.^[18] Pemeriksaan metilasi DNA serum dan plasma menawarkan modalitas pemeriksaan kanker paru yang minim invasif dan memiliki kemampuan diagnosis yang memuaskan. Saat ini belum didapatkan tinjauan yang komprehensif mengenai

efektivitas tes metilasi DNA dan perannya dalam deteksi dini kanker paru. Maka dari itu, penulis memiliki sebuah inisiasi untuk melakukan tinjauan pustaka mengenai efektivitas metilasi DNA sebagai biomarka deteksi dini kanker paru. Tujuan dari penulisan tinjauan pustaka ini adalah untuk menganalisis efektivitas metilasi DNA sebagai biomarka deteksi dini kanker paru.

2. METODE

Tinjauan pustaka dilakukan dengan mencari jurnal sesuai kriteria inklusi melalui *database* PubMed, ScienceDirect, dan Cochrane Library. Kata kunci dalam pencarian jurnal adalah “DNA Methylation”, “Lung Cancer”, dan “Serum” atau “Plasma”. Kriteria inklusi jurnal adalah 1) rentang publikasi 2011-2021, 2) desain studi *randomized-controlled trials*, *cross-sectional*, *case-control*, atau *cohort*, dan 3) membahas mengenai efektivitas metilasi DNA sebagai biomarka deteksi kanker paru. Didapatkan sejumlah 2308 jurnal pada tahap identifikasi lalu diseleksi sebanyak 42 jurnal dengan judul penelitian sesuai kriteria kemudian dihilangkan duplikasinya sehingga tersisa 20 jurnal. Melalui seleksi abstrak dan *full-text*, tersisa 12 jurnal yang memenuhi kriteria inklusi. Penelusuran daftar referensi menghasilkan tambahan satu jurnal yang sesuai kriteria inklusi. Total sejumlah 13 jurnal diikutsertakan dalam tinjauan pustaka (Gambar 1).



Gambar 1. Bagan Alur Pencarian Jurnal.

3. PEMBAHASAN

Melalui penelusuran, ditemukan sebanyak 13 studi memenuhi kriteria pencarian dengan cakupan sampel sejumlah 2133 pasien (Tabel 1). Penelitian-penelitian tersebut dilakukan di berbagai latar tempat seperti Cina, Eropa dan Amerika. Secara umum, studi memiliki desain *case-control* dengan tahap *training set* dan *validation set*.

Sampel yang digunakan sebagai bahan analisis berupa serum (n=4) maupun plasma (n=9). Penggunaan sampel plasma mampu menurunkan jumlah DNA limfosit yang dapat mempengaruhi analisis.^[19] Plasma sampel diberi perlakuan konversi bisulfit dan purifikasi sebelum dilakukan analisis.^[14,17,18,20–23] Beberapa studi melakukan proses ini menggunakan pendekatan *methylation on beads* (MOB) menggunakan *silica super magnetic beads* yang memudahkan proses ekstraksi maupun konversi bisulfit dalam satu tabung serta meningkatkan efisiensi ekstraksi DNA.^[19,24,25]

Analisis metilasi DNA di serum atau plasma dilakukan menggunakan metode *quantitative methylation-specific PCR* (qMSP)^[17–19,24,25] atau *methylation-*

specific PCR (MSP).^[14,18,20–23] Studi oleh Wielscher melakukan pengayaan sampel serum menggunakan *multiplexed methyl-sensitive restriction enzyme* (MSRE) untuk meningkatkan stabilitas dan kemampuan amplifikasi dari sampel lalu dianalisis menggunakan qMSP.^[26] Gaga *et al* menggunakan reagen khusus beserta enzim sensitif metilasi yang dikembangkan oleh *Lung EpiCheck* lalu dilanjutkan dengan MSP. Hasilnya dianalisis menggunakan *software Lung EpiCheck* yang menghasilkan skor numerik *EpiScore* 1-100.^[27] Studi lainnya oleh Zang *et al* juga mengukur kadar IDH1 plasma menggunakan metode ELISA.^[20] Pengukuran IDH1 ini dilakukan mempertimbangkan perannya dalam perkembangan NSCLC, khususnya adenokarsinoma.^[20]

Tabel 1. Ringkasan Hasil Studi.^[14,17-28]

No.	Penulis dan Tahun	Kasus/Kontrol (n)	Gen marka	Sensitivitas (%)	Spesifisitas (%)	PPV (%)	NPV (%)	AUC (95% CI)
1	Kneip <i>et al</i> , 2011	188/155	SHOX2	59,57	89,68	87,5	64,65	0,78 (0,74–0,84)
2	Begum <i>et al</i> , 2011	76/30	DCC	35,5	100	100	37,97	-
			APC/CDH1/MG MT/RASSF1A/ AIM1	75	73	-	-	-
3	Wielscher <i>et al</i> , 2015	23/23	HOXD10/PAX9 /PTPRN2/STA G3	95,65	56,52	68,75	92,86	0,85 (0,72–0,95)
4	Weiss <i>et al</i> , 2016	117/122	SHOX2/PTGE R4/FOXL2	90	67	-	-	0,88
5	Hulbert <i>et al</i> , 2017	150/60	SOX17/TAC1/ HOXA7/CDO1/ HOXA9/ZFP42	93	62	86	78	0,77 (0,68–0,86)
6	Ooki <i>et al</i> , 2017	83/42	CDO1/HOXA9/ AJAP1/PTGDR /UNCX/MARC H11	72,10	71,40	73,07	70,42	-
7	Zang <i>et al</i> , 2019	35/16	SHOX2/PTGE R4 + IDH1	80	87,5	93,3	66,7	0,905 (0,790–0,969)
8	Liang <i>et al</i> , 2019	37/21	9-gen panel	89,2	81,0	89,19	80,95	0,816 (0,703–0,929)
9	Liu <i>et al</i> , 2019	127/50	TMEM196	52,8	100	100	48,83	0,911 (0,889–0,934)
10	Liu <i>et al</i> , 2020	74/24	CDO1/TAC1/H OXA7/HOXA9/ SOX17/ZFP42 (minimal 3 positif)	88	60	87	63	0,68 (0,56–0,80)
11	Huang <i>et al</i> , 2020	104/36	SHOX2/PTGE R4	78,5	90,9	86,4	78,3	0,849 (0,8476–0,951)
12	Chen <i>et al</i> , 2020	163/83	CDO1/SOX17/ HOXA7			Ukuran tumor 2.1-3 cm		
				91	90	96	81	0,95 (0,90–1,00)

	CDO1/SOX17/ HOXA7	Ukuran tumor 1.1-2 cm				0,92 (0,87– 0,96)		
		74	93	96	63			
	CDO1/SOX17/ TAC1	Ukuran tumor 0.1-1 cm				0,81 (0,69– 0,93)		
		71	82	83	69			
13	Gaga <i>et al</i> , 2021	179/137 (Eropa) 30/15 (Cina)	6-gen panel	Eropa LCO: 87,2 HCO: 74,3 Cina LCO: 76,7 HCO: 56,7	Eropa LCO: 64,2 HCO: 90,5 Cina LCO: 93,3 HCO: 100	Eropa LCO: 76,1 HCO: 91,1 Cina LCO: 95,83 HCO: 100	Eropa LCO: 79,28 HCO: 72,94 Cina LCO: 66,67 HCO: 53,58	Eropa: 0,882 (0,846–0,918) Cina: 0,899 (0,809–0,989)

AUC, *area under the curve*. HCO, *high cut-off*. LCO, *low cut-off*. NPV, *negative predictive value*.
PPV, *positive predictive value*.

Luaran utama yang dianalisis dari jurnal-jurnal terinklusi meliputi gen yang dijadikan marka serta sensitivitas dan spesifisitas dari uji metilasi DNA untuk membedakan antara keganasan dengan selain keganasan. Selain itu, luaran sekunder berupa *area under the curve* (AUC) dari kurva analisis *receiver operating characteristics* (ROC), nilai prediktif positif, dan nilai prediktif negatif juga dilaporkan. Secara umum, seluruh studi telah melaporkan nilai sensitivitas dan spesifisitas dari uji metilasi DNA. Studi oleh Gaga dan koleganya tidak merincikan panel 6-gen yang dijadikan marka uji metilasi DNA milik *Lung EpiCheck*. Selain itu, terdapat beberapa studi oleh Ooki *et al*, Begum *et al*, dan Weiss *et al* yang tidak melaporkan analisis ROC, nilai prediktif positif, dan nilai prediktif negatif.

Studi-studi mengenai uji metilasi DNA sebagai alat diagnosis kanker paru menggunakan berbagai gen marka dirangkum pada Tabel 1. Pada tabel tersebut, telah dilaporkan luaran-luaran pada setiap studi dengan mengutamakan hasil dari tahap *validation set*. Sensitivitas, spesifisitas, dan AUC dari masing-masing panel gen tersebut bervariasi. Di antaranya,

terdapat yang mencapai sensitivitas di atas 90% seperti panel kombinasi HOXD10 / PAX9 / PTPRN2 / STAG3, SHOX2 / PTGER4 / FOXL2, SOX17 / TAC1 / HOXA7 / CDO1 / HOXA9 / ZFP42, dan CDO1 / SOX17 / HOXA7. Beberapa panel lainnya mampu mencapai spesifisitas di atas 90% seperti panel SHOX2 / PTGER4, panel CDO1 / SOX17 / HOXA7, dan panel CDO1 / SOX17 / HOXA7. Menariknya, panel metilasi gen DCC dan gen TMEM196 serta panel 6-gen *Lung EpiCheck* memiliki tingkat spesifisitas 100%.^[21,28] Keseluruhan studi menunjukkan nilai AUC yang baik (di atas 0,8) dari masing-masing panel gen termetilasi kecuali beberapa studi sebagaimana pada Tabel 1.^[29]

3.1. HUBUNGAN METILASI DNA DENGAN KANKER PARU

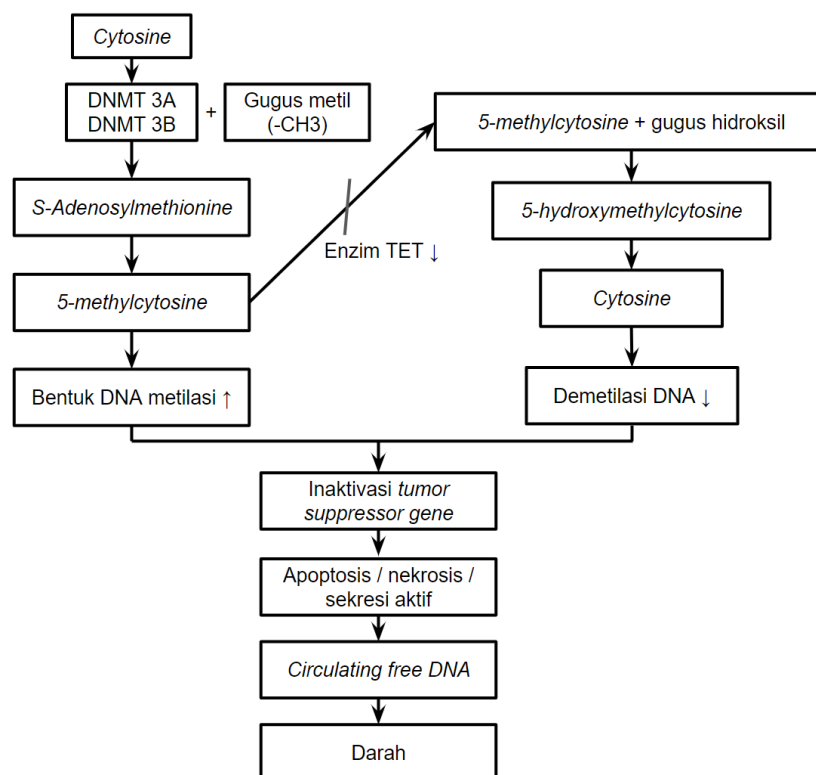
Metilasi DNA adalah kondisi terjadinya hipometilasi global DNA yang bersamaan dengan hipermetilasi spesifik CpG *islands* pada daerah promoter *tumor suppressor genes*. Aktivitas metilasi DNA dibawa oleh DNA metiltransferase (DNMT) yang memiliki 3 jenis utama yaitu DNMT1, DNMT3A,

dan DNMT3B. Pada sel embrionik, nukleosom oleh DNMT3A dan DNMT3B berperan dalam *de novo Methylation* sehingga terjadi diferensiasi sel embrionik menjadi sel spesifik yang aktif. Setiap sel memiliki pola metilasi DNA yang berbeda dan spesifik. Pada sel dewasa normal CpG site (*Cytosine, phosphate, Guanine*) umumnya terjadi *unmethylation* kecuali pada regio promoter CpG *island* yang berperan dalam regulasi transkripsi gen.^[16]

Mekanisme awal terjadinya metilasi DNA diinduksi oleh *cytosine* yang merupakan salah satu nukleotida dari CpG site. Pada *cytosine*, DNMT3A dan DNMT3B bertanggung jawab dalam metilasi DNA pada awal perkembangannya. DNMT yang terikat dengan molekul grup metil disebut *S-adenosylmethionine* (SAM) dapat mengubah struktur kimia dari *cytosine* menjadi *5-Methylcytosine* yang

merupakan bentuk dari metilasi DNA.^[30] Aktivitas ini berkebalikan dengan enzim *ten eleven translocation* (TET) pada manusia. Enzim TET berperan dalam mengatur pola dari metilasi DNA melalui perannya dalam menempatkan hidroksil grup yang menyebabkan *5-methylcytosine* berubah menjadi *5-hydroxymethylcytosine* dan mengalami transformasi menjadi *cytosine* yang merupakan bentuk nukleotida awal dari CpG site. Hal ini menunjukkan bahwa TET berperan dalam demetilasi DNA.

Pada kanker paru, regulasi dari DNMT dan TET mengalami gangguan. Hal ini mengakibatkan regio CpG *island* mengalami hipermetilasi DNA yang berujung pada inaktivasi *tumor suppressor gene*. Selain itu, gangguan ini juga berdampak pada hipometilasi gen promoter sehingga terjadi aktivasi onkogenesis (Gambar 2).^[30]



Gambar 2. Hubungan Mekanisme Metilasi DNA dan Kanker Paru^[16,30]

Menariknya, metilasi DNA terjadi di fase sangat awal pada perkembangan kanker dan bersifat spesifik pada jenis tumor yang berbeda. Metilasi DNA dapat dilepaskan di darah

dalam bentuk *circulating free DNA* baik melalui apoptosis, nekrosis, ataupun sekresi aktif. Dalam pendeteksiannya, metilasi DNA berbasis *liquid biopsy* dapat menjadi tes ideal yang cepat,

reliabel, dan *cost-effective* serta minimal invasif.^[16]

3.2. EFEKTIVITAS METILASI DNA SEBAGAI METODE DETEKSI DINI KANKER PARU

Biomarka metilasi DNA menunjukkan efektivitas yang tinggi dalam mendeteksi kanker paru. Studi terdahulu oleh Kneip *et al* menggunakan marka metilasi gen SHOX2 menunjukkan sensitivitas 59,57% dan spesifisitas 89,68% serta AUC 0,78.^[17] Selain itu, terdapat beberapa kombinasi metilasi gen SHOX2 seperti SHOX2 / PTGER4, SHOX2 / PTGER4 bersama enzim IDH1, dan SHOX2 / PTGER4 / FOXL2. Masing-masing panel menunjukkan peningkatan sensitivitas maupun spesifisitas hingga di atas 90% serta peningkatan nilai AUC.^[14,20,22]

Beberapa panel metilasi DNA yang lain juga menunjukkan efektivitas yang baik diskriminasi antara kanker paru dan non-kanker. Di antara panel dengan sensitivitas yang tinggi adalah panel HOXD10 / PAX9 / PTPRN2 / STAG3 dengan sensitivitas sebesar 95,65%. Dari keempat gen tersebut, PAX9 dan PTPRN2 memiliki spesifisitas yang tinggi terhadap kanker paru, sedangkan HOXD10 dan STAG3 diketahui mampu membedakan antara kanker paru, penyakit paru obstruktif kronis (PPOK), dan penyakit paru interstitial dengan orang sehat.^[26] Studi oleh Weiss *et al* juga menunjukkan efektivitas panel SOX17 / TAC1 / HOXA7 / CDO1 / HOXA9 / ZFP42 dengan sensitivitas senilai 93%. Sensitivitas deteksi metilasi DNA diketahui tidak dipengaruhi secara signifikan oleh besar nodul paru, bahkan banyak sampel positif metilasi DNA dengan nodul paru berukuran <2 cm.^[14] Studi terkini oleh Chen *et al* melaporkan efektivitas panel kombinasi 3 gen dan kaitannya dengan ukuran tumor paru. Panel CDO1 / SOX17 / HOXA7 memiliki sensitivitas 91% dan spesifisitas 93% pada sampel dengan ukuran tumor 2,1-3 cm, sedangkan pada sampel dengan ukuran tumor 1,1-2 cm sensitivitas 74% tetapi dengan spesifisitas 93%.^[24]

Beberapa panel lainnya menunjukkan spesifisitas yang tinggi sebagaimana ditunjukkan studi oleh

Begum *et al*, Liu *et al*, dan Gaga *et al*. Metilasi gen DCC menunjukkan spesifisitas sempurna senilai 100%, sebagaimana yang ditunjukkan oleh metilasi gen TMEM196.^[21,28] Panel 6-gen yang dikembangkan oleh *Lung EpiCheck* juga menunjukkan spesifisitas yang tinggi yakni 93,3% pada pengaturan *low cut-off* hingga 100% pada pengaturan *high cut-off*.^[27]

Hasil-hasil yang telah dipaparkan menunjukkan efektivitas yang tinggi dari biomarka metilasi DNA sebagai metode deteksi dini kanker paru. Biomarka metilasi DNA memiliki nilai sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Melihat keadaan ini, algoritma pemeriksaan metilasi DNA yang tepat dapat mendukung kenaikan sensitivitas maupun spesifisitas deteksi dini kanker paru.^[21,28] Penggunaan panel gen biomarka metilasi DNA bersensitivitas tinggi menjadi pilihan untuk digunakan sebelum LDCT untuk meningkatkan efektivitas deteksi dini paru, sedangkan deteksi metilasi DNA setelah LDCT dapat menggunakan panel-panel dengan sensitivitas tinggi seperti DCC dan TMEM196 sehingga melengkapi spesifisitas dari LDCT.^[27,28]

Berbagai karakteristik tumor dapat mempengaruhi efektivitas metode metilasi DNA. Di antara faktor yang berperan penting adalah ukuran tumor sebagaimana disebutkan oleh Chen *et al*.^[24] Karakteristik histologi kanker paru juga menunjukkan pengaruh pada sensitivitas metode ini.^[18] Berdasarkan studi terkini yang dilakukan oleh Gaga *et al*, faktor seperti usia, jenis kelamin, dan kebiasaan merokok diketahui tidak memiliki dampak signifikan pada efektivitas metode deteksi metilasi DNA.^[27]

3.3. IMPLIKASI PADA SKRINING KANKER PARU

Pemeriksaan biomarka metilasi DNA dapat memberikan metode diagnostik yang dapat diandalkan dilihat dari nilai sensitivitas dan spesifisitasnya. LDCT masih menjadi metode skrining yang disarankan oleh NLCT dan Kementerian Kesehatan, akan tetapi skrining melalui LDCT masih belum memberikan hasil yang maksimal dilihat dari kecenderungan memiliki tingkat

hasil *false positive* yang tinggi.^[27,31] Pasien dengan hasil positif tes LDCT harus menjalani evaluasi lanjutan yang bersifat non-invasif ataupun invasif seperti bronkoskopi, biopsi jarum halus, dan/atau pembedahan. Tindakan evaluasi lanjutan tersebut dapat merugikan bagi pasien dengan hasil *false positive*.^[15]

Skruing dengan pemeriksaan biomarka metilasi DNA berpotensi mendukung diagnosis sebelum maupun setelah menggunakan LDCT. Sensitivitas dari metilasi DNA dapat membantu dalam skruing sebelum menggunakan LDCT. Hasil dari pengukuran metilasi DNA lebih independen dan tidak dipengaruhi secara signifikan oleh faktor risiko seperti usia, jenis kelamin, dan riwayat merokok,^[27] sehingga pemeriksaan biomarka metilasi DNA dapat menjangkau lebih banyak populasi untuk dideteksi. Selain itu, metilasi beberapa gen menunjukkan spesifisitas yang tinggi dalam penilaiannya. Spesifisitas yang tinggi ini dapat mendukung penegakan diagnosis setelah pemeriksaan menggunakan LDCT dengan mengurangi tingkat *false positive*.^[21,28]

Penelitian dan perkembangan mengenai metode biomarka metilasi DNA semakin banyak dilakukan, termasuk di beberapa negara di Asia seperti Cina dan Korea Selatan, namun belum pernah diuji pada populasi di Indonesia. Maka dari itu, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai penerapan penilaian biomarka metilasi DNA sebagai metode skruing kanker paru.

4. KESIMPULAN

Metilasi DNA menunjukkan hubungan yang kuat dengan perkembangan kanker paru. Penggunaan metilasi DNA sebagai metode deteksi kanker paru berpotensi untuk efektif meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas skruing dini kanker paru. Metode ini dapat diintegrasikan dengan metode LDCT yang telah direkomendasikan di Indonesia, baik sebelum LDCT maupun setelah LDCT. Diharapkan penerapan metode deteksi metilasi DNA dapat menurunkan mortalitas kanker paru di Indonesia dan

membantu meningkatkan kesehatan masyarakat Indonesia.

Keterbatasan dari tinjauan pustaka ini adalah terbatasnya referensi dan desain studi yang ada dalam meneliti performa metilasi DNA sebagai metode deteksi kanker paru, terutama di Indonesia. Diperlukan penelitian *multi-center* lebih lanjut pada populasi yang besar dan dengan desain studi yang kuat untuk menguatkan bukti terkait efektivitas metode metilasi DNA. Diperlukan kerja sama antara tenaga medis, peneliti, dan pemerintah dalam mewujudkan tujuan tersebut dan meningkatkan kualitas diagnosis maupun tatalaksana kanker paru di Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2021; Tersedia pada: <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
2. Bristol-Myers Squibb. *Lung Cancer In The Eu* [Internet]. 2015. Tersedia pada: <https://www.bms.com/content/dam/bms/us/english-social-share/Lung-Cancer-Global-EU-FINAL.pdf?linkId=15700872>
3. The George Institute for Global Health. *Turning Action Results Into Policy Actions* [Internet]. 2015. Tersedia pada: <https://www.georgeinstitute.org/sites/default/files/action-study-bali-roundtable-meeting-report.pdf>
4. Inamura K. Lung Cancer: Understanding Its Molecular Pathology and the 2015 WHO Classification. *Front Oncol* [Internet]. 28 Agustus 2017;7:193. Tersedia pada: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28894699>
5. Bjerager M, Palshof T, Dahl R, Vedsted P, Olesen F. Delay in diagnosis of lung cancer in general practice. *Br J Gen Pract* [Internet]. 2006;56(532):863–8.

- Tersedia pada:
<https://bjgp.org/content/56/532/863.short>
6. Cooper WA, Lam DCL, O'Toole SA, Minna JD. Molecular biology of lung cancer [Internet]. Vol. 5, *Journal of Thoracic Disease*. Pioneer Bioscience Publishing; 2013 [dikutip 21 Maret 2021]. Tersedia pada:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24163741/>
 7. Tobias JS, Hochhauser D, Souhami RL. Cancer and its management [Internet]. Wiley Online Library; 2010. Tersedia pada:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9781118468753>
 8. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Panduan Penatalaksanaan Kanker Paru*. 2017; Tersedia pada:
<http://kanker.kemkes.go.id/guidelines/PPKParu.pdf>
 9. Badan Pusat Statistik. *Persentase Merokok Pada Penduduk Umur ≥ 15 Tahun Menurut Provinsi (Persen), 2018-2020* [Internet]. 2020. Tersedia pada:
<https://www.bps.go.id/indicator/30/1435/1/persentase-merokok-pada-penduduk-umur-15-tahun-menurut-provinsi.html>
 10. U.S. National Institute Of Health NCI. *Lung and Bronchus Cancer, CSR 1975-2015* [Internet]. 2018. Tersedia pada:
https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2015/results_merged/sect_15_lung_bronchus.pdf
 11. United Kingdom Lung Cancer Coalition. *EARLY DIAGNOSIS MATTERS* [Internet]. 2020. Tersedia pada:
<https://www.uklcc.org.uk/wp-content/uploads/2020/01/UKLCC-ED-Matters-FINAL.pdf>
 12. Ellis PM, Vandermeer R. Delays in the diagnosis of lung cancer. *J Thorac Dis* [Internet]. 2011;3(3):183. Tersedia pada:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3256519/>
 13. Seijo LM, Peled N, Ajona D, Boeri M, Field JK, Sozzi G, et al. Biomarkers in Lung Cancer Screening: Achievements, Promises, and Challenges [Internet]. Vol. 14, *Journal of Thoracic Oncology*. Elsevier Inc; 2019 [dikutip 21 Maret 2021]. hal. 343–57. Tersedia pada:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27544059/>
 14. Weiss G, Schlegel A, Kottwitz D, König T, Tetzner R. Validation of the SHOX2/PTGER4 DNA Methylation Marker Panel for Plasma-Based Discrimination between Patients with Malignant and Nonmalignant Lung Disease. *J Thorac Oncol* [Internet]. 1 Januari 2017 [dikutip 11 Maret 2021];12(1):77–84. Tersedia pada:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27544059/>
 15. Snowsill T, Yang H, Griffin E, Long L, Varley-Campbell J, Coelho H, et al. Assessment of clinical effectiveness. 2018 [dikutip 21 Maret 2021]; Tersedia pada:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534581/>
 16. Constâncio V, Nunes SP, Henrique R, Jerónimo C. DNA Methylation-Based Testing in Liquid Biopsies as Detection and Prognostic Biomarkers for the Four Major Cancer Types. *Cells* [Internet]. 5 Maret 2020 [dikutip 21 Maret 2021];9(3):624. Tersedia pada:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7140532/>
 17. Kneip C, Schmidt B, Seegebarth A, Weickmann S, Fleischhacker M, Liebenberg V, et al. SHOX2 DNA methylation is a biomarker for the diagnosis of lung cancer in plasma. *J Thorac Oncol* [Internet]. 1 Oktober 2011 [dikutip 11 Maret 2021];6(10):1632–8. Tersedia pada:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21694641/>
 18. Ooki A, Maleki Z, Tsay JCJ, Goparaju C, Brait M, Turaga N, et al. A panel of novel detection and prognostic methylated DNA markers in primary non–small cell lung cancer and serum DNA. *Clin Cancer Res* [Internet]. 15

- November 2017 [dikutip 10 Maret 2021];23(22):7141–52. Tersedia pada: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28855354/>
19. Hulbert A, Jusue-Torres I, Stark A, Chen C, Rodgers K, Lee B, et al. Early detection of lung cancer using DNA promoter hypermethylation in plasma and sputum. In: Clinical Cancer Research [Internet]. American Association for Cancer Research Inc.; 2017 [dikutip 10 Maret 2021]. hal. 1998–2005. Tersedia pada: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27729459/>
 20. Zang R, Wang X, Jin R, Lei Y, Huang J, Liu C, et al. Translational value of IDH1 and DNA methylation biomarkers in diagnosing lung cancers: A novel diagnostic panel of stage and histology-specificity. *J Transl Med* [Internet]. 30 Desember 2019 [dikutip 10 Maret 2021];17(1). Tersedia pada: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31888670/>
 21. Liu W Bin, Han F, Huang YS, Chen HQ, Chen JP, Wang DD, et al. TMEM196 hypermethylation as a novel diagnostic and prognostic biomarker for lung cancer. *Mol Carcinog* [Internet]. 1 April 2019 [dikutip 21 Maret 2021];58(4):474–87. Tersedia pada: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30536447/>
 22. Huang W, Huang H, Zhang S, Wang X, Ouyang J, Lin Z, et al. A Novel Diagnosis Method Based on Methylation Analysis of SHOX2 and Serum Biomarker for Early Stage Lung Cancer. *Cancer Control* [Internet]. 2020 [dikutip 21 Maret 2021];27(1). Tersedia pada: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33167712/>
 23. Liang W, Zhao Y, Huang W, Gao Y, Xu W, Tao J, et al. Non-invasive diagnosis of early-stage lung cancer using high-throughput targeted DNA methylation sequencing of circulating tumor DNA (ctDNA). *Theranostics* [Internet]. 2019 [dikutip 21 Maret 2021];9(7):2056–70. Tersedia pada: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31037156/>
 24. Chen C, Huang X, Yin W, Peng M, Wu F, Wu X, et al. Ultrasensitive DNA hypermethylation detection using plasma for early detection of NSCLC: A study in Chinese patients with very small nodules. *Clin Epigenetics* [Internet]. 5 Maret 2020 [dikutip 10 Maret 2021];12(1). Tersedia pada: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32138766/>
 25. Liu B, Ricarte Filho J, Mallisetty A, Villani C, Kottorou A, Rodgers K, et al. Detection of Promoter DNA Methylation in Urine and Plasma Aids the Detection of Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res* [Internet]. 15 Agustus 2020 [dikutip 10 Maret 2021];26(16):4339–48. Tersedia pada: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32138766/>
 26. Wielscher M, Vierlinger K, Kegler U, Ziesche R, Gsur A, Weinhäusel A. Diagnostic Performance of Plasma DNA Methylation Profiles in Lung Cancer, Pulmonary Fibrosis and COPD. *EBioMedicine* [Internet]. 1 Agustus 2015 [dikutip 10 Maret 2021];2(8):929–36. Tersedia pada: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26425700/>
 27. Gaga M, Chorostowska-Wynimko J, Horváth I, Tammemagi MC, Shitrit D, Eisenberg VH, et al. Validation of Lung EpiCheck, a novel methylation-based blood assay, for the detection of lung cancer in European and Chinese high-risk individuals. *Eur Respir J* [Internet]. 1 Januari 2021 [dikutip 21 Maret 2021];57(1). Tersedia pada: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33122336/>
 28. Begum S, Brait M, Dasgupta S,

- Ostrow KL, Zahurak M, Carvalho AL, et al. An epigenetic marker panel for detection of lung cancer using cell-free serum DNA. *Clin Cancer Res* [Internet]. 1 Juli 2011 [dikutip 21 Maret 2021];17(13):4494–503. Tersedia pada: <http://clincancerres.aacrjournals.org/>
29. Mandrekar JN. Receiver operating characteristic curve in diagnostic test assessment. *J Thorac Oncol* [Internet]. 1 September 2010 [dikutip 21 Maret 2021];5(9):1315–6. Tersedia pada: <http://www.jto.org/article/S1556086415306043/fulltext>
30. Jones PA. Functions of DNA methylation: Islands, start sites, gene bodies and beyond [Internet]. Vol. 13, *Nature Reviews Genetics*. Nat Rev Genet; 2012 [dikutip 21 Maret 2021]. hal. 484–92. Tersedia pada: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22641018/>
31. Berg C, Aberle D. Reduced Lung-Cancer Mortality with CT Screening. *N Engl J Med* [Internet]. 2011;365(21):2037–8. Tersedia pada: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa1102873>