

Peran dan Mekanisme BRAF pada Keganasan

Reni Angeline
Ria Kodariah
Departemen Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran
Universitas Indonesia

ABSTRAK

B-Rapidly Accelerated Fibrosarcoma (BRAF) merupakan protoonkogen pengkode protein B-Raf yang tergolong keluarga *serine/threonin kinase*. Protein ini memainkan peranan penting dalam mengatur jalur sinyal MEK-ERK dan jalur *Nuclear factor kappa-B* (NF- κ B). Gangguan pada jalur MEK-ERK yang diakibatkan oleh adanya mutasi BRAF akan menyebabkan terputusnya jalur sinyal normal Ras-Raf-MEK-ERK sehingga sinyal proliferasi akan terus diaktifkan secara spontan tanpa perlu adanya stimulus dari luar. Di sisi lain B-Raf mutan akan berikatan dengan C-Raf melalui mekanisme *Ras-independent* dan mengaktifkan jalur sinyal NF- κ B dan gen anti apoptosis Bcl2. Aktivasi NF- κ B akan menyebabkan peningkatan proliferasi, angiogenesis, invasi dan metastasis serta mengontrol ekspresi gen *multidrug resistance* (MDR1) yang akan menyebabkan resistensi terhadap kemoterapi. Saat ini telah ditemukan lebih dari 70 jenis mutasi BRAF dan lebih dari 90% diantaranya merupakan mutasi yang disebabkan substitusi asam amino valine oleh asam glutamate (BRAF^{V600E}). Beberapa karsinoma yang diketahui berkaitan erat dengan mutasi BRAF^{V600E} adalah melanoma maligna, karsinoma papiler tiroid (KPT) dan karsinoma kolorektal. Karsinoma dengan mutasi BRAF^{V600E} ini secara umum memperlihatkan gambaran lebih agresif. Saat ini status mutasi BRAF ditentukan berdasarkan metode yang berbasis DNA terutama dengan metoda sekuensing.

Kata kunci : BRAF, BRAF^{V600E}, karsinoma

PENDAHULUAN

Karsinoma merupakan penyakit keganasan dengan penyebab multifaktor, diantaranya adalah terjadinya mutasi protoonkogen menjadi gen mutan (onkogen). Produk dari onkogen yang disebut onkoprotein secara umum dikelompokkan menjadi *growth factor*, *tirosin kinase*, *serine/threonin kinase*, *regulatory GTPase* dan faktor transkripsi. Salah satu onkoprotein, *Rapidly Accelerated Fibrosarcoma* (RAF) termasuk ke dalam kelompok *serine/threonin kinase* terlibat di dalam pengaturan siklus sel, proliferasi, diferensiasi dan *survival* sel.¹

RAF pertama kali ditemukan pada tahun 1980 sebagai onkogen retroviral, yang mengkode enzim *serine-threonin kinase* dan menstimulasi pertumbuhan tumor pada tikus dan ayam.² Protein Raf yang terikat pada Ras akan mengaktifkan jalur MAP kinase *extracellular signal-regulated kinase* (MEK) sehingga memicu aktivitas transkripsi dan menyebabkan terjadinya proliferasi sel. Sampai saat ini telah diidentifikasi 3 protein Raf kinase, yaitu A-Raf, B-Raf dan C-Raf. Ketiganya dibedakan berdasarkan struktur *conserved regionnya*. B-Raf merupakan aktivator MAPK (MEK) kinase yang paling poten dibandingkan dengan A-Raf dan C-Raf, sehingga paling berpotensi menyebabkan aktivitas proliferasi sel.³

BRAF merupakan gen yang mengkode protein B-Raf atau secara resmi dinamakan sebagai *serine/threonine-protein kinase B-Raf*, yang merupakan proto-onkogen yang disebut juga sebagai

sebagai *V-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1*.^{1,3} Protein B-Raf terlibat di dalam pengiriman sinyal ke dalam sel untuk memicu pertumbuhan sel. Sampai saat ini telah ditemukan lebih dari 70 jenis mutasi BRAF. Adanya mutasi BRAF diketahui terjadi pada beberapa keganasan seperti melanoma maligna, karsinoma papiler tiroid (KPT) dan karsinoma kolorektal.¹

Pengembangan terapi ke arah molekular dengan mengembangkan BRAF *kinase inhibitor* menjadikan BRAF saat ini sebagai molekul yang banyak menarik perhatian. Tulisan ini dibuat dengan tujuan untuk memberikan informasi yang lebih mendalam mengenai BRAF dan protein B-Raf serta bagaimana peran, mekanisme dan kaitannya dengan keganasan pada manusia.

Raf

Terdapat tiga protein Raf kinase pada manusia. A-Raf pertama kali ditemukan pada tahun 1986 dan merupakan isoform terkecil berukuran 68 kDa. Kedua, B-Raf ditemukan tahun 1988, merupakan isoform berukuran antara 75-100 kDa, mengandung 750-800 asam amino^{1,3} dan ketiga adalah C-Raf yang dikenal juga sebagai protein Raf-1, ditemukan tahun 1985, merupakan isoform yang berukuran 72-74 kDa (Gambar 1).³

Protein Raf mempunyai 3 *conserved regions* (CR) dengan fungsi yang berbeda, yaitu CR1, CR2 dan CR3. CR1 dan CR2 merupakan domain regulator utama yang berada pada *N-region* yang mengandung *glycine rich loop*. CR3 merupakan domain kinase katalitik yang mengandung *activation segment*. CR3 terdapat di area *C-region* dan mempunyai beberapa lokus fosforilasi yang dapat menghambat atau mengaktifkan fosforilasi.^{4,7} *Ras binding domain* (RBD) dan *cysteine-rich domain* (CRD) terdapat pada CR1, kedua domain tersebut merupakan domain yang bertanggung jawab untuk berikatannya Raf dengan Ras dan membran fosfolipid. Ikatan Ras dengan RBD hanya terjadi apabila Ras terdapat dalam bentuk yang aktif (Ras-GTP), namun ikatan dengan CRD tidak diperlukan bentuk aktif Ras. CR2 merupakan *serine/threonine rich region*.^{4,5,7} *Phosphorylation site* terdapat pada CR2 dan area setelah CR3, *phosphorylation site* bertanggungjawab untuk berikatan dengan protein regulator 14-3-3, yaitu suatu protein regulator yang dapat mengikat berbagai protein pemberi sinyal seperti kinase,

fosfatase dan reseptor transmembran (Gambar 1).^{5,7,8}

Secara umum mekanisme kerja protein Raf terjadi bersama-sama dengan protein Ras. Mekanisme dimulai pada saat ligan (*growth factor*, sitokin dan hormon) berikatan dan mengaktifkan *receptor tyrosine kinase* (RTK) yang terdapat pada permukaan sel. Ikatan ini menyebabkan protein Ras kinase mengalami fosforilasi sehingga menjadi aktif dan menempel pada permukaan dalam membran plasma. Secara normal guanosine-5'-triphosphate (GTP) akan dihidrolisis oleh *GTPase-activating proteins* (GAPs) menjadi guanosine-5'-diphosphate (GDP) yang menjadikan kembali ke dalam bentuk Ras yang inaktif.⁹ Di sisi lain, Ras yang aktif akan membawa protein Raf dari sitosol ke membran plasma untuk diaktifkan. Setelah terfosforilasi, Raf akan mengaktifkan protein kinase kedua yang disebut MAP kinase *extracellular signal-regulated kinase* (MEK), yang selanjutnya akan mengaktifkan protein kinase ketiga yaitu *extracellular signal-regulated kinase* (ERK). ERK akan memfosforilasi protein yang terdapat pada sitosol dan bertranslokasi ke dalam nukleus. Di dalam nukleus terjadi pengaturan aktivasi faktor transkripsi, regulasi ekspresi gen, proliferasi, diferensiasi, *senescence* dan apoptosis sel.^{5,6} Jalur Ras-Raf-MEK-ERK merupakan jalur fungsional sel yang penting, karena merespon stimulus ekstrasel seperti hormon, sitokin dan *growth factor*.⁵ Secara umum mekanisme jalur RAF terlihat pada Gambar 2.

Di antara ketiga protein Raf, B-Raf merupakan protein yang paling sering mengalami mutasi. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan regulasi yang mendasar antara B-Raf dengan A-Raf dan C-Raf. Mutasi B-Raf dapat diaktifkan oleh hanya substitusi satu asam amino, sedangkan untuk terjadi aktivasi onkogenik A-Raf dan C-Raf dibutuhkan adanya dua mutasi.²

B-Raf

Struktur Molekular B-Raf

BRAF (*V-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1*) atau dikenal dengan nama lain NS7, BRAF1, RAFB1 adalah suatu protoonkogen yang terletak di kromosom 7 lengan panjang (q) lokus 34 (7q34) tersusun atas 18 ekson & 17 intron, dengan panjang basa 200 kb (199,622) pada posisi basa antara 140.719.333 sampai 140.924.763.¹ Gen BRAF

mengkode protein yang termasuk ke dalam keluarga Raf dari kelompok protein *serine/threonin-specific kinase*, suatu *cytosolic protein kinase* yang diaktivasi oleh *membrane-bound RAS*.¹⁰ Protein ini berperan penting di dalam mengatur jalur MEK-ERK. Protein B-Raf berukuran 75-100 kDa dan mengandung 750-800 asam amino.¹

B-Raf tersusun atas lobus kecil dan lobus besar (struktur bilobus) yang dipisahkan oleh *catalytic cleft* (Gambar 3).^{1,3,5,7}

Lobus kecil mempunyai *N-region* yang mengandung *glycine rich loop* yang akan berinteraksi dengan *activation segment*.¹ Suatu motif *conserved aspartate, phenylalanine and glycine (DFG)* yang berada di *catalytic cleft* dalam keadaan tidak aktif akan membuat B-Raf melipat. Lipatan ini menyebabkan posisi *glycine rich loop* dan *activation segment* pada domain kinase menjadi berdekatan dan menimbulkan interaksi hidrofobik di antara kedua regio.⁴ Fenomena ini membuat *catalytic cleft* menjadi tidak dapat dilalui oleh Adenosine Triphosphate (ATP) sehingga struktur B-Raf menjadi tidak aktif. Di sisi lain asam aspartat di posisi 447 pada *N-region* akan menstabilkan lobus kecil. Jika interaksi hidrofobik antara kedua regio ini diganggu melalui fosforilasi di daerah *activation segment*, maka motif DFG akan kembali ke bentuk aktifnya, sehingga *catalytic cleft* dapat kembali dilalui oleh ATP.^{3,5}

Secara normal adanya stimulus ekstrasel pada reseptor yang terdapat di membran sel akan mengaktifkan Ras kinase. Ras yang teraktivasi akan merekrut protein B-Raf dari sitosol ke membran sel. Protein adaptor akan membantu Ras untuk memfosforilasi residu T599 dan S602 yang berlokasi di *activation segment* domain kinase B-Raf. Setelah terfosforilasi, B-Raf akan mengaktifkan MEK yang selanjutnya akan memfosforilasi ERK. ERK yang teraktivasi akan meneruskan sinyalnya terhadap protein-protein efektor baik yang di sitosol maupun di inti untuk proliferasi sel, deferensiasi dan *survival* sel.⁵

Mutasi B-Raf dan Tumorigenesis

Hasil penelitian menunjukkan bahwa mutasi B-Raf terjadi pada regio yang terlibat interaksi hidrofobik, yaitu 89% mutasi terjadi pada daerah *activation segment* ekson 15 dan 11% mutasi terjadi pada *glycine rich loop* ekson 11.^{1,3,7} Mutasi akan menyebabkan gangguan interaksi hidrofobik, membuat protein terus

menerus dalam keadaan aktif dan meningkatkan aktivitas kinase B-Raf sampai 500 kali lipat.^{1,3,5} Hal ini terjadi karena adanya hambatan terhadap defosforilasi GTP menjadi GDP sehingga jalur sinyal MEK yang berperan di dalam regulasi dan pertumbuhan sel menjadi terus aktif. Fenomena ini menyebabkan B-Raf mutan mampu menstimulasi jalur MEK-ERK tanpa stimulus dari luar, sehingga menyebabkan terjadinya proliferasi dan *survival* sel yang tidak terkontrol.^{3,5} Lebih dari 95% deteksi terhadap mutasi tersebut relevan secara klinik.¹

Saat ini telah ditemukan lebih dari 70 jenis mutasi BRAF dan 90% diantaranya adalah mutasi V600E.^{1,3} Mutasi V600E terjadi di dekat motif DFG pada *activation segment* dimana terjadi substitusi valine oleh asam glutamat yang terletak di posisi 600 pada urutan asam amino.^{2,5,11} Mutasi lain pada BRAF adalah mutasi residu E586, D587, R682, A728, K439 dan T440, G466E, G466V dan G596R (Gambar 4).⁵

Mutasi BRAF dapat mempengaruhi dua jalur transduksi sinyal sel yaitu jalur MEK-ERK dan jalur *Nuclear factor kappa-B (NF-κB)*.² Pengaturan keseimbangan jalur MEK-ERK sangat penting, karena hiperaktivitas pada jalur ini akan terjadi jika ada penyimpangan jalur Ras-Raf-MEK-ERK. BRAF merupakan aktivator yang paling poten untuk efektor MEK kinase dalam jalur Ras-Raf-MEK-ERK. Hal ini terjadi karena adanya pengaruh dua residu di *N-region* yaitu residu S446 dan D449. Residu S446 merupakan residu asam amino yang mengalami fosforilasi menjadi bermuatan negatif sedangkan residu D449 mengandung asam aspartat yang juga bermuatan negatif. Keadaan tersebut menyebabkan BRAF selalu mempunyai *N-region* bermuatan negatif yang akan menyebabkannya aktif berikatan dengan Ras.^{1,5}

Pada dasarnya seluruh mutasi yang terjadi pada BRAF akan meningkatkan aktifitas jalur sinyal MEK-ERK. Hal ini karena mutasi BRAF menyebabkan terputusnya jalur sinyal MEK-ERK sehingga BRAF mutan (BRAF^{V600E}) dapat mengirimkan sinyal proliferasi secara spontan tanpa perlu adanya stimulus dari luar (Gambar 5).³

Jalur sinyal lain yang diaktifkan oleh mutasi BRAF^{V600E} adalah NF-κB. BRAF mutan akan berikatan dengan C-Raf melalui mekanisme *Ras-independent* yang menyebabkan transfosforilasi C-Raf. C-Raf yang terfosforilasi akan mengaktifkan NF-κB dan gen anti apop-

osis Bcl2 (Gambar 6). Jalur NF- κ B yang aktif akan menghambat apoptosis melalui aktivasi ekspresi protein TRAF1, TRAF2, c-IAP1, c-IAP2, c-FLIP, ML-IAP dan survivin yang merupakan protein anti apoptosis. Jalur NF- κ B juga menyebabkan peningkatan proliferasi, angiogenesis, invasi dan metastasis melalui ekspresi protein cyclin D1, CDK2, VEGF, ICAM-1, VCAM-1, ELAM-1 dan MMPs. Jalur NF- κ B juga mengontrol ekspresi gen *multidrug resistance* (MDR1) yang mengkode overekspresi dari P-glycoprotein. Aktifnya gen MDR1 akan menyebabkan resistensi terhadap kemoterapi.⁵

Selain mekanisme di atas, mutasi BRAF^{V600E} menyebabkan hilangnya fungsi gen supresor tumor, terutama gen p16INK4a, p53 serta *Phosphatase and tensin homolog* (PTEN). Supresi terhadap gen p16INK4a dan p53 akan menyebabkan terjadinya siklus sel terus menerus. PTEN yang terdapat pada sitosol, bekerja menghambat jalur *Phosphoinositid-3-kinase* (PI3K) yang merupakan jalur untuk mengaktifkan faktor transkripsi. Supresi pada PTEN menyebabkan jalur PI3K tidak dihambat, sehingga terjadi aktivasi faktor transkripsi secara terus menerus. Mutasi BRAF^{V600E} juga meningkatkan kerja C-Myc yang juga merupakan faktor transkripsi.^{4,9}

Penelitian-penelitian terhadap mutasi BRAF menunjukkan hampir semua jenis karsinoma berkaitan dengan mutasi BRAF terutama mutasi BRAF^{V600E}. Mutasi BRAF^{V600E} terjadi pada seluruh kasus *Hairy cell leukemia*. Jenis mutasi BRAF paling banyak ditemukan pada melanoma maligna, KPT dan karsinoma kolorektal. Prevalensi dan insiden mutasi pada keganasan lain terlihat pada Tabel 1.¹

Penelitian BRAF pada beberapa keganasan

Saat ini telah banyak dilakukan penelitian mengenai mutasi BRAF dan kaitannya dengan beberapa keganasan. Pada umumnya deteksi mutasi BRAF dilakukan dengan metode berbasis DNA seperti sekuensing. Di antara keganasan-keganasan tersebut, tiga keganasan yang paling banyak berkaitan dengan mutasi BRAF adalah melanoma maligna, KPT dan karsinoma kolorektal.

1. Melanoma Maligna

Pada melanoma terdapat mutasi proto-onkogen BRAF atau NRAS, yang mempengaruhi jalur transduksi sinyal Ras-Raf-MEK-ERK. Di antara seluruh keganasan melanoma,

50% terjadi karena mutasi BRAF dan 92% diantaranya adalah mutasi pada BRAF^{V600E}.¹

Capper dkk tahun 2011 melakukan penelitian terhadap 47 pasien dengan metastase melanoma intraserebral. Terhadap kasus-kasus tersebut dilakukan analisis sekuensing mutasi BRAF dan pemeriksaan imunohistokimia (IHK) dengan menggunakan *monoclonal antibody mouse anti-human BRAF^{V600E} clone VE1* dan pBR1. Analisis sekuensing mendapatkan 16 kasus (37%) mengalami mutasi BRAF sedangkan dengan pemeriksaan IHK mendapatkan 18 kasus (38%) mengekspresikan antigen clone VE1 dan seluruh kasus (100%) mengekspresikan antigen pBR1 (Gambar 7).¹¹

Peneliti lain, Si Lu dkk tahun 2011 melakukan penelitian terhadap 432 pasien dengan melanoma, dengan tujuan mencari korelasi mutasi BRAF dan NRAS terhadap faktor klinikopatologi populasi tersebut. Kasus-kasus tersebut dilakukan analisis sekuensing mutasi BRAF dan NRAS. Analisis sekuensing mendapatkan 110 kasus mengalami mutasi BRAF (25,5%) dan 31 kasus mutasi NRAS (7,2%).¹² Keterkaitan mutasi kedua gen tersebut dengan faktor klinikopatologi tersaji pada Tabel 2.

2. Karsinoma Tiroid

KPT merupakan keganasan tiroid yang paling banyak.^{13,14} KPT tipe klasik dan *tall cell* terkait erat dengan mutasi BRAF^{V600E}. Insiden mutasi BRAF^{V600E} rendah (10-20%) terdapat pada anaplastik karsinoma tiroid. Tidak ditemukan adanya mutasi BRAF^{V600E} pada karsinoma tipe folikuler, meduler, *Hurthle-cell carcinoma*, adenoma dan hiperplasia tiroid.¹

Capper dkk tahun 2011 melakukan penelitian terhadap 21 pasien KPT primer. Analisis sekuensing mendapatkan 9 kasus (50%) mengalami mutasi BRAF sedangkan dengan pemeriksaan IHK mendapatkan 12 kasus (57%) mengekspresikan antigen clone VE1 dan seluruh kasus (100%) mengekspresikan antigen pBR1 (Gambar 8).¹¹

Zagzag dkk tahun 2013 melakukan penelitian terhadap 37 pasien KPT. Penelitian ini bertujuan untuk melihat keakuratan pemeriksaan IHK dibandingkan dengan analisis sekuensing. Sampel yang diambil dilakukan analisis sekuensing untuk melihat adanya mutasi BRAF dan dilakukan pemeriksaan IHK dengan menggunakan antibodi VE1. Analisis sekuensing mendapatkan 28 kasus (76%) mutasi BRAF. Pemeriksaan IHK mendapatkan 25 kasus mutasi

BRAF dari 28 sampel (89%). Berdasarkan intensitas pulasan dilakukan pembagian menjadi 2 kategori, yaitu intensitas kuat (>2) sebanyak 8 dari 25 sampel (32%) dan intensitas rendah (≤ 2) sebanyak 17 dari 25 sampel (68%). Kasus dengan intensitas kuat menunjukkan penyebaran ekstraintroid dan mempengaruhi prognosis. Dari penelitian ini didapatkan kesimpulan bahwa IHK merupakan metode yang spesifik dan reliabel dalam mendeteksi mutasi BRAF (Gambar 9).¹⁴

3. Karsinoma Kolorektal

Mutasi BRAF pada karsinoma kolorektal lebih jarang ditemukan dibanding pada melanoma.¹⁵ Liou dkk tahun 2011 melakukan penelitian terhadap 314 pasien karsinoma kolorektal yang menjalani operasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan mutasi KRAS dan BRAF dengan prognosis. Dilakukan analisis sekuensing untuk melihat mutasi KRAS dan BRAF. Dari 314 pasien, terdeteksi 65 pasien (20,7%) mengalami mutasi KRAS dan 12 pasien (3,8%) dengan mutasi BRAF. Tidak terdapat faktor resiko spesifik yang menyebabkan terjadinya mutasi BRAF, namun kejadian mutasi BRAF mempunyai resiko meningkatkan angka kematian pada karsinoma kolorektal sebesar hampir empat kali lipat.¹⁶

Yoshida dkk tahun 2007 melakukan penelitian untuk mengetahui hubungan antara mutasi BRAF dengan morfologi dan apoptosis pada stadium awal karsinoma kolorektal.

Digunakan 88 sampel, 45 sampel berbentuk *flat and depressed* dan 43 sampel polypoid. Analisis sekuensing dilakukan untuk mendeteksi mutasi BRAF dan KRAS, sedangkan aktivitas proliferasi dan apoptosis menggunakan pulasan IHK. Analisis sekuensing mendapatkan mutasi BRAF pada lima sampel (11,1%) *flat and depressed* dan mutasi KRAS pada 13 sampel (30,2%) polypoid. Selain itu invasi submukosa pada sampel yang mengalami mutasi BRAF lebih tinggi dibanding dengan KRAS. Pemeriksaan IHK menunjukkan tidak terdapat perbedaan aktivitas proliferasi pada kasus-kasus dengan mutasi BRAF, KRAS dan *wild-type*, namun pada mutasi BRAF terdapat jumlah *apoptotic bodies* yang lebih rendah (Gambar 10).¹⁷

Tabel 1. Mutasi BRAF pada berbagai keganasan.¹

Tipe kanker	Prevalensi (%)	Jumlah jenis mutasi BRAF
Melanoma	>50	41
Karsinoma kolorektal	11	19
Karsinoma thyroid	45	7
Karsinoma paru	2-3	14
Payudara	2	4
Gaster	1-2,2	2
Ovarium	2-33	7
Endometrium	4	10
Lymphoma	1	2
Glioma	3	3
Hepar	41	5
Barret esofagus	1	2
Sarkoma	45	2
Hairy cell leukemia	100	1 seluruhnya V600E (48)

Tabel 2. Korelasi faktor klinikopatologi melanoma dengan mutasi BRAF dan NRAS¹²

Faktor klinikopatologi	Gen BRAF			Gen NRAS		
	Mutasi	Wild type	P value	Mutasi	Wild type	P value
Usia (tahun)	48,9±14,4	51,9±14,3	0,39	56,5±14,3	50,8±14,5	0,02
Jenis kelamin wanita (%)	59 (52,6)	165 (51,2)	0,75	16 (51,6)	207 (51,6)	0,86
Tebal Lesi (mm)	5,0 (0,5-10)	4,5 (1,0-10)	0,18	5,0 (1,5-10)	5,0 (0,5-0)	0,69
Ulkus (%)	58 (61,1)	117 (40,9)	<0,01	16 (64,0)	145 (40,7)	0,04
Stage (%)						
I	6 (5,5)	16 (5,3)	0,90	0 (0)	22 (5,7)	0,37
II	35 (32,1)	129 (42,4)	0,13	10 (33,3)	154 (40,2)	0,19
III	36 (33,0)	77 (25,3)	0,18	14 (46,7)	99 (25,8)	0,02
IV	32 (29,4)	82 (27,0)	0,73	6 (20,0)	108 (28,2)	0,46
Subtipe (%)						
Akral	23 (20,9)	125 (38,8)	<0,01	13 (41,9)	134 (33,4)	0,63
Mukosa	15 (13,6)	105 (30,6)	<0,01	11 (35,5)	105 (26,2)	0,38
CSD	4 (3,6)	18 (5,6)	0,60	1 (3,2)	21 (5,2)	0,95
Non-CSD	56 (50,9)	42 (13,0)	<0,01	2 (6,5)	92 (22,9)	0,06
UP	12 (10,9)	32 (9,9)	0,92	4 (12,9)	4 (1,0)	<0,01

CSD: melanoma on skin with chronic sun-induced damage; Non-CSD: melanoma on skin without chronic sun-induced damage; UP: melanoma of unknown primary

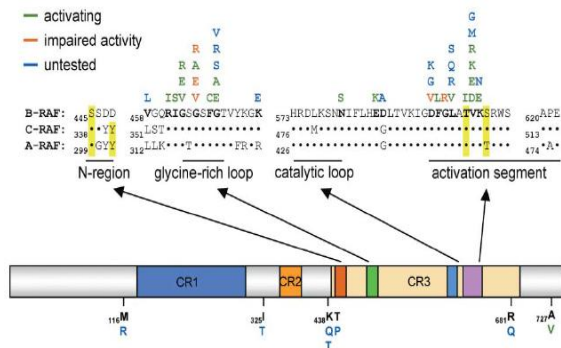
RINGKASAN

BRAF yang merupakan suatu protoonkogen mengkode protein B-Raf yang termasuk dalam kelompok protein *serine/threonin-specific kinase*. Mutasi BRAF akan meningkatkan jalur sinyal MEK-ERK serta mengaktifkan jalur NF- κ B dan gen anti apoptosis Bcl2 melalui trans-fosforilasi C-Raf.

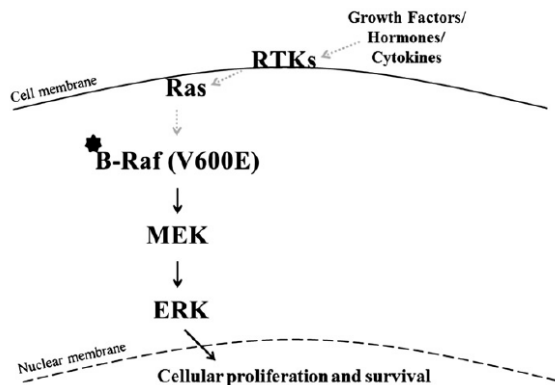
Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa mutasi BRAF dapat timbul pada berbagai keganasan dan sebagian besar adalah mutasi BRAF^{V600E}. Metode berbasis DNA terutama sekuensing merupakan standar baku emas untuk analisis mutasi BRAF. Metode lain yaitu imunohistokimia merupakan metoda alternatif bagi pemeriksaan BRAF yang cukup sensitif, spesifik dan reliabel.

DAFTAR PUSTAKA

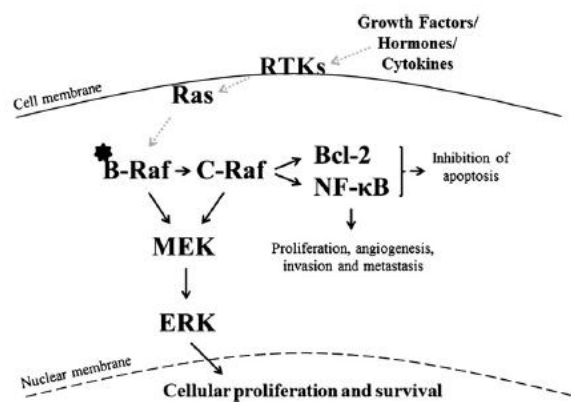
1. Ziai J, Hui P. BRAF mutation testing in clinical practice. *Expert Rev Mol Diagn.* 2012;127-38.
2. Dhomen N, Marais R. New insight into BRAF mutations in cancer. *Current Opinion in Genetics and Development.* 2007;17:31-9.
3. Rahman MA, Salajegheh A, Smith RA, Lam AK. BRAF inhibitors: From the laboratory to clinical trials. *Crit Rev Oncol/Hematol.* 2013;1-13.
4. Mandala M, Voit C. Targeting BRAF in melanoma: Biological and clinical challenges. *Crit Rev Oncol/Hematol.* 2013; 87: 239-55.
5. Rahman MA, Salajegheh A, Smith RA, Lam AK. B-Raf mutation: A key player in molecular biology of cancer. *Exp Mol Pathol.* 2013;95:336-42.
6. Garnett MJ, Marais R. Guilty as charged: B-RAF is a human oncogene. *Cancer Cell.* 2004; 6: 313-9.
7. Roskoski R. RAF protein serine/threonine kinases: Structure and regulation. *J.BBRC.* 2010; 313-7.
8. Haiyan Fu, Romesh R, Shane C. 14-3-3 Proteins: Structure, function and regulation. *Ann Rev of Pharmacology and Toxicology.* 2000; 40: 617-47.
9. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Neoplasia. In: Schmitt W, Grulow R, editors. *Pathologic Basis of Disease.* 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010. p.282-94.
10. Krol LC, Hart NA, Methorst N, Knol AJ, Prinsen C, Boers JE. Concordance in KRAS and BRAF mutations in endoscopic biopsy samples and resection specimens of colorectal adenocarcinoma. *Eur J Cancer.* 2012;48:1108-15.
11. Capper D, Preusser M, Habel A, Sahm F. Assessment of BRAF V600E mutation status by immunohistochemistry with a mutation-specific monoclonal antibody. *Acta Neuropathol.* 2011;122:11-9.
12. Si L, Kong Y, Xu X, Flaherty KT, Sheng X, Cui C, *et al.* Prevalence of BRAF V600E mutation in chinese melanoma patients: Large scale analysis of BRAF and NRAS mutations in a 432-case cohort. *Eur J Cancer.* 2011; 48:94-100.
13. Zoghlami A, Roussel F, Sabourin J, Kuhn J, Marie J, Dehesdin D, *et al.* BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma: Predictive value for long-term prognosis and radioiodine sensitivity. *J Anorl.* 2013;1-7.
14. Zagzag J, Pollack A, Dultz L, Dhar S, Ogilvie JB, Heller KS, *et al.* Clinical utility of immunohistochemistry for the detection of the BRAF v600e mutation in papillary thyroid carcinoma. *J Surg.* 2013;154(6):1199-205.
15. Sclafani F, Gullo G, Sheahan K, Crown J. BRAF mutations in melanoma and colorectal cancer: A single oncogenic mutation with different tumour phenotypes and clinical implications. *Crit Rev Oncol/Hematol.* 2013; 87: 55-68.
16. Liou J, Wu M, Shun C, Chiu H, Chen M, Chen C, *et al.* Mutations in BRAF correlate with poor survival of colorectal cancers in chinese population. *Int J Colorectal Dis.* 2011; 26: 1387-95.
17. Yoshida S, Ikehara N, Aoyama N, Shirasaka D, Sakashita M, Semba S, *et al.* Relationship of BRAF mutation, morphology and apoptosis in early colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2008; 23:7-13.



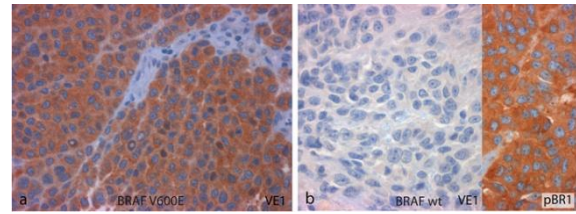
Gambar 4. Struktur linier BRAF dengan beberapa region yang mengalami mutasi.⁶



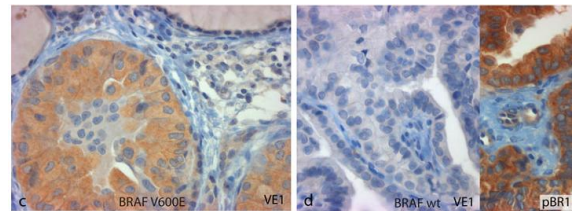
Gambar 5. Skematik mutasi BRAF melalui aktivasi jalur MEK-ERK⁵



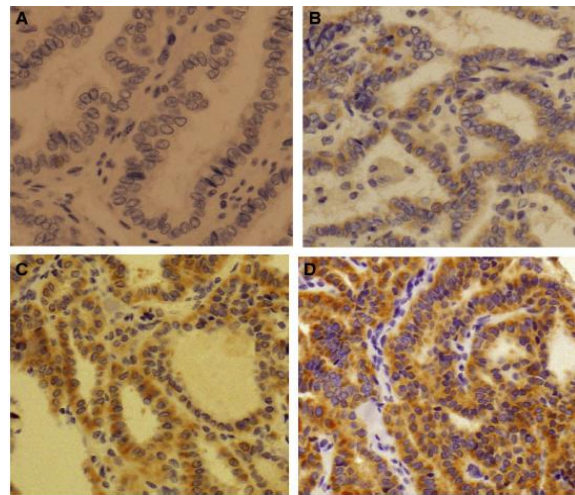
Gambar 6. Skematik mutasi BRAF melalui aktivasi jalur NF-κB⁵



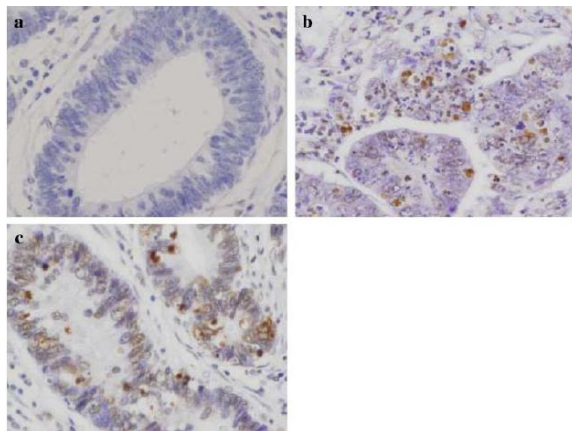
Gambar 7. IHK VE1 dan pBR1 pada melanoma¹¹



Gambar 8. IHK VE1 dan pBR1 pada KPT¹¹



Gambar 9. Ekspresi antigen BRAF^{V600E} pada KPT dengan pulasan IHK. A. Negatif; B. +1; C. +2; D. +3.¹⁴



Gambar 10. Apoptosis dengan pemeriksaan IHK. A. Karsinoma dengan mutasi BRAF; B. Karsinoma dengan mutasi KRAS; C. Karsinoma dengan *wild-type*¹⁷