

**Pengaruh Kadar Hormon Estradiol dan Profil Lipid Pada Kanker Payudara dan
Hubungannya Dengan Gen BRCA1 Mutasi C61G**

UNIVERSITAS ANDALAS
SAHNA FERDINAND GINTING

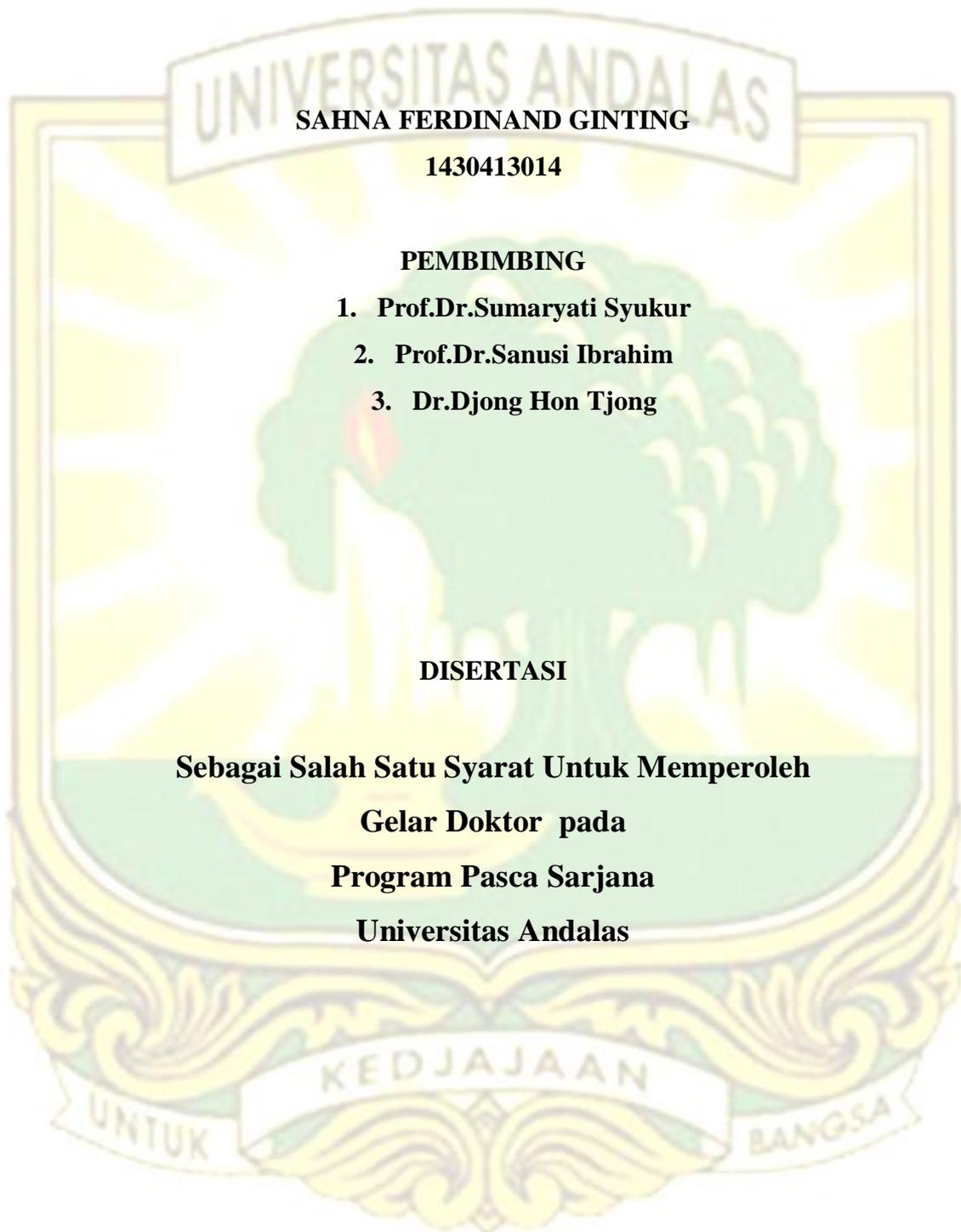
1430413014

PEMBIMBING

- 1. Prof.Dr.Sumaryati Syukur**
- 2. Prof.Dr.Sanusi Ibrahim**
- 3. Dr.Djong Hon Tjong**

DISERTASI

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Doktor pada
Program Pasca Sarjana
Universitas Andalas**



**PROGRAM DOKTOR KIMIA
PASCA SARJANA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2017**

**Pengaruh Kadar Hormon Estradiol dan Lipid Profile Pada Kanker Payudara dan
Hubungannya Dengan Gen BRCA1 Mutasi C61G**

Oleh: Sahna Ferdinand Ginting

(Dibawah bimbingan Prof.Dr.Sumaryati Syukur, Prof.Dr.Sanusri Ibrahim, Dr. Djong Hon Tjong)

RINGKASAN

Studi epidemiologi telah menemukan beberapa faktor resiko yang berhubungan dengan peningkatan kasus kanker payudara termasuk diantaranya genetik, riwayat keluarga, riwayat reproduksi dan faktor lingkungan. Dalam banyak kasus, belum diketahui apa penyebab wanita dapat terserang kanker payudara. Faktanya, 75% dari semua wanita dengan kanker payudara tidak mempunyai pengetahuan mengenai faktor resiko. Tidak semua wanita mempunyai faktor resiko yang sama untuk terkena kanker payudara dalam hidupnya. Beberapa faktor resiko ini bersifat tidak reversibel tetapi beberapanya dapat dikendalikan.

Faktor resiko lain terutama terkait dengan perkembangan kanker payudara seperti telarche awal, menarche awal, dan usia akhir kehamilan pertama, yang semuanya mungkin berhubungan dengan peningkatan paparan estrogen. Peningkatan eksposur terhadap hormon estrogen akan meningkatkan resiko terjadinya kanker payudara. Akhirnya, tingginya asupan lemak juga meningkatkan resiko melalui peningkatan kadar estrogen.

Obesitas juga akan meningkatkan resiko kanker payudara karena sumber estrogen pada wanita post menopause berasal dari konversi androstenodion menjadi estron yang terjadi pada jaringan adiposa, karena itu obesitas berhubungan dengan eksposur estrogen jangka lama.

Germ line mutation gen BRCA1 sekitar 40%-45% dari sejumlah kanker payudara yang dapat diturunkan dan setiap anggota keluarga mempunyai insiden yang tinggi berkaitan dengan kanker payudara.

Pada penelitian saya sekarang ini dilakukan pemeriksaan Gen BRCA1 mutasi C61G dan pengaruh faktor - faktor resiko tambahan lainnya untuk terjadinya kanker payudara. Kondisi yang rusak, tereduksi atau tidak adanya gen ini merupakan salah satu keberadaan

dari sebagian tumor payudara. Proses proses ini mempengaruhi cell cycle checkpoints, transkripsi, protein ubiquitination, apoptosis dan DNA repair.

DNA genom yang diperoleh dari hasil isolasi, dengan menggunakan teknik PCR, fragmen-fragmen DNA genom yang ingin dianalisis dapat ditingkatkan kuantitasnya dengan cara diamplifikasi secara in vitro dalam waktu yang singkat dengan menggunakan pasangan primer oligonukleotida sintetik yang membatasi daerah yang akan diperbanyak.

Kualitas DNA hasil amplifikasi dengan teknik PCR dilihat dengan menggunakan tehnik elektroforesis gel agarose (konsentrasi 2%).

Selanjutnya dideteksi dengan menggunakan Gel Doc 1000 (BioRad, USA) untuk divisualisasi dengan sinar ultra violet. Polimorfisme Gen BRCA1 pada alel C61G ditentukan dengan analisis PCR-RFLP (tidak dilaksanakan) .

Polimorfisme gen BRCA1 pada alel C61G ditentukan dengan analisis Polymerase chain reaction (PCR) Sequencing. Produk hasil PCR sebanyak 20 μ L dipurifikasi menggunakan Na-asetat dan Etanol. selanjutnya produk di kirim ke Macrogen korea selatan, untuk dilakukan proses sequencing. Data hasil sequencing kemudian diolah menggunakan softwear Genious (contig, aligment dan multiple aligment) untuk mendapatkan data mutasi Single nucleotide Polimorphism (SNP) alel C61G.

Urutan Basa Nucleotida Gen BRCA1 untuk menentukan mutasi C61G dapat diunduh di NCBI (GeneBank National Center for Biotechnology/NSBI) dapat diakses dengan kode akses melalui website <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Pemilihan primer dengan memperhitungkan syarat suatu primer dengan memperhatikan letak polimorfisme alel C61G yang dapat dikenali oleh enzim restriksi AvaII. Pasangan primer terpilih mempunyai sekuen 5' - CTC TTA AGG GCA GTT GTG AG -3' untuk primer C61G (forward) dan 5' - TTC CTA CTG TGG TTG CTT CC -3' untuk primer C61G (reverse). Prinsip dasar amplifikasi DNA dengan menggunakan mesin PCR adalah sintesis DNA in vitro secara bireksional berulang melalui ekstensi sepasang primer oligonukleotida yang dirancang berdasarkan urutan nukleotida dari kedua rantai DNA yang diamplifikasi. Proses sintesis ini berlangsung dalam tiga tahap reaksi yang berulang sebanyak 35 siklus pada suhu yang berbeda, yaitu denaturasi, Anneling dan Elongasi.

Berdasarkan hasil uji statistik menunjukkan bahwa pada pasien kanker payudara kelompok umur < 50 Tahun menunjukkan kadar estradiol yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok umur > 50 tahun serta diikuti dengan kadar HDL kolesterol pada kelompok umur < 50 tahun lebih rendah dibandingkan dengan kelompok umur > 50 tahun. Kemudian dilanjutkan uji Chi-square dan didapatkan hasil $p < 0,05$ ($0,04 < 0,05$).

Berdasarkan penelitian sebelumnya di kota medan diketahui bahwa untuk pasien sehat sejumlah 120 orang telah terjadi perbedaan untuk kadar estradiol yang menurun secara bermakna antara kelompok umur 40-49 tahun dengan kadarnya $48,8 \pm 21$ pg/mL dan kelompok umur 50- 59 tahun kadarnya $8,6 \pm 4,2$ pg/mL .

Sedangkan pasien kanker payudara sejumlah 45 orang , didapatkan juga perubahan pada umur 40-49 tahun dan pada umur 50-59 tahun, dimana terjadi penurunan kadar estradiol dari umur 40- 49 tahun ($114,2 \pm 107,2$ pg/dL) ke umur 50-59 tahun ($33,4 \pm 43,98$ pg/dL). Sehingga terjadi perbedaan bermakna antara < 50 tahun dan > 50 tahun (premenopause dan menopause) .

Berdasarkan penelitian sebelumnya di kota medan diketahui bahwa untuk pasien sehat sejumlah yang sama dan pada sampel yang sama terjadi perbedaan untuk kadar HDL kolesterol yang menurun secara bermakna pada kelompok umur 30-39 tahun, 40-49 tahun dan 50-59 tahun dengan nilai kadarnya masing masing 56 ± 5 mg/dL, 52 ± 14 mg/dl dan 39 ± 15 mg/dl.

Sedangkan pada pasien kanker payudara sejumlah 45 orang didapatkan juga kadar HDL kolesterol pada kelompok umur 30-39 tahun ($32,2 \pm 15,8$ mg/dL), umur 40-49 tahun ($28,6 \pm 15,3$ mg/dL) dan umur 50-59 tahun ($25,9 \pm 21,6$ mg/dL) terjadi penurunan. Sehingga juga terjadi perbedaan bermakna antara kelompok umur < 50 tahun dan > 50 tahun (premenopause dan menopause).

Maka dari data tersebut diatas didapat kesimpulan bahwa ada korelasi antar kelompok umur 40-49 tahun dan kelompok umur 50-59 tahun terhadap terjadinya kanker payudara yang dikaitkan dengan penambahan umur dengan kandungan estradiol dan HDL- kolesterol ($p < 0.05$).

Penelitian sebelumnya tentang hormon reproduksi pada wanita sehat dengan sampel 120 orang kelompok umur 30 – 60 tahun didapatkan nilai nilai batasan untuk terjadinya masa mulainya menopause bahwa kadar hormonal estradiol menurun sejak umur 50 tahun dan juga nilai kadar FSH/LH > 1. Pada penelitian untuk sampel yang sama juga dilakukan pemeriksaan lipid profile dan ditemukan perubahan nilai kadar HDL-kolesterol yang menurun pada kelompok umur > 50 tahun berkaitan dengan masa menopause dan pasca menopause.

Pada kanker payudara jenis reseptor untuk positif ganda (ER+/PR+) kelompok umur 30-39 tahun dan 40-49 tahun dijumpai : 9 kasus, dimana yang tertinggi pada kelompok

umur 40-49 tahun. Untuk negatif ganda kelompok umur 30-39 tahun dan 40-49 tahun dijumpai : 7 kasus , dimanayang tertinggi pada kelompok 40-49 tahun.

Dari data tersebut diatas didapatkan kesimpulan bahwa tumor positif ganda ER+/PR+ dan tumor negatif ganda (ER-/PR-) lebih banyak ditemukan pada kelompok premenopause dibandingkan terhadap kelompok menopause.

Untuk HER-2/neu (+1) , kelompok umur 30-39 tahun dan 40-49 tahun dijumpai : 2 kasus

Untuk HER-2/neu (+2) , kelompok umur 30-39 tahun dan 40-49 tahun dijumpai : 1 kasus dan 2 kasus

Untuk HER-2/neu (+3) ,kelompok umur 30-39 tahun dan 40-49 tahun dijumpai : 13 kasus

Untuk HER-2/neu (+3), kelompok umur 50-59 tahun dan >60 tahun dijumpai : 7 kasus

Maka dapat disimpulkan bahwa :

- HER-2/neu (+1) pada kelompok premenopause > menopause
- HER-2/neu (+2) pada kelompok pre menopause < menopause
- HER-2/neu (+3) pada kelompok pre menopause > menopause

Untuk Grade I kelompok umur 30-39 tahun dan 40-49 tahun : 1 kasus

Untuk Grade I kelompok umur 40-49 tahun dan 50-59 tahun : 5 kasus

Untuk Grade II kelompok umur 30-39 tahun dan 40-49 tahun : 10 kasus

Untuk Grade II kelompok umur 50-59 tahun dan > 60 tahun : 9 kasus

Untuk Grade III kelompok umur 30-39 tahun dan 40-49 tahun : 3 kasus

Untuk Grade III kelompok umur 50-59 tahun dan > 60 tahun : 1 kasus

Dari data diatas tersebut ditemukan bahwa Grade II ditemukan pada semua kelompok umur dengan perbandingan premenopause > menopause.

Selanjutnya tahapan berikutnya adalah dilakukan pemeriksaan PCR DNA jaringan/darah kanker dan dilakukan sequencing. Berdasarkan analisa hasil sequencing tidak ditemukan mutasi atau polimorfisme pada SNP ini. Dari 35 sampel yang dianalisa, seluruhnya memiliki alel normal (*wild type*).

Sehingga disimpulkan dalam hasil penelitian ini bahwa dijumpai pada kelompok umur 40-60 tahun merupakan moment berkembangnya kanker payudara yang berhubungan dengan hormon estradiol yang menurun drastis dan HDL kolesterol yang menurun. Hal tersebut juga dapat berhubungan dengan kelompok usia < 50 tahun (premenopause) dibandingkan dengan kelompok usia > 50 tahun (menopause dan post menopause). Serta tidak dijumpainya mutasi BRCA1-C61G dalam penelitian ini disebabkan oleh karena adanya perbedaan tempat, ras, gaya hidup dan lingkungan di Sumatera Utara berbeda jauh dengan

Negara Eropa Timur dan orang Yahudi. Sehingga tidak dijumpainya mutasi BRCA1-C61G yang akan menjadikan terapi *cisplatin* dapat dilakukan pada pasien.

