



TEMILNAS II 2017

BIOMEDICAL SCIENCE ON ENVIRONMENT AND HUMAN DISEASES

Sertifikat

Diberikan kepada

Dessy Arisanty, S.Si., M.Sc.

Sebagai
PRESENTATOR ORAL

Analisis Hubungan Ekspresi Mikro RNA 10b (mir-10b) dengan Ekspresi Gen HOXD-10 dan PI3KCA pada

Kanker Payudara di Sumatera Barat
Medan, 23 - 24 November 2017

Aula Lantai 3 Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara

No. SKP : 168 /SKP 168/PW/IDI-SU/XII/2017

Peserta 8 SKP, Pembicara 8 SKP, Moderator 2 SKP, Panitia 1 SKP

Dekan

Fakultas Kedokteran
Universitas Sumatera Utara

Dr. dr. Aldy Safruddin Rambe, Sp.S(K)

Ketua Panitia

Dr.med. dr. Yahwardiah Siregar

ANALISIS HUBUNGAN EKSPRESI MIKRO RNA-10B DENGAN EKSPRESI GEN HOXD-10 DAN PI3KCA JARINGAN KANKER PAYUDARA DISUMATERA BARAT

DESSY ARISANTY
YANWIRASTI
WIRSMARIF HARAHAP

Fakultas Kedokteran
Universitas Andalas
Padang

*** LATAR BELAKANG**

Kanker payudara merupakan kasus kanker yang paling sering ditemukan pada wanita (Lixey et al., 2015)

Kanker Payudara

Tahun 2013 : dari 1,7 juta kasus kanker payudara terdapat 521.900 kematian (Global Health Estimates, WHO 2013).

Female	Female	Female
World 1.6.84.000 Latin & Caribbean 984.500 1.842.000	Female 784.000 Latin & Caribbean 984.000 267.000	Female 882.000 Caribbean 843.500 378.500
Latin America & the Caribbean 984.500	Latin America & the Caribbean 984.000	Latin America & the Caribbean 843.500
Europe 221.200	Europe 93.800	Europe 183.800
North America 372.500	North America 95.800	North America 225.500
Asia 223.500	Asia 95.100	Asia 197.500
Africa 223.500	Africa 95.100	Africa 197.500
South America 223.500	South America 95.100	South America 197.500
Non-Hispanic Whites 146.500	Non-Hispanic Whites 94.500	Non-Hispanic Whites 146.500
Hispanic 77.000	Hispanic 77.000	Hispanic 77.000
Black 4.400	Black 4.400	Black 4.400
Asian 4.400	Asian 4.400	Asian 4.400

Dunia Negara maju Negara Berkembang

Globocan 2013

Benua Asia < Benua Eropa. Sekarang angka kejadiannya dua dekade terakhir : 38 per 100.000 wanita. (Globocan 2013)

Di Asia tenggara, Indonesia : 48.998 yaitu sebesar 40,3 per 100.000 penduduk dan 19.750 kasus kematian diikuti oleh Philipina dengan insiden 18,327 dan 6.621 kasus kematian (Youlden et al., 2014)

Setiap tahunnya 100 kasus baru / 100.000 penduduk.

Faktor Resiko yang telah ditentukan :

- Usia Tua (> 50 tahun)
- Faktor Reproduksi (Nulipara, menarche dini dan menopause lambat)
- Gemuk
- Riwayat keluarga
- Ekonomi bagus
- Konsumsi Alkohol

Faktor Resiko yang telah ditemukan di Sumatera Barat :

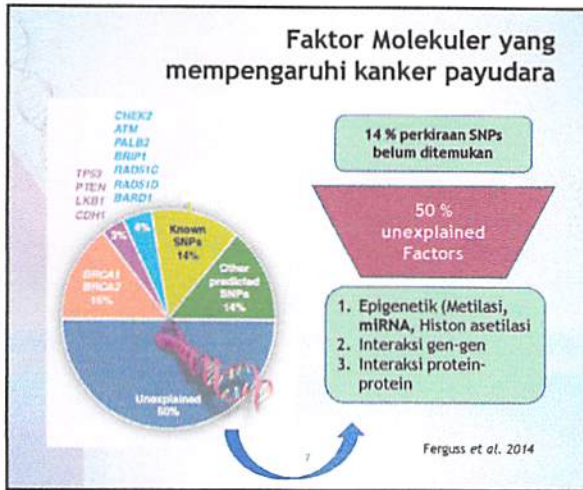
- Usia muda (25 - 45 tahun)
- Faktor Reproduksi (multipara, pre-menopause, menyusukan anak)
- Tidak ada riwayat keluarga
- Ekonomi kurang mampu
- Tidak mengkonsumsi Alkohol

Kanker payudara : penyakit heterogen dalam hal histologi, respon terapi, pola penyebaran, ekspresi gen. Hasil heterogen tergantung pada

- Usia
- Kelompok bangsa /Ras/Etnis
- Individu : Biokimia tubuh

(Alex and Perou, 2011)

Diagnosis Preventif Prognosis Berbeda

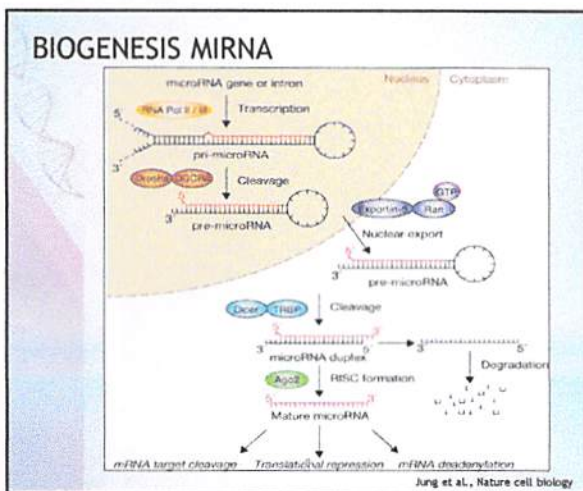


EPIGENETIK

Perubahan fenotip atau ekspresi gen yang disebabkan oleh mekanisme tertentu tanpa merubah sekuens DNA

RUANG LINGKUP EPIGENETIK

- DNA metilasi : 60% metilasi pada promotor BRCA1 pada kanker payudara di Sumatera Barat (Harahap et al., 2015)
- Modifikasi Histon
- sRNA : miRNA



miR-10b

- Ditemukan tahun > 2000
- miR-10b meregulasi ekspresi dari HOXD10 pada kanker payudara dan ovarium. Kehilangan fungsi HOXD10 dipicu oleh perubahan dari miR-10b. (Ma, 2010 ; Nakayama et al., 2013)
- MicroRNA-10b mencetuskan migrasi dan invasi pada kanker kantong kemih melalui ekspresi KLF4 dan HOXD1 (Xiao et al., 2014)
- miR-10b sebagai oncogenic miRNA (Hacer et al., 2013)
- miR-10b : regulasi proses metastasis pada sel kanker payudara. (Ryou et al., 2015)

10

Regulasinya miR-10b.

↓

Penelitian : ntuk melakukan penghambatan anti miRNA onkogenik (dengan *mimic miR. antioncomiR*) ataupun stimulasi pada gen target tumor suppressor

↓

Next target terapi gen

11

PERBANDINGAN BIOLOGI MOLEKULER

A Conventional understanding of molecular biology

DNA → transcription → mRNA → translation → protein

B Recent understanding of molecular biology

DNA ↔ mRNA ↔ protein ↔ Regulatory (e.g. miRNAs, siRNAs, lncRNAs)

C

12

Micro RNA

- Bagian dari small RNA
- Urutan nucleotida 22-25 nukleotida
- Meregulasi 35% dari produk gen manusia
- 1 miRNA memiliki target lebih dari 2 dan beberapa mRNA
- "Kita dapat merubah fonotip dari suatu organisme dengan memodifikasi 1 single miRNA (Thomas Wurdinger, HMS)
- Targetnya adalah mRNA : didegradasi atau dihambat translasi
- miRNAs meregulasi 30-60% ekspresi protein pada gen yang mengkodekan protein di manusia (Griffiths et al., 2008)

13

MiRNA berdasarkan kerjanya

Oncogenic miRNAs

Called "oncogenic" promote tumor development by negatively inhibiting tumor suppressor genes and/or genes that control cell differentiation or apoptosis

Some of them: miR-21, miR-17, miR-22, miR-221

Tumor suppressor miRNAs

Target of them is oncogenes in cell differentiation, invasion, apoptosis, proliferation, metastasis

Some of them: Let-7 family, miR-34a, miR-34c, miR-3205, miR-200

14

REGULASI MIKRO RNA

15

16

TARGET MiR-10B

MIRTarBase

17

Tujuan Penelitian

Menganalisa hubungan micro RNA-10b dengan ekspresi gen HOXD-10 , PI3KCA dalam tumorigenesis kanker payudara di Sumatera Barat.

18

METODE PENELITIAN

Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Kriteria inklusi

Jaringan kanker payudara dari penderita usia 30 - 50 tahun .

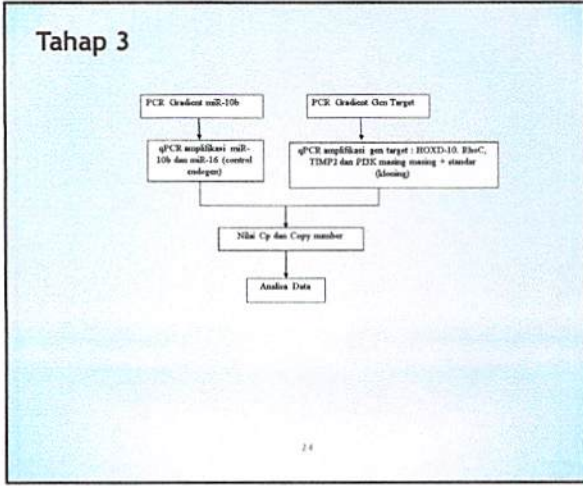
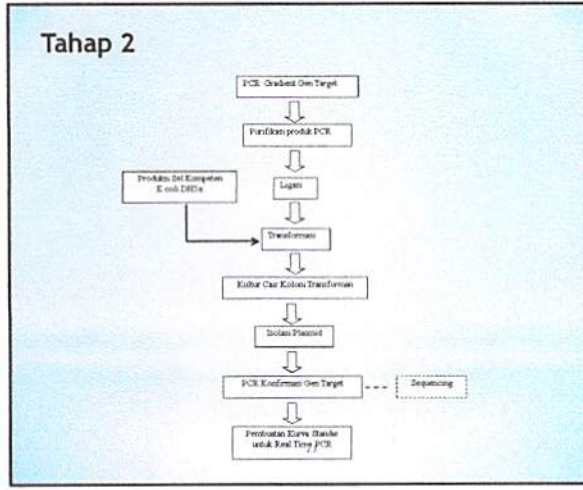
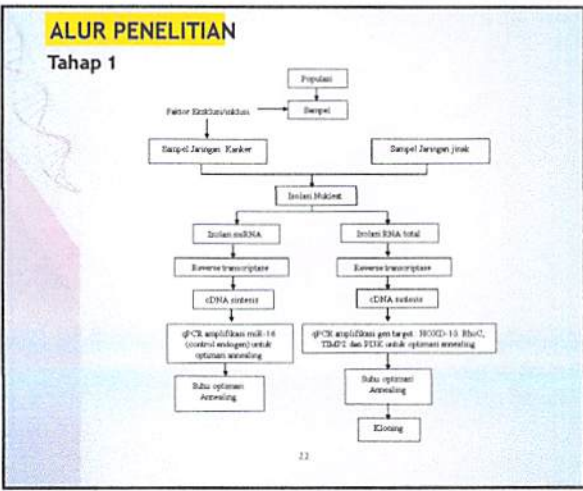
Kriteria eksklusi

- Wanita penderita kanker payudara usia post menopausal (> 50 thn)
- Jaringan kanker payudara pada wanita hamil / menyusui.
- Jaringan kanker payudara pada pria.

Klasifikasi variabel

Variabel bebas terdiri dari :
Ekspresi miR-10b

Variabel bergantung terdiri dari :
 • Ekspresi gen HOXD-10
 • Ekspresi gen PI3K



ANALISA DATA

Bivariat

- Untuk melihat beda rerata antara kelompok jaringan kanker payudara dengan tumor jinak dengan uji *t-test* dengan derajat kemaknaan 95% ($p < 0,05$).
- Untuk melihat hubungan antara variabel independen (miR-10b) dengan variabel dependen (gen target) dengan korelasi dari ekspresi variabel independen (miR-10b) dengan variabel dependen (ekspresi gen HOXD-10, dan PI3K) dengan menggunakan hubungan korelasi *Pearson*.

35

Teknik Pengambilan sampel

Sampel pada penelitian ini diambil secara consecutive sampling berdasarkan kriteria tertentu dari data BioBank yang ditetapkan sehingga jumlah sampel yang dikehendaki terpenuhi.

Bahan dan Instrumen Penelitian

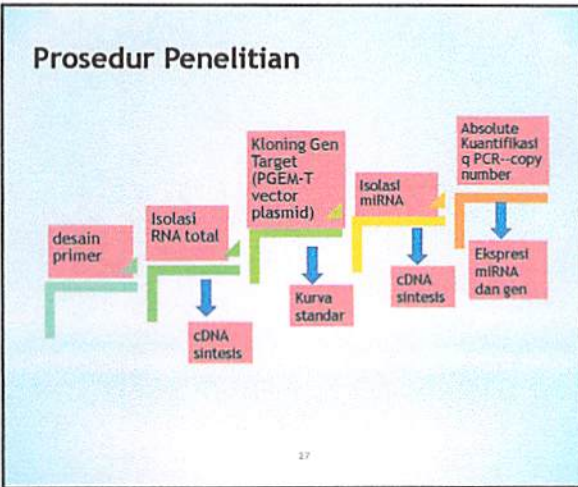
Bahan Penelitian

- Kit isolasi RNA total untuk Jaringan: Ambion
- Kit isolasi miRNA dari RNA total : GenAids
- Kit Iscript cDNA sintesis : Biorad, USA
- Primer : miR-10b (Exiqon)
- Evagreen PCR amplification kit : Biorad
- Primer : miR-16 (kontrol endogen : excon)
- Primer gen HOXD-10
- Primer gen RhoC
- Primer gen TIMP2
- Vektor pGEMT-esay
- Bahan/regent kloning

Instrumen Penelitian

- Deep freeze freezer -80C
- Mikro Pipet
- Neraca analitik digital Sartorius
- Centrifuge : 15000 rpm
- Water Bath
- Shaker
- Heat Block
- NanoDrop
- Micro tube
- PCR tube
- Mesin PCR thermal cycler C.1000
- Mesin Real time- PCR
- GelDoc Elektroforesis
- Software Genious

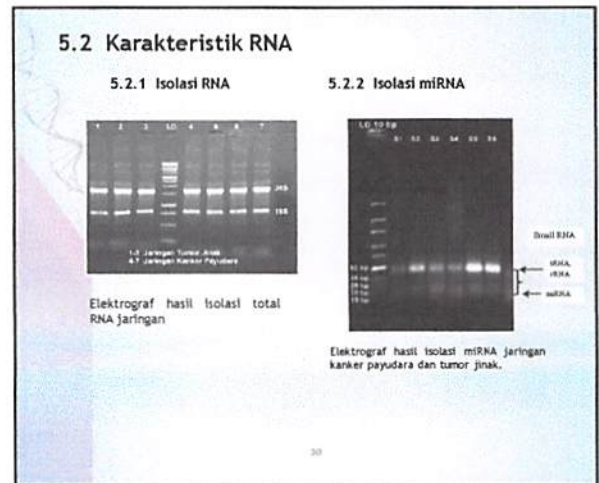
36



Karakteristik subjek penelitian

No	Kriteria	Jaringan Kanker Payudara (n)	Jaringan Tumor Jinak (n)
1	Umur	35 - 50 tahun	< 35 tahun
2	Hasil PA		
	Grade 1	2	0
	Grade 2	27	0
	Grade 3	1	0
4	Metastasis	2	-
5	Non Metastasis	28	-

39



Hubungan Ekspresi miR-10b dengan gen target langsung HOXD-10 dan PI3K

Hubungan Ekspresi miR10b dengan ekspresi gen HOXD-10

Variables	miR10b (r)	HOXD-10 (r)
miR-10b	1	-0,124
HOXD-10	-0,124	1

Hubungan Ekspresi miR10b dengan ekspresi gen PI3KCA

Variables	miR 10b (r)	PI3KCA (r)
miR-10b	1	0,195
PI3KCA	0,195	1

37

PEMBAHASAN

38

1 Karakteristik Subjek Penelitian

- Jaringan yang digunakan sebagai subjek penelitian ini sudah merupakan karakter yang khas dari penderita pasien yang ada di Sumatera Barat (Harahap, 2015).
- sampel jaringan yang diambil merupakan grade II sebesar 90%.
- Grading tumor secara histopatologi didasarkan pada derajat diferensiasi dari jaringan tumor dan bagaimana kondisi abnormal sel-sel tumor (Rakha, et. al., 2010).
- Jaringan pada penelitian ini sebagian besar merupakan jaringan yang belum mengalami metastasis
- Dua jaringan yang sudah bermetastase ke organ lainnya

2 Perbedaan Ekspresi miR-10b antara jaringan kanker payudara dengan jaringan tumor jinak di Sumatera Barat

Ekspresi miR-10b pada Jaringan kanker payudara < Jaringan tumor jinak

- Jaringan kanker payudara primer/tumor primer
- Belum mengalami metastasis

39

3. Perbedaan ekspresi HOXD-10 antara jaringan kanker payudara dengan jaringan tumor jinak.

Ekspresi gen HOXD-10 pada Jaringan kanker payudara < Jaringan tumor jinak

- Jaringan tumor primer
- Grade 2 (90%) :

5. Perbedaan ekspresi PI3KCA antara jaringan kanker payudara dengan jaringan tumor jinak

Ekspresi dari gen PI3KCA pada Jaringan kanker payudara > tumor jinak

- Sel kanker payudara sedang mengalami proliferasi
- Kehilangan fungsi dari gen PTEN

40

KESIMPULAN

- Ekspresi miR-10b jaringan kanker payudara < ekspresi miR-10b pada Jaringan tumor jinak
- Ekspresi gen HOXD-10 pada Jaringan kanker payudara < dibanding Jaringan tumor jinak
- Ekspresi gen PI3KCA pada Jaringan kanker payudara > dibanding pada Jaringan tumor jinak,
- Terdapat hubungan yang lemah antara ekspresi miR-10b dengan ekspresi gen HOXD-10 dan PI3KCA pada Jaringan kanker payudara dengan karakter sampel jaringan di Sumatera Barat.

41



Terima kasih

42