



Metilasi *Promoter* Gen BRCA1 dan Pengaruhnya terhadap Karakteristik Kanker Payudara Premenopause Sporadik Etnis Minang

Wirisma Arif Harahap,¹ Dessy Arisanty,² Daan Khambri,¹ Yanwirasti,³ Sofia Mubarika⁴

¹Divisi Bedah Tumor, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas / RS M Jamil Padang, Padang,

²Bagian Biokimia / Lab Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang,

³Bagian Anatomi / Lab Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang,

⁴Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

ABSTRAK

Karsinoma payudara sporadik merupakan kanker yang paling sering pada wanita premenopause etnis Minang. Terdapat perbedaan faktor risiko dan karakteristik tumor jika dibandingkan dengan pasien Kaukasian. Diduga faktor metilasi pada *promoter* BRCA1 (*Breast Cancer gene 1*) berperan dalam kejadian ini. Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan kejadian metilasi *promoter* gen BRCA1 pada pasien kanker payudara premenopause sporadik etnis Minang. Penelitian menggunakan metode deskriptif analitik, pemeriksaan metilasi dengan teknik Bisulfit PCR pada *promoter* gen BRCA1 pada 43 jaringan kanker payudara sporadik usia premenopause etnis Minang yang diobati di RS M Jamil, Padang. Faktor prognosis yang diperiksa adalah stadium, gradasi tumor, indeks mitosis, dan pemeriksaan imunohistokimia (Er,Pr,HER2,Ki67). Didapatkan 35 pasien kanker payudara yang memenuhi syarat, dengan perincian: 17,2% stadium II, 71,4% stadium III, dan 11,4% stadium IV. Subtipe adalah Luminal A 16 orang (17,1%), Luminal B 9 orang (25,7%), HER2 (*Human Epidermal Receptor 2*) 3 orang (8,6%) dan TNBC 17 orang (48,6%). Metilasi pada jaringan kanker didapatkan pada 21 pasien (60%). Metilasi berhubungan dengan derajat proliferasi tinggi (Ki67 >14%), stadium lanjut, dan subtipe jenis TNBC (*Triple-Negative Breast Cancer*). Kanker payudara dengan metilasi pada *promoter* gen BRCA1 memiliki prognosis lebih buruk. Perlu penelitian lebih lanjut untuk melihat dampak klinis obat anti-metilasi pada penderita kanker payudara dengan metilasi pada *promoter* BRCA1.

Kata kunci: Kanker payudara sporadik premenopause, etnis minang, metilasi BRCA1

ABSTRACT

Sporadic breast carcinoma is the most common cancer among premenopausal Minang ethnic women. There are differences of risk factors and tumor characteristics compared with Caucasian patients. It was assumed that promoter methylation in BRCA1 plays a role in this differences. This descriptive analytic study aimed to describe the incidence of promoter methylation in the BRCA1 gene in sporadic premenopausal ethnic Minang breast cancer patients. This research used methylation with bisulfate PCR technique method in the BRCA1 promoter in 43 sporadic premenopausal ethnic Minang breast cancer patients at M Djamil Hospital Padang. Stage, tumor grading, mitotic index, and immunohistochemical examination (Er, Pr, HER2, Ki67) are examined prognostic factor. Among eligible 35 breast cancer patients, 17.2% are stage II, 71.4% are stage III and 11.4% are stage IV. Cancer subtypes were Luminal A in 16 patients (17.1%), Luminal B in 9 patients (25.7%), HER2 in 3 patients (8.6%), and TNBC in 17 patients (48.6%). Methylation in cancer tissue was found in 21 patients (60%). Methylation associated with a high degree of proliferation (Ki67>14%), advanced stage and type of TNBC subtypes. Breast cancer with promoter methylation in the BRCA1 gene have a worse prognosis. Further research is needed to study the clinical impact of antimethylation in breast cancer patients with BRCA1 promoter methylation. **Wirisma Arif Harahap, Dessy Arisanty, Daan Khambri, Yanwirasti, Sofia Mubarika. Methylated Promoter Gen BRCA1 and Its Influence on Characteristics of Premenopausal Sporadic Breast Cancer among Minang Ethnic Patients.**

Keywords: Sporadic premenopausal breast cancer, Minang ethnic, BRCA1 methylation

PENDAHULUAN

Kanker payudara menempati urutan pertama pada pasien rawat inap di seluruh rumah sakit di Indonesia (16, 85%), disusul kanker serviks (11,78%) (Risksdas, 2007). Di Indonesia, setiap tahun terdapat 39.831

kasus baru dengan angka kejadian 26 kasus per 100.000 wanita. Pada tahun 2009 kanker payudara (KPD) merupakan penyebab terbanyak kematian akibat penyakit kanker pada wanita yang dirawat di rumah sakit.¹ Insiden kanker payudara etnis Minang yang

dirawat di RS M Djamil Padang juga meningkat, pada tahun 2013 kanker payudara merupakan jenis kanker yang paling sering dirawat di RS M Jamil Padang dan merupakan penyebab kematian akibat kanker paling sering pada wanita.

Alamat korespondensi email: wirisma_arif@yahoo.com



HASIL PENELITIAN

Secara biomolekuler, kanker payudara merupakan penyakit akibat mutasi gen yang dipicu oleh multifaktor seperti faktor diet, faktor lingkungan, dan faktor keturunan yang dikenal sebagai faktor risiko. Terdapat beberapa faktor risiko pasti, seperti usia (lebih dari 50 tahun), faktor reproduksi (nulipara, menarke dini, menopause terlambat), riwayat keluarga, riwayat tumor jinak. Terdapat juga beberapa faktor risiko yang belum dapat dipahami seluruhnya, seperti malnutrisi, konsumsi alkohol, tidak berolahraga, radiasi, dan mendapat terapi hormonal.² Namun, hampir sebagian besar faktor risiko di atas tidak ditemukan pada penderita kanker payudara (KPD) etnis Minang dengan karakteristik berasal dari ekonomi tidak mampu, usia puncak 47,5 tahun, tidak gemuk, multipara, menyusukan anak, menikah sebelum usia 25 tahun, dan tidak mengkonsumsi alkohol itu. Ingin dilihat lebih lanjut apakah terdapat faktor risiko kanker payudara lain pada etnis Minang. Salah satu faktor yang diduga adalah pengaruh hilangnya ekspresi gen tumor supresor.

Salah satu gen tumor supresor yang memiliki peranan penting dalam karsinogenesis KPD adalah BRCA1 (*Breast Cancer gene 1*). Protein BRCA 1 memiliki peranan mempertahankan stabilitas genome melalui fungsi seluler, seperti pada transkripsi gen, respons terhadap kerusakan DNA, regulasi siklus sel, dan ubiquitinisasi. Inaktivasi gen BRCA1 mengganggu stabilitas gen, terutama terjadi pada KPD dan kanker ovarium.^{3,4} Inaktivasi gen BRCA1 ini dapat terjadi secara herediter, yaitu mutasi susunan gen (diturunkan dalam generasi selanjutnya) dan dapat juga sporadik: susunan gen BRCA1 pada dasarnya tetap, namun terdapat metilasi pada CpG Island pada lokasi promoter BRCA1. Hipermetilasi fokal pada daerah ujung 5'CpG island menyebabkan gen tersebut tidak ditranskripsikan. Jadi, perubahan profil metilasi DNA dapat memicu timbulnya KPD sporadik tanpa perubahan susunan basa pada gen BRCA1.⁵

Kultur sel manusia dengan BRCA1 mutan menunjukkan sel tersebut sangat sensitif terhadap radiasi dan terjadi kecacatan / ketidaksempurnaan dalam *transcription coupled repair*. *Double strand break repair* BRCA1 berhubungan dengan fungsi DNA repair dari BRCA2. Hal ini terlihat dari

Tabel 1. Klasifikasi sub tipe kanker payudara berdasarkan pemeriksaan imunohistokimia (modifikasi Perou)⁹

	ER	PR	HER	KI67
Luminal A	+	+	-	<14%
Luminal B	+/-	+/-	-	>14%
HER2	+/-	+/-	+++	>14%
Triple Negative	-	-	-	>14%

hubungan antara fosforilasi BRCA1 melalui *CHK2 checkpoint gene* (Chk2) dan *Ataxia Telangiectasia Mutated* (ATM). BRCA1 memiliki bagian subnukleus yang dikenal sebagai RAD 51, suatu homolog DNA raji yang berfungsi sebagai *checkpoint gene* yang berperan pada rekombinasi homolog dan *double strand break repair*.⁵

Secara sederhana, dapat dikatakan bahwa metilasi DNA merupakan suatu proses epigenetik yang dapat mempengaruhi ekspresi gen melalui penambahan satu gugus metil pada posisi karbon ke 5 sitosin pada dinukleotida CpG. Pada genom vertebrata, sekuen dinukleotida CpG telah berkurang sampai 20% dari yang diduga sebelumnya akibat proses evolusi. Dari jumlah tersebut, lebih dari 70% telah mengalami metilasi. Penelitian pada manusia menunjukkan distribusi CpG pada gen manusia tidak bersifat acak dan pada beberapa lokasi gen menunjukkan adanya kelompok CpG berlebihan yang dikenal dengan *CpG island* yang terutama berlokasi pada daerah promoter gen dan regio ekson 1.⁷

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metilasi promoter BRCA1 dan hubungannya dengan faktor prognostik kanker payudara sporadik premenopause pada etnis Minang.

Metode Penelitian

Pada penelitian ini, kriteria inklusi adalah wanita dengan kanker payudara (KPD) yang berusia 30 – 50 tahun, tidak memiliki keluarga dekat menderita KPD ataupun tumor ganas ovarium, etnis Minang, dan setuju mengikuti penelitian ini. Pasien KPD yang hamil / laktasi, KPD pria, menderita DM atau penyakit sistemik, tidak diikutsertakan dalam penelitian ini.

Seluruh sampel menjalani pemeriksaan histopatologi untuk menentukan jenis karsinoma, gradasi, tingkat mitosis yang merujuk pada standar diagnosis WHO

tahun 2012.⁸ Pemeriksaan imunohistokimia juga dilakukan pada seluruh sampel untuk tingkat ekspresi reseptor estrogen, reseptor progesteron, ekspresi onkogen HER2, dan tingkat proliferasi dengan memeriksa ekspresi KI67. Dari pemeriksaan imunohistokimia tersebut dapat ditentukan sub tipe kanker payudara (tabel 1).

Jaringan yang diperoleh diekstraksi DNANYa. Untuk menentukan status metilasi DNA, dilakukan *Methylation specific PCR* yang digunakan untuk membedakan allel BRCA1 yang termetilasi dan tidak termetilasi. Sekuen primer untuk 86 bp yang tidak termetilasi adalah 5'-TTGGTTTTTGTGGTAATGGAAGGTGT (sense) dan 5'-CAAAAAATCTCAACAACTCACACCA; dan untuk 75 bp reaksi DNA termetilasi 5'-TCGTGGTAACGGAAAGCGC (sense) dan 5'-AAATCTCAACGAAGCTCACGCC. Kondisi amplifikasi meliputi *start* awal pada suhu 95°C (5 menit) untuk melelehkan sampel agarose, kemudian 5 siklus pada suhu 95°C (45 detik), 62°C (2 menit), 72°C (2 menit) kemudian diikuti dengan 25 siklus pada suhu 95°C (45 detik), 62°C (1 menit), 72°C (1 menit) diikuti dengan inkubasi 72°C selama 8 menit menggunakan *Taq polymerase* (Invitrogen, LaJolla, CA). Aliquots ditambahkan pada setiap PCR ke dalam 10% gel *polyacrylamide*, diwarnai dengan *ethidium bromide* dan dilihat dengan sinar UV.

Hasil dan Diskusi

Dari 43 pasien yang memenuhi syarat hanya 35 subjek yang memiliki data lengkap untuk analisis. Usia rata-rata 42,7 tahun, median 45 tahun, dan SD 5,8. Rentang usia paling banyak adalah pada usia 41 – 50 tahun (62,9%). Usia paling muda pada penelitian ini didapatkan 31 tahun. Sebagian besar pasien datang pada stadium lanjut lokal (IIIB) 54,3%, 4 pasien (11,5%) datang dalam stadium IV. Data karakteristik pasien dapat dilihat pada tabel 2.

Jika dibandingkan dengan data stadium kanker payudara di Indonesia, hasil penelitian

HASIL PENELITIAN

Tabel 2. Karakteristik sampel kanker payudara premenopausal sporadik etnis Minang

	Variabel Subjek	n	%
Usia Penderita	40-50 tahun	22	62,9
	<40 tahun	13	37,1
Stadium	IIA	3	8,6
	IIB	3	8,6
	IIIA	6	17,1
	IIIB	19	54,3
	IV	4	11,4
Jenis Histopatologi	Karsinoma Duktal Invasif	26	74,3
	Karsinoma Lobular Invasif	7	20
	Karsinoma Musinosum	1	2,9
	Karsinoma Medular	1	2,9
Derajat Diferensiasi	Diferensiasi Baik	2	5,7
	Diferensiasi Sedang	17	48,6
	Diferensiasi Buruk	16	45,7
Mitosis	Ringan	5	14,3
	Sedang	22	62,9
	Berat	8	22,8

ini hampir sama, yaitu sebagian besar berobat dalam stadium lanjut. Di RS Kanker Dharmais, Jakarta, pasien yang berobat pada stadium I sebesar 6%, stadium II 18%, stadium III 44%, dan stadium IV 32%. Aryandono (2006) mendapatkan stadium kanker payudara yang berobat di Yogyakarta pada stadium III sebesar 48,2% dan stadium IV 7,1%.¹¹ Karena sebagian besar pasien kanker payudara di Indonesia berobat dalam stadium lanjut, hal ini merupakan masalah karena penatalaksanaan kanker payudara stadium lanjut memerlukan biaya tinggi dan tidak kuratif.

Pada penelitian ini didapatkan sebagian besar tipe karsinoma duktal invasif (26 kasus -74,3%), serupa dengan di Yogyakarta (2006), yaitu jenis histologis terbanyak karsinoma duktal invasif (78%), diikuti karsinoma lobular invasif (9%), karsinoma meduler (4%), karsinoma musinosa (koloid) (3%), dan tipe-tipe lain (6%).¹¹

Sebagian besar (94,3%) merupakan karsinoma dengan derajat diferensiasi sedang sampai buruk, derajat diferensiasi baik hanya terdapat pada 2 kasus (5,7%). Demikian juga indeks mitosis ringan hanya didapatkan pada 5 pasien (14,3%), sebagian besar kasus mengalami mitosis sedang sampai berat (83,7%). Dari karakteristik di atas dapat disimpulkan bahwa sebagian besar penderita KPD sporadik etnis

Minang memiliki prognosis kurang baik, karena sebagian besar merupakan jenis karsinoma intraduktal, derajat proliferasi sedang sampai buruk, memiliki indeks mitosis tinggi, dan datang dalam stadium lanjut.

Kanker sejak lama dipandang sebagai penyakit yang disebabkan oleh perubahan genetik dan perubahan epigenetik yang progresif. Beberapa penelitian membuktikan bahwa inisiasi dan progresi beberapa jenis kanker diatur oleh perubahan modifikasi epigenetik pada pola ekspresi gen melalui mekanisme selain perubahan susunan basa DNA. Mutasi herediter akibat mutasi gen BRCA1 diperkirakan sebesar 20% yang menyebabkan inaktivasi somatik pada alel normal kedua, biasanya *Loss of Heterozygote* (LOH) yang menyebabkan tidak dihasilkannya protein BRCA1 yang lengkap dan mRNA.¹²

Pemeriksaan metilasi melalui metode Bisulfit PCR pada penelitian ini mendapatkan 21 subjek (60%) yang mengalami metilasi pada *promoter* BRCA1. Berarti tidak semua sel kanker payudara pada pemeriksaan status metilasinya positif atau tidak semua selnya mengalami metilasi. Hal ini diperkuat pada pemeriksaan elektroforesis setiap sampel, walaupun didapat *band* yang menunjukkan metilasi gen positif (60%), tetapi disisi lain juga terdapat *band* yang menunjukkan adanya gen tidak termetilasi pada BRCA1. Ini menunjukkan bahwa *silent* atau tidak aktifnya gen *BRCA1* pada perkembangan kanker tidak hanya karena proses epigenetik atau proses genetik (mutasi gen) saja, akan tetapi berbagai mekanisme lain dapat terjadi bersama-sama, seperti peran mikro RNA (*miRNA*), RNA dengan rantai nukleotid pendek yang panjangnya kurang dari 22 basa nukleotid akan menghentikan proses translasi mRNA jika protein hasil translasi gen sudah tidak diperlukan lagi dengan cara berikatan dengan mRNA, sehingga mRNA akan *silent* atau mengalami degradasi.

Hasil pemeriksaan metilasi pada KPD sporadik premenopause etnis Minang ternyata lebih tinggi jika dibandingkan dengan hasil pemeriksaan peneliti lain (20 – 40%). Yang, dkk. melaporkan kejadian metilasi pada *promoter* sel kultur kanker payudara pada sekitar 20 – 30% sel kultur,¹³ Martos, dkk., melaporkan kejadian metilasi sebesar 21% dari 75 jaringan kanker



payudara.¹² Sedangkan Xinran, dkk. melaporkan angka metilasi 59% pada populasi di China.¹⁴ Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai penyebab tingginya metilasi *promoter* BRCA1 pada kanker payudara sporadik premenopause etnis Minang. Hasil elektroforegram hasil Bisulfit PCR terlihat pada gambar 1.

Pada tabel 3, frekuensi metilasi dihitung berdasarkan usia pasien; frekuensi metilasi pada *promoter* gen BRCA1 sebanyak 21 dari 35 jaringan kanker (60%). Metilasi paling sering terjadi pada kelompok usia 40 – 50 tahun, yaitu sebesar 40% kasus. Hal ini sesuai dengan teori salah satu penyebab metilasi DNA adalah akibat pertambahan usia. Perubahan berkaitan dengan umur dalam proses biokimia yang dikenal sebagai metilasi DNA bisa meningkatkan risiko kanker pada wanita yang lebih tua.

Jenis histopatologi yang mengalami metilasi terbanyak adalah jenis karsinoma duktal, yaitu sebesar 48,6% dan sebagian besar karsinoma non-duktal tidak mengalami metilasi (14,3% vs 11,4%). Tipe histopatologi merupakan salah satu faktor prognostik yang penting; termasuk prognosis sangat baik adalah *cribriform*, *tubular*, *tubulolobular*, dan musinus dengan *survival* 10 tahun >80%; prognosis baik adalah *mixed tubular*, *mixed ductal*, medular atipik, *lobular alveolar* dengan prognosis 60 – 80% dalam 10 tahun; prognosis buruk adalah *ductal*, campuran *ductal* dan *lobular*, serta *lobular* dengan *survival* 10 tahun kurang dari 50%, dan terakhir adalah prognosis sangat buruk, yaitu karsinoma payudara inflamatoar dengan *survival* 10 tahun kurang dari 30%.¹⁵ Adanya metilasi pada *promoter* BRCA1 memiliki pengaruh terhadap prognosis kanker payudara sporadik premenopause pada etnis Minang.



Gambar 1. Hasil pemeriksaan bisulfit PCR untuk metilasi pada *promoter* gen BRCA1



HASIL PENELITIAN

Tabel 3. Metilasi *promoter* BRCA1 dan karakteristik kanker payudara sporadik permenopause

Variabel	Metilasi +	Metilasi -	Total
Usia < 40 tahun	7(20%)	4 (11,4%)	11 (31,4%)
Usia 40-50 tahun	14 (40%)	10 (28,6%)	24 (68,6%)
Karsinoma Duktal Invasif	17 (48,6%)	9 (25,7%)	26 (74,3%)
Karsinoma Non-Duktal	4 (11,4%)	5 (14,3%)	9 (25,7%)
Diferensiasi baik	2 (5,7%)	0 (0%)	2 (5,7%)
Diferensiasi sedang-buruk	19 (54,3%)	14 (40%)	33 (94,3%)
Mitosis ringan	5 (14,3%)	0 (0%)	5 (14,3%)
Mitosis sedang - berat	16 (45,7%)	14 (40%)	30 (85,7%)
Stadium dini (I-II)	4 (11,4%)	2 (5,7%)	6 (17,1%)
Stadium lanjut (III-IV)	17 (48,6%)	12 (34,3%)	29 (82,9%)

Tabel 4. Metilasi *promoter* BRCA1 dan hasil pemeriksaan imunohistokimia

Variabel	Metilasi +	Metilasi -	Total	p
ER +	10 (28,6%)	3 (8,6%)	13 (37,2%)	0.112
ER -	11 (31,4%)	11 (31,4%)	22 (62,8%)	
PR +	4 (11,4%)	4 (11,4%)	8 (22,8%)	0.398
PR -	17 (48,6%)	10 (28,6%)	27 (77,2%)	
HER2 +++	2 (5,7%)	2 (5,7%)	4 (11,4%)	0.530
HER2 -	19 (54,3%)	12 (34,3%)	31 (8,6%)	
Ki67 >14 %	9 (25,7%)	11 (31,4%)	20 (57,1%)	0.039
Ki67 < 14%	12 (34,3%)	3 (8,6%)	15 (42,9%)	

Tabel 5. Hasil pemeriksaan metilasi pada masing – masing sub tipe kanker payudara

Subtipe	Metilasi+	Metilasi -	Total
Luminal A	4 (11,4%)	2 (5,7%)	6 (17,1%)
Luminal B	6 (17,1%)	3 (8,6%)	9 (25,7%)
HER2	1 (2,9%)	2 (5,7%)	3 (8,6%)
TNBC	10 (28,6%)	7 (20%)	17 (48,6%)
	21(60%)	14 (40%)	35 (100%)

Pemeriksaan tingkat diferensiasi sel kanker memperlihatkan bahwa metilasi *promoter* gen BRCA1 terjadi pada sebagian besar pasien dengan diferensiasi sedang sampai buruk (19/35 – 54,3%) subjek dibandingkan dengan metilasi pada diferensiasi baik hanya sebesar 5,7%. Demikian juga dengan tingkat mitosis, pasien dengan metilasi sebagian besar mengalami mitosis sedang dan berat (45,7%), hanya 14,3% dengan metilasi mengalami mitosis ringan. Sebanyak 29 subjek (82,9%) datang dalam stadium lanjut dan 17 (48,6%) diantaranya dengan metilasi pada *promoter* BRCA1. Terlihat bahwa kejadian metilasi pada *promoter* BRCA1 memiliki hubungan dengan stadium, makin tinggi stadium kanker payudara, kejadian metilasi makin tinggi.

Pemeriksaan imunohistokimia saat ini merupakan pemeriksaan standar untuk menentukan subtipe dan tatalaksana kanker

payudara. Pemeriksaan imunohistokimia dapat dikerjakan di laboratorium standar, namun kelemahannya bersifat semikuantitatif dan terdapat beberapa faktor perancu seperti preparasi jaringan, proses pembuatan blok parafin hingga kemampuan ahli patologi untuk menginterpretasi hasil. Pada penelitian ini didapatkan hasil pemeriksaan sebagai berikut: ER(+) 37,2%, PR(+) 22,9%, HER2 (+++) 11,4%, Ki67 \geq 14% 57,1%, dan TNBC 48,6%. Pemeriksaan Ng, *et al*,(2011) menghasilkan ER/PR(+) sebesar 40%, HER2 (+++) sebesar 45% dan TNBC sebesar 12%. Onitilo melaporkan dari 1134 penderita karsinoma payudara di Amerika Serikat hasil ER (+) 883 orang (77,9%), PR (+) 670 (59,1%), HER2(+) 201 (17,7%), dan 152 orang dikelompokkan sebagai TNBC (13,4%).¹⁶ Jadi, jika dibandingkan dengan penelitian lain, pada penelitian ini reseptor hormonal (+), HER2(+++) lebih rendah dan angka

TNBC lebih tinggi. Hal ini dapat disebabkan karena usia penderita pada penelitian ini lebih muda (kurang dari 50 tahun) dan mungkin juga dapat disebabkan oleh variasi dalam metode preparasi jaringan dan proses pemeriksaan, walaupun pada penelitian ini pemeriksaan imunohistokimia dilakukan di 2 laboratorium, yaitu laboratorium patologi anatomi (PA) Fakultas Kedokteran UGM dan laboratorium PA Fakultas Kedokteran UNPAD. Dari pemeriksaan tersebut, kelompok subtipe karsinoma payudara pada penelitian ini adalah: TNBC 17 orang (48,6%), Luminal-B 9 orang (25,7%), Luminal-A 6 orang (17,1%), dan subtipe HER-2 sebanyak 3 orang (8,6%).

Eksresi ER,PR,HER2 pada penelitian ini tidak berbeda bermakna. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Martos, dkk. yang meneliti 75 sampel jaringan kanker payudara dengan perlakuan metilasi dan penilaian imunohistokimia.¹¹ Analisis metilasi pada 851 jaringan kanker payudara sporadik melaporkan tidak terdapat perbedaan signifikan antara metilasi dan ekspresi reseptor hormonal.¹³ Birgisdottir (2006) melaporkan pada 143 sampel kanker payudara sporadik etnis Eslandia,¹⁶ dengan metode MS PCR didapatkan 13 sampel dengan hipermetilasi (9,1%). Metilasi ini berkaitan dengan ER *negative* ($p=0,0475$). Namun, Ignatov melaporkan angka yang lebih tinggi pada pasien kanker payudara sporadik TNBC, yaitu angka metilasi sebesar 65,2% pada 70 kasus TNBC.¹⁷

Pada penelitian ini status metilasi *promoter* BRCA1 dan proliferasi sel menurut pemeriksaan Ki67 memiliki perbedaan signifikan pada pemeriksaan Ki-67 (p 0,046). Hal ini menunjukkan bahwa terjadinya metilasi pada *promoter* BRCA1 menyebabkan *silencing* BRCA1 dan menyebabkan timbulnya karsinoma dengan proliferasi tinggi yang ditandai dengan Ki67 \geq 14%. Rice, dkk. melaporkan bahwa metilasi pada *promoter* BRCA1 akan menyebabkan penurunan ekspresi protein BRCA1. Dari 21 pasien kanker payudara sporadik didapatkan 3 penderita dengan metilasi pada *promoter* BRCA1 dan mengalami penurunan ekspresi protein BRCA1.¹⁸ Pada penelitian ini pemeriksaan ekspresi BRCA1 tidak dilakukan, namun pada pemeriksaan imunohistokimia didapatkan sebesar 48,6% kasus adalah TNBC. Pada kasus ekspresi BRCA1 rendah, seperti pada

HASIL PENELITIAN

kasus KPD herediter, maka sebagian besar jenis kanker payudara memiliki subtipe TNBC. Hal yang sama juga terjadi pada KPD dengan metilasi pada *promoter* BRCA1.

Status metilasi pada jaringan kanker dapat dipakai sebagai alat untuk memahami perubahan molekuler yang bertahap pada fase karsinogenesis. Kanker payudara memperlihatkan perubahan drastis pada status metilasi DNA yang selanjutnya menyebabkan instabilitas kromosom dan gen *silencing* tumor supresor. Dari analisis epigenetik jaringan kanker didapatkan adanya hubungan antara epigenetik dan tipe histopatologi kanker.¹⁹ Metilasi pada *promoter* BRCA1 dapat digunakan sebagai panduan pengobatan, seperti penelitian Stefansson pada kultur sel kanker payudara dengan hipermetilasi *promoter* BRCA1

(kultur sel UACC3199 dan HCC-38) memiliki sensitifitas yang sama baiknya terhadap kemoterapi cisplatin, seperti sel kultur dengan mutasi BRCA1 (kultur sel MDA-MB-436).²⁰ Di samping itu, TNBC memiliki prognosis dan respons buruk. Ignatov, dkk. melaporkan bahwa TNBC dengan metilasi pada *promoter* BRCA1 memiliki respons baik terhadap kemoterapi dengan basis Antraksiklin pada kanker payudara sporadik.¹⁷ Demikian juga pemakaian obat anti-metilasi, seperti 5 Aza dan hidralazin yang dapat melepaskan kembali gugus metil yang berikatan dengan *CpG Island* dapat memberikan harapan baru pada penderita kanker payudara, terutama dengan stadium lanjut.

SIMPULAN

Sebagian besar pasien KPD sporadik premenopausal etnis Minang datang berobat



pada stadium lanjut dan sebagian besar berjenis karsinoma intraduktal. Frekuensi metilasi pada *promoter* gen BRCA1 pada jaringan KPD sporadik premenopause etnis Minang sebesar 60%, lebih besar dari laporan pustaka. Pengaruh metilasi *promoter* BRCA1 terhadap prognosis KPD sporadik etnis Minang adalah tingginya indeks proliferasi dan subtipe TNBC.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian kohort dengan sampel lebih besar untuk konfirmasi apakah polimorfisme pada *promoter* BRCA1 memiliki pengaruh klinis terhadap kejadian KPD premenopause. Pemeriksaan metilasi pada *promoter* BRCA1 pada KPD sporadik etnis Minang perlu dilakukan karena insidennya cukup tinggi dan untuk pedoman pengobatan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Depkes RI. Profil Kesehatan Indonesia 2009. Depkes RI; 2010.
2. Hunt KK, Newman LA, Copeland III EM, Bland KI. Breast. Brunicaardi FC, ed. In: Schwart's principles of surgery. New York: McGraw Hill; 2010.
3. Bar-Sade RB, Kruglikova A, Modan B, Gak E, Hirsh-Yechezkel G, Theodor L, et al. The 185delag brca1 mutation originated before the dispersion of Jews in the diaspora and is not limited to Ashkenazim. Hum MolGenet. 1998;7:801-5.
4. Ashworth A, Weber BL, Domchek SM. Inherited genetic factors and breast cancer In: Harris JR, Morrow M, Lipmann ME, Osborne CK, eds. Disease of the breast. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.p. 209-24.
5. Szyf M. DNA methylation in breast cancer in breast cancer in the post genomic In: Giordano A, Normanno N, eds. New York: Humana Press; 2010.p.151-7.
6. Bishop DT. Brca1, brca2, brca3 ... a myriad of breast cancer genes. European J Cancer 1994;30A:1738-9.
7. Parrella P. Epigenetic signatures in breast cancer: Clinical perspective. Breast Care 2010;5:66-73.
8. Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, Tan PH, van de Vijver M.J. WHO classification of tumours. 4th ed. IARC. 2012.
9. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. Nature 2000;406(6797):747-52.
10. Aryandono T. Faktor prognosis kanker payudara operable di Yogyakarta. Yogyakarta: Disertasi, Universitas Gajah Mada; 2006:188.
11. Martos E, Wang ZC, Lodeiro G, Miron A, Iglehart JD, Richardson AL. BRCA1 promoter methylation in sporadic breast tumors: Relationship to gene expression profiles. Breast Cancer Res Treat. 2005; 9:179-86.
12. Yang X, Yan L, Davidson NE. DNA methylation in breast cancer. Endocrine Related 2001;8:115-27.
13. Xu Xinran, Gammon MD, Yujing Z, Yoon Hee Cho, Wetmur JG, Bradshaw PT. Gene promoter methylation is associated with increased mortality among women with breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 2010;121(3):685-92.
14. Soerjomataram I, Louwman MWJ, Ribot JG, Roukema JA, Coebergh JWW. An overview of prognostic factors for long-term survivors of breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 2008;107:309-30.
15. Onitilo AA, Engel JM, Greenlee RT, Mukesh BN. Breast Cancer subtypes based on er/pr and her2 expression: Comparison of clinicopathologic features and survival. Chicago: American Society of Clinical Oncology meeting; 2008 May 30-June 3.
16. Birgisdottir V, Stefansson OA, Bodvarsdottir SK, Hilmarsdottir H, Jonasson JG, Eyfjord JE. Epigenetic silencing and deletion of the brca1 gene in sporadic breast cancer. Breast Cancer Res. 2006;8:38.
17. Ignatov T, Poehlmann A, Ignatov A, Schinlauer A, Costa SD, Roessner A, et al. Brca1 promoter methylation is a marker of better response to anthracycline-based therapy in sporadic tnbc - breast cancer Res. Treat. 2013;141(2);205-12.
18. Rice JC, Ozcelik H, Maxeiner P, Andrulis I, Futscher BW. Methylation of the brca1 promoter is associated with decreased brca1 mRNA levels in clinical breast cancer specimens. Carcinogenesis 2000;21:1761-5.
19. Kanai Y. Alterations of DNA methylation and clinicopathological diversity of human cancers. Pathol Internat. 2008;58:544-58.
20. Stefansson OA, Villanueva A, Vidal A, Martí L, Esteller M. BRCA1 epigenetic inactivation predicts sensitivity to platinum-based chemotherapy in breast and ovarian cancer. Epigenetics 2012;7:11,1225-9.