

Hubungan metilasi dan ekspresi gen WRN pada pasien kanker payudara di Rumah Sakit Kanker Dharmais = Relationship between methylation and expression of WRN gene in breast cancer patients at the Dharmais National Cancer Hospital

Tandjung, Rini Agustien, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20341046&lokasi=lokal>

Abstrak

Latar Belakang: Akhir-akhir ini peristiwa epigenetik turut berperan menjadi penyebab keganasan. Peristiwa epigenetik meliputi metilasi DNA dan modifikasi histon. Gen penekan tumor adalah salah satu golongan gen yang merupakan target utama kerusakan DNA. Contohnya gen penekan tumor dapat tidak berfungsi karena termutasi, termetilasi dan mengalami LOH (Loss of heterozygosity), gen WRN adalah termasuk gen penekan tumor. Gen WRN termutasi pada penyakit Werner Syndrome, gen WRN yang terletak pada kromosom 8p 11.2-12 sering mengalami LOH dan pada lokus genetik ini terdapat pada pasien usia muda kanker payudara, laporan terakhir menyatakan bahwa gen WRN dapat mengalami metilasi, semua kejadian pada gen WRN tersebut dapat mengarah ke kanker.

Tujuan: Penelitian ini untuk mengetahui karakteristik status gen WRN yang termetilasi pada pasien kanker payudara di Rumah sakit Kanker Dharmais dan hubungan gen WRN yang termetilasi tersebut dengan ekspresi mRNA nya.

Desain: Analitik.

Metode: Jaringan segar kanker payudara di isolasi sehingga didapat DNA dan RNA. Untuk mengecek kualitas DNA yang didapat dilakukan PCR konvensional dengan primer Interferon-Gamma. Dilanjutkan perlakuan sodium bisulfit, untuk mengkonversi sitosin yang tidak termetilasi menjadi urasil sedangkan sitosin yang termetilasi tetap menjadi sitosin. Primer myod-1 untuk mengecek hasil perlakuan sodium bisulfit kemudian dilakukan teknik MSP dengan masing-masing Primer metilasi dan Primer tidak metisi. RNA yang didapat di reverse transkripsi menjadi cDNA kemudian di perlakukan bersama cDNA B-actin diperiksa dengan Real Time PCR. Uji Mann-Whitney U dipakai untuk menguji hubungan antara gen WRN yang termetilasi dengan ekspresi mRNA dan uji Fisher untuk menguji hubungan antara gen WRN yang termetilasi dengan data klinik meliputi usia penderita, hasil pemeriksaan Immunohistokimia (ER, PR, Her2, p53) dan TNM.

Hasil: Gen WRN yang termetilasi sebanyak 9 sampel dari 60 sampel (15%). Ekspresi mRNA yang dapat dinilai datanya sebanyak 49 sampel dari 60 sampel (81,67%) dan Rasio ekspresi WRN terhadap B-actin sekitar 0,00 hingga 27,75.

Kesimpulan: Tidak ada hubungan antara gen WRN yang termetilasi dengan ekspresi mRNA dengan $P = 0,61$ dan tidak ada hubungan antara gen yang termetilasi dengan data klinik yang terdiri dari hasil pemeriksaan ER, PR, Her2, Triple negatif, p53, dan TNM, tapi ada hubungan yang signifikan antara usia penderita yang muda (dibawah dan sama dengan 40 tahun) dengan gen WRN yang termetilasi dengan $P = 0,02$.

.....Background: Epigenetic events including DNA methylation and histone modifications contribute to the cause of malignancy. Tumor suppressor genes belong to class of genes which may be subjected to DNA damage or modification. For instance, tumor suppressor gene may be inactivated by mutation, methylation

and LOH (Loss of heterozigosity), the WRN gene is an example of tumor suppressor gene. Mutated in the premature aging Werner syndrome, WRN gene is located on chromosome 8p 11.2-12. Futhermorc, L01-I in this genetic locus is found in a subset of early onset breast cancer patients. Recent report also indicated that WRN gene may be susceptible to methylation. These data suggest that WRN gene inactivation may lead to cancer.

Objective : This study aims to examine the characteristic of a methylation status of WRN gene in breast cancer patients at Dhamiais National Cancer Hospital and the relationship between WRN gene methylation with its mRNA expression.

Design: Analytical.

Methods: DNA and RNA were isolated from archived frozen breast cancer tissue sample. DNA quality was checked by PCR amplification of Interferon gamma gene. To determine promoter methylation, DNA was treated with bisulfite to distinguish methylated cytosine from unmethylated ones. The quality of converted DNA was determined by amplification of Myod-1 locus with contain cytosine rich sequences that are susceptible to uracil conversion upon bisulfite treatment. Subsequently, WRN methylation was determined using Methylation Specific PCR (MSP) using 2 set of primers recognizing either methylated or unmethylated WRN sequence. WRN expression was determined by the level of cDNA upon conversion of total, RNA using reverse transcriptase. Expression of WRN was calibrated to B-actin expression using Real-Time PCR and PffafI method. Mann-Whitney U test was used to examine the relationship between WRN gene methylation and its mRNA expression. Fisher test was used to examine the relationship between WRN gene methylation status with clinical data include age, Immunohistochemistry test (ER,PR,HER2,p53) and TNM.

Results: WRN gene is methylated in nine samples out of 60 samples (15%). mRNA expression data was assessed from 49 samples out of 60 samples only (81,67%). Although there is a trend of mRNA silencing in methylated WRN gene, the relationship does not reach statistical significance. WRN expression ratio of B-actin around 0,00 to 27,75.

Conclusion: There is no relationship between the WRN gene methylation and mRNA expression, $P = 0.61$ and no relationship between the WRN gene methylated with clinical data that consists of ER, PR, HER2, Triple negative, p53, and TNM. Interestingly, WRN methylation was found more frequently in early onset breast cancer patients, $P=0,02$.