

ADRENOMEDULIN DI KARSINOMA PAYUDARA DENGAN METASTASIS

(*Adrenomedullin's in Breast Cancer with Metastatic State*)

Stefanus Lembar

ABSTRACT

Metastasis is the leading cause of mortality in patients with breast cancer. The molecular biology behind the metastasis is very complex and may require changes in the regulation of the cell cycle, protein that promotes autocrine growth loop, and the protein that causes epithelial to mesenchymal transition. More complex, it is clear that the biology of metastasis is partly governed by the non-tumour cells, including fibroblasts, endothelial cells and myoepithelial cells. Adrenomedullin is an autocrine growth factor produced by the renal carcinoma cells. However, previous studies indicated that adrenomedullin can be secreted in various carcinoma tissue and carcinoma cells. Adrenomedullin may mediate immunosuppression, antiapoptosis, angiogenesis and proliferation, thus it is an important tumour cell survival factor underlying human carcinoma genesis. The role of adrenomedullin in the carcinoma genesis, invasion and metastasis has been greatly focused. The aim of this study was to determine the concentration of adrenomedullin in patients with metastatic breast cancer. A total of 64 patients with breast cancer aged 21–90 years (63 women and 1 man) in Jakarta has been participated in this study after signing informed consent. Metastasis was confirmed by examination of bone scanning. Concentrations of adrenomedullin were measured by EnzymeLinked Immunosorbent Assay (ELISA) using a commercial kit. Based on examination of bone scanning, there were 24 (37.5%) subjects with metastasis and 40 (62.5%) nonmetastasis. Mean of the concentrations of adrenomedullin in the subjects with metastasis was 252.5 (205.0–299.9) pg/mL, while in the nonmetastasis was 203.1 (178.7–227.5) pg/mL. The concentrations of adrenomedullin were significantly higher in subjects with metastasis than nonmetastasis ($p=0.041$). High concentration of adrenomedullin in the subjects with metastasis suggests that adrenomedullin may be more likely to be involved in metastasis.

Key words: Breast cancer, metastasis, adrenomedullin

ABSTRAK

Metastasis adalah penyebab utama kematian pasien karsinoma payudara. Kejadian molekuler dibalik metastasis sangat rumit dan melibatkan perubahan pengaturan siklus sel, protein yang mempromosikan pertumbuhan secara autokrin dan protein yang menyebabkan perubahan terkait peralihan dari epitel sampai jaringan mesenkim. Hal ini lebih jelas lagi terlihat bahwa sebagian kejadian metastasis dapat terbentuk dari sel nontumor termasuk fibroblast, sel epitel dan mioepitel. Adrenomedulin adalah salah satu faktor pertumbuhan yang dihasilkan oleh sel kanker ginjal. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa adrenomedulin dapat disekresikan oleh berbagai sel dan jaringan karsinoma. Adrenomedulin juga dapat berperan sebagai imunosupresan, antiapoptosis, angiogenesis dan proliferasi, sehingga hal ini penting bagi pertahanan sel tumor dalam kejadian karsinoma di manusia. Peranan adrenomedulin karsinogenesis, penyerbuan dan metastasis telah menjadi perhatian khusus. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kepekaan adrenomedulin di pasien karsinoma payudara dengan metastasis dan menentukan macam caranya. Pasien karsinoma payudara sejumlah 64 orang dengan rentang usia antara 21–90 tahun (63 perempuan dan satu/1 laki-laki) di Jakarta berpartisipasi dalam penelitian ini setelah menandatangani surat persetujuan tindakan pada penelitian. Metastasis ditentukan dengan pemeriksaan *bone scanning*. Kepekaan adrenomedulin diukur dengan *EnzymeLinked Immunosorbent Assay* (ELISA). Berdasarkan pemeriksaan *bone scanning*, terdapat 24 (37,5%) subjek dengan metastasis dan 40 (62,5%) yang bukan. Rerata kepekaan adrenomedulin di subjek dengan metastasis adalah 252,5 (205,0–299,9) pg/mL, sementara di yang bukan adalah 203,1 (178,7–227,5) pg/mL. Kepekaan adrenomedulin secara bermakna lebih tinggi di subjek metastasis dari pada yang bukan. ($p=0,041$). Kepekaan adrenomedulin yang tinggi di subjek karsinoma payudara dengan metastasis menandakan bahwa adrenomedulin berperan dalam kejadian tersebut.

Kata kunci: karsinoma payudara, metastasis, adrenomedulin

PENDAHULUAN

Karsinoma payudara merupakan salah satu jenis kanker yang memiliki jumlah penyakit tertentu cukup tinggi dan dapat terjadi baik di laki-laki maupun perempuan, yaitu dengan jumlah terkait yang jauh lebih tinggi daripada yang disebut terakhir. Pada

tahun 2011, di Amerika Serikat terdapat 230.480 kasus baru karsinoma payudara di perempuan dan 2.140 kasus baru di laki-laki. Kasus kematian di perempuan sebanyak 39.520 dan di laki-laki (pria) 450 kasus kematian.¹ Karsinoma payudara merupakan kanker terbanyak kedua setelah yang terkait kanker

leher rahim di Indonesia, khususnya di perempuan (17,77–19,52 %). Di samping jumlah kasus yang tinggi, lebih dari 70% pasien karsinoma payudara ditemukan pada tahap lanjut. Hal tersebut yang menyebabkan angka kematian di kasus karsinoma payudara tinggi.²

Tingkat ketahanan hidup lima (5) tahun mendekati 97% ketika sel tumor terbatas terdapat di jaringan payudara dan akan menurun secara luar biasa cepat menjadi 23% ketika sel tumor telah bermetastasis ke organ yang lain pada saat didiagnosis.³ Metastasis karsinoma payudara cukup rumit dan merupakan proses langkah ganda.⁴ Selama pembentukan tumor dan metastasis, sekresi protein di ruang ekstrasel merupakan faktor utama dalam: penyerbuan sel, perpindahan sel, pergerakan sel, pengawasan pertumbuhan sel, angiogenesis, kemunduran matriks dan pelekatan sel. Oleh karena itu, analisis protein tersekresi merupakan strategi yang menjanjikan untuk identifikasi petanda biologik metastasis.⁵

Adrenomedulin (ADM) merupakan peptida tertentu dengan 52 asam amino yang mengandung ikatan disulfida di dalam khusus dan kelompok amida karboksil-terujung. Adrenomedulin awalnya diisolasi dari *pheochromocytoma* dan dapat meningkatkan tingkat siklus Adenosin Monofosfat (cAMP) di trombosit. Adrenomedulin diketahui memiliki berbagai tugas, di antaranya dapat berperan sebagai vasodilator dan *bronchodilator*, pengatur sekresi hormon, *neurotransmitter*, zat anti bakteri dan mengawasi fungsi ginjal.⁶ Dalam beberapa telitian ditemukan bahwa ADM juga terlibat dalam beberapa segi biologis tumor. Misalnya, penghambatan antibodi monoklonal terhadap ADM mengakibatkan penurunan petanda pertumbuhan sel kanker secara *in vitro*. Hal tersebut menunjukkan bahwa ADM dapat berfungsi sebagai *autocrine growth factor*.⁷ Di samping itu, Garayoa, *et al.*⁸ telah menunjukkan bahwa ekspresi ADM secara kuat diimbangi oleh kerendahan oksigen di berbagai sel kanker.⁸

Berbagai ciri menunjukkan bahwa ADM merupakan faktor penting dalam kelangsungan hidup sel tumor, terutama pada tahap kegentingan awal pertumbuhan dan metastasis.⁹ Berbagai telitian menggunakan berbagai contoh telah menunjukkan bahwa ADM memiliki peran dalam pertumbuhan tumor dan metastasis. Namun, peran tersebut belum dibuktikan secara langsung. Dalam penelitian ini, peneliti menentukan kepekatan ADM dalam serum pasien karsinoma payudara dengan metastasis dibandingkan dengan yang tidak.

METODE

Penelitian ini merupakan kajian potong lintang pasien karsinoma payudara dengan dan tanpa metastasis di Jakarta, Indonesia. Sebanyak 63 subjek yang berusia antara 21–90 tahun (60 perempuan, satu/1 laki-laki) telah berperan serta dalam penelitian ini setelah menanda tangani surat persetujuan tindakan. Subjek berasal dari Rumah Sakit Kramat 128 Jakarta, Jakarta *Breast Cancer*, Rumah Sakit Royal Taruma Jakarta dan Rumah Sakit Pantai Indah Kapuk Jakarta. Subjek dikelompokkan ke dalam jenis metastasis dan yang bukan berdasarkan pemeriksaan *bone scanning*.

Sampel darah dikumpulkan dari setiap subjek secara flebotomi dan dilakukan oleh Dokter atau tenaga medis terdidik. Sebanyak lima (5) cc sampel darah diambil dan dimasukkan ke dalam tabung pengumpulan tanpa anti-koagulan. Sampel darah diinkubasi pada suhu ruang selama dua (2) jam, selanjutnya dipusingkan dengan kecepatan 1.500 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan serum. Serum dipisahkan dan dimasukkan ke dalam tabung pengumpul untuk selanjutnya disimpan dalam lemari pendingin pada suhu –80°C.

Kepekatan ADM dalam serum diukur berdasarkan analisis kuantitatif *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) menggunakan perangkat komersial (*USCN Life Science Inc., USA*). Kepekatan ADM diperoleh berdasarkan perbandingan nilai daya serap serum setiap sampel dengan nilainya yang baku di panjang gelombang 450 nm.

Data diolah menggunakan program SPSS versi 17. Hubungan kepekatan ADM di kelompok metastasis dan yang bukan dianalisis dengan uji *Independent-Samples T* dan data ditampilkan menggunakan rerata dan kisarannya. Batas kemaknaan yang digunakan adalah 5% dengan selang kepercayaan 95%. Data disajikan secara tekstual dan tabular.

Penelitian ini telah mendapatkan keterangan lolos kaji kepatutan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan FKUI dengan Nomor: 274/PT02.FK/ETIK/2012. Sebelum berperan serta dalam penelitian ini, setiap subjek diminta mengisi surat persetujuan tindakan setelah mendapat penjelasan perihal pokok penelitian, yaitu: tujuan, pemeriksaan yang akan dilakukan, serta keuntungan dan kerugiannya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 64 pasien karsinoma payudara di Jakarta telah berperan serta dalam penelitian ini. Subjek

penelitian berasal dari beberapa Rumah Sakit di Jakarta, yaitu: 39 (60,9%) berasal dari RS Kramat 128 Jakarta, 21 (32,8%) berasal dari Jakarta *Breast Cancer*, 3 (4,7%) berasal dari RS Royal Taruma Jakarta dan 1 (1,6%) berasal dari RS Pantai Indah Kapuk Jakarta.

Subjek penelitian terdiri dari 63 (98,4%) perempuan dan 1 (1,6%) laki-laki yang berusia antara 23–90 tahun. Berdasarkan pemeriksaan *bone scanning*, sebanyak 24 (37,5%) subjek telah mengalami metastasis dan yang 40 (62,5%) belum mengalaminya. Adapun rerata usia untuk kelompok metastasis adalah 52,3 (46,7–57,8) tahun, sedangkan kelompok yang bukan adalah 46,2 (42,7–49,6) tahun. Perbedaan usia tersebut tidak bermakna secara statistik ($p=0,067$).

Subjek dengan metastasis memiliki kepekatan ADM dalam serum yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang bukan. Yaitu dengan rerata 252,5 (205,0–299,9) ng/mL di subjek yang bermetastasis dan 203,1 (178,7–227,5) ng/mL di yang bukan.

Perbedaan rerata kepekatan PDIA4 dalam serum subjek dengan metastasis dan yang bukan bermakna secara statistik ($p=0,041$) dan dapat dilihat di Gambar 1.

Penelitian ini merupakan kajian awal khusus yang menunjukkan kepekatan ADM dalam serum pasien karsinoma payudara dengan metastasis di Jakarta, Indonesia untuk pertama kali. Adrenomedulin (ADM) merupakan peptida pengaturan *pluripotent* tertentu yang berawal dari pengisolasian tumor adrenal (*pheochromocytoma*) manusia. Peptida tersebut diketahui berperan penting dalam pembelahan sel kanker, neovaskularisasi tumor dan pengelakan apoptosis. Berbagai sel kanker telah terbukti menghasilkan ADM dalam jumlah yang berlimpah.⁹ Berdasarkan telitian ini, kepekatan ADM dalam serum

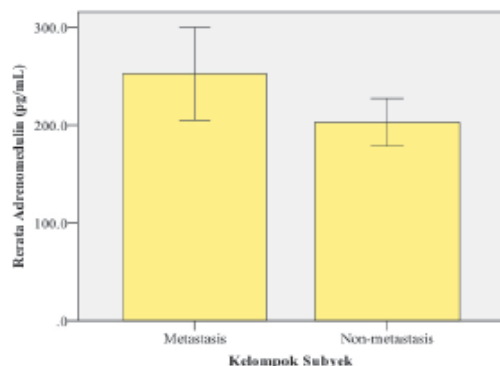
subjek dengan metastasis secara bermakna lebih tinggi dibandingkan dengan yang bukan. Hasil dari berbagai penelitian menggunakan berbagai contoh juga telah menunjukkan bahwa ADM memiliki peran dalam pertumbuhan tumor dan metastasis. Martinez, *et al.*¹³ melaporkan bahwa sel tumor payudara yang mengekspresikan mRNA ADM di tingkat yang tinggi menunjukkan morfologi yang berkaitan dengan ragam jaringan dan ada peningkatan peluang angiogenik secara *in vitro* dan *in vivo*. Di samping itu, peningkatan ekspresi ADM di sel tumor payudara menyebabkan peningkatan protein yang terlibat terjadi dalam jalur transduksi perisyaratan perjalanan penyakit tumor, seperti *Ras*, *Raf*, *PKC* dan *MAPKp49*. Sebaliknya, terjadi penurunan protein pro-apoptosis, seperti *Bax*, *Bid* dan *caspase 8*.⁶

Berbagai data klinis menunjukkan ada hubungan peningkatan kepekatan ADM dalam serum terhadap awal keganasan sel tumor.⁹ Sebagai contoh, pasien dengan kanker usus besar paru memiliki tingkat peredaran ADM yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok pembanding yang sehat.¹⁰ Peningkatan ekspresi mRNA ADM juga dilaporkan di pasien tumor indung telur dan secara bermakna berhubungan dengan ramalan perjalanan penyakit yang buruk.¹¹ Di samping itu, peningkatan ekspresi mRNA ADM juga berhubungan dengan nilai *Gleason* yang tinggi pasien dengan kanker prostat.¹²

Adrenomedulin mungkin merupakan faktor penting bagi kelangsungan hidup sel tumor, terutama ketika berada dalam tahap kegentingan awal pertumbuhan dan metastasis. Pengelompokan sel kanker umumnya terpajan oleh lingkungan kekurangan oksigen melalui perpindahannya ke daerah avaskular. Secara hipotesis, di bawah kondisi tersebut, ekspresi ADM akan ditingkatkan akibat tekanan oksigen rendah, dan peptida tersebut akan membantu mempertahankan pasokan darah dengan kemampuan vasodilator dan angiogeniknya. Pada saat yang sama, pertumbuhan sel akan ditingkatkan oleh aktivitas terkait pembelahan sel ADM dan kemampuannya dalam menghambat apoptosis. Hipotesis tersebut lebih didukung oleh temuan bahwa berbagai sel kanker dan spesimen tumor mengekspresikan ADM dan reseptornya di tingkat yang dibandingkan dengan sel normal dan jaringan asal yang sama.^{6,13}

SIMPULAN

Didasari kajian pendahuluan ini telah dapat ditunjukkan bahwa kepekatan ADM dalam serum subjek metastasis secara bermakna lebih tinggi jika dibandingkan dengan yang tidak. Hasil tersebut telah mendukung hipotesis bahwa ADM berperan



Gambar 1. Grafik kepekatan adrenomedulin dalam serum subjek metastasis dan yang bukan (halangan kesalahan: 95% selang kepercayaan)

bagi kelangsungan hidup sel tumor dan metastasis. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui ekspresi mRNA ADM dan reseptornya di jaringan tumor pasien karsinoma payudara dengan metastasis. Demikian, dapat diketahui lebih lanjut hubungan ekspresi mRNA ADM di jaringan tumor dengan kepekatannya ADM dalam serum, sehingga zat tersebut mungkin dapat digunakan sebagai sasaran biologis untuk pengembangan strategi intervensi terhadap keganasan dan metastasis di karsinoma payudara.

DAFTAR PUSTAKA

1. National Cancer Institute (NCI). Breast cancer. Diunduh dari <http://www.cancer.gov/cancertopics/types/breast.com>. Diakses pada tanggal 24 September 2011.
2. American Cancer Society: Global Cancer Facts & Figures, 2nd Ed., Atlanta, American Cancer Society, 2011; 1–2, 11–12.
3. Lai Tzu-Chia, Chou Hsiu-Chuan, Chen Yi-Wen, Lee Tian-Ren, Chan Hsin-Tsu, *et al.* Secretomic and proteomic analysis of potential breast cancer markers by two-dimensional differential gel electrophoresis. *J Proteome Res.* 2010; 9(3): 1302–22.
4. Bohn OL, Nasir I, Brufsky A, Tseng GC, Bhargava R, *et al.* Biomarker profile in breast carcinomas presenting with bone metastasis. *Int J Clin Exp Pathol.* 2010; 3(2): 139–46.
5. Chian AC, Massague J. Molecular basis of metastasis. *N Engl J Med.* 2008; 359: 2814–23.
6. Kennecke H, Yerushalmi R, Woods R, Cheang MCU, Voduc D, Speers CH, *et al.* Metastatic behavior of breast cancer subtypes. *Journal of Clinical Oncology* 2010; 28: 3271–7.
7. Nouguerede E, Berenguer C, Garcia S, Bennani B, Delfino C, *et al.* Expression of adrenomedullin in human colorectal tumors and its role in cell growth and invasion in vitro and in xenograft growth in vivo. *Cancer Medicine.* 2013; 2(2): 196–207.
8. Genetics of Breast and Gynecologic Cancers <http://www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/estrogenreceptors> (Accessed: 31 October 2013).
9. Valastyan S, Weinberg RA. 'Tumor metastasis: molecular insights', *Cell*, 2011; 147: 275–92.
10. Theriault RL, Theriault RL. Biology of bone metastases. *Cancer Control* 2012; 19(2): 92–101.
11. Abbas AK, Lichtman AH. Laboratory techniques commonly used in molecular immunology Cellular and molecular immunology, 7th Ed., Philadelphia, Elsevier, 2011; 383–98.
12. Semenza, Gregg L. Hypoxia-inducible factors: mediators of cancer progression and targets for cancer therapy. *Pharmacological Sciences* 2012; 33(4): 207–14.
13. Martínez-Herrero S, Martínez A. -J. Cancer protection elicited by a single nucleotide polymorphism close to the adrenomedullin gene. *J. Clin Endocrinol. Metab* 2013; 98(4): E804–10.