

Peran Gen ATM ATR pada Resistensi Subpopulasi Cancer Stem Cell Kanker Ovarium Stadium Lanjut: Respons Terapi terhadap Apoptosis dan Proliferasi in vitro = The Role of the ATM ATR Gene on Resistance of Cancer Stem Cell Subpopulations in Advanced Ovarian Cancer: Therapy Response to Apoptosis and Proliferation in vitro

Tricia Dewi Anggraeni, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920526568&lokasi=lokal>

Abstrak

Kanker ovarium memiliki mortalitas mencapai 70%, dan 85% dari pasien yang datang pada kondisi stadium lanjut. Sebanyak > 80% pasien stadium lanjut merespons pada kemoterapi lini pertama yang menggunakan obat berbasis platinum, namun median kesintasan bebas penyakitnya (disease-free survival) hanya mencapai 18 bulan, sebagian besar merupakan pasien kambuh, dan tidak merespons pada kemoterapi lini berikutnya. Pada moda moda kemoresistensi, yang paling dapat diintervensi adalah adanya sel punca kanker (CSC) pada jaringan kanker ovarium pasien. Kemoresistensi pada CSC memiliki beberapa mekanisme berbeda, salah satunya adalah tingginya aktivitas protein ATM dan ATR yang dapat bersifat kompetitif terhadap obat berbasis platinum dalam berikatan dengan DNA. Selama ini, telah banyak penelitian eksperimental yang menarget CSC kanker ovarium, namun penelitian terbaru menggunakan RNA microarray menemukan bahwa gen ADAM19 diekspresikan secara eksklusif pada CSC kanker ovarium sehingga dapat digunakan sebagai marker spesifik. Oleh karena itu, penelitian ini ditujukan untuk mengeksplorasi kemoresistensi pada CSC kanker ovarium dari jaringan segar pasien dan korelasinya dengan ekspresi gen ATM dan ATR, serta mengonfirmasi ekspresi gen ADAM19 sebagai marker spesifik subpopulasi CSC kanker ovarium yang dipilah menggunakan metode MACS dengan penanda CD133. Dari 67 pasien subjek penelitian yang diambil dan dikultur jaringan metastasisnya, dua di antaranya dapat dikultur tanpa batas, menghasilkan kultur dengan dominan sel epitel, dan tidak mengalami senescence. Setelah itu, sel-sel kultur dipilah menggunakan MACS dengan penanda CD133 untuk mendapatkan CSC, kemudian diuji menggunakan metode pembuatan sferoid, RT-qPCR, dan uji kemoresistensi. Dari pembentukan sferoid yang dilakukan pada tiga jenis sel yang digunakan, yakni lini sel SKOV3, serta kultur primer OV1 dan OVM1, ditemukan secara konsisten bahwa jumlah sferoid yang didapatkan pada kultur CSC CD133+ lebih banyak dibandingkan main population (MP) dan CD133-. Dari RT-qPCR juga ditemukan secara konsisten bahwa seluruh ekspresi gen ATM, ATR, NANOG, ADAM19, Ki-67, dan kaspase-3 pada CSC CD133+ lebih tinggi dibandingkan MP dan CD133-. Pada uji kemoresistensi terhadap kemoterapi karboplatin, didapatkan bahwa sel CD133+ juga lebih kemoresisten dibandingkan dengan MP dan CD133-. Berdasarkan uji korelasi Spearman Rho, ekspresi gen ATM dan ATR berkorelasi positif sedang menuju sangat kuat dengan sifat kemoresistensi terhadap karboplatin. Pada akhir penelitian, disimpulkan bahwa CSC dengan CD133+ memiliki kemampuan proliferasi yang lebih tinggi dengan ekspresi gen Ki-67 yang meningkat, memiliki stemness yang lebih kuat terlihat pada ekspresi gen Nanog-nya yang lebih tinggi, dan memiliki kemampuan kemoresistensi yang lebih besar ditunjukkan oleh ekspresi gen ATM dan ATR-nya yang tinggi serta berkorelasi positif dengan hasil uji kemoresistensi.

.....Ovarian cancer has a mortality rate of up to 70% where 85% of patients present at an advanced stage. More than 80% of advanced stage patients respond to first-line chemotherapy using platinum-based drugs,

but the median disease-free survival is only 18 months. Most patients relapse, and do not respond to subsequent lines of chemotherapy. In the chemoresistance modes, the easiest way to intervene is through the presence of cancer stem cells (CSC) in the patient's ovarian cancer tissue. Chemoresistance in CSC has several different mechanisms, one of which is the high activity of ATM and ATR proteins that can be competitive against platinum-based drugs in binding to DNA. So far, there have been many experimental studies targeting ovarian cancer CSCs, but a recent study using RNA microarray found that ADAM19 gene expression is expressed exclusively in ovarian cancer CSCs so that it can be used as a specific marker. Therefore, this study aimed to explore chemoresistance in ovarian cancer CSC from fresh patient's tissue and its correlation with ATM and ATR gene expression, as well as to confirm ADAM19 gene expression as a specific marker for ovarian cancer CSC subpopulations sorted using the MACS method with the CD133 marker. Out of 67 patients who were the subjects of the study, the samples were taken and cultured for their metastatic tissues, 2 of them could be cultured indefinitely, could produce cultures with a predominance of epithelial cells, and did not experience senescence. After that, the culture cells were sorted using MACS with the CD133 marker to obtain CSC, then tested using the spheroid preparation method, RT-qPCR, and chemoresistance test. From the spheroid culture performed on the 3 types of cells used, namely the SKOV3 cell line, as well as OV1 and OVM1 primary cultures, it was found consistently that the number of spheroids obtained in CD133+ CSC cultures was higher than the main population (MP) and CD133-. From RT-qPCR it was also found consistently that all genes expression ATM, ATR, NANOG, ADAM19, Ki-67, and Caspase-3 in CD133+ CSCs were higher than MP and CD133-. In the chemoresistance test to carboplatin chemotherapy, it was found that CD133+ cells were also more chemoresistant than MP and CD133-. Based on the Spearman Rho correlation test, ATM and ATR gene expression had a moderately strong positive correlation with chemoresistance to carboplatin. At the end of the study, it was concluded that CSCs with CD133+ had a higher ability to proliferate with increased expression of the Ki-67 gene, had stronger stemness as seen in the higher expression of the NANOG gene, and had greater chemoresistance ability as indicated by the expression of the ATM gene. and high ATR and positively correlated with chemoresistance test results.