

Induksi DMBA dalam Karsinogenesis Kelenjar Payudara

Puspita Eka Wuyung
Departemen Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran
Universitas Indonesia

ABSTRAK

Kanker payudara merupakan hasil interaksi antara perubahan genetik dan faktor lingkungan. Proses transformasi sel epitel kelenjar payudara menjadi ganas dikenal sebagai karsinogenesis. Proses ini terjadi secara bertahap dan pada setiap tahap melibatkan serangkaian mutasi pada sejumlah gen regulator maupun supresor. DMBA merupakan karsinogen kimia yang berperan sebagai inisiator maupun promotor. DMBA dimetabolisme membentuk *proximate* dan *ultimate carcinogen* atau metabolit akhir yang paling poten untuk membentuk *DNA adduct*. melalui aktivasi enzim sitokrom P450, selain itu dapat menyebabkan stres oksidatif dan membuat lesi pada basa DNA. Aktivitas karsinogenik senyawa ini melalui biotransformasi menjadi senyawa yang lebih poten untuk menimbulkan berbagai lesi yang terjadi pada kelenjar payudara tikus. Peran DMBA pada karsinogenesis payudara telah dibuktikan baik secara epidemiologi maupun laboratorium. Karsinogen kimia DMBA merupakan model yang baik untuk mempelajari *susceptibility*, biologik dan molekuler karsinogenesis payudara pada binatang percobaan.

Kata kunci: DMBA, karsinogenesis, sitokrom P450,

PENDAHULUAN

Kurang lebih 20-30% kasus kanker payudara diturunkan atau familial dan 70-80% lainnya sporadik.^{1,2} Pada kanker payudara sporadik dihasilkan akibat akumulasi mutasi gen pada sel somatik secara bertahap dan tidak dapat diperbaiki. Mutasi ini dapat mengaktifkan onkogen dan menginaktifkan gen penekan tumor, di mana gen-gen ini turut berperan dalam proliferasi, apoptosis, diferensiasi, molekul adhesi sel, faktor angiogenik serta gen lain yang terlibat dalam invasi dan metastasis.² Kanker payudara merupakan hasil interaksi antara perubahan genetik dan faktor lingkungan. Proses transformasi sel epitel kelenjar payudara menjadi ganas dikenal sebagai karsinogenesis.¹

Faktor lingkungan turut berperan dalam karsinogenesis, diantaranya karsinogen kimia. Karsinogen kimia dianggap sebagai inisiator dan/atau promotor yang dapat menyebabkan kanker, salah satunya adalah hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH). 7,12-*dimethyl-benz[a]anthracene* (DMBA) merupakan salah satu kelompok PHA, terdapat pada asap rokok, polutan air, makanan yang diasap. Induksi PHA, termasuk DMBA dapat menyebabkan efek toksik pada hati akibat stres oksidatif dan produksi metabolit karsinogen.³ PHA akan dimetabolisme menjadi senyawa metabolit aktif, diantaranya epoksida diol serta radikal bebas. Epoksida diol dan radikal bebas dapat mengikat DNA membentuk *DNA adduct* pada tahapan karsinogenesis.⁴

DMBA merupakan karsinogen kimia yang lengkap selain berperan sebagai inisiator dapat pula berperan sebagai promotor. Induksi karsinogen ini dapat menyebabkan stres oksidatif dan membuat lesi pada basa DNA teroksidasi membentuk *DNA adduct*.

Peran DMBA sebagai promotor seperti halnya TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate).⁵ Banyak penelitian mengacu pada hasil penelitian di atas, menggunakan DMBA untuk menginduksi stres oksidatif pada tikus dan organ hati. Sedangkan secara *in vivo*, DMBA menginduksi ekspresi onkogen yang berperan sebagai regulator atau suppressor. DMBA menginduksi ekspresi onkogen c-myc dan H-ras pada limpa, paru, timus dan kelenjar getah bening setelah 6 dan 12 jam perlakuan, selain itu induksi ekspresi gen suppressor p53 terjadi setelah 6 jam perlakuan.⁶

Induksi kimia untuk menghasilkan kanker pada hewan percobaan, secara luas dapat digunakan sebagai model karsinogenesis payudara pada manusia. Model ini digunakan untuk mempelajari potensi agen kimia, hormon, lingkungan dan faktor diet dalam inisiasi, promosi dan pencegahan karsinogenesis payudara. Kelenjar payudara pada beberapa strain tikus *susceptible* terhadap karsinogen kimia, khususnya tikus strain Sprague-Dawley. Selain itu neoplasma yang terbentuk mirip dengan manusia.^{7,8,9}

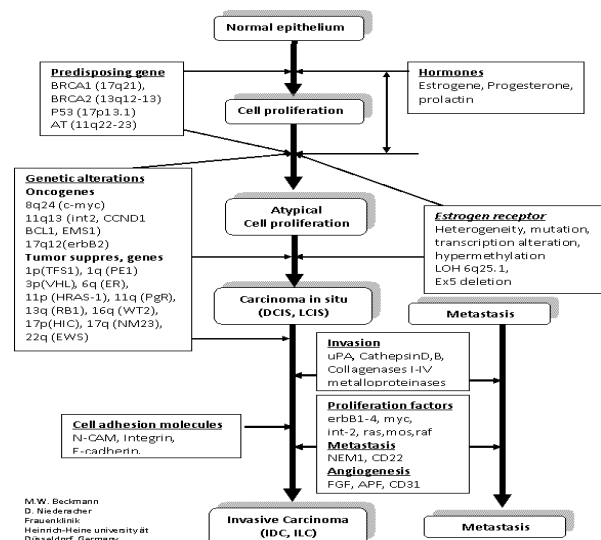
DMBA merupakan karsinogen yang poten dalam menginduksi berbagai lesi yang terjadi pada kelenjar payudara tikus. Adenokarsinoma payudara yang terbentuk hasil induksi karsinogen kimia, khususnya DMBA. Karsinogen kimia DMBA merupakan model yang baik untuk mempelajari *susceptibility*, biologik dan molekuler karsinogenesis payudara pada binatang percobaan.¹⁰ Tujuan penulisan ini untuk mempelajari metabolisme dan peran DMBA dalam karsinogenesis, khususnya kelenjar payudara.

1. Karsinogenesis Kelenjar Payudara

Kanker payudara merupakan hasil interaksi antara perubahan genetik dan faktor lingkungan. Proses transformasi sel epitel kelenjar payudara menjadi ganas dikenal sebagai karsinogenesis.^{1,2} Penyimpangan morfologik epitel payudara pada proses karsinogenesis secara berurutan dapat terlihat sebagai hiperplasia epitel, hiperplasia atipik, karsinoma in situ serta karsinoma invasif (lihat gambar 1). Proses ini terjadi secara bertahap dan pada setiap tahap melibatkan serangkaian mutasi pada sejumlah gen regulator.²

Berdasarkan analisis sitogenetika dan genetika molekuler menunjukkan bahwa perkembangan tumor payudara melibatkan akumulasi

perubahan genetik, diantaranya berbagai amplifikasi onkogen (cmyc, erbB2) dan mutasi atau hilangnya gen penekan tumor (p53). Kehilangan fungsi protein penekan tumor pada sel normal dapat terjadi melalui peristiwa mutasi gen pada sel somatik atau *germline*. Lokus gen penekan tumor terletak pada kromosom 16q dan 17p, yang tampaknya menjadi patognomonik untuk perkembangan sebuah subtype histologis tertentu. Ada banyak jumlah kelainan yang telah diidentifikasi pada tingkat molekuler yang sesuai dengan model dari tahapan karsinogenesis kanker payudara.¹¹



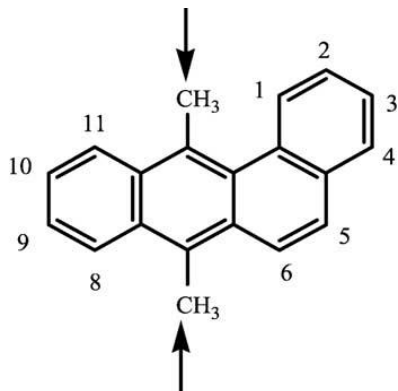
Gambar 1. Tahapan karsinogenesis pada kanker payudara.¹¹

Terdapat 3 tahapan pada karsinogenesis, yaitu: inisiasi, promosi dan progresi.^{12,13} Inisiasi neoplastik sel epitel kelenjar payudara terjadi melalui mutasi somatik yang berkaitan dengan rangsangan tanpa penghambat, agaknya berkaitan dengan hormon, faktor pertumbuhan non endokrin, zat kimia karsinogenik, hal ini dapat menimbulkan proliferasi outonom.¹⁴ Pada tahap ini senyawa karsinogen berperan sebagai inisiator baik secara langsung atau mengalami metabolisme terlebih dahulu membentuk senyawa yang lebih aktif dan menyebabkan mutasi pada DNA. Tahap promosi berlangsung dipengaruhi oleh bahan yang bersifat sebagai promotor, pada kanker payudara salah satu diantaranya adalah status hormonal pada usia reproduktif. Kombinasi tahap inisiasi-promosi dapat dianggap untuk memantapkan mutasi. Promotor merangsang proliferasi klonal pada sel yang telah diinisiasi.

Interaksi tahap inisiasi dan promosi dapat terlihat sebagai lesi proliferaatif non-invasif. Perubahan menetap terbentuk bila proliferasi klonal sel neoplasma terjadi autonom tanpa menggunakan inisiator dan promotor. Selanjutnya diikuti dengan tahap progresi di mana sekelompok tumor epitel ganas dapat menginvasi jaringan sekitar dan cenderung bermetastasis.^{2,12,13}

2. Karsinogen DMBA

DMBA atau 7,12-dimethylbenz(a)anthracene merupakan salah satu karsinogenik yang poten, tergolong ke dalam hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH) dan memiliki struktur yang mirip dengan estrogen.¹⁵ Struktur kimia senyawa tersebut mempunyai tiga atau lebih cincin aromatik yang saling berikatan dan dua substitusi gugus metil yang terletak pada atom C7 dan C12. Struktur cincin aromatik tersebut merupakan struktur yang khas dimiliki oleh PAH (lihat Gambar 2).



Gambar 2. Struktur 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) dengan 4 cincin aromatik dan dua substitusi metil yang terletak pada atom C7 dan C12.¹⁶

DMBA dapat menginduksi tumor pada kulit mencit, kanker payudara dan nekrosis luas pada kelenjar adrenal tikus. Peran DMBA pada karsinogenesis payudara telah dibuktikan baik secara epidemiologi maupun laboratorium. Pemberian oral DMBA telah terbukti dapat memicu terjadinya kanker payudara pada tikus.^{17,18} Keberhasilan terjadinya kanker payudara hasil induksi karsinogen dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya dosis, frekwensi induksi, umur pada awal induksi, keadaan reproduksi, hormon, diet dan lainnya.

Hasil penelitian Meiyanto *et al* (2007), dengan dosis 20 mg/kg BB sebanyak 10 kali induksi insidensi tumor sampai minggu ke 14 mencapai 100%. Pada penelitian ini tumor

terbentuk mulai minggu ke 4 sampai minggu ke 15 setelah induksi terakhir.¹⁹ Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Wibowo AE *et al* (2010), memperlihatkan induksi DMBA dua kali per-minggu sebanyak 11 kali pada tikus betina galur Spague dawley dengan dosis 20 mg/kg berat badan, diperoleh insiden tumor sebesar 74% dengan nilai multiplisitas tumor rata-rata sebanyak 2 nodul per ekor.²⁰

Tumor payudara dapat terbentuk mencapai 100% pada tikus *virgin* yang diberi DMBA secara oral. Waktu induksi yang terbaik ketika tikus berumur 30-55 hari, karena pada saat ini *terminal end buds* pada kelenjar payudara sedang aktif berproliferasi. Kelenjar payudara pada beberapa galur tikus *susceptible* terhadap karsinogen dalam menginduksi kanker, diantaranya Spague dawley dan wistar, sehingga tikus dapat dijadikan model yang baik untuk mempelajari karsinogenesis.^{8,9}

3. Metabolisme DMBA membentuk karsinogen yang poten

DMBA merupakan senyawa prokarsinogenik, aktivitas karsinogenik senyawa ini terjadi melalui biotransformasi menjadi senyawa yang lebih poten untuk menghasilkan karsinogenesis. DMBA dimetabolisme membentuk *proximate* dan *ultimate carcinogen* melalui aktivasi enzim sitokrom P450. *Proximate carcinogen* merupakan metabolit antara yang akan mengalami metabolisme lebih lanjut membentuk *ultimate carcinogen* atau metabolit akhir yang paling poten untuk membentuk *DNA adduct*. Hal ini merupakan proses awal terjadinya tahapan inisiasi pada karsinogenesis.^{21,22}

Terdapat beberapa jalur metabolisme senyawa karsinogen ini, diantaranya: (i) satu-elektron hasil oksidasi oleh sitokrom P450 dan peroksidase akan membentuk kation radikal PAH yang dapat bereaksi dengan DNA untuk menghasilkan *adduct* baik stabil maupun yang tidak stabil/depurinisasi, (ii) pembentukan metabolit *bay region epoxy-dihydrodiol* bersifat elektroliflik dapat berinteraksi dengan DNA, menyebabkan terjadi tumorigenesis, dan (iii) oksidasi metabolit *trans-dihydrodiol* oleh aldo-ketoreduktase menghasilkan katekol, siklus redoks ini akan menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS). Kelebihan produksi ROS terjadi selama aktivasi metabolit DMBA, dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada struktur dan fungsi DNA, protein dan lipid yang berkontribusi pada transformasi neoplastik.^{23,24}

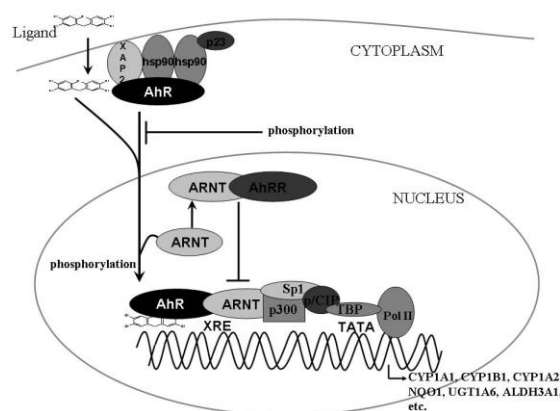
Jalur metabolisme DMBA menjadi senyawa intermediate reaktif melalui aktivasi enzim sitokrom p-450, yaitu dengan terbentuknya epoksida dihidrodiol dan kation radikal. Sebagian besar karsinogenik hidrokarbon, termasuk 7,12-DMBA dimetabolisme oleh *Cytochrome P-450* (enzim CYPs) dan *microsomal epoxide hydrolase* (mEH) menjadi dua metabolit yaitu metabolit elektrofilik dan metabolit yang mampu membentuk *DNA adduct*. Enzim CYP1A1 dan CYP1B1 ini diekspresikan baik dalam hati dan payudara, di mana kedua enzim ini dapat diinduksi oleh DMBA. Induksi ekspresi gen yang menghasilkan enzim CYP1A1 diperantarai oleh reseptor spesifik yang terletak di sitosol, yaitu reseptor hidrokarbon aril (AHR). Reseptor ini merupakan bagian dari protein yang dapat mengikat sitosolik dengan kontaminan lingkungan, seperti senyawa hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH) dan senyawa turunan halogen lainnya.²⁵

AHR terletak di sitosol membentuk kompleks protein, yang terdiri dari dua *heat-shock protein* (Hsp-90) dan berinteraksi dengan *co-chaperone* p23 dan protein immunophilin seperti XAP2 atau AIP.²² Bila terjadi ikatan antara AHR dengan ligan seperti *B[a]P* atau hasil sampingan industri seperti *2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin* (TCDD), maka kompleks AHR berdisosiasi dengan protein XAP2, p23 dan HSP90, selanjutnya bertranslokasi ke inti. Di inti AHR membentuk heterodimer dengan protein lain, yaitu *aryl hydrocarbon nuclear translocator* (ARNT). Heterodimer ini mengikat sekuen regulator yaitu AhREs (*Aryl hydrocarbon response elements*), XREs (*Xenobiotic response elements*) atau DREs (*Dioxin response elements*), yang terletak di wilayah promotor gen target AHR seperti CYP1A1 dan CYP1A2, selanjutnya memicu ekspresi gen CYP1A1 dan CYP1A2 (lihat Gambar 3).^{25,26}

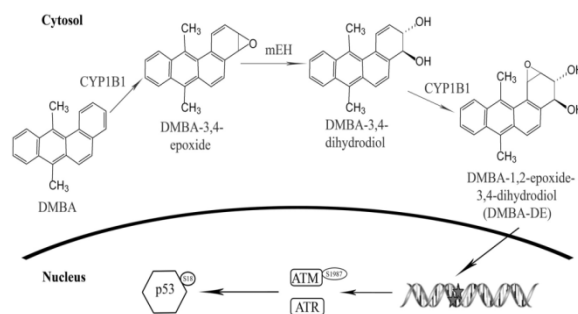
Langkah awal yang penting dalam karsinogenesis, DMBA adalah oksidasi ikatan rangkap oleh sitokrom P450 menjadi DMBA-3,4 oksida, selanjutnya diikuti dengan hidrolisis epoksida oleh enzim mikrosomal epoksid hidrolase (mEH) menjadi metabolit *proximate carcinogen* yaitu DMBA-3,4-diol. Metabolit ini nantinya akan dioksidasi oleh CYP1A1 atau CYP1B1 menjadi metabolit *ultimate carcinogenic* yaitu DMBA-3,4-*diolefin-1,2 epoxide* (Gambar 4).^{4,27}

Epoksida dihidrodiol akan mengikat gugus amino ekosiklik purin DNA secara kovalen dengan gugus amino eksosiklik

deoksiadenosin (dA) atau deoksiguanosin (dG) pada DNA menjadi bentuk *adduct* yang stabil. Adenin(A) dan guanin(G) adalah dua basa DNA yang paling rentan terhadap serangan nukleofilik yang berasal dari karsinogen PAH.²⁸ Interaksi ini (*DNA adduct*) dapat menginduksi mutasi pada gen-gen penting sehingga menyebabkan inisiasi kanker.²⁴ Sedangkan kation radikal akan mengikat N7 atau C8 purin menjadi bentuk *adduct* yang tidak stabil akibat depurinisasi, hal ini menjadikan sisi tersebut kehilangan purin atau apurinik (AP).⁴



Gambar 3. Reseptor hidrokarbon aril (AHR) berikatan dengan ligannya dan mengaktifkan gen-gen penghasil enzim fase I dan II yang berperan dalam metabolisme.²⁵



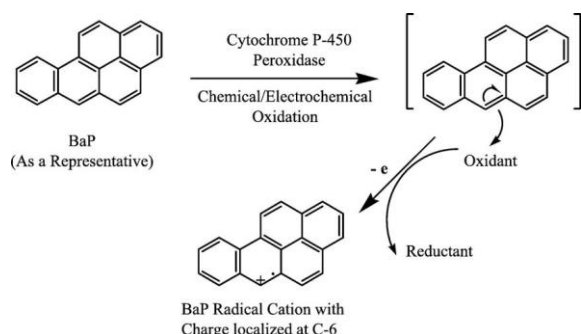
Gambar 4 . Skema metabolisme DMBA menjadi *ultimate carcinogen* yang poten.²⁷

Terbentuknya *adduct* pada basa nukleotida DNA dapat menyebabkan mutasi, dapat disebabkan karena kesalahan perbaikan DNA atau kesalahan ketika replikasi DNA pada lesi yang tidak dapat diperbaiki. Cincin lain yang mengalami hidroksilasi dan hidroksilasi metil akan menghasilkan senyawa metabolit tidak aktif yang tidak dapat berikatan dengan DNA.

4. Pembentukan kation radikal pada metabolisme DMBA

Pembentukan kation radikal PAH disebabkan karena penghapusan satu elektron akibat oksidasi pada sistem elektron π dari molekul. Radikal kation yang elektrofilik dapat berinteraksi dengan nukleofilik di makromolekul seluler. Kation radikal PAH juga dapat dihasilkan dengan cara elektrokimia ataupun enzimatis menggunakan enzim P450 (gambar 5). Metabolisme karsinogen akan menghasilkan dua-elektron hasil oksidasi hidrokarbon polisiklik yang berasal dari katalisasi oleh enzim *mono-oxygenase* yang menggabungkan oksigen dalam pembentukan *proximate carcinogen*, merupakan prekursor elektrofilik *ultimate*. Selain itu mekanisme lain tanpa proses metabolisme intervensi transfer oksigen, dengan melibatkan bioaktivasi oleh satu-elektron hasil oksidasi hidrokarbon polisiklik membentuk kation radikal, sebagai bentuk elektrofilik dan *ultimate carcinogen*.^{24,29}

Pertama kali kation radikal diusulkan oleh Wilk *et al.* sebagai bentuk aktif BP, DMBA, dan 3-MC. Oksidasi BP, DMBA, dan 3-MC menghasilkan satu-elektron yang akan membentuk dimer atau tetramer hidrokarbon dengan kation radikal sebagai produk antaranya. Satu-elektron yang terbentuk hasil dari oksidasi merupakan mekanisme utama karsinogenesis hidrokarbon, contohnya pada karsinogenesis di kelenjar payudara, situs apurinik DNA terbentuk dari kedua *aryl* dan *aralkyl-DNA adducts*. Pembentukan kation radikal elektrofilik pada aktivasi metabolisme DMBA melibatkan transfer satu elektron untuk memberikan produk yang mengandung atom oksigen tambahan.²⁹



Gambar 5. Pembentukan radikal kation PHA dengan cara elektrokimia ataupun enzimatis menggunakan enzim P450.²⁴

Penelitian lain yang dilakukan Shumkovska *et al* memperlihatkan induksi

DMBA pada tikus berkaitan dengan stres oksidatif dan perubahan patologik pada organ hati. Aktivasi metabolik DMBA menjadi senyawa perantara yaitu 3,4-dihidrodiol dan detoksifikasi pada tahap awal metabolisme terjadi di organ hati. Perubahan patologik yang terjadi berhubungan dengan durasi dan dosis DMBA dengan total dosis 20 mg. Mekanisme hepatotoksik terjadi karena produksi radikal bebas yang ditandai dengan berkurangnya enzim glutation intraseluler, selain itu terdapat peningkatan kerusakan peroksidase pada semua dosis perlakuan yang diinduksi DMBA.³⁰ Selain itu peningkatan stres oksidatif akibat induksi DMBA berhubungan dengan penurunan aktivitas spesifik MnSOD terutama pada jaringan tumor payudara dibandingkan pada darah. Penurunan aktivitas spesifik MnSOD ini berhubungan pula dengan derajat histopatologik, kadar asam sialat, MDA, senyawa karbonil dan aktivitas katalase.³¹

5. Perubahan genetik pada induksi DMBA

Sekitar 5% kejadian kanker payudara manusia berkaitan dengan faktor pewarisan gen, sedangkan sisanya dianggap sporadik. Berdasarkan penelitian epidemiologik maupun laboratorik kejadian kanker payudara dapat dikaitkan dengan diet dan pengaruh lingkungan lainnya, termasuk paparan karsinogen. Walaupun efek paparan karsinogen dalam memicu terjadinya gangguan terhadap kontrol pertumbuhan sampai saat ini masih diteliti. Analisis sitogenetika maupun molekuler dari kanker payudara menunjukkan pada perkembangan tumor melibatkan berbagai akumulasi perubahan genetik, diantaranya amplifikasi onkogen, mutasi atau kehilangan gen tumor supresor

DMBA merupakan agen mutagenik, kemampuan metabolit DMBA sebagai *ultimate carcinogen* dapat membentuk DNA *adduct*, salah satunya menyebabkan mutasi somatik pada onkogen H Ras-1 yang terletak pada kodon 12, 13 dan 61. Mutasi ini mengakibatkan basa G atau A digantikan oleh nukleotida yang lain. Transisi basa A menjadi T mengakibatkan mutasi pada kodon-61 onkogen H-ras pada tumor kelenjar payudara tikus. Mutasi ini dapat menyebabkan kanker payudara dan kulit, serta dapat menjadi salah satu faktor dalam patogenesis DMBA untuk menginduksi tumor.^{21,32}

Kejadian papiloma kulit akibat induksi DMBA dan TPA pada mencit yang tidak memiliki gen H-ras (H-ras^{-/-}) berkurang, karena pada

mencit ini tumor tetap dapat berkembang dengan mengaktifkan mutasi pada lain, yaitu gen K-ras pada proses karsinogenesis. Hasil ini menunjukkan bahwa aktivasi gen H-ras bertanggung jawab untuk inisiasi tumor pada tikus *wild type*, namun aktivasi gen H-ras bukanlah prasyarat mutlak untuk tumorigenesis akibat induksi DMBA/TPA, karena aktivasi gen K-ras dapat menggantikan fungsi gen H-ras pada karsinogenesis mencit defisiensi H-ras (Tabel 1).³³

Perubahan regulasi pada tumor payudara akibat induksi DMBA, diantaranya peningkatan ekspresi AhR, *c-myc*, *cyclin D1*, dan hiperfosforilasi protein retinoblastoma (Rb). Aktivitas DMBA sebagai agen genotoksik dan mutagenik diperlihatkan dengan meningkatnya regulasi AhR dalam menginduksi *CYP1B1*, yang berperan dalam metabolisme dan aktivasi DMBA menjadi *ultimate carcinogen* (DMBA-3,4-diol-1,2-epoxide). Peningkatan regulasi AhR dapat meningkatkan ekspresi NF- κ B oleh induksi stres oksidatif. Selain itu DMBA dapat meningkatkan *prolyl isomerase* (Pin1), berfungsi sebagai signal integrator dalam regulasi β -catenin, *c-myc*, *cyclin D1* dan NF- κ B. NF- κ B dapat menghambat jalur apoptosis pada beberapa kanker. Dari beberapa hasil penelitian memperlihatkan karsinogen lingkungan seperti DMBA dalam waktu lama dapat menyebabkan perubahan pada jalur pertumbuhan dan apoptosis yang menjadi dasar tumorigenesis kelenjar payudara.¹⁸

Table 1. Mutasi gen Ras pada kanker kulit hasil induksi DMBA.³³

Genotype	Histology	Mutant gene and codon	Mutation ^a	Amino acid substitution	Total number tested
Wild-type	Papilloma	H-ras 61	CAA →CTA	Gln→Leu	16
	Papilloma	H-ras 61	CAA →CGA	Gln→Arg	1
	Carcinoma	H-ras 61	CAA →CTA	Gln→Leu	1
Total					18
H-ras(+/-)	Papilloma	H-ras 61	CAA →CTA	Gln→Leu	18
	Papilloma	H-ras 61	CAA →TTA	Gln→Leu	1
	Papilloma	H-ras 61	CAA →CAT	Gln→His	1
	Papilloma	H-ras 13	GGC →CGC	Gly→Arg	1
	Papilloma	H-ras 61	CAA →CAT	Gln→His	1
	Papilloma	H-ras 13	GGC →GCG	Gly→Ala	1
	Carcinoma	H-ras 61	CAA →CAT	Gln→His	1
	Total				24
	H-ras(-/-)	Papilloma	<i>no mutation</i> ^b		
K-ras 13			GGC →CGC	Gly→Arg	7
K-ras 61			CAA →CTA	Gln→Leu	2
K-ras 12			GGT →GTT	Gly→Val	2
K-ras 13			GGC →GCG	Gly→Ala	1
K-ras 12			GGT →TGT	Gly→Cys	1
K-ras 13			GGC →CGC	Gly→Arg	1
Total					

a. The indicated sequences correspond to the codons. Bold letters are nucleotides involved in the mutation

b. No mutations were detected in codon 12, 13 or 61 of K-ras or N-ras genes

6. Gambaran histologi payudara hasil induksi DMBA

DMBA dapat digunakan sebagai model untuk kanker payudara pada tikus, karena model karsinogenesis ini mirip dengan kelainan payudara pada manusia. Beberapa alasan yang mendukung penggunaan tikus untuk model karsinogenesis ini, diantaranya: kelenjar payudara tikus menunjukkan kerentanan yang tinggi untuk mengembangkan neoplasma, sebagian besar neoplasma yang terbentuk menyerupai penyakit pada manusia, khususnya adenokarsinoma payudara. Inisiasi karsinogenesis terjadi terutama pada duktal-lobular terminal unit. Selain itu kedua lesi molekuler yang dihasilkan mirip.

Hormone-dependent adenocarcinoma merupakan tipe tumor payudara umumnya, yang terbentuk hasil dari induksi karsinogen kimia seperti DMBA dan N-methyl-N-nitrosourea.⁹ Klasifikasi histopatologi diperlukan untuk menentukan tipe tumor yang berdampak pada interpretasi data eksperimen. Beberapa klasifikasi histopatologi yang digunakan diantaranya *Registry of Industrial Toxicology Animal-Data RITA classification (IARC publications 133)*, meliputi adenokarsinoma, adenokarsinoma yang berasal dari fibroadenoma, hiperplasia, fibroadenoma, tumor campuran jinak dan tumor campuran ganas.^{10,34} Dias *et al* menggunakan klasifikasi Scarff-Bloom-Richardson untuk menginterpretasi tumor yang terbentuk hasil induksi DMBA. Selain itu Russo *et al* mengklasifikasikan berdasarkan asal jaringan dan sifat biologik tumor.⁹

Jumlah tumor per hewan percobaan, masa laten dan tipe tumor dipengaruhi oleh usia, riwayat reproduksi, lingkungan hormon dari tikus pada saat paparan karsinogen maupun diet dan dosis karsinogen yang diberikan. Kejadian tumor jinak dan ganas yang terbentuk, 24 minggu setelah induksi DMBA pada tikus Wistar sebanyak 60% dengan ukuran berkisar antara 2 sampai 55 mm. Pada penelitian ini gambaran histopatologi tumor mengacu pada kriteria WHO (*World Health Organization*), sedangkan sistem grading mengacu pada klasifikasi Scarff-Bloom-Richardson. Tumor jinak yang dihasilkan sebanyak 35, sedangkan ganas 56, dengan berbagai gambaran histologi, seperti duktal karsinoma invasif, *ductal carcinoma in situ* (DCIS), hiperplasia glandular, hiperplasia atipik, fibroadenoma, dan papiloma intraduktal (lihat Tabel 2). Nodul jinak atau ganas pada tumor

payudara ini dapat dijumpai pada individu yang sama maupun berbeda.¹⁰

Tabel 2. Klasifikasi histology tumor payudara jinak dan ganas pada tikus.¹⁰

	N	%
Malignant mammary tumors		
<i>Invasive ductal carcinoma</i>	51	91,07
<i>DCIS</i>	3	3,57
<i>Tipe histology lain</i>	2	5,36
Benign disorders of the mammary glands		
<i>Glandular hyperplasia</i>	24	68,57
<i>Atypical hyperplasia</i>	7	20,00
<i>Fibroadenoma</i>	3	8,57
<i>Intraductal papiloma</i>	1	2,86

Walaupun adenokarsinoma payudara tikus hasil induksi karsinogen kimia dan adenokarsinoma manusia memiliki beberapa persamaan morfologi, namun terdapat beberapa perbedaan struktur dan perilaku agresifitas tumor. Seperti beberapa laporan menunjukkan karsinoma payudara paling sering berkembang pada tikus memperlihatkan gambaran cribriform atau papillar, menunjukkan pola pertumbuhan yang non-invasif atau mikroinvasif atau rendahnya insiden metastasis. Sedangkan pada manusia memperlihatkan gambaran morfologi karsinoma duktal invasif dengan pola pertumbuhan infiltratif dan metastasis. Selain itu ada lesi spesifik pada manusia, seperti penyakit Paget, karsinoma meduler, dan karsinoma lobular tidak dijumpai pada tikus.¹⁸

DAFTAR PUSTAKA

1. Agnantis NJ, Fatouros M, Arampatzis I, Briasoulis E, Ignatiadou EV, Paraskevaidis E, *et al.* Carcinogenesis of Breast Cancer: Advances and Applications. *Gastric Breast Cancer*. 2004; 3(1):13-22
2. Kenemans P, Verstraeten RA, Verheijen RHM. Oncogenic pathways in hereditary and sporadic breast cancer. *Maturitas*. 2004;49:34-43.
3. DiGiovanni J and Juchau MR. Biotransformation and bioactivation of 7,12 dimethylbenz[a]anthracene (7,12 DMBA). *Drug Metab Rev*. 1990; 11: 61-101. (*abstract*)
4. Melendez-Colon VJ, Luch A, Seidel A and Baird WM. Formation of Stable DNA Adducts and Apurinic Sites upon Metabolic Activation of Bay and Fjord Region Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Human Cell Cultures. *Chem Res Toxicol*. 2000;13:10-7.
5. Frenkel K, Wei L, Wei H. 7,12-dimethylbenz[a]anthracene induces oxidative DNA modi-

fication in vivo. *Free Radic Biol Med*. 1995; 19; 373-80.

6. Budàn F, Varjas T, Nowrasteh G, Prantner I, Varga Z, Ember A, *et al.* Early Modification of c-myc, Ha-ras and p53 expressions by chemical carcinogens (DMBA, MNU). *In vivo*. 2009; 23: 591-8
7. Costa I, Solanas M, Escrich E. Histopathologic Characterization of Mammary Neoplastic Lesions Induced With 7,12 Dimethylbenz(a)anthracene in the Rat A Comparative Analysis With Human Breast Tumors. *Arch Pathol Lab Med*. 2002; 126: 915-27.
8. Russo IH, Russo J. Developmental stage of the rat mammary gland as determinant of its susceptibility to 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *J Natl Cancer Inst*. 1978; 61(6):1439-49. (*abstract*)
9. Russo J and Russo IH. Atlas and histologic classification of tumors of the rat mammary gland. *J Mammary Gland Biol and Neoplasia*, 2000; 5(2): 187-200.
10. Dias M, Sousa CE, Franca B, Patricio J, Oliveira C. Benign and malignant mammary tumors induced by DMBA in female Wistar rat. *Eur J Gynaec Oncol*. 1999; 20(4); 285-8.
11. Beckmann MW, Niederacher D, Schnürch HG, Gusterson BA, Bender HG. Multistep carcinogenesis of breast cancer and tumour heterogeneity. *J Mol Med*. 1997; 75: 429-39.
12. Cotran RS. Neoplasma. In: Cotran RS, Kumar V, Robbins SL (editors). *Robbins. Pathology Basic*. 8th ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2010.p.133-74.
13. Tjarta A. Neoplasia Dalam: Pringgoutomo S, Himawan S, Tjarta A (editor). *Patologi I (Umum)* 1 ed. Jakarta: Sagung Seto; 2002.p.171-234.
14. Davis DL, Bradlow HL, Wolff M, Woodruff T, Hoel DG and Anton-Culver H. Medical Hypothesis: Xenoestrogens As Preventable Causes of Breast Cancer. *Environ Health Perspect*.1993;101(5): 372-77.
15. Lenoir V, Canonico MBY, Perrin MH, Martin A, Scholler R, *et al.* Preventive and curative effect of melatonin on mammary carcinogenesis induced by *dimethylbenz[a]anthracene* in the female Sprague-Dawley rat. *Breast Cancer Res*. 2005; 7: R470-6.
16. Sigma-Aldrich. 2007. 7,12-Dimethylbenz[α]anthracene.<http://www.sigmaaldrich.com>, accessed on Jan 7, 2012.

17. Barros ACS, Muranaka ENK, Mori LJ, Pelizon CHT, Iriya K, Giocondo G, *et al.* Induction of experimental mammary carcinogen in rat with 7,12 dimethylbenz(a)anthracene. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo.* 2004;59(5):257-61.
18. Currier N, Solomon SE, Demicco EG, Chang DLF, Farago M, Ying H, *et al.* Oncogenic signaling pathways activated in DMBA-induced mouse mammary tumors. *Toxicol Pathol.* 2005; 33:726-37.
19. Meiyanto E, Tasminatun S, Susilowati S, Murwanti R dan Sugiyanto. Efek kemo-preventif ekstrak etanolik Gynura procumbens (Lour), Merr pada karsinogenesis kanker payudara tikus. *Majalah Farmasi Indonesia, 2007; 18(3): 154-61.*
20. Wibowo AE, Sriningsih, Wuyung PE, Ranasasmitha R. The influence of DMBA (7,12-dimethyl-benz-[a]anthracene) regimen in the development of mammae carcinogenesis on Sprague dawley female rat. The International Seminar Chemoprevention for Health Promotion and Beauty Yogyakarta, October 9, 2010.
21. Dandekar S, Sukumar S, Zaeld H, Yuong LJT, Cardiff RD. Specific Activation of The Cellular Harvey-ras Oncogen in Dimethyl-benzanthracene-Induced Mouse Mammary Tumors, *MCB, 1986; 16(11): 4104-8.*
22. Miyata M, Kudo G, Lee YH, Yang TJ, Gelboin HV, Fernandez-Salguero P, *et al.* Targeted disruption of the microsomal epoxide hydrolase gene. Microsomal epoxide hydrolase is required for the carcinogenic activity of 7,12-dimethylbenz [a]anthracene. *J Biol Chem.* 1999; 274(34): 23963-8.
23. Kumar MNV R, Vadhanam MV, Horn J, Flesher J W and Ramesh C. Formation of Benzylic-DNA Adducts Resulting from 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene in Vivo. *Chem. Res. Toxicol.* 2005 ;18: 686-91.
24. Xue W, Warshawsky D. Metabolic activation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage: A review. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005; 206: 73-93.
25. Androustopoulos VP, Tsatsakis AM and Spandidos DA. Cytochrome P450 CYP1A1: wider roles in cancer progression and Prevention. *BMC Cancer.* 2009; 9(187): 1-17.
26. Puga A, Ma C, Marlowe JL. The aryl hydrocarbon receptor cross-talks with multiple signal transduction pathways. *Biochem Pharmacol.* 2009; 77(4): 713-22.
27. Gao J, Lauer FT, Mitchell LA, Burchiel SW. Microsomal Epoxide Hydrolase Is Required for 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-Induced Immunotoxicity in Mice. *Toxicol Sci.* 2007; 98(1): 137-44.
28. Bigger CAH, Strandberg J, Yagi H, Jerina DM, Dipple A. Mutagenic specificity of a potent carcinogen, benzo[c]phenanthrene (4R,3S)-dihydrodiol (2S,1R)-epoxide, which reacts with adenine and guanine in DNA. *Proc Natl Acad Sci.* 1989; 86: 2291-5.
29. Lehner AF, Horn J, Flesher JW. Formation of radical cations in a model for the metabolism of aromatic hydrocarbons. *BBRC.* 2004; 322: 1018-23.
30. Shumkovska JD, Veenman L, Ristoski T, Leschiner S, Gavish M. Stress and pathological signs in rat liver after DMBA exposure decreases in binding capacity of the mitochondrial 18 kDa translocator protein accompany oxidative. *Toxicol Pathol.* 2010; 38: 957-68.
31. Wanandi SI. Aktivitas spesifik enzim manganase superoxide dismutase (*MnSOD*) pada karsinogenesis payudara tikus yang diinduksi DMBA (7,12-dimethylbenz(a)anthracene). 2010 (in press).
32. Hochwalt AE, Solomon JJ, Garte SJ. Mechanism of H-ras oncogene activation in mouse squamous carcinoma induced by an alkylating agent. *Cancer Res.* 1988; 48: 556-8.
33. Ise K, Nakamura K, Nakao K, Shimizu S, Harada H, Ichise T, *et al.* Targeted deletion of the H-ras gene decreases tumor formation in mouse skin carcinogenesis. *Onco-gene.* 2000; 19: 2951-6.
34. Marxfeld H. Gene expression profiling of spontaneous and induced mammary tumours of the rat. Thesis, in the Field of Pathology at the University of Veterinary Medicine Hannover. 2005.