

POLIMORFISME XPD23 PADA PEKERJA RADIASI MEDIK

Wiwin Mailana, dan Yanti Lusiyanti

Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi - Badan Tenaga Nuklir Nasional

Jl Lebak Bulus Raya 49 Jakarta Selatan

E-mail: wiwin@batan.go.id

ABSTRAK

POLIMORFISME XPD23 PADA PEKERJA RADIASI MEDIK. Sistem perbaikan DNA bertanggung jawab untuk menjaga integritas genom dan memiliki peran penting dalam melindungi terhadap mutasi yang dapat menyebabkan kanker. Variasi substansial respon intrinsik individu terhadap radiasi dapat dilihat dari polimorfisme gen DNA perbaikan. Sistem DNA perbaikan bertanggungjawab terhadap kekuatan genom dan mempunyai peran penting dalam melawan mutasi yang menyebabkan kanker. Tujuan dari penelitian ini untuk mendeteksi adanya polimorfisme DNA perbaikan gen XPD 23 pada pekerja radiasi dengan PCR-RFLP. Dari sampel pekerja radiasi dari 4 rumah sakit didapat pita dengan ukuran sekitar 200 bp dan 250 bp yang menandakan genotip AA .

Kata Kunci : pekerja radiasi, xpd23, polimorfisme

ABSTRACT

XPD23 POLYMORPHISM IN RADIATION WORKERS. DNA repair systems are responsible for maintaining the integrity of the genome and have a critical role in protecting against mutations that can lead to cancer. Substantial variation in the intrinsic response of individuals to radiation can be seen from the polymorphism of DNA repair genes. DNA repair systems are responsible for maintaining the integrity of the genome and have a critical role in protecting against mutations that can lead to cancer. The aim of this study to detecting the presence of polymorphisms of DNA repair gene XPD 23 in radiation workers by PCR-RFLP. From a sample of radiation workers obtained band with a size of about 200 bp and 250 bp showing the AA genotype

Keywords : radiation workers, xpd23, polymorphism

PENDAHULUAN

Ribuan masalah dengan DNA muncul setiap hari di setiap sel tubuh, yang masing-masing harus berhasil terdeteksi dan, jika perlu, diubah. Sistem perbaikan DNA mendeteksi dan mengkoordinasikan respon terhadap serangan tersebut, mempengaruhi langkah-langkah untuk mencegah kematian sel atau menghapus sel-sel kanker dari sistem tubuh. Paparan radiasi pengion, salah satu pencetus karsinogen pada manusia melalui kerusakan sel DNA. Beberapa studi menunjukkan terjadinya kerusakan kromosom DNA pada pekerja rumah sakit yang terkena radiasi pengion, meskipun sebagian besar penelitian ini gagal untuk menjelaskan hubungannya dengan radiasi dosis rendah (1) Struktur DNA dapat rusak akibat paparan radiasi pengion (2). Radiasi Pengion merusak sel DNA dalam beberapa cara sehingga membutuhkan tindakan dari sejumlah enzim DNA repair secara bersama untuk pemeliharaan struktur DNA (3). Kemampuan untuk memperbaiki kerusakan DNA sangat terkait dengan risiko kanker dan penyakit manusia lainnya seperti neurodegenerative dan gangguan peradangan, dan penuaan karena merupakan mekanisme pertahanan yang memainkan peran penting

dalam kelangsungan hidup sel dan pemeliharaan stabilitas genom (4).

DNA repair memainkan peranan penting dalam pemeliharaan struktur genomik, dan berkurangnya fungsi perbaikan, dan akhir akhir ini dikaitkan dengan perkembangan kanker (5). Polimorfisme DNA repair dapat mewakili faktor kerentanan yang mempengaruhi struktur DNA, dan kemungkinan risiko kanker dalam populasi manusia. Untuk menjelaskan pengaruh adanya polimorfisme DNA repair, maka dipelajari kerusakan DNA pada tingkat individu dan hubungannya dengan gaya hidup dan paparan dari lingkungan(4). Polimorfisme ini juga penting dalam menentukan kemampuan individu untuk memperbaiki sel DNA setelah paparan radiasi pengion (5).

XPD (*xeroderma pigmentosum complementation group D*) juga disebut ERCC2, gen yang mengkode aktivitas helikase ATP-dependent DNA yang berpartisipasi dalam perbaikan dengan mengeluarkan/memotong nukleotida (6).

Salah satu teknik dalam mendeteksi polimorfisme yaitu dengan teknik *Restriction Fragment Length Polymorphisms* (RFLP). Pemeriksaan DNA perbaikan merupakan

pemeriksaan biomarker yang dibutuhkan dan sangat berguna.

METODOLOGI

Subjek penelitian didapatkan dari pekerja radiasi dari 4 Rumah sakit di Jakarta dan di Jawa Barat yang memenuhi kriteria inklusi.

Ekstraksi DNA

Pekerja radiasi diambil darah melalui vena sebanyak 0,5 ml dan diekstraksi menggunakan High Pure Extraction PCR dari Roche.

Amplifikasi dengan Realtime PCR

Reaksi PCR dilakukan dalam volume reaksi 20 μ l yang terdiri dari 0,5 μ l *forward primer* dan *reverse primer*, 5 μ l DNA dan *Faststart Essential DNA Green Master* 10 μ l, *Water PCR Grade* 4 μ l. *Primer* yang digunakan yaitu terdiri dari *forward primer* (5'-GGT-CCT-TCT-CCG-ACT-CCC--3'), *reverse primer* (5'-CTG-CCT-TCT-CCT-GCG-ATT-3') dengan suhu *annealing* 61°C.

Siklus PCR dimulai dari pre-denaturasi pada suhu 95°C selama 10 menit. Siklus PCR yaitu 30 siklus yang terdiri dari tahap denaturasi pada 95°C selama 20 detik, *annealing* pada 55°C selama 20 detik dan *elongation* pada 72°C selama 20 detik. Setelah itu, *melting* yang terdiri

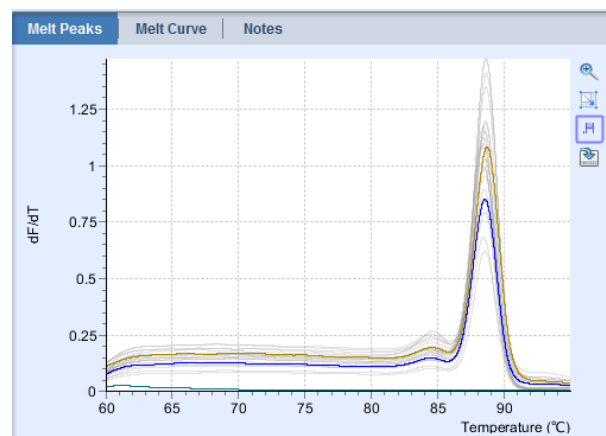
dari *initial stage* pada 60°C selama 20 detik dan *final stage* pada 95°C selama 20 detik. Selanjutnya hasil PCR akan dilakukan metode elektroforesis dan RFLP.

Elektroforesis RFLP

Sampel hasil amplifikasi PCR decampur dengan 0,5 ul enzim PstI dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu 37 °C. Kemudian dipisahkan pada gel agarosa 2%. Alat elektroforesis diset pada voltase 50 V selama 2,5 jam. Hasil dibaca menggunakan GelDoc. Dan ditentukan genotipe menurut ukuran bp

HASIL DAN PEMBAHASAN

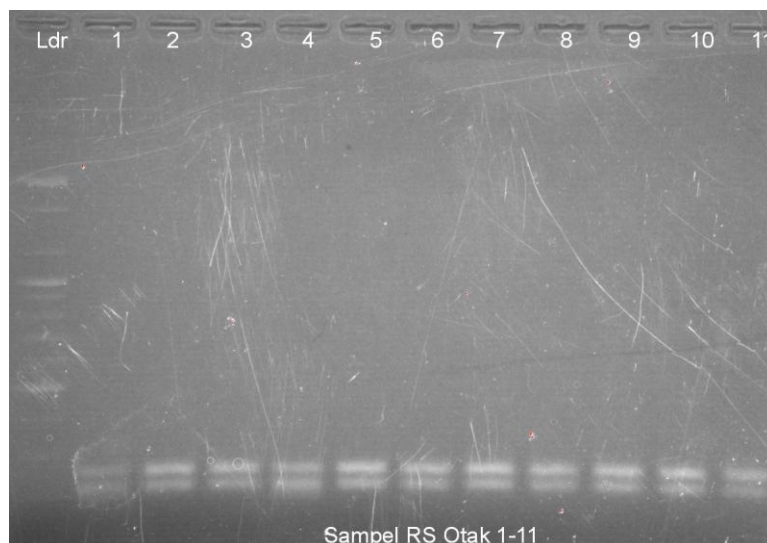
Hasil isolasi DNA pasien selanjutnya akan diPCR untuk mengamplifikasi sekuens DNA yang diinginkan dengan menggunakan *real-time* PCR. *Real-time* PCR dapat mendeteksi jumlah produk PCR (amplikon) pada setiap siklus PCR dengan menggunakan *fluorescence*. Pada tahap akhir *real-time* PCR dapat diprogram untuk menghasilkan suatu kurva suhu peleburan dan menghitung *melting temperature* (T_m) produk PCR [13]. Analisis pada peleburan (*melting analysis*) sudah menjadi bagian dari teknik *real-time*. Setiap DNA memiliki titik lebur (*melting temperature* / T_m). Hasil amplifikasi sampel DNA ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Realtime PCR pada pekerja radiasi

Pada gambar 1 terlihat amplifikasi DNA pada sampel pekerja radiasi medik menggunakan *annealing* 61 °C dan terdapat satu kurva pada masing-masing sampel. Hal ini bertanda bahwa sampel berhasil diamplifikasi dengan baik dan tidak terdapat kontaminasi. Produk hasil PCR dapat dianalisis sesuai dengan informasi yang ingin didapatkan seperti untuk

mengetahui ada atau tidaknya DNA target atau panjang produk DNA. Dari hasil amplifikasi selanjutnya dilakukan elektroforesis menggunakan metode elektroforesis RFLP. Hasil visualisasi PCR dengan elektroforesis untuk melihat hasil produk PCR ditampilkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Elektroforesis pada pekerja radiasi

Dari hasil visualisasi sampling elektroforesis hasil PCR diperoleh ukuran DNA dalam kisaran 200 bp dan 250 bp merupakan

genotip normal homozygote AA. Data hasil elektroforesis sampel ditampilkan dalam table 1.

Tabel 1. Genotip Hasil Elektroforesis Pekerja Radiasi

Rumah Sakit	Jumlah sampel	Ukuran DNA (bp)/Genotip	
RS A	22	200 250	AA
RS B	12	200 250	AA
RS C	12	200 250	AA
RS D	15	200 250	AA

Berdasarkan hasil elektroforesis pada umumnya semua sampel pekerja radiasi bergenotip normal homozygot AA. Semua sampel pekerja radiasi tidak ditemukan genotip AC seperti yang didapat pada sampel kanker serviks yang telah dikerjakan tahun sebelumnya. Menurut J.J Hu (2002) varian alel dari Lys751Gln (AC) dikaitkan dengan risiko kanker paru-paru dan kanker kepala dan leher. Ada beberapa hipotesis dimana polimorfisme XPD6 bentuk varian alel dapat mempengaruhi stabilitas mRNA atau mengganggu sintesis protein. Protein XPD memiliki peran ganda yaitu dalam perbaikan DNA dan transkripsi DNA. Peran transkripsi penting untuk mengendalikan ekspresi gen secara imunologis. Pada penelitian JJ Topinka (2007), polimorfisme XPD 23 dengan genotip AA lebih banyak terkena bronkitis dibanding dengan genotip AC dan CC.

KESIMPULAN

Deteksi DNA repair pada sampel pekerja radiasi diperoleh adalah genotip AA dengan ukuran berkisar 200 bp dan 250 bp. Tidak ditemukan genotip AC yang berhubungan dengan kanker serviks, kanker paru paru dan kanker kepala dan leher.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih saya ucapkan kepada keempat rumah sakit dengan team yang telah memberikan sumbang dan saran terhadap penelitian ini. Pada BATAN yang telah memberikan kontribusi dalam terlaksananya penelitian ini dengan dana DIPA PTKMR 2012-2013. Penulis juga mengucapkan banyak terima

kasih kepada Laboratorium Biologi Molekuler PTKMR.

DAFTAR PUSTAKA

1. Andreassia, Maria Grazia; Foffaa,Ilenia; Manfredia,Samantha; Bottoa,Nicoletta; Cioppac, Angelo; Picano,Eugenio; Genetic polymorphisms in XRCC1, OGG1, APE1 and XRCC3 DNA repair genes, ionizing radiation exposure and chromosomal DNA damage in interventional cardiologists, *Mutation Research* 666, 57–63, 2009
2. Ilse Decordier , Kim Vande Look, Micheline Kirsch-Volders, Review: Phenotyping For DNA repair capacity, *Mutation Research* 705, 107–129, 2010
3. Sharbel Weidner Maluf, Monitoring DNA damage following radiation exposure using cytokinesis–block micronucleus method and alkaline single-cell gel electrophoresis, *Clinica Chimica Acta* 347, 15–24, 2004
4. A. Zijnoa, A. Verdinab, R. Galatib, P. Leopardia, F. Marcona, C. Andreolia, S. Rossia, R. Crebellia, Influence of DNA repair polymorphisms on biomarkers of genotoxic damage in peripheral lymphocytes of healthy subjects, *Mutation Research* 600, 184–192, 2006
5. Angelinia, Sabrina, Micronuclei in humans induced by exposure to low level of ionizing radiation: influence of polymorphisms in DNA repair genes, *Mutation Research* 570, 105–117, 2005
6. Sreemanta Pramanik, Saravana Devi, Sanghamitra Chowdhary, Subin T. Surendran, Kannan Krishnamurthi, Tapan Chakrabarti, DNA repair gene polymorphisms atXRCC1 ,XRCC3 ,XPD, andOGG1 loci in Maharashtrian population of central India, *Chemosphere* 82, 941–94, 2011
7. Stuart G. Clarkson1, Richard D. Wood, Polymorphisms in the human XPD (ERCC2) gene, DNA repair capacity and cancer susceptibility: An appraisal, *DNA Repair* 4, 1068–1074, 2005
8. William W. Aua, Panida Navasumritb, Mathuros Ruchirawat, Use of biomarkers to characterize function of polymorphic DNA repair genotypes, *Int. J. Hyg. Environ. Health* 207; 301-313, 2004
9. J. J. Hu, H. W. Mohrenweiser, D. A. Bell, S. A. Leadon, and M. S. Miller, Symposium Overview: Genetic Polymorphisms in DNA Repair and Cancer Risk, *Toxicology and Applied Pharmacology*185, 64–73, 2002
10. Jan Topinkaa, Irva Hertz-Picciottob, Miroslav Dostala, Irena Chvatalovaa, Poh-Sin Yapb, Caroline E.W. Herrc, Teri Greenfieldb, Radim J. Srama, The DNA repair gene XPD/ERCC2 polymorphisms Arg156Arg (exon 6) and Lys751Gln (exon 23) are closely associated, *Toxicology Letters* 172, 85–89, 2007
11. KOMAR AA, Single Nucleotide Polymorphisms Method and Protocols Second Edition. USA. Humana press, 2009
12. DORAK MT, *Real-time PCR*, UK: Taylor & Francis Group, 2006
13. SAMBROOK J, RUSSELL DW, *Molecular Cloning : A Laboratory Manual 1 Third Edition*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press 2001.