



POLIMORFISME GEN CYP1A1 SEBAGAI FAKTOR RISIKO KANKER PARU PADA PEKERJA PELAPIS LOGAM

Yuliani Setyaningsih¹✉, Mutmainnah²

¹ Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Diponegoro Semarang

² Sekolah Tinggi Kesehatan Mega Rezky Makassar

Info Artikel

Diterima 4 April 2019

Disetujui 6 Mei 2019

Diterbitkan 31 Mei 2019

Kata Kunci:

Polimorfisme
Gen CYP1A1
Kromium
Pelapis Logam

e-ISSN:

2613-9219

✉ Corresponding author:

joeliani_kesja_undip@yahoo.com

Keywords:

Polymorfism
CYP1A1 gene
Chromium
Electroplating

Abstrak

Latar Belakang: Pekerja pelapisan kromium memiliki risiko 2-80 kali lipat terkena kanker paru. Patogenesis kanker paru tidak lepas dari peranan gen yang berperan dalam metabolisme karsinogen. Gen yang berperan dalam metabolisme karsinogen adalah CYP1A1. Polimorfisme gen CYP1A1 dapat menyebabkan kanker paru karena enzim tersebut merupakan enzim kunci dalam aktivasi prokarsinogen tembakau dan bahan-bahan kimia lain. **Metode:** Jenis penelitian *explanatory research* dengan pendekatan *cross sectional*. Sampel diambil secara purposif sebanyak 66 orang pada pekerja pelapis logam di kecamatan Talang kabupaten Tegal. Variabel independen yang diamati meliputi jenis pekerjaan, kebiasaan merokok dan umur sedangkan variabel dependennya adalah polimorfisme gen CYP1A1. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan ditemukan 2 genotip polimorfisme m1 gen CYP1A1 pada tiap kelompok yaitu genotip homozigot varian (m1/m1) dan homozigot wild type (w1/w1). Selain itu juga ditemukan 2 genotip polimorfisme m2 gen CYP1A1 pada tiap kelompok yaitu genotip homozigot varian (m2/m2) dan homo zygot wild type (w2/w2). Uji beda polimorfisme gen CYP1A1 m1 dan m2 ini menunjukkan hasil yang berbeda bermakna antara kelompok paparan kromium tanpa merokok dan kelompok paparan kromium dengan merokok. Kelompok dengan paparan kromium dan merokok lebih berisiko membawa alel varian dibandingkan alel wild tipe. **Kesimpulan:** Terdapat polimorfisme gen CYP1A1 pada pekerja pelapis logam yang terpapar kromium dan merokok. Individu dengan paparan kromium dan merokok berisiko memiliki genotip varian gen CYP1A1.

Abstract

Background: Electroplating workers have 2-80 times the risk of lung cancer. Pathogenesis of lung cancer cannot be separated from the role of genes that play a role in the metabolism of carcinogens. Genes that play a role in carcinogen metabolism was CYP1A1. CYP1A1 polymorphism can cause lung cancer because it was a key enzyme in the activation of tobacco procarcinogens and other chemicals. **Method:** This was explanatory research with cross sectional approach. The sample was taken purposively as many as 66 people in electroplating workers in Talang, Tegal. Independent variables observed included occupation, smoking and age while the dependent variable was CYP1A1 gene polymorphism. **Result:** The results showed 2 genotypes of CYP1A1 m1 gene polymorphism in each group were homozygous variant (m1 / m1) and wild type homozygotes (w1 / w1). There was also found 2 genotypes of polymorphism m2 of CYP1A1 gene in each group of homozygous variant genotype (m2 / m2) and homo zygote wild type (w2 / w2). Different test of CYP1A1 m1 and m2 gene polymorphisms showed significantly different results between the smokeless chromium exposure group and the chromium exposure group with smoking. Groups with exposure to chromium and smoker are more at risk of carrying variant alleles than wild-type alleles. **Conclusion:** There is a CYP1A1 gene polymorphism in metal coating workers exposed to chromium and smoker. Workers with chromium exposure and smoker are at risk of having genotype variants of the CYP1A1 gene

Pendahuluan

Kromium telah dimanfaatkan secara luas dalam kehidupan manusia. Sifat Kromium diantaranya tahan korosi, kuat dan keras. Kromium digunakan dalam berbagai proses industri seperti produksi stainless steel, pengelasan, penyamakan kulit dan pelapisan logam [1].

Studi epidemiologi menunjukkan bahwa pekerja yang terpapar produksi kromat dan pelapisan kromium memiliki risiko 2-80 kali lipat terkena kanker paru [2]. Reduksi dari kromium VI ke kromium III dalam tubuh dapat meningkatkan terjadinya Reactive Oxygen Spesies (ROS) [3]. Jumlah berlebihan ROS yang dihasilkan dalam reaksi reduksi dapat menyebabkan cedera pada sel DNA, lemak dan protein. Kelebihan produksi ROS juga dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan oksidatif DNA [4], [5], [6], [7], [8]. Patogenesis kanker paru tidak lepas dari peranan gen yang berperan dalam metabolisme karsinogen [9].

Gen yang berperan dalam metabolisme karsinogen adalah CYP1A1. Polimorfisme gen CYP1A1 dapat menyebabkan kanker paru karena enzim tersebut merupakan enzim kunci dalam aktivasi prokarsinogen tembakau dan bahan-bahan kimia lain [10]. Hal tersebut mendorong peneliti untuk melihat apakah terdapat polimorfisme gen CYP1A1 pada pekerja pelapis logam yang terpapar kromium dan merokok.

Metode

Penelitian ini adalah penelitian *explanatory research* dengan pendekatan *cross sectional*. Populasi penelitian ini adalah pekerja pelapis logam di kecamatan Talang Kabupaten Tegal. Sampel diambil secara purposif sebanyak 66 responden. Variabel bebas adalah jenis pekerjaan dan kebiasaan merokok sedangkan variabel terikat adalah polimorfisme gen CYP1A1.

Polimorfisme gen CYP1A1 *m1* adalah substitusi nukleotida T menjadi C pada ujung 3' gen CYP1A1 yang berhubungan dengan peningkatan aktivitas enzim ditentukan dengan metode PCR-RFLP menggunakan enzim restriksi *MspI*. *m1* diperoleh pada 200 bp dan 140 bp untuk alel varian dan untuk alel *wild-type* pada 340 bp. Individu dinyatakan memiliki faktor risiko genetik terhadap kanker paru apabila memiliki *m1*.

Sedangkan Polimorfisme gen CYP1A1 *m2* adalah transisi nukleotida A menjadi G pada pada ekson 7 gen CYP1A1 yang menyebabkan substitusi asam amino Val menjadi Ile pada *heme-binding region* sehingga menyebabkan peningkatan aktivitas enzim mikrosomal. Hal ini ditentukan dengan metode PCR-RFLP menggunakan enzim restriksi *BsrDI*. *m2* diperoleh pada 149 bp dan 55 bp untuk *wild-type* dan untuk alel varian ditunjukkan dengan *single band*.

Individu dinyatakan memiliki faktor risiko genetik terhadap kanker paru apabila memiliki *m2* [11]. Isolasi DNA dari sampel darah menggunakan kit isolasi dan purifikasi DNA (*The Wizard Genomic DNA Purification Kit*) dari Promega. Penentuan genotip CYP1A1 *m1* menggunakan *forward primer* 5'-CAGTGAAGAGGTGTAGCCGCT-3' dan *reverse primers* 5'-TAGGAGCTTTGCTCATGCCT-3'. Genotip gen CYP1A1 *m2* menggunakan *forward primer* 5'-TTCCACCCGTTGCAGCAGGATAGCC-3' dan *reverse primers* 5'-CTGTC TCCCTCTGGTTACAGGAAG-3' [11]. Analisis data menggunakan uji chi square dengan tingkat kepercayaan 0,05 dan *confidence interval* 95 % [12].

Hasil

Hasil penelitian pada 66 responden menunjukkan terdapat 6 pekerja atau sebanyak 10% yang terpapar kromium dan tidak merokok, sedangkan 60 responden atau 90 % responden terpapar kromium dan merokok.

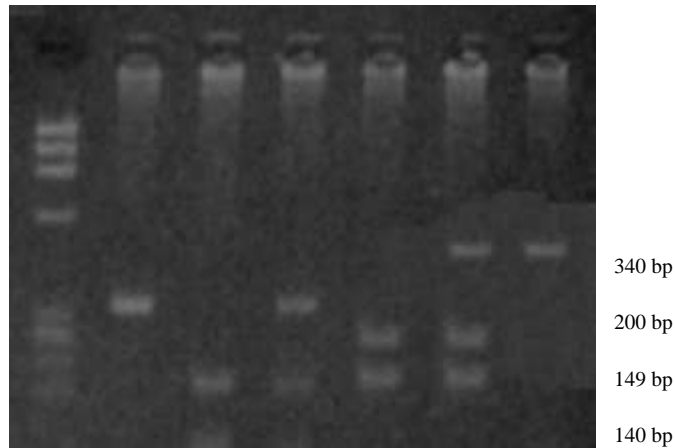
1. Hasil Pemeriksaan Polimorfisme

Hasil pemeriksaan menunjukkan 2 genotip polimorfisme *m1* gen CYP1A1 pada tiap kelompok yaitu genotip homozigot varian (*m1/m1*) terdapat pada *band* DNA 200 bp dan 140 bp dan homozigot *wild type* (*w1/w1*) yang terdapat pada *band* DNA 340 bp. Selain itu pemeriksaan polimorfisme juga menunjukkan 2 genotip polimorfisme *m2* gen CYP1A1 pada tiap kelompok yaitu genotip homozigot varian (*m2/m2*) ditunjukkan dengan adanya *single band* DNA dan homozigot *wild type* (*w2/w2*) yang terdapat pada *band* DNA 149 bp dan 55 bp (Gambar 1).

Pada CYP1A1 *m2* terjadi transisi Adenin (A) menjadi Guanin (G) sehingga terjadi substitusi asam amino val menjadi ile pada *heme binding region* yang menyebabkan peningkatan aktivitas enzim mikrosomal [13], [14], [15]. Hasil ini sesuai dengan penelitian lain yang menunjukkan bahwa terdapat polimorfisme *m1* gen CYP1A1 dengan genotip *m1/m1* dan *w1/w1* pada perokok di populasi Kashmiri [16]. Song *et al.* melaporkan pula bahwa genotip *m1/m1* dan *w1/w1* ditemukan pada populasi perokok di Cina¹¹. Polimorfisme *m1* gen CYP1A1 juga terdapat pada studi *meta-analysis* populasi perokok [17].

Polimorfisme *m1* gen CYP1A1 yang terdapat pada ekson7 mutasi Timin (T) menjadi Sitosin (C) pada *3'noncoding region* sehingga mempengaruhi fungsi kerja enzim dengan meningkatkan aktivitas enzim [14], [15], [18], [19].

Polimorfisme gen CYP1A1 *m1* dan *m2* lebih banyak ditemukan genotip varian pada kelompok dengan paparan kromium dan merokok. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya peningkatan ROS akibat reduksi kromium VI ke kromium III dalam tubuh sehingga terjadi cedera pada sel DNA, lemak dan protein. Selain itu, juga terjadi kerusakan jaringan oksidatif termasuk modulasi apoptosis p53 regulasi gen sehingga menyebabkan sitotoksitas, genotoksitas dan karsinogenesis [3], [4], [5], [6], [7], [8], [9].



Gambar 1. Hasil *genotyping* gen CYP1A1 m1 dan m2 yang dilakukan dengan metode PCR-RFLP. Genotip m1/m1 pada 200 bp dan 140 bp, genotip w1/w1 pada 340 bp, genotip m2/m2 pada *single band* DNA, genotip w2/w2 pada 149 bp dan 55 bp.

2. Distribusi frekuensi genotip gen CYP1A1 m1

Frekuensi genotip m1/m1 tidak ditemukan pada kelompok dengan paparan kromium tanpa merokok, frekuensi genotip w1/w1 pada kelompok dengan paparan kromium tanpa merokok sebesar 2,7% sebanyak 6 orang. Pada kelompok dengan paparan kromium dan merokok frekuensi genotip m1/m1 sebesar 32,7% (36 orang). Frekuensi genotip w1/w1 pada kelompok dengan paparan kromium dan merokok sebesar 27,3% (24 orang).

Pada kelompok dengan paparan kromium tidak diperoleh genotip m1/m1 tetapi diperoleh genotip w1/w1 sebanyak 6 orang (2,7%). Pada kelompok dengan paparan kromium dan merokok diperoleh genotip m1/m1 sebanyak 36 orang (32,7%) dan genotip w1/w1 diperoleh 24 orang (27,3%). Hal ini menunjukkan bahwa genotip varian m1/m1 lebih banyak ditemukan pada kelompok dengan paparan kromium dan merokok (Tabel 1).

Penelitian ini juga menunjukkan hasil frekuensi genotip yang berbeda bermakna antar kelompok dengan nilai $p = 0,005$. Genotip w1/w1 memiliki OR sebesar 0,400 yang menunjukkan bahwa genotip w1/w1 kurang berisiko terdapat pada kedua subjek penelitian, sehingga hasil penelitian ini menunjukkan genotip m1/m1 lebih berisiko ditemukan pada kelompok dengan paparan kromium dan merokok dibandingkan pada kelompok dengan paparan kromium tanpa merokok.

Kelompok merokok ≥ 20 pak/tahun memiliki genotip m1/m1 dengan OR mencapai 11,4 pada populasi perokok di Cina [11]. Kelompok yang merokok ≥ 20 pak/tahun berisiko memiliki genotip varian m1/m1 dengan OR 6,00 pada populasi perokok [16].

3. Distribusi frekuensi genotip gen CYP1A1 m2

Frekuensi genotip m2/m2 tidak ditemukan pada kelompok dengan paparan kromium tanpa merokok, frekuensi genotip w2/w2 pada kelompok dengan paparan kromium tanpa merokok sebesar 2,3% sebanyak 5 orang. Pada kelompok dengan paparan kromium dan merokok frekuensi genotip m2/m2 sebesar 33,3% sebanyak 36 orang. Frekuensi genotip w2/w2 pada kelompok dengan paparan kromium dan merokok sebesar 27,7% sebanyak 25 orang. Genotip varian m2/m2 pada kelompok dengan paparan kromium dan merokok sebanyak 36 orang (33,3%) tapi tidak diperoleh genotip varian pada kelompok dengan paparan kromium tanpa merokok. Genotip w2/w2 yang merupakan *wild type* pada kelompok dengan paparan kromium sebanyak 25 orang (27,7%) sedangkan pada kelompok dengan paparan kromium tanpa merokok diperoleh 5 orang (2,3%).

Dari hasil tersebut diperoleh hasil yang berbeda bermakna antar 2 kelompok penelitian dengan nilai $p = 0,011$. Genotip w2/w2 memiliki OR sebesar 0,410 yang menunjukkan bahwa genotip w2/w2 kurang berisiko terdapat pada kedua subjek penelitian, sehingga menunjukkan genotip m2/m2 lebih berisiko ditemukan pada kelompok dengan paparan kromium dan merokok dibandingkan pada kelompok dengan paparan kromium tanpa merokok (Tabel 2). Pada penelitian ini didapatkan variasi hasil yang berbeda pada tiap kelompok dikategorikan dalam 2 kelompok yaitu kelompok paparan kromium tanpa merokok dan kelompok paparan kromium dengan merokok. Gen yang berperan dalam metabolisme karsinogen adalah CYP1A1.

Tabel 1. Distribusi genotip m1/m1 dan w1/w1 polimorfisme gen CYP1A1 pada kelompok dengan paparan kromium dengan merokok dan kelompok paparan kromium tanpa merokok.

Variabel	Cr dan merokok (n=60)	Cr (n=6)	<i>p-value</i>	OR (CI;95%)
Genotip				
m1/m1	36 (32,7%)	0 (0%)	0,005 [#]	0,400 (0,293-0,545)
w1/w1	24 (27,3%)	6 (2,7%)		

Tabel 2. Distribusi genotip m2/m2 dan w2/w2 polimorfisme gen CYP1A1 pada kelompok dengan paparan kromium dengan merokok dan kelompok paparan kromium tidak merokok.

Variabel	Cr dan merokok (n=60)	Cr (n=6)	p-value	OR (CI;95%)	
Genotip	m2/m2	36 (33,3%)	0 (0%)	0,011 [#]	0,410 (0,303-0,554)
	w2/w2	25 (27,7%)	5 (2,3%)		

Gen tersebut berperan dalam meregulasi dan kontrol metabolisme karsinogen, terjadinya polimorfisme pada gen tersebut dapat menyebabkan kanker pada individu [9], [20]. Polimorfisme yang terjadi pada gen CYP1A1 dapat menyebabkan kanker paru karena di dalamnya terdapat enzim yang merupakan enzim kunci dalam aktivasi prokarsinogen tembakau dan bahan-bahan kimia lain [10]. Hasil penelitian polimorfisme gen CYP1A1 m1 dan m2 ini menunjukkan hasil yang berbeda bermakna pada distribusi genotip antara kelompok paparan kromium tanpa merokok dan kelompok paparan kromium dengan merokok.

Hasil yang berbeda ditunjukkan pada nilai OR kedua kelompok yang menunjukkan bahwa polimorfisme yang terjadi pada gen CYP1A1 m1 dan m2 di kelompok dengan paparan kromium dan merokok lebih berisiko membawa alel varian dibandingkan alel *wildtype*. Hal ini dapat disebabkan oleh karena adanya kerusakan DNA akibat paparan kromium dan diperkuat dengan konsumsi rokok pada individu sehingga menyebabkan aktivasi prokarsinogen tembakau dan bahan-bahan kimia lain. Polimorfisme gen CYP1A1 merupakan gen yang berhubungan dengan kejadian kanker paru. Pada gen ini terdapat *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNP). CYP1A1 m1 terjadi mutasi Timin (T) menjadi Sitosin (C) pada *3' noncoding region* yang dapat menyebabkan peningkatan aktivitas enzim [14], [15], [18], [19].

Pada CYP1A1 m2 terjadi transisi Adenin (A) menjadi Guanin (G) sehingga terjadi substitusi asam amino val menjadi ile pada *heme binding region* yang menyebabkan peningkatan aktivitas enzim mikrosomal [14], [15], [21]. Polimorfisme gen CYP1A1 dapat menyebabkan kanker paru karena enzim tersebut merupakan enzim kunci dalam aktivasi prokarsinogen tembakau dan bahan-bahan kimia lain [10].

Kesimpulan

Polimorfisme gen CYP1A1 pada pekerja pelapis logam yang terpapar kromium dan merokok. Individu dengan paparan kromium dan merokok berisiko memiliki genotip varian gen CYP1A1. Pekerja sebaiknya tidak merokok selama bekerja untuk dapat

mengurangi risiko terkena kanker paru. Pengusaha wajib menyediakan alat pelindung diri seperti masker dan pakaian panjang serta mewajibkan pekerja untuk memakainya untuk mengurangi paparan kromium yang masuk ke dalam tubuh pekerja.

Daftar Pustaka

- [1] Gambelunghe, A., R. Piccinini R, M. Ambrogi, M. Villarini, M. Moretti, C. Marchetti, G. Abbritti, G. Muzi, Primary DNA damage in chrome-plating workers. *Toxicology* 188, 187-195, 2003
- [2] Holmes, A.L., Wise, S.S., Wise Sr., J.P., Carcinogenicity of hexavalent chromium. *Indian J. Med. Res.* 128, 353-372., 2008
- [3] Rao, M.V., Chawla, S.L., Sharma, S.R., Protective role of vitamin E on nickel and/or chromium induced oxidative stress in the mouse ovary. *Food and Chemical Toxicol* 47, 1368-1371, 2009
- [4] Ames B.N., Endogenous oxidative DNA damage, aging and cancer. *Free Radic Res Commum*, 7:121-8., 1989
- [5] Danielson, U.H., Esterbauer, H., Mannervik, B., Structure-activity relationships of 4 hydroxyalkenals in the conjugation catalysed by mammalian glutathione transferases. *Biochem J.* 247, 707-713, 1987
- [6] Aiyar J., Borges K.M., Floyd R.A., Wetterhahn, K.E., Role of chromium (V), glutathiol and hydroxyl radical intermediates in chromium (VI)-induced DNA damage. *Toxicol Environ Chem*, 22:135-48, 1989
- [7] Bagchi, D., Stohs, S.J., Downs, B.W., Bagchi, M., Preuss, H.G., Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different forms of chromium. *Toxicology* 180, 5-22, 2001
- [8] O'Brien, T.J., Ceryak, S., Patierno, S.R., Complexities of chromium carcinogenesis: role of cellular response, repair and recovery mechanisms. *Mutat. Res.* 533, 3-36, 2003
- [9] Gonzalez, F, J., The role of carcinogen-metabolizing enzyme polymorphism in cancer susceptibility. *Reprod Toxicol.* 397-412., 1997
- [10] Shimada, T., Yun, C, H., Yamazaki, H., Gautier, J, C., Beaune, P, H., and Guengerich, F, P. Characterization of human lung microsomal cytochrome P-450 1A1 and its role in the oxidation of chemical carcinogens. *Mol Pharmacol.* 856-864, 1992

- [11] Song, N., Tan, W., Xing, D., Lin, D. CYP 1A1 polymorphism and risk of lung cancer in relation to tobacco smoking: a case-control study in China. *Carcinogenesis*. 22: 11-16, 2001
- [12] Candra, Budiman, *Biostatistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*, Jakarta : EGC, 2006
- [13] Cosma, G., Crofts, F., Taioli, E.,. The relationship between genotype and function of the human CYP1A1 gene. *J Toxicol Environ Health*. 40, 309-16., 1993
- [14] Crofts, F., Taioli, E., Trachman, J. Functional significance of different human CYP1A1 genotypes. *Carcinogenesis*. 15, 2961-3, 1994
- [15] Kiyohara, C., Nakanishi, Y., Inutsuka S. The relationship between CYP1A1 and aryl hydrocarbon hydroxylase activity and lung cancer in a Japanese population. *Pharmacogenetics*. 8, 315-23, 1998
- [16] Shaffi, S, M., Shah, M, A., Bhat, I, A., Koul, P., Ahmad, S, N., Siddiqi, M, A. CYP1A1 polymorphism and risk of lung cancer in the ethnic Kashmiri Population. *Asian Pasific J Cancer Prev*. 10:651-656, 2009
- [17] Zhan, P., Wang, Q., Qian, Q., Wei, S, Z., Yu, L, K, CYP1A1 MspI and exon7 gene polymorphisms and lung cancer risk: An updated meta-analysis and review. *J Exp Clin Cancer Research*. 30:99, 2011
- [18] Petersen, D, D., McKinney, C, E. and Iyeka, K, Human CYP1A1 gene: Co-segregation of the enzyme inducibility phenotype ans an RFLP, *Am J hum Genet*, 48,720-5, 1991
- [19] Landi, M, T., Bertazzi, P, A., Shields, P, G., Association between CYP1A1 genotype, mRNA expression and enzymatic activity in humans. *Pharmacogenetics*. 4, 242-6, 1994
- [20] Nebert, D, W., Mckinnon, R, A., and Puga, A. Human drug metabolizing enzyme polymorphisms: effects on risk of toxicity and cancer. *DNA Cell Biol*. 15, 273-280, 1996
- [21] Cosma GN, Crofts F, Currie D, et al, Racial differences in restriction fragment length polymorphism and mRNA inducibility in human CYP1A1 gene. *Cancer Epidemiol Biomarker Prev*. 2, 53-7.1993