

ARTIKEL PENELITIAN

Pengaruh pemberian Iodine-131 terhadap Viabilitas *cell line Triple Negative Breast Cancer (TNBC)*

Katrin Monika¹, Aisyah Elliyanti², Yulia Kurniawati³, Dessy Arisanty⁴, Saptino Miro⁵, Shinta Ayu Intan⁶

1. Program Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Andalas; 2. Departemen Radiologi dan Kedokteran Nuklir Fakultas Kedokteran Universitas Andalas; 3. Departemen Radiologi dan Kedokteran Nuklir Fakultas Kedokteran Universitas Andalas; 4. Departemen Ilmu Biomedis Fakultas Kedokteran Universitas Andalas; 5. Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Andalas; 6. Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

Korespondensi: Aisyah Elliyanti; aelliyanti@med.unand.ac.id; +62 8126636987

Abstrak

Tujuan: Mengetahui pengaruh pemberian Iodine-131 terhadap viabilitas *cell line triple negative breast cancer* dan nilai IC_{50} Iodine-131. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* menggunakan metode MTT assay untuk mengukur viabilitas *cell line* setelah diberikan Iodine-131 dengan dosis 7,8; 15,6; 31,3; 62,5; 125; 250; dan 500 μ Ci selama 24 jam. Sampel penelitian adalah *cell line* MDA-MB231 yang mewakili kanker payudara subtipe *Triple Negative Breast Cancer (TNBC)*. Nilai IC_{50} Iodine-131 *cell line* MDA-MB231 dihitung dengan software *GraphPad Prism-9*. Hasil penelitian dianalisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan *Post-Hoc Kruskal-Wallis*, apabila $p < 0,05$ dianggap signifikan memengaruhi viabilitas sel. **Hasil:** Iodine-131 memengaruhi viabilitas sel pada *cell line* MDA-MB231 dengan nilai $p < 0,05$. Nilai IC_{50} Iodine-131 pada *cell line* MDA-MB231 yaitu 255,7 μ Ci. **Kesimpulan:** Pemberian Iodine-131 dengan dosis 500 μ Ci selama 24 jam signifikan memengaruhi penurunan viabilitas *cell line* MDA-MB231. Iodine-131 dosis 255,7 μ Ci dapat menghambat 50% viabilitas *cell line* MDA-MB231.

Kata kunci: Iodine-131; viabilitas sel; *cell line* MDA-MB231; TNBC; IC_{50}

Abstract

Objective: To determine the effect of Iodine-131 administration on the viability of triple negative breast cancer cell lines and the IC_{50} value of Iodine-131. **Methods:** This study was a true experimental study using the MTT assay method to measure cell line viability after being given Iodine-131 at a dose of 7.8; 15.6; 31.3; 62.5; 125; 250; and 500 μ Ci for 24 hours. The research sample was the MDA-MB231 cell line which represents the Triple Negative Breast Cancer (TNBC) subtype of breast cancer. The IC_{50} value of Iodine-131 cell line MDA-MB231 was calculated using the GraphPad Prism-9 software. The results were analyzed using the Kruskal-Wallis and Post-Hoc Kruskal-Wallis tests, if $p < 0.05$ was considered to significantly affect cell viability. **Results:** Iodine-131 affected cell viability in the MDA-MB231 cell line with a $p < 0.05$. The IC_{50} value of Iodine-131 on the MDA-MB231 cell line was 255.7 μ Ci. **Conclusion:** Administration of Iodine-131 at a dose of 500 μ Ci for 24 hours significantly reduced the viability of the MDA-MB231 cell line. Iodine-131 dose of 255.7 μ Ci can inhibit 50% viability of the MDA-MB231 cell line.

Keywords: Iodine-131; cell viability; cell line MDA-MB231; TNBC; IC_{50}

PENDAHULUAN

Pada tahun 2020, berdasarkan data dari *Global Burden of Cancer* (GLOBOCAN) di dunia maupun di Indonesia prevalensi kanker payudara meningkat dibandingkan tahun sebelumnya. Tercatat sebanyak 6,9% dari 11,7% kasus kanker payudara mengalami kematian di Dunia. Di Indonesia tercatat sebanyak 2,1% dari 3,4% kasus kanker payudara juga mengalami kematian.^{1,2} Sekitar 15% hingga 20% kanker payudara yang terdiagnosis berasal dari subtipe *Triple Negative Breast Cancer* (TNBC).³

Cell line MDA-MB231 merupakan subtipe molekul dari *Triple Negative Breast Cancer* (TNBC).³ TNBC memiliki karakteristik yang tidak sensitif terhadap hormon karena TNBC tidak mengekspresikan reseptor *Human Epidermal growth factor Reseptor 2* (HER2), *Progesterone Receptor* (PR), dan *Estrogen Receptor* (ER).⁴ Dibandingkan subtipe kanker payudara lainnya, TNBC memiliki prognosis yang lebih buruk dan bersifat lebih agresif.⁵ Terapi sistemik TNBC yang tersedia saat ini hanyalah kemoterapi. Terbatasnya pilihan terapi untuk TNBC, secara tidak langsung akan berpengaruh pada semakin buruknya prognosis TNBC, sehingga diperlukan adanya terapi alternatif TNBC.^{6,7}

Upaya penemuan terapi alternatif kanker terus dikembangkan melalui penelitian-penelitian terbaru. Telah diketahui bahwa terapi yodium radioaktif 95% efektif meningkatkan risiko kesembuhan pada kanker tiroid. Hal ini tidak terlepas dari ditemukannya ekspresi *Sodium Iodide Symporter* (NIS) yang berperan memperlentarkan *uptake* yodium radioaktif pada kanker tiroid. *Sodium Iodide Symporter* (NIS) tidak hanya diekspresikan pada tiroid, tetapi juga

diekspresikan di organ ekstra-tiroid, seperti pada *Triple Negative Breast Cancer* (TNBC).^{8,9} Pada kanker payudara sebagian besar NIS diekspresikan di sitoplasma.¹⁰ Penelitian Liu, *et al.* (2022) pada *cell line* MDA-MB231 signifikan menekan pertumbuhan tumor dengan menahan proliferasi sel setelah diberikan *Iodine-131*.¹¹ Adanya ekspresi NIS pada TNBC seperti pada kanker tiroid memberikan peluang penggunaan yodium radioaktif sebagai terapi alternatif TNBC.

Yodium radioaktif merupakan bagian dari unsur yodium yang memiliki muatan inti atom tidak stabil karena adanya kelebihan proton atau neutron yang dapat memancarkan suatu energi jika bereaksi. *Iodine-131* merupakan salah satu jenis yodium radioaktif yang memiliki waktu paruh sekitar 8,2 hari. *Iodine-131* memancarkan radiasi pengion beta (β^-) dan gamma (γ). Radiasi beta (β^-) digunakan untuk terapi kanker melalui efek langsung dan efek tidak langsung. Efek langsung berupa kerusakan DNA, peningkatan Reactive Oxygen Species (ROS), inaktivasi protein perbaikan DNA, dan peningkatan inaktivasi protein yang dimediasi ROS. Efek tidak langsung berupa radiasi pada sel-sel di sekitar. Radiasi gamma (γ) digunakan untuk diagnosis.^{12,13}

Merujuk dari pemaparan di atas, penggunaan *Iodine-131* sebagai terapi alternatif memunculkan peluang untuk digunakan pada terapi *Triple Negative Breast Cancer* (TNBC). Oleh karena itu, penulis ingin meneliti Pengaruh pemberian *Iodine-131* terhadap viabilitas *cell line Triple Negative Breast Cancer* (TNBC).

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan rancangan *posttest only control design*. Populasi

penelitian yang digunakan adalah *cell line* MDA-MB231 yang diperoleh dari Laboratorium Kultur Sel Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran. Jumlah sampel adalah 21 kelompok *cell line* MDA-MB231 dengan 2 kali pengulangan yang dihitung menggunakan rumus Federer.

Prosedur pada penelitian ini yaitu melakukan kultur *cell line* yang terdiri dari thawing sel, subkultur dan panen sel. Selanjutnya dilakukan pemberian *Iodine-131* dengan dosis 7,8; 15,6; 31,3; 62,5; 125; 250; dan 500 μCi selama 24 jam. Kemudian dilanjutkan dengan MTT assay yang diulang sebanyak 3 kali menggunakan spektrofotometer. Lalu viabilitas sel dihitung dengan mencari nilai absorbansi atau optik diameter (OD) dengan rumus:

$$\frac{OD \text{ sel perlakuan} - OD \text{ kontrol media}}{OD \text{ kontrol sel} - OD \text{ kontrol media}} \times 100\%$$

Penghitungan nilai IC_{50} *Iodine-131* menggunakan *software GraphPad Prism-9* dengan membentuk grafik XY. Garis x menunjukkan variabel bebas dan garis y menunjukkan variabel terikat. Nilai x diisi data konsentrasi dosis *Iodine-131* (7,8; 15,6; 31,3; 62,5; 125; 250; dan 500 μCi). Nilai y diisi data 3 kali nilai absorbansi MTT assay. Selanjutnya, untuk memperoleh nilai IC_{50} , data x dan y dianalyze dengan memilih *dose response inhibition (log inhibitor vs normalized absorbance)*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Pemberian *Iodine-131* Terhadap Viabilitas *Cell Line* MDA-MB231 *Triple Negative Breast Cancer* (TNBC) dan Nilai IC_{50} *Iodine-131*

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Elliyanti, et al. (2022) pada *cell line* MDA-MB231 selama 24 jam menggunakan MTT assay

menunjukkan bahwa pemberian *Iodine-131* dosis 10 μCi menurunkan viabilitas *cell line* MDA-MB231 secara signifikan dibandingkan dengan pemberian *Iodine-131* dosis 1 μCi , sehingga pada penelitian ini dengan MTT assay digunakan beberapa konsentrasi *Iodine-131* di atas dosis 1 μCi , kemudian dinaikkan menjadi dua kali lipat dari dosis sebelumnya sehingga dapat diketahui jumlah dosis yang efektif untuk menurunkan viabilitas sel.¹⁴

Viabilitas *cell line* MDA-MB231 pada uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa pasca pemberian *Iodine-131* dengan dosis 7,8; 15,6; 31,3; 62,5; 125; 250; dan 500 μCi yang diukur selama 24 jam memengaruhi viabilitas *cell line* MDA-MB231 seperti yang terlihat pada Tabel 5.1 dengan nilai signifikansi $p=0,031$ ($p<0,05$). Untuk mengetahui perbedaan signifikansi viabilitas *cell line* MDA-MB231 pada masing-masing kelompok dosis *Iodine-131* yang diberikan, dilakukan analisis data lebih lanjut dengan uji *Post Hoc Kruskal-Wallis*. Didapatkan hasil *cell line* MDA-MB231 yang diberikan 500 μCi *Iodine-131* memiliki persentase viabilitas sel yaitu $30,4\% \pm 0,070$ sedangkan persentase viabilitas *cell line* MDA-MB231 yang diberikan 125 μCi *Iodine-131* adalah $116,7\% \pm 0,021$. *Cell line* MDA-MB231 yang diberikan dosis 500 μCi dan 125 μCi *Iodine-131* memiliki perbedaan viabilitas sel yang bermakna pada masing-masing kelompok dosis *Iodine-131* dengan nilai signifikansi $p=0,050$ ($p\leq 0,05$) seperti yang terlihat pada Gambar 5.1 berikut.

Pada MTT assay, *Iodine-131* dengan dosis 500 μCi memiliki pengaruh yang signifikan untuk menurunkan viabilitas *cell line* MDA-MB231 dengan persentase viabilitas sel yaitu $30,4\% \pm 0,070$ dibandingkan dengan pemberian *Iodine-131* dosis 7,8; 15,6; 31,3; 62,5; 125; dan 250 μCi . Hal ini dibuktikan dengan nilai

$p=0,050$ ($p \leq 0,05$). Kuatnya pengaruh *Iodine-131* dosis 500 μCi terhadap penurunan viabilitas *cell line* MDA-MB231 didukung dengan ditemukannya nilai *The Half-maximal Inhibitory Concentration* (IC_{50}) *Iodine-131* seperti yang terlihat pada Gambar 5.2. Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi zat efektif yang diperlukan

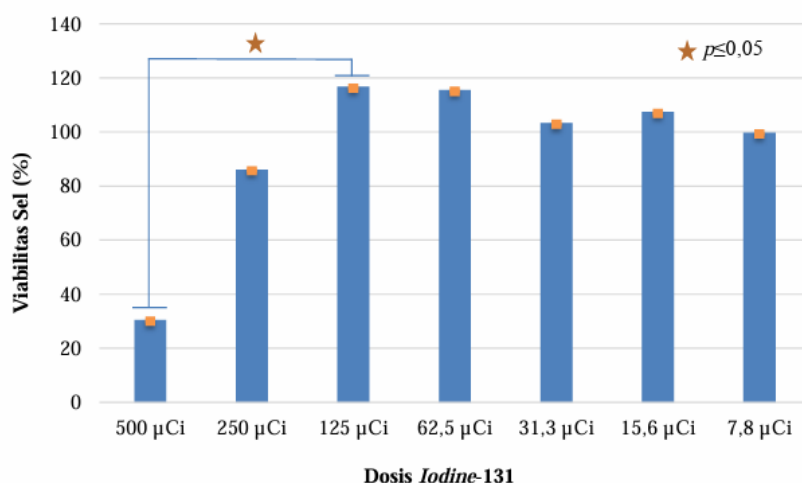
untuk menghambat proses atau respons biologi kehidupan sel sebesar 50%. Nilai IC_{50} yang didapatkan pada *cell line* MDA-MB231 selama 24 jam adalah 255,7 μCi . Nilai IC_{50} tersebut mengartikan bahwa dibutuhkan 255,7 μCi *Iodine-131* untuk menghambat 50% viabilitas atau daya tahan hidup *cell line* MDA-MB231.

Tabel 1. Persentase viabilitas dan standar deviasi *cell line* MDA-MB231 pasca pemberian *Iodine-131*

Dosis <i>Iodine-131</i>	Viabilitas Sel (%) \pm Standar Deviasi (SD)
500 μCi	30,4 \pm 0,070
250 μCi	86,1 \pm 0,078
125 μCi	116,7 \pm 0,021
62,5 μCi	115,4 \pm 0,148
31,3 μCi	103,3 \pm 0,101
15,6 μCi	107,4 \pm 0,054
7,8 μCi	99,7 \pm 0,056

Penurunan viabilitas *cell line* MDA-MB231 pasca pemberian *Iodine-131* dipengaruhi oleh lebih sensitifnya radiasi terhadap jaringan yang proliferasi dan metabolismenya tinggi.¹⁵ Kerusakan sel semakin besar terjadi ketika semakin tingginya dosis *Iodine-131* yang diberikan seperti terjadinya kerusakan untai ganda molekul DNA dan menurunnya peluang

untuk perbaikan untai ganda molekul DNA yang rusak. Apabila sel tidak segera diperbaiki pada tahap awal kerusakannya, sel akan mengalami gangguan fungsional yang ringan bahkan mengakibatkan kematian sel. Sebagian besar *Iodine-131* menginduksi penghentian siklus sel pada fase G0/G1.^{16,17}



Gambar 1. Diagram persentase viabilitas *cell line* MDA-MB231 pasca pemberian *Iodine-131*

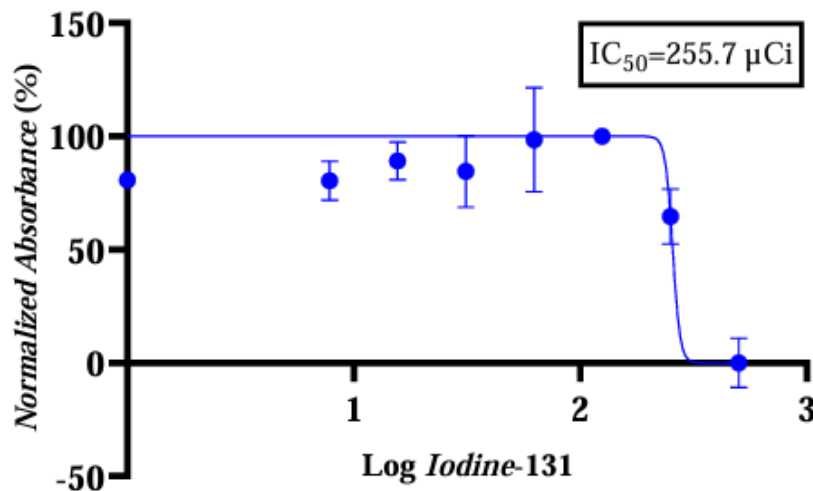
Sodium Iodide Symporter (NIS) membantu *uptake Iodine-131* pada *cell line* MDA-MB231 meskipun belum diketahui

secara jelas bagaimana mekanismenya. Namun terbukti bahwa *uptake Iodine-131* dipengaruhi oleh ekspresi NIS.^{9,10} Hal ini

juga didukung dengan ditemukannya pada 50% sampel kanker payudara, ekspresi NIS dan *uptake Iodine-131* lebih tinggi dibandingkan dengan jaringan normal payudara pada penelitian Damle, *et al.*

(2011).¹⁸ Pada penelitian Elliyanti, *et al.* (2020) juga ditemukan ekspresi NIS pada *Triple Negative Breast Cancer (TNBC)*.¹⁹

Cell Line MDA-MB231 Kanker Payudara



Gambar 2. Kurva nilai IC₅₀ *Iodine-131 cell line MDA-MB231* kanker payudara selama 24 jam

Pada kanker payudara *Triple Negative*, NIS sebagian besar diekspresikan di sitoplasma, sehingga *uptake Iodine-131* pada kanker payudara efektifnya tidak sama dengan di kelenjar tiroid. Namun dengan keberhasilan kloning dan transfer *human Natrium Iodide Symporter (hNIS)*, memungkinkan peningkatan ekspresi NIS pada kanker payudara sehingga mempunyai fungsi yang serupa dengan NIS pada kelenjar tiroid. Pada penelitian Yao, *et al.* (2015), NIS diekspresikan 3 kali lipat di membran sel dibandingkan di sitoplasma setelah dilakukan transfer hNIS. Ditemukannya NIS fungsional pada kanker payudara dapat meningkatkan *uptake* dan efektivitas *Iodine-131*.²⁰

Setelah *Iodine-131* di *uptake* melalui NIS ke *cell line MDA-MB231*, *Iodine-131* memancarkan 90% radiasi beta (β^-) dan 10% radiasi gamma (γ) melalui efek langsung dan efek tidak langsung. *Iodine-131* dapat menghambat proliferasi

sel yang diikuti dengan induksi apoptosis sel melalui penurunan regulasi efektor gen *B-cell Lymphoma-2 (Bcl-2)* pada pos pemeriksaan siklus sel, meningkatkan regulasi gen translokasi sel B yang dimediasi jalur *Jun N-terminal Kinase (JNK)/ Nuclear Factor Kappa B (NF- κ B)* sebagai pemicu penghentian siklus sel.^{13, 17,21.}

SIMPULAN

1. Viabilitas cell line MDA-MB231 *Triple Negative Breast Cancer (TNBC)* yang diberikan *Iodine-131* dosis 500 μ Ci selama 24 jam signifikan memengaruhi penurunan viabilitas cell line MDA-MB231.
2. *Iodine-131* dosis 255,7 μ Ci dapat menghambat 50% (Nilai IC₅₀) viabilitas cell line MDA-MB231 *Triple Negative Breast Cancer (TNBC)*.

DUKUNGAN FINANSIAL

Didanai oleh PNPB 2021.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Dr. dr. Afriwardi, Sp.KO, SH, MA selaku Dekan beserta Wakil Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Prof. Dr. dr. Aisyah Elliyanti, Sp.KN-TM(K), M.Kes yang sudah memberikan kesempatan untuk bergabung dengan penelitian sepaying beliau. dr. Yulia Kurniawati, Sp.KN-TM(K), FANMB., Dr. Dessy Arisanty, M.Sc., Dr. dr. Saptino Miro, Sp.PD-KGEH., FINASIM., dan dr. Shinta Ayu Intan, Sp.PA. yang telah memberikan evaluasi dan saran untuk

DAFTAR PUSTAKA

1. Global Burden of Cancer (GLOBOCAN). 2020: New Global Cancer Data. UICC. (diakses 3 Maret 2022). Tersedia dari: <https://www.uicc.org/news/globocan-2020-new-global-cancer-data>
2. Global Burden of Cancer (GLOBOCAN). International Agency of Research on Cancer. 2020;1–2 p. (diakses 3 Maret 2022). Tersedia dari: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360-indonesia-factsheets.pdf>
3. Dai X, Cheng H, Bai Z, Li J. Breast Cancer Cell Line Classification and Its Relevance with Breast Tumor Subtyping. *J Cancer*. 2017;8(16):3131–41.
4. Wolff AC, Hammond MEH, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*. 2013;31(31):3997–4013.
5. Li X, Yang J, Peng L, Sahin AA, Huo L, Ward KC, et al. Triple-negative breast cancer has worse overall survival and cause-specific survival than non-triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2017;161(2):279–87.
6. Lebert JM, Lester R, Powell E, Seal M, McCarthy J. Advances in the systemic treatment of triple-negative breast cancer. *Curr Oncol*. 2018;25(Suppl 1):S142–50.
7. Nedeljković M, Damjanović A. Mechanisms of Chemotherapy Resistance in Triple-Negative Breast Cancer-How We Can Rise to the Challenge. *Cells*. 2019;8(9).
8. Yeong CH, Cheng M hua, Ng KH. Therapeutic radionuclides in nuclear medicine: current and future prospects. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2014;15(10):845–63.
9. Micali S, Bulotta S, Puppini C, Territo A, Navarra M, Bianchi G, et al. Sodium iodide symporter (NIS) in extrathyroidal malignancies: focus on breast and urological cancer. *BMC Cancer*. 2014;14(1).

keberhasilan penelitian serta berbagai pihak yang telah membantu penulis selama penelitian.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penelitian dilakukan sesuai dengan prosedur yang berlaku, namun penelitian ini masih memiliki keterbatasan penelitian seperti tidak menggunakan sel normal payudara sehingga tidak dapat diketahui apakah pengaruh Iodine-131 terhadap viabilitas sel normal payudara memiliki persamaan atau perbedaan dengan pengaruh Iodine-131 terhadap viabilitas sel *Triple Negative Breast Cancer* (TNBC).

10. Renier C, Vogel H, Offor O, Yao C, Wapnir I. Breast cancer brain metastases express the sodium iodide symporter. *J Neurooncol.* 2010;96(3):331–6.
11. Liu S, Liu H, Sun H, Deng S, Yue L, Weng Z, *et al.* (cRGD)₂ peptides modified nanoparticles increase tumor-targeting therapeutic effects by co-delivery of albendazole and iodine-131. *Anticancer Drugs.* 2022;33(1):19–29.
12. Siege B. From radioelements to scientific applications. *Commis à l'Énergie At aux Energies Altern.* 2005. (diakses 20 April 2022). Tersedia dari: <https://www.cea.fr/english/Documents/thematicpublications/radioactivity.pdf>
13. Saha GB. Physics and radiobiology of nuclear medicine. *Phys Radiobiol Nucl Med.* 2013 Jan 1;1–356.
14. Elliyanti A, Salsabila D, Susilo VY, Setiyowati S, Endrinaldi E. Breast Cancer Cell Lines Viability on Radioactive Iodine Treatment. *World J Nucl Med.* 2022;21(01):A006.
15. Brito AF, Abrantes AM, Teixo R, Pires AS, Ribeiro AC, Ferreira RF, *et al.* Iodine-131 metabolic radiotherapy leads to cell death and genomic alterations through NIS overexpression on cholangiocarcinoma. *Int J Oncol.* 2020;56(3):709–27.
16. Dasar Radionuklida: Yodium. EPA AS. (diakses 6 September 2022). Tersedia dari: <https://www.epa.gov/radiation/radio-nuclide-basics-iodine>.
17. Chen F, Yin S, Zhu J, Jia L, Zhang H, Yang C, *et al.* Effects of nuclear factor- κ B on the uptake of ¹³¹I and apoptosis of thyroid carcinoma cells. *Mol Med Rep.* 2018;17(4):4959–64.
18. Damle AA, Narkar AA, Badwe RA. Radioiodide uptake and sodium iodide symporter expression in breast carcinoma. *Indian J Exp Biol.* 2011 Jun;49(6):416–22.
19. Elliyanti A, Rusnita D, Afriani N, Susanto YDB, Susilo VY, Setiyowati S, *et al.* Analysis Natrium Iodide Symporter Expression in Breast Cancer Subtypes for Radioiodine Therapy Response. *Nucl Med Mol Imaging.* 2020;54(1):35.
20. Yao C, Pan Y, Li Y, Xu X, Lin Y, Wang W, *et al.* Effect of sodium/iodide symporter (NIS)-mediated radioiodine therapy on estrogen receptor-negative breast cancer. *Oncol Rep.* 2015;34(1):59–66.
21. Darabi N, Keshavarz M, Nabipour I, Assadi M. The sodium iodide symporter (NIS) as theranostic gene: potential role in pre-clinical therapy of extra-thyroidal malignancies. *Clin Transl Imaging.* 2023;11(2):113–25.