

Analisis *Differential Gene Expression* (DEG) pada Sel MPFR Menggunakan Data Publik *Gene Expression Omnibus* (GEO) NCBI

Oleh Qonita Fillah

Dataset Title: Microarray gene expression data from MPFR cells treated with inhibitors of the PI3K/AKT/mTOR pathway.

1. Pendahuluan

Latar belakang penelitian ini yaitu adanya penurunan efektivitas terapi kombinasi CDK4/6i + fulvestrant pada pasien kanker payudara seiring waktu, ditandai dengan munculnya resistensi sel kanker terhadap treatment tersebut. Oleh karena itu, diperlukan strategi terapeutik alternatif untuk mengatasi resistensi terhadap terapi sebelumnya. Salah satu pendekatan yang menjanjikan adalah penambahan inhibitor pada jalur PI3K untuk membentuk *triple combination treatment*. Analisis ini bertujuan untuk membandingkan pengaruh perlakuan berbagai inhibitor PI3K *pathway* terhadap profil ekspresi gen pada sel kanker yang telah resisten terhadap terapi CDK4/6i + fulvestrant (MPFR *cell*).

2. Metode

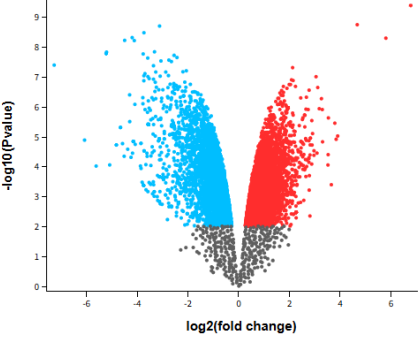
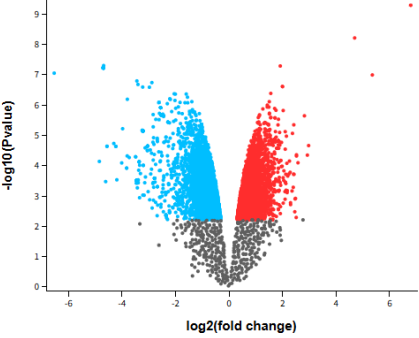
Dataset yang digunakan dalam analisis ini yaitu GSE262611, yang diperoleh dari website Gene Expression Omnibus (GEO) NCBI. Dataset tersebut merupakan data microarray ekspresi gen dari sel kanker payudara MCF-7 yang telah resisten terhadap kombinasi CDK4/6i (palbociclib) dan fulvestrant (MPFR cells). Analisis dilakukan dengan membagi sampel data menjadi 4 kelompok:

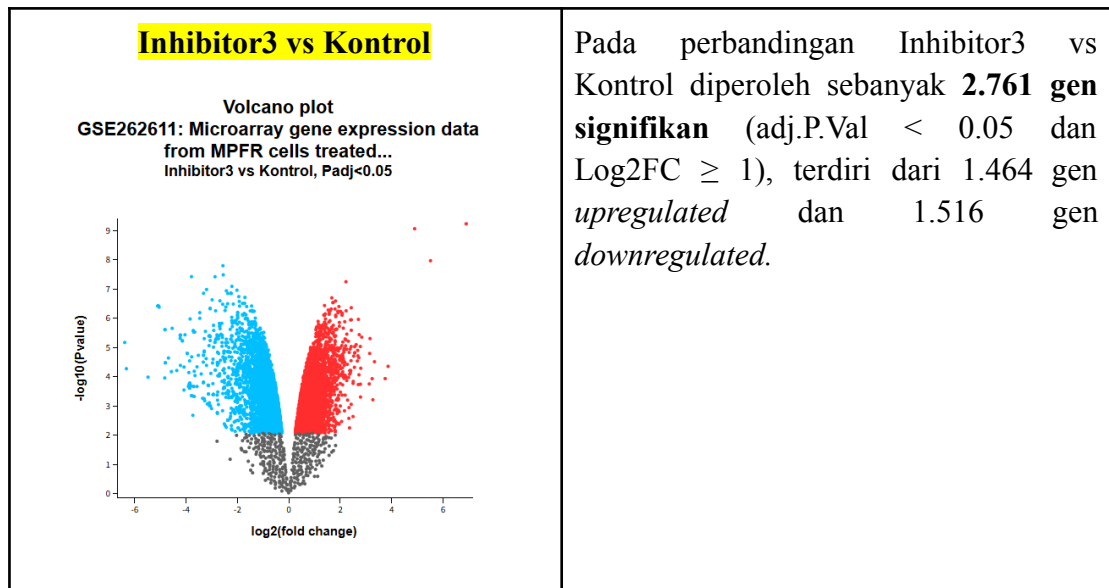
- Kontrol : Sel kanker yang resisten terhadap treatment palbociclib+fulvestrant, tanpa perlakuan (kontrol MPFR)
- Inhibitor1 : Sel resisten (MPFR) dengan perlakuan inhibitor alpelisib
- Inhibitor2 : Sel resisten (MPFR) dengan perlakuan inhibitor gedatolisib
- Inhibitor3 : Sel resisten (MPFR) dengan perlakuan inhibitor sapanisertib

Perbandingan dilakukan antara masing-masing kelompok inhibitor terhadap kelompok kontrol. Analisis dilakukan sebanyak tiga kali menggunakan parameter yang sama (adj. p-value < 0,05 dan $|\log_2FC| \geq 1$). Replikasi analisis bertujuan untuk memverifikasi bahwa hasil yang diperoleh bersifat konsisten dan *reproducible*. Gen dengan nilai adjusted p-value (Benjamini–Hochberg) < 0.05 dianggap signifikan secara statistik. Nilai Log2FC digunakan untuk menentukan arah perubahan ekspresi gen (up-regulated atau down-regulated).

3. Hasil dan Interpretasi

Hasil analisis *Differentially Expressed Gene* (DEG) terkait pengaruh inbitor PI3K pada sel kanker resisten menggunakan GEO2R ditunjukkan pada *volcano plot* di bawah ini:

<p>Inhibitor1 vs Kontrol</p> <p>Volcano plot GSE262611: Microarray gene expression data from MPFR cells treated... Inhibitor1 vs Kontrol, Padj<0.05</p> 	<p>Pada perbandingan Inhibitor1 vs Kontrol diperoleh sebanyak 3.726 gen signifikan (adj.P.Val < 0.05 dan $\text{Log2FC} \geq 1$), terdiri dari 1.963 gen <i>upregulated</i> dan 1.763 gen <i>downregulated</i>.</p>
<p>Inhibitor2 vs Kontrol</p> <p>Volcano plot GSE262611: Microarray gene expression data from MPFR cells treated... Inhibitor2 vs Kontrol, Padj<0.05</p> 	<p>Pada perbandingan Inhibitor2 vs Kontrol diperoleh sebanyak 2.088 gen signifikan (adj.P.Val < 0.05 dan $\text{Log2FC} \geq 1$), terdiri dari 930 gen <i>upregulated</i> dan 1.158 gen <i>downregulated</i>.</p>



Ketiga volcano plot di atas menunjukkan bahwa masing-masing inhibitor (Inhibitor1, Inhibitor2, dan Inhibitor3) menyebabkan perubahan ekspresi gen yang signifikan pada sel MPFR dibandingkan dengan kontrol (Padj < 0.05), yang terlihat dari banyaknya titik merah (gen yang *upregulated* setelah treatment) dan biru (gen yang *downregulated* setelah treatment). Secara visual, semua inhibitor memberikan dampak transkriptomik yang kuat. Pada setiap plot terlihat adanya beberapa gen yang memiliki *fold change* sangat tinggi, yaitu mencapai -6 dan +6. Artinya, penggunaan inhibitor terkait sangat berpengaruh pada perubahan ekspresi gen tersebut, baik menjadikannya lebih rendah maupun lebih tinggi dibandingkan dengan sel resisten kontrol.

Berdasarkan plot yang ditunjukkan, inhibitor1 dan inhibitor3 memperlihatkan sebaran perubahan ekspresi gen yang lebih luas, sedangkan inhibitor2 menunjukkan sebaran yang relatif lebih sempit. Hal ini dapat dilihat dari jumlah gen signifikan dan distribusi titik *down-regulated gene* dan *up-regulated gene* pada setiap plot. Sebagian besar gen signifikan berada dalam rentang Log2FC antara -2 dan +2, yang setara dengan perubahan kurang dari 4 kali lipat dibandingkan dengan kontrol. Namun, pada inhibitor1 dan inhibitor3 terdapat lebih banyak gen yang menunjukkan perubahan ekstrem (Log2FC > 2) dibandingkan dengan sel perlakuan inhibitor2. Pola ini mengindikasikan bahwa Inhibitor1 dan Inhibitor3 menghasilkan dampak transkriptomik yang lebih luas terhadap sel resisten dibandingkan dengan Inhibitor2, meskipun ketiganya tetap memicu perubahan ekspresi gen yang signifikan secara statistik.

Selain pola distribusi ekspresi gen, hasil analisis DEG ini juga menunjukkan bahwa banyaknya gen yang mengalami *downregulation* maupun *upregulation* setelah pemberian inhibitor mengindikasikan bahwa PI3K *pathway* mungkin berperan dalam mempertahankan mekanisme molekuler sel resisten tersebut.

4. Kesimpulan

Berdasarkan analisis DEG menggunakan GEO2R, dapat disimpulkan bahwa penggunaan ketiga inhibitor PI3K *pathway* (alpelisib, gedatolisib, dan sapanisertib) mengakibatkan perubahan ekspresi gen yang signifikan pada sel MPFR dibandingkan kontrol, meskipun pola dan luas perubahan antar inhibitor sedikit berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa PI3K *pathway* berperan dalam regulasi program molekuler pada sel yang telah resisten terhadap terapi CDK4/6i + fulvestrant. Namun, efektivitas biologis masing-masing inhibitor tidak dapat ditentukan hanya berdasarkan *volcano plot*, sehingga diperlukan analisis lanjutan untuk menentukan inhibitor yang paling potensial sebagai terapi kombinasi.