

Expression Protein p53 mutation in Non-Small-Cell Lung Carcinoma

Arif R Hanafi *, Elisna Syahrudin *, Ahmad Hudoyo *, Heriawati Hidayat **, Evelin Suzanna ***

* *Departement of Pulmonology and Respiratory Medicine Faculty of Medicine University of Indonesia Persahabatan Hospital Jakarta Indonesia*

** *Instalation of Pathollogy Anatomy Persahabatan Hospital Jakarta Indonesia*

*** *Instalation of Pathollogy Anatomy Dharmais Hospital Jakarta Indonesia*

ABSTRACT

Introduction. The tumor supressor gen p53 mutation encodes a protein that inhibits programmed cell death (apoptosis). The protein is expressed in basal cells in normal human epithelium, but no data are available on the frequency or clinical importance of its expression in carcinoma. We studied p53 mutation protein expression in post surgery tissues of patients with non-small cell lung carcinoma (NSCLC) and evaluated the correlation between protein expressions with prognosis of diseases.

Methods. We have performed a retrospective study using 43 parafin block samples of NSCLC patients who were underwent surgery in Persahabatan Hospital during 1997 to 2008. The p53 mutation protein expression were analyzed by immunohystochemical method using a monoclonal antibody specific for p53 mutation protein. The possibility that p53 mutation expression correlated with survival was investigated with the log-rank test Kaplan Meier.

Results. Patients characteristic we found male 25/43 (58,1%) female 18/43 (41,9%) with mean age $56,19 \pm 8,3$ y.o and mostly age 40 to 60 y.o 33/43 (76,7%). Number of smoker patiens were 31/43 (72,1%) We also detected p53 mutation protein in 16/43 (37,2%) in NSCLC tissues. Regarding histopatology types were 9/18 (50%) in squamous-cell carcinomas and 7/25 (28%) in adenocarcinomas. The corellation between positive p53 mutation protein expressions with pathological staging was significant $p = 0,004$, according to T status T1-T2 62,5% and T3-T4 23,8% have had positive p53 mutation protein. Favorable prognostic significance of p53 mutation in patients with NSCLC stage I – II, patients in the positive p53 mutataion survived longer than those in negative with respective median survival durations 28 and 18 months $p = 0,019$. Adenocarcinomas type with p53 mutation median survival 11 months compared with squamous-cell carcinomas 14 months.

Conclusion. Gene p53 mutation protein found in NSCLC tissues and seems to have role in early stage of lung carcinogenesis. Prognostic significance in stage I – II.

Keywords : p53 mutation protein, apoptosis, immunohystochemia, NSCLC, prognosis.

Kanker paru merupakan sebab utama kasus keganasan rongga toraks terbanyak di RS Persahabatan dengan prognosis penyakit yang buruk. Hal itu terjadi karena umumnya pasien datang dengan penyakit telah berada pada stage lanjut. Prognosis penyakit biasanya menggunakan jenis sel kanker dan stage penyakit.^{1,2} Kemampuan parameter prognostik memprediksi masa tahan hidup kanker paru stage awal lebih penting karena informasi ini bermanfaat dalam menilai target terapi bagi pasien.^{3,4} Penelitian kanker saat ini dapat memprediksi prognosis pasien dan respons terapi dapat diperbaiki melalui kombinasi variabel klinis standar seperti ukuran massa tumor, diferensiasi (stage) dengan karakteristik biokimia tumor (genetic intrinsic). Karakteristik didefinisikan sebagai evaluasi ekspresi gen (Nothorn blot, PCR) atau protein (teknik

imunoblot, imunohistokimia).⁵

Lebih dari setengah keganasan pada manusia terdapat abnormalitas gen supresor tumor p53. Efektiviti protein gen p53 dalam *cell-cycle arrest* yaitu dapat menginduksi jalur apoptosis melalui induksi *Bax*. Peran protein gen p53 yang bermutasi dalam patogenesis karsinoma paru manusia telah ditegakkan tetapi masih ada kontroversi apakah kehadiran protein gen p53 mutasi atau ekspresi protein yang berlebihan ini mempengaruhi masa tahan hidup pasien. Kontroversi terjadi mungkin disebabkan oleh perbedaan metodologi dalam pemeriksaan p53, analisis gen atau pewarnaan imunohistokomia. Sebagian besar penelitian terfokus pada ekspresi protein gen p53, sementara itu perlu juga dievaluasi mutasi protein gen p53 spesifik lainnya, hal ini karena *wild-type* p53

mempunyai waktu paruh sangat singkat dan sering tidak tervisualisasi oleh *immunostaining* sel normal, sebaliknya beberapa protein gen p53 yang bermutasi memperpanjang waktu paruhnya sehingga tervisualisasi teknik pewarnaan.^{6,7}

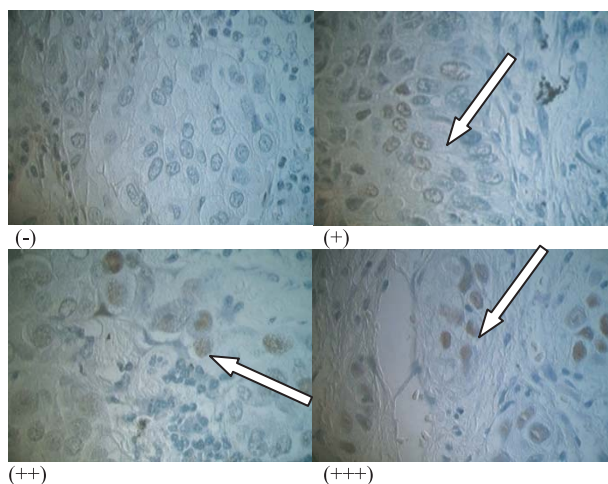
Apoptosis atau program kematian sel dalam keadaan normal dikendalikan secara genetik, dipengaruhi organogenesis jaringan homeostasis dan diperbaiki sistem imun untuk menyingkirkan zat reaktif. Apoptosis berhubungan dengan proliferasi selular dan dipicu hilangnya kontrol siklus sel hasil aktivasi onkogen yang menyebabkan transformasi sel.⁸ Apoptosis bermanfaat sebagai mekanisme pertahanan untuk melawan pertumbuhan tumor. Sel apoptosis dikenal melalui perubahan morfologi stereotipikal sel.⁹ Tujuan penelitian memahami peran apoptosis karsinogenesis kanker paru, mendapatkan data ekspresi protein gen p53 yang bermutasi sebagai faktor antiapoptosis, mengetahui hubungannya dengan histologi, staging dan prognosis.

METODOLOGI

Penelitian dasar dengan desain potong lintang deskriptif mendeteksi tingkat ekspresi protein gen p53 yang bermutasi pada blok parafin jaringan kanker paru. Penelitian dilaksanakan di Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi – RS Persahabatan Jakarta, mulai 1 Oktober 2007 sampai 31 Juli 2008. Populasi penderita kanker paru RS Persahabatan dari tahun 1997 sampai dengan bulan Juli 2008 telah ditegakkan diagnosis cito / histologis kanker dan staging penyakit. Subjek adalah penderita kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil (KPKBSK) yang menjalani pembedahan. Setiap subjek memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi diambil spesimen blok parafinnya sebagai sampel. Semua sediaan blok parafin jaringan kanker paru di Instalasi Patologi Anatomi RS Persahabatan dari tahun 1997 sampai dengan bulan Juli tahun 2008 didata kemudian dilihat kelengkapan diagnosis rekam medisnya. Besar sampel ditentukan berdasarkan statistik prevalensi ekspresi protein gen p53 yang bermutasi pada KPKBSK 60%,⁶ derajat ketepatan yang digunakan (10%), jumlah sampel yang didapat setelah dihitung faktor koreksinya dibulatkan menjadi 37.

Teknik imunohistokimia digunakan untuk menilai ekspresi protein gen p53 yang bermutasi pada sediaan blok parafin dengan kit komersil *antimouse monoclonal antibody* p53 DO-7 (Novocastra®) gambar 1. Pemeriksaan imunohistokimia jaringan blok parafin dideparafinisasi dengan larutan *xylene* dan alkohol secara bertahap.

Karakteristik secara deskriptif univariat. Variabel numerik distribusinya normal dianalisis uji ANOVA, jika tidak normal dengan uji Kruskal Wallis. Variabel katagori yang memenuhi syarat dianalisis dengan uji χ^2 , jika tidak uji Kolmogorov Smirnov. Kalkulasi dan uji statistik ini menggunakan program SPSS 16. Analisis kesintan Kaplan Meier. Perbedaan bermakna secara statistik nilai $p < 0,05$.



Gambar 1.

Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dengan pulasan imunohistokimia (tanda panah) adalah inti sel yang terpulsa imunohistokimia (+).

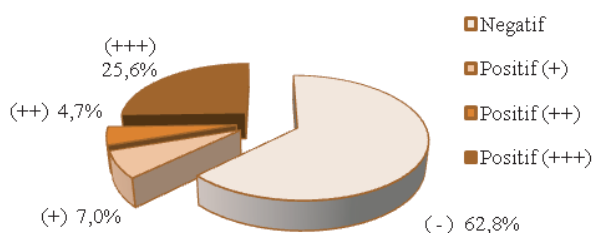
HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Karakteristik pasien

Karakteristik		N	%
Jenis kelamin	Laki – laki	30	69,8
	Perempuan	13	30,2
Rerata umur		56,19 ± 8,33	
Kelompok umur	< 40 tahun	3	7
	40 – 65 tahun	33	76,7
	> 65 tahun	7	16,3
Riwayat merokok	Tidak	12	27,9
	Ya	31	72,1
	IB ringan	4	9,3
	IB sedang	16	37,2
	IB berat	11	25,6
Jenis sel kanker	Adenokarsinoma	25	58,1
	Karsinoma sel skuamosa	18	41,9
		5	11,6
Status T	T1	11	25,6
	T2	21	48,8
	T3	6	14
	T4	17	39,5
Status N	N0	10	23,3
	N1	16	37,2
	N2	40	93
Status M	M0	3	7
	M1	4	9,3
Stage	I A	3	7
	I B	1	2,3
	II A	13	30,2
	II B	14	32,6
	III A	4	9,3
	III B	4	9,3

Hasil pemeriksaan imunohistokimia

Ekspresi gen p53 yang bermutasi pada blok parafin KPKBSK dengan menggunakan imunohistokimia didapatkan 27 pasien (62,8%) negatif sedangkan 16 pasien (37,2%) positif dengan sebaran 3 positif 1 (7,0%), 2 positif 2 (4,7%) dan 11 pasien 3 (25,6%) (gambar 2).



Gambar 2.
Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi pada KPKBSK

Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap jenis kelamin

Jenis kelamin laki – laki dan perempuan dihubungkan dengan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi didapatkan laki – laki dengan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 19 dari 30 pasien (63,3%), positif 11 dari 30 pasien (36,7%) terdiri dari (+) 2 pasien, (++) 1 pasien dan (+++) 8 pasien, perempuan dengan ekspresi gen p53 yang bermutasi negatif 8 dari 13 pasien (61,5%), positif 5 dari 13 pasien (38,5%) terdiri dari (+) 1 pasien, (++) 1 pasien dan (+++) 3 pasien. Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dengan hasil positif terhadap jenis kelamin laki – laki 11 dari 30 pasien (36,7%) hampir sama dengan perempuan 5 dari 31 pasien (38,5%) didapat $p = 0,933$ tidak bermakna (tabel 2).

Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap kelompok umur

Kelompok umur dihubungkan dengan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi didapatkan kelompok umur kurang dari 40 tahun ekspresi protein gen p53 negatif 2 dari 3 pasien (66,7%) dan positif 1 dari 3 pasien (33,3%) yang hanya (+++) 1 pasien, kelompok umur antara 40 – 65 tahun ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 21 dari 33 pasien (63,7%) dan positif 12 dari 33 pasien (36,3%) terdiri dari (+) 3 pasien, (++) 2 pasien dan (+++) 7 pasien, kelompok umur lebih dari 65 tahun ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 4 dari 7 pasien (57,1%) dan positif 3 dari 7 pasien (42,9%) yang hanya (+++) 3 pasien. Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dengan hasil positif terhadap kelompok umur lebih dari 65 tahun 3 dari 7 pasien (42,9%) lebih tinggi dibandingkan kelompok umur antara 40 – 65 tahun 12 dari 33 pasien (36,3%) dan umur kurang dari 40 tahun 1 dari 3 pasien (33,3%) didapatkan $p = 0,718$ tidak bermakna (tabel 2).

Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap riwayat merokok

Ada tidaknya riwayat merokok dihubungkan dengan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi didapatkan pasien riwayat tidak merokok ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 8 dari 12 pasien (66,7%) dan positif 4 dari 12 pasien (33,3%) terdiri dari (+) 1 pasien, (+++) 3 pasien. Pasien riwayat merokok ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 19 dari 31 pasien (61,2%) dan positif 12 dari 31 pasien (38,8%). Pasien riwayat merokok dibagi menjadi IB ringan, IB sedang dan IB berat. Pasien dengan IB ringan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 2 dari 4 pasien (50%) dan positif 2 dari 4 pasien (50%) terdiri dari (++) 1 pasien, (+++) 1 pasien. Pasien dengan IB sedang ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 8 dari 16 pasien (50%) dan positif 8 dari 16 pasien (50%) terdiri dari (+) 1 pasien, (++) 1 pasien, (+++) 6 pasien. Pasien dengan IB berat ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 9 dari 11 pasien (81,8%) dan positif 2 dari 11 pasien (18,2%) terdiri dari (+) 1 pasien, (+++) 1 pasien. Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dengan hasil positif terhadap riwayat tidak merokok 4 dari 12 pasien (33,3%) sedangkan riwayat merokok lebih tinggi yaitu 12 dari 31 pasien (38,8%) $p = 0,499$ tidak bermakna (tabel 2).

Tabel 2. Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap karakteristik klinis

Karakteristik klinis	Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi					Total (%)	p
	Negatif (%)	Positif (%)	(+) (%)	(++) (%)	(+++)		
Jenis kelamin							
Laki – laki	19(63,3)	11(36,7)	2(6,7)	1(3,3)	8(26,7)	30(69,8)	0,933
Perempuan	8(61,5)	5(38,5)	1(7,7)	1(7,7)	3(23,1)	13(30,2)	
Kelompok umur							
< 40 tahun	2(66,7)	1(33,3)	0	0	1(33,3)	3(6,9)	0,718
40-65 tahun	21(63,6)	12(36,3)	3(9)	2(6)	7(21,2)	33(76,7)	
> 65 tahun	4(57,1)	3(42,9)	0	0	3(42,9)	7(16,3)	
Riwayat merokok							
Tidak	8(66,7)	4(33,3)	1(8,3)	0	3(25,0)	12(27,9)	0,499
Ya	19(61,2)	12(38,8)	2(6,5)	2(6,5)	8(25,8)	31(72,1)	
Ringan	2(50,0)	2(50)	0	1(25,0)	1(25,0)	4(9,3)	
Sedang	8(50,0)	8(50)	1(6,25)	1(6,25)	6(37,5)	16(37,2)	
Berat	9(81,8)	2(18,2)	1(9,1)	0	1(9,1)	11(25,6)	

Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap jenis sel kanker

Jenis sel kanker dihubungkan dengan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi didapatkan jenis adenokarsinoma ekspresi protein gen p53 negatif 18 dari 25 pasien (72%) dan positif 7 dari 25 pasien (28%) terdiri dari (++) 1 pasien, (+++) 6 pasien. Jenis karsinoma sel skuamosa ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 9 dari 18 pasien (50%)

dan positif 9 dari 18 pasien (50%) terdiri dari (+) 3 pasien, (++) 1 pasien dan (+++) 5 pasien. Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dengan hasil positif lebih banyak didapatkan pada jenis karsinoma sel skuamosa 9 dari 18 pasien (50%) dibandingkan jenis adenokarsinoma hanya 7 dari 25 pasien (28%). Hubungan ekspresi protein gen yang bermutasi terhadap jenis sel kanker didapatkan $p = 0,104$ tidak bermakna (tabel 3).

Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap status T

Status T dihubungkan dengan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi didapatkan status T1 ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 2 dari 5 pasien (40%) dan positif 3 dari 5 pasien (60%) terdiri dari positif (+++) 3 pasien. Status T2 ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 4 dari 11 pasien (36,3%) dan positif 7 dari 11 pasien (63,7%) terdiri dari positif (+) 1 pasien, positif (+++) 6 pasien. Status T3 ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 16 dari 21 pasien (76,2%) dan positif 5 dari 21 pasien (23,8%) terdiri dari positif (+) 2 pasien, positif (++) 1 pasien, positif (+++) 2 pasien. Status T4 ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 5 dari 6 pasien (83,3%) dan positif 1 dari 6 pasien (16,7%) terdiri dari positif (++) 1 pasien. Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap status T didapatkan $p = 0,042$ bermakna. Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dengan hasil positif pada kombinasi status T1-T2 didapatkan 10 dari 16 pasien (62,5%) dibandingkan kombinasi status T3-T4 didapatkan hanya 6 dari 27 pasien (22,2%) didapatkan $p = 0,004$ bermakna. (tabel 3)

Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap status N

Status N dihubungkan dengan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi didapatkan N0 ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 10 dari 17 pasien (58,8%) dan positif 7 dari 17 pasien (41,2%) terdiri dari (+) 1 pasien, (++) 1 pasien, (+++) 5 pasien. N1 ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 6 dari 10 pasien (60%) dan positif 4 dari 10 pasien (40%) terdiri dari (+) 1 pasien, (+++) 3 pasien. N2 ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 11 dari 16 pasien (68,8%) dan positif 5 dari 16 pasien (31,2%) terdiri dari (+) 1 pasien, (++) 1 pasien, (+++) 3 pasien. Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif pada status N0 lebih besar 7 dari 17 pasien

(41,2%) dibandingkan N1 4 dari 10 pasien (40%) dan N2 5 dari 16 pasien (31,2%). Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap status N didapatkan $p = 0,714$ tidak bermakna (tabel 3).

Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap status M

Status M dihubungkan dengan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi didapatkan M0 ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 24 dari 40 pasien (60%) dan positif 16 dari 40 pasien (40%) terdiri dari (+) 3 pasien, (++) 2 pasien, (+++) 11 pasien. M1 ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 3 dari 3 pasien (100%) dan tidak ada yang positif. Ekspresi protein p53 yang bermutasi positif hanya didapatkan pada status M0 saja sebanyak 16 dari 40 pasien (40%). Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap status M didapatkan $p = 0,403$ tidak bermakna (tabel 3).

Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap stage patologi

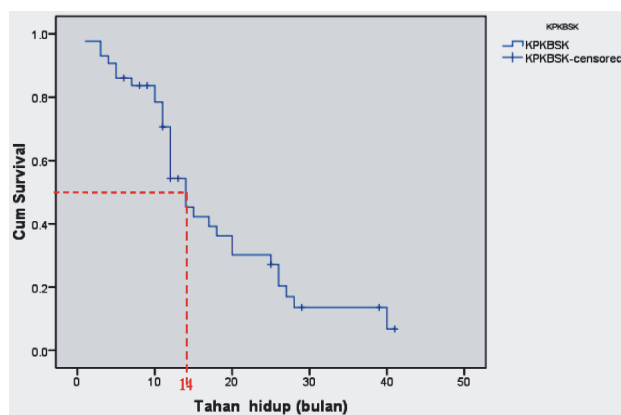
Stage patologi dihubungkan dengan ekspresi protein gen p53 didapatkan stage IA ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 2 dari 4 pasien (50%) dan positif 2 dari 4 pasien (50%) terdiri dari (+++) 1 pasien. Stage IB ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 1 dari 3 pasien (33,3%) dan positif 2 dari 3 pasien (66,7%) terdiri dari (+++) 2 pasien. Stage IIA ekspresi protein gen p53 yang bermutasi tidak ada yang negatif dan positif 1 dari 1 pasien (100%) terdiri dari (+++) 1 pasien. Stage IIB ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 8 dari 13 pasien (61,5%) dan positif 5 dari 13 pasien (38,5%) terdiri dari (+) 1 pasien, (++) 1 pasien, (+++) 3 pasien. Stage IIIA ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 9 dari 14 pasien (64,3%) dan positif 5 dari 14 pasien (35,7%) terdiri dari (+) 2 pasien, (+++) 3 pasien. Stage IIIB ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 3 dari 4 pasien (75%) dan positif 1 dari 4 pasien (25%) terdiri dari (++) 1 pasien. Stage IV ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif 4 dari 4 pasien (100%) dan tidak ada yang positif. Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif lebih besar pada stage patologi I – II yaitu 10 dari 21 pasien (47,6%) dibandingkan stage patologi III – IV hanya 6 dari 22 pasien (27,3%). Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap stage patologi didapat $p = 0,475$ tidak bermakna (tabel 3).

MASA TENGAH TAHAN HIDUP DAN ANGKA TAHAN HIDUP 1 TAHUN

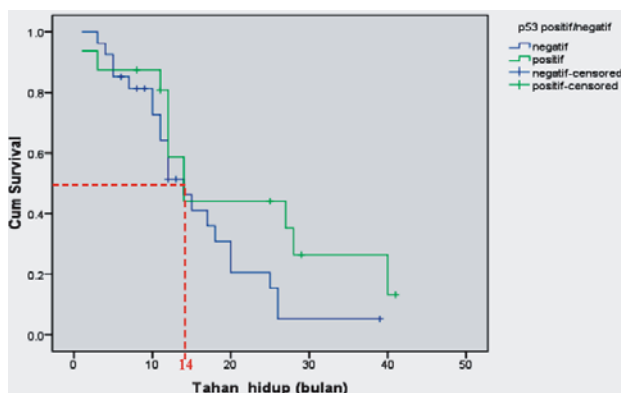
Analisis Kaplan Meler digunakan untuk menilai masa tengah tahan hidup (MTTH) dan angka tahan hidup (ATH) 1 tahun berbagai variabel klinis, pengobatan, variabel patologi dan hubungannya dengan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi. Secara keseluruhan pasien KPKBSK yang layak dibedah didapatkan MTTH 14 bulan dengan rentang 11 sampai 16 bulan, ATH 60,5% yaitu 26 dari 43 pasien (gambar 3). Analisis tahan hidup terhadap ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif atau positif didapatkan *log rank test* nilai $p = 0,097$ (gambar 4) ATH ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif didapatkan 11 dari 16 pasien 68,8% dibandingkan negatif 15 dari 27 pasien hanya 55,6%. Analisis tahan hidup terhadap ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif rendah dan tinggi didapatkan MTTH 14 bulan *log rank test* nilai $p = 0,235$ ATH ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif (+) didapatkan 3 dari 3 pasien 100%, positif (++) 1 dari 2 pasien 50% dan positif (+++) didapatkan 7 dari 11 pasien 63,6%. Analisis tahan hidup terhadap ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap KPKBSK stage I – II pada 21 kasus didapatkan *log rank test* nilai $p = 0,019$ bermakna *power* 32,74% (gambar 5) ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif MTTH 18 bulan ATH 54,5% sedangkan positif MTTH 28 bulan ATH 60%. Analisis tahan hidup terhadap ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap KPKBSK jenis sel kanker adenokarsinoma pada 25 kasus didapatkan *log rank test* nilai $p = 0,000$ bermakna *power* 34,34% (gambar 6), ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif MTTH 11 bulan ATH 33,3% sedangkan positif MTTH 11 bulan ATH 28,6%. Analisis tahan hidup terhadap ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap KPKBSK jenis sel kanker karsinoma sel skuamosa pada 18 kasus didapatkan *log rank test* nilai $p = 0,120$ tidak bermakna, ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif MTTH 14 bulan ATH 55,6% dan positif MTTH 14 bulan ATH 66,7%.

Tabel 3. Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap karakteristik histopatologi

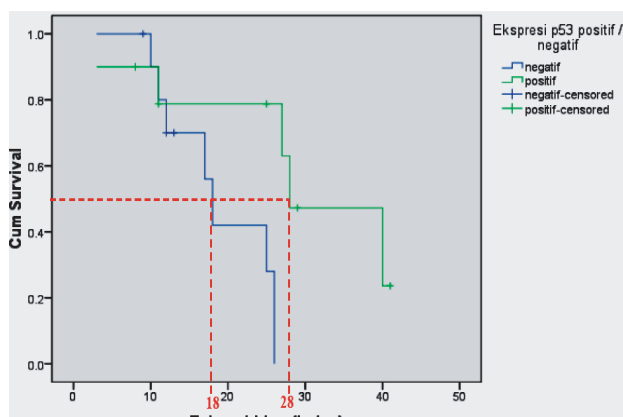
Karakteristik histopatologi	Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi					Total (%)	p
	Negatif (%)	Positif (%)	(+) (%)	(++) (%)	(++) (%)		
Jenis sel kanker							
Adenokarsinoma	18(72,0)	7(28)	0	1(4,0)	6(24,0)	25(58,1)	0,104
Karsinoma sel skuamosa	9(50,0)	9(50)	3(16,6)	1(5,6)	5(27,8)	18(41,9)	
T status							
T1*	2(40,0)	3(60)	0	0	3(60,0)	5(11,6)	0,042
T2*	4(36,3)	7(63,7)	1(9,1)	0	6(54,6)	11(25,6)	*/**
T3**	16(76,2)	5(23,8)	2(9,5)	1(4,8)	2(9,5)	21(48,9)	0,004
T4**	5(83,3)	1(16,7)	0	1(16,7)	0	6(13,9)	
N status							
N0	10(58,8)	7(41,2)	1(5,9)	1(5,9)	5(29,4)	17(39,5)	0,714
N1	6(60,0)	4(40)	1(10,0)	0	3(30,0)	10(23,3)	
N2	11(68,8)	5(31,2)	1(6,3)	1(6,3)	3(18,7)	16(37,2)	
M status							
M0	24(60,0)	16(40)	3(7,5)	2(5,0)	11(27,5)	40(93,0)	0,403
M1	3(100)	0	0	0	0	3(6,9)	
Stage							
IA	2(50,0)	2(50)	0	0	2(50,0)	4(9,3)	0,475
IB	1(33,3)	2(66,7)	0	0	2(66,7)	3(6,9)	
IIA	0	5(100)	0	0	1(100)	1(2,3)	
IIB	8(61,5)	5(38,5)	1(7,7)	1(7,7)	3(23,1)	13(30,2)	
IIIA	9(64,3)	5(35,7)	2(14,3)	0	3(21,4)	14(32,6)	
IIIB	3(75,0)	1(25,0)	0	1(25,0)	0	4(9,3)	
IV	4(100)	0	0	0	0	4(9,3)	



Gambar 3.
Kurva tahan hidup pasien KPKBSK yang layak dibedah dengan MTTH 14 bulan.

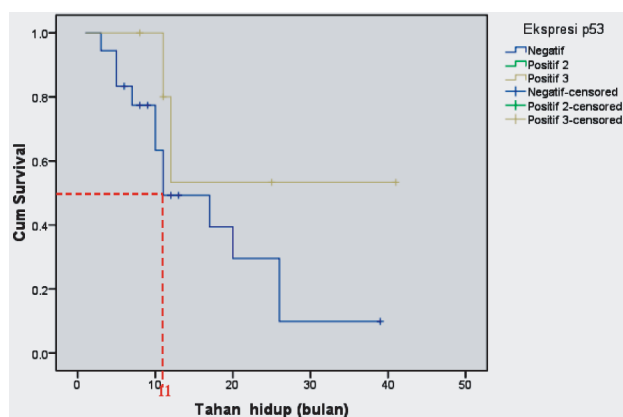


Gambar 4.
Kurva tahan hidup pasien KPKBSK yang layak dibedah dengan ekspresi protein gen p53 negatif / positif, *log rank test* $p = 0,097$



Gambar 5.

Kurva tahan hidup pasien KPKBSK yang layak dibedah 21 kasus KPKBSK stage awal I – II dengan ekspresi protein gen p53, log rank test $p = 0,019$ bermakna power 32,74%.



Gambar 6.

Kurva tahan hidup pasien KPKBSK yang layak dibedah 25 kasus KPKBSK jenis sel kanker adenokarsinoma dengan ekspresi protein gen p53, log rank test $p = 0,000$ bermakna power 34,34%.

DISKUSI

Penelitian dasar desain potong lintang deskriptif mendeteksi ekspresi protein gen p53 yang bermutasi pada blok parafin pasien KPKBSK yang layak bedah. Terkumpul 43 pasien yang memenuhi syarat kriteria inklusi dan eksklusi. Penelitian ini merupakan salah satu bagian penelitian induk serial panel petanda biomolekuler jaringan kanker paru KPKBSK yang pertama kali dilakukan di Indonesia. Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dideteksi dengan metode imunohistokimia *antimouse monoclonal antibody* p53 DO-7. Berbagai metode atau teknik pemeriksaan lainnya yang dapat digunakan untuk mendeteksi ekspresi protein gen p53 yang bermutasi seperti sitogenetik, *fluorescent in situ hybridization* (FISH), *polymerase chain reaction* (PCR), *DNA sequencing* *single strand conformation polymorphism* (SSCP)

dan *microarrays*. Penelitian ini memilih metode imunohistokimia karena memiliki keuntungan bisa mendeteksi mutasi sel sedikit dengan latar belakang sel normal dan sudah rutin dilakukan di laboratorium RS Dharmais, lebih cepat dan murah tetapi juga memiliki kerugian seperti tidak kuantitatif, tidak dapat membedakan antara ekspresi amplifikasi gen atau penyebab non genetik lain.

Kanker terbentuk melalui berbagai proses, sel menjadi ganas karena perubahan multipel genetik sel pertumbuhan dan diferensiasi.^{6,7} Untuk menekan pertumbuhan tumor organisme multiselular dipengaruhi mekanisme pertahanan sel pertumbuhan yang tidak terkontrol salah satu mekanismenya merupakan peran tumor supresor gen p53. Tumor supresor gen p53 diaktifkan di dalam sel yang mengalami stres seperti paparan zat genotoksik atau aktivasi onkogen. Saat p53 aktif mulai terjadi penghentian siklus sel atau apoptosis, dalam hal ini terjadi peningkatan rangkaian DNA spesifik pengontrol ekspresi gen yang mengendalikan perkembangan sel dan kematian sel. Titik perkembangan tumor sewaktu terjadi mutasi protein gen p53 tergantung tipe tumor dan dapat bervariasi sejak awal kejadian sampai langkah terakhir progresi tumor. Secara relatif sejak awal protein gen p53 yang bermutasi timbul di dalam sel yang secara kronik terpapar agen perusak DNA dan inflamasi.^{10,11} Protein gen p53 dianggap sebagai *guardian of the genome* berperan penting pada pengaturan progresi siklus sel sewaktu transisi G1/S. Protein gen p53 *wild type* memiliki waktu paruh yang singkat yang tidak terdeteksi pada jaringan. Tetapi hasil protein gen p53 yang bermutasi sewaktu perkembangan tumor akan meningkat dan terakumulasi dalam sel yang kadarnya dapat dideteksi dengan metode pewarnaan imunohistokimia.^{10,15} Kehilangan fungsi atau mutasi protein gen p53 sering terjadi pada kanker paru. Pentingnya ekspresi protein gen p53 yang bermutasi ini pada karsinogenesis kanker paru masih belum jelas apakah berhubungan dengan tahan hidup pasien.¹⁰⁻¹³ Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif pada penelitian ini 37,2% dengan sebaran positif (+) 7,0%, positif (++) 4,7% dan positif (+++) 25,6%. Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi pada KPKBSK dari berbagai penelitian didapatkan terjadi sekitar setengahnya yaitu memiliki rentang antara 34 sampai 82%.^{13,14} Beberapa penelitian lain dikutip dari 14 ekspresi protein gen p53 yang bermutasi menggunakan metode imunohistokimia DO-7 didapatkan Ebina 61 pasien 36%, Nishio 208 pasien 46%, metode imunohistokimia 1801 didapatkan Lavezzi 152 pasien 16%, Fontanini 107 pasien 50% dan metode PCR SSCP didapatkan Vega 62

pasien 26%, Horio 71 pasien 49%.¹⁴ Hasil ekspresi protein gen p53 yang bermutasi ini sangat bervariasi dipengaruhi berbagai faktor seperti metode yang digunakan untuk mendeteksi ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dan karakteristik populasi penelitian yang lainnya seperti histopatologi tumor dan staging seperti kelompok etnik tertentu, jenis kelamin, riwayat merokok, kondisi geografik.¹²⁻¹⁵ Pentingnya membedakan metode pengukuran yang digunakan untuk mendeteksi analisis ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dan penelitian lanjutan hubungan protein gen p53 yang bermutasi dengan karakteristik setiap populasi pasien, petanda biomolekuler lainnya yang berbeda sehingga dapat disimpulkan penyebab – penyebab terjadinya mutasi.^{16,17}

Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi penelitian ini didapatkan hasil yang rendah 37,2% kemungkinan karena jalur proses apoptosis tidak terlalu berperan tinggi pada karsinogenesis kanker paru pasien di Indonesia. Korelasi itu dapat dilihat dengan hasil penelitian lain dalam penelitian serial panel petanda biomolekuler KPKBSK di RS Persahabatan yang menunjukkan ekspresi protein Bcl-2 (berperan pada jalur apoptosis) hasilnya juga rendah yaitu hanya 9,3%,^{18,19} tetapi justru lebih dominan pada jalur proliferasi dengan ditunjukkan tingginya hasil ekspresi protein *endothelial growth factor receptor* (EGFR) atau jalur lain dengan tingginya ekspresi protein telomerase dengan sampel jaringan kanker paru yang sama.^{20,21}

Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dengan karakteristik klinis

Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif terhadap kelompok umur didapatkan terbanyak pada kelompok umur lebih dari 65 tahun 42,9% dibandingkan kelompok umur kurang dari 40 tahun 33,3% dan kelompok umur 40 - 65 tahun 36,3% walaupun tidak bermakna $p = 0,718$. Jenis kelamin laki-laki 69,8% dan perempuan 30,2%. Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif terhadap jenis kelamin didapatkan laki – laki 36,7% hampir sama dengan perempuan 38,5% $p = 0,933$ tidak bermakna. Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif terhadap riwayat merokok didapatkan riwayat tidak merokok 33,3% sedangkan riwayat merokok lebih tinggi yaitu 38,8% walaupun tidak bermakna $p = 0,499$. Variabel klinis (jenis kelamin, umur dan riwayat merokok) dengan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi secara statistik tidak berhubungan bermakna. Korelasi variabel klinis pasien dengan ekspresi protein gen

p53 yang bermutasi dalam penelitian ini sama dengan berbagai penelitian. Martin dkk²², Cheng dkk²³ dan Nishio dkk²⁴ mendapatkan tidak terdapat hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap gambaran klinis termasuk jenis kelamin, umur dan riwayat merokok. Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi meningkat sesuai beratnya atau ukuran lesi tumor terutama pada stage awal tetapi tidak berhubungan dengan gambaran klinis pasien.^{22,23} Riwayat merokok merupakan faktor risiko tinggi untuk terjadinya kanker paru sekitar 85% kasus dan berisi *polycyclic aromatic hydrocarbons* dan *nitrosamine*, senyawa ini dihidrolasi metabolik menghasilkan bentuk *benzo(a)pyrene* yang merupakan karsinogen poten dan mutagen yang bermanifestasi transisi DNA G-T. Perokok dengan kanker paru sering terjadi mutasi pada protein gen p53, spektrum mutasi protein gen p53 pada non perokok berbeda dengan perokok.^{10,11}

Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dengan jenis dan histopatologi sel kanker

Hubungan Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dengan hasil positif lebih banyak didapatkan pada jenis karsinoma sel skuamosa 50% dibandingkan jenis adenokarsinoma hanya 28% walaupun tidak bermakna $p = 0,104$. Hasil yang sama ditunjukkan oleh berbagai penelitian antara lain. Nishio dkk dengan imunohistokimia ekspresi protein gen p53 yang bermutasi 46%, karsinoma sel skuamosa lebih tinggi dibandingkan adenokarsinoma tetapi faktor prognostik lebih cenderung pada jenis adenokarsinoma.²⁴ Huncharek dkk melaporkan metaanalisis insidens ekspresi protein gen p53 yang bermutasi pada adenokarsinoma 34% lebih rendah dibandingkan karsinoma sel skuamosa 52% $p < 0,0001$, prognosis negatif p53 lebih bermakna pada jenis adenokarsinoma dibandingkan karsinoma sel skuamosa.²⁵ Sebagian penelitian mengindikasikan bahwa perkembangan kanker paru jenis karsinoma sel skuamosa terjadi kehilangan heterozigositi 17p atau kehilangan fungsi p53 *wild type* pada transisi preneoplasia menjadi karsinoma insitu sehingga ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif lebih banyak pada jenis karsinoma sel skuamosa dibandingkan dengan adenokarsinoma namun prognosis buruk lebih pada adenokarsinoma.^{10,25-29} Mitsudomi dkk mendapatkan SSCP 35% terdapat mutasi dan imunohistokimia ekspresi protein gen p53 54%, imunopositivitas p53 adenokarsinoma merupakan indikator prognosis buruk.³⁰ Lee dkk mendapatkan ekspresi protein gen p53 yang

bermutasi pada KPKBSK 66% dan jenis karsinoma sel skuamosa mengekspresikan lebih banyak dibandingkan adenokarsinoma.³¹

Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif pada penelitian ini didapatkan berhubungan bermakna dengan status T pascabedah $p = 0,042$. Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif pada kombinasi status T1 – T2 62,5% lebih tinggi dibandingkan dengan status T3 – T4 hanya 22,2%, ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif secara bermakna lebih berperan pada stage awal (T1 – T2) $p = 0,004$. Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi meningkat sesuai beratnya atau ukuran lesi tumor terutama pada stage awal.^{22,23} Cheng dkk, mendapatkan tidak terdapat hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap patologi jenis sel kanker status TNM dan stage patologi tetapi ekspresi protein gen p53 yang bermutasi secara bermakna memperburuk tahanan hidup pada stage awal tumor (T1 – T2).²³ Schneider dkk, 103 pasien KPKBSK yang layak dibedah menggunakan metode analisis SSCP dan DNA sequencing p53 didapatkan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi 44,6%, secara bermakna prognosis berhubungan dengan stage histopatologi khususnya pT awal $p < 0,01$.²⁶ Pastorino dkk, penelitian besar KPKBSK yang layak dibedah didapatkan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi justru yang berperan penting pada stage awal patologi T1 – T2.²⁷ Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif pada status N0 lebih besar 41,2% dibandingkan N1 40% dan N2 31,2% didapatkan $p = 0,714$ tidak bermakna. Hubungan ekspresi protein p53 yang bermutasi positif hanya didapatkan pada status M0 saja sebanyak 40% $p = 0,403$ tidak bermakna. Penelitian ini ekspresi protein gen p53 yang bermutasi tidak berhubungan bermakna dengan status N dan M sesuai dengan penelitian lainnya. Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi lebih pada awal perkembangan tumor sebelum terjadinya penyebaran ke kelenjar getah bening dan metastasis. Tumor yang sudah terjadi metastasis jauh ekspresi protein gen p53 yang bermutasi perannya kecil.^{26,27} Hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif lebih besar pada kombinasi stage patologi pascabedah I – II yaitu 47,6% dibandingkan stage patologi III – IV hanya 27,3% walaupun didapatkan $p = 0,475$ tidak bermakna. Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi berperan hanya pada stage awal KPKBSK tetapi tidak stage lanjut. Keganasan meningkat dengan besarnya pengubahan onkogen dan tumor supresor gen, KPKBSK stage awal jumlah gen yang berubah kecil, hilangnya fungsi p53 menimbulkan efek yang besar. Stage lanjut timbul akumulasi pengubahan

dalam jumlah besar dengan efek disfungsi p53 relatif kecil.²⁸

Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dengan angka tahanan hidup

Analisis tahanan hidup terhadap ekspresi protein gen p53 yang bermutasi tidak didapatkan hubungan yang bermakna *log rang test* $p = 0,097$. Hal ini menunjukkan bahwa angka tahanan hidup tidak berhubungan dengan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi pada kasus KPKBSK stage awal dan lanjut. Pentingnya ekspresi protein gen p53 yang bermutasi pada karsinogenesis kanker masih belum jelas apakah pengubahan p53 berhubungan dengan tahanan hidup pasien. Penelitian ini dilakukan pada pasien KPKBSK yang layak dibedah tetapi metodologi penilaian ekspresi protein gen p53 yang bermutasi didapatkan pascabedah pada stage awal dan lanjut. Sebagian besar penelitian bersifat heterogen berfokus pada potensi nilai prognosis ekspresi protein gen p53 yang bermutasi.²⁹ Hubungan yang tidak bermakna antara ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dengan tahanan hidup perlu ditekankan pada metodologi dan populasi penelitian meskipun hasil beberapa penelitian didapatkan hasil yang inkonsisten.^{24,29-32} Beberapa penelitian menunjukkan aktivitas imunohistokimia protein gen p53 yang bermutasi mempengaruhi prognosis,^{27,32,33} sedangkan penelitian lainnya menunjukkan hal yang berlawanan.^{24,34} Pastorino dkk, penelitian besar 515 KPKBSK yang layak dibedah didapatkan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi tidak berbeda bermakna pada tahanan hidup tetapi justru stage patologi T yang berperan penting.²⁷ Schiller dkk, 183 KPKBSK yang layak dibedah mutasi dan overekspresi protein gen p53 didapatkan tidak berbeda bermakna pada prognosis.³⁵ Guang dkk, mendapatkan tidak ada perbedaan bermakna ekspresi protein gen p53 yang bermutasi pada KPKBSK dengan tahanan hidup. Analisis multivariat menunjukkan bahwa ukuran tumor dan jenis adenokarsinoma secara bermakna berhubungan dengan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi.³⁶

Secara keseluruhan pasien KPKBSK yang layak dibedah didapatkan MTTH 14 bulan dengan rentang 11 sampai 16 bulan, ATH 60,5% yaitu 26 dari 43 pasien. Burhan E dkk mendapatkan MTTH 13 bulan dan ATH 56,65% pada pasien KPKBSK yang layak dibedah.³⁷ Angka tahanan hidup (ATH) 1 tahun pada penelitian ini ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif didapatkan 11 dari 16 pasien (68,8 %) lebih baik dibandingkan negatif hanya

15 dari 27 pasien (55,6 %). Lee dkk mendapatkan kelompok pasien dengan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif tinggi memiliki tahanan hidup yang lebih lama dibandingkan positif rendah atau negatif $p = 0,02$.³¹ Tan dkk mendapatkan ekspresi p53 onkoprotein merupakan faktor prognosis baik, ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif kuat memiliki tahanan hidup yang lebih panjang.³⁸ Mitsudomi dkk mendapatkan hasil kontroversi bahwa ekspresi protein gen p53 yang bermutasi atau overekspresi merupakan indikator prognosis buruk pada pasien KPKBSK yang dilakukan reseksi bedah.³⁹ Beberapa penelitian memakai metode imunohistokimia mendapatkan prognosis lebih baik pada pasien dengan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif.²⁸ Penelitian ini didapatkan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif justru memiliki prognosis yang lebih buruk hal ini kemungkinan memiliki mutasi *null*. Hashimoto dkk mendapatkan tumor ekspresi protein p53 yang bermutasi negatif dengan mutasi *null* memiliki prognosis buruk, pemeriksaan pada kelompok tumor dengan ekspresi protein gen p53 negatif tetapi berisi mutasi *null* tidak dapat mengindikasikan sebagai suatu prognosis yang baik. Sebagian besar ekspresi protein gen p53 yang bermutasi merupakan hasil mutasi *missense* yang resisten terhadap degradasi dan memiliki waktu paruh panjang yang akhirnya dapat dideteksi dengan pewarnaan imunohistokimia. Sebaliknya mutasi *null* (*nonsense*, *deletions*, *insertions* dan *splicing junction*) jarang terjadi pada *exon 5 – 8* (*hot spot*) tetapi lebih dominan di luar *exon*, menghasilkan penghentian prematur *codon* dan pemendekan produk protein yang tidak dapat dideteksi dengan metode pewarnaan imunohistokimia kecuali dengan metode PCR DNA SSCP.^{10,28} Penelitian ini menggunakan metode pewarnaan imunohistokimia didapatkan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif memberikan prognosis lebih buruk. Kemungkinan pada penelitian ini kelompok ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif memiliki mutasi *null* yang lebih berperan dibandingkan mutasi *missense* dan mutasi *null* ini tidak dapat dideteksi pewarnaan imunohistokimia. Evolusi perburukan klinis terjadi secara bermakna pada pasien dengan mutasi *null* tetapi tidak pada mutasi *missense*. Mutasi *null* secara umum menyebabkan protein gen p53 kehilangan *domain* terminal COOH yang mempunyai peran penting dalam tumorigenesis. Sintesis peptida didapat dari domain terminal COOH yang dapat menyimpan fungsi transaktivasi protein gen p53 mutan di dalam sel selanjutnya menghambat perkembangan dan apoptosis. Kehilangan *domain* terminal COOH menyerupai kehilangan fungsi gen p53. Sebaliknya

meningkatnya jumlah mutasi *missense*, kemampuan pengikatan DNA akan tertahan sehingga fungsi gen menetap. Semua mutasi *null* didapatkan hasil imunonegatif, kemungkinan hal ini dapat menjelaskan kontroversi hasil prognosis yang berkaitan dengan pengubahan protein gen p53 pasien KPKBSK. Mutasi *null* secara bermakna merupakan faktor prognosis buruk pasien KPKBSK stage awal, mutasi *null* terjadi pada sebagian mutasi protein gen p53 dan tidak dapat dideteksi dengan pewarnaan imunohistokimia.^{10,28,38,39}

Penelitian ini juga menganalisis tahanan hidup terhadap ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap KPKBSK stage awal I – II pada 21 kasus didapatkan *log rank test* nilai $p = 0,019$ bermakna *power* 32,74%, ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif MTTH 18 bulan ATH 54,5% sedangkan positif MTTH 28 bulan ATH 60%. Analisis tahanan hidup terhadap ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap KPKBSK jenis sel kanker adenokarsinoma pada 25 kasus didapatkan *log rank test* nilai $p = 0,000$ bermakna *power* 34,34%, ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif MTTH 11 bulan ATH 33,3%, positif MTTH 11 bulan ATH 28,6%. Analisis tahanan hidup terhadap ekspresi protein gen p53 yang bermutasi terhadap KPKBSK jenis sel kanker karsinoma sel skuamosa pada 18 kasus didapatkan *log rank test* nilai $p = 0,481$ tidak bermakna, ekspresi protein gen p53 yang bermutasi negatif MTTH 14 bulan ATH 55,6%, positif MTTH 14 bulan ATH 66,7%. Hasil penelitian ini analisis tahanan hidup prognosis baik secara bermakna pada kasus KPKBSK stage awal I – II dengan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi positif memiliki tahanan hidup lebih panjang. Prognosis buruk secara bermakna pada pasien KPKBSK ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dengan jenis sel kanker adenokarsinoma. Penelitian lain didapatkan hasil yang sama bahwa ekspresi protein gen p53 yang bermutasi berperan pada stage awal I – II tetapi tidak pada stage lanjut III – IV.²⁷ Keganasan tumor meningkat dengan cepatnya pengubahan onkogen dan tumor supresor gen. Stage awal KPKBSK hanya sejumlah kecil terjadi pengubahan gen dan hilangnya fungsi protein gen p53 menyebabkan dampak yang luas. Keganasan stage lanjut terdapat akumulasi pengubahan dalam jumlah besar dan peran disfungsi protein gen p53 relatif kecil.^{10,27,39} Mitsudomi dkk meta-analisis didapatkan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi secara bermakna memberikan prognosis negatif pasien dengan KPKBSK jenis sel kanker adenokarsinoma tetapi tidak pada karsinoma sel skuamosa.³⁹ Kawasaki dkk dikutip dari 39 didapatkan peningkatan akumulasi p53 pada potongan kecil

adenokarsinoma paru dan disimpulkan over ekspresi p53 terjadi sejak transisi stage awal ke lanjut pengembangan jenis adenokarsinoma, sebaliknya karsinoma sel skuamosa over ekspresi p53 timbul pada lesi displasia, preneoplastik saja. Hal ini membuktikan bahwa perubahan p53 perannya berbeda antara adenokarsinoma dan karsinoma sel skuamosa, perubahan p53 dibutuhkan pada karsinogenesis karsinoma sel skuamosa sedangkan adenokarsinoma berperan progresi cepat keganasan sejak awal.^{10,39}

Beberapa variasi petanda molekuler memiliki dampak pada prognosis KPKBSK tetapi hasil dari berbagai penelitian yang telah dilaporkan masih kontroversi. Hal ini perlu penelitian lebih lanjut khususnya dengan menggunakan pemeriksaan molekuler terbaru dan pengembangan beberapa petanda atau serial panel biomolekuler.³⁹ Data yang berlawanan ini mendasari beberapa penelitian lainnya untuk mengamati efek interaksi ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dengan gambaran patologi klinis yang berperan dan biomarker lainnya termasuk Bcl-2, Rb, p21-Ras, *cyclin* D1 dan Her-2/neu dan lainnya namun hasil ini masih perlu penelitian lebih lanjut.^{25,30,33,40,41} Han dkk, 85 pasien KPKBSK yang layak dibedah didapatkan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi 59%, pasien yang memiliki ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dan HER-2/neu positif didapatkan berhubungan bermakna terhadap angka tahan hidup hanya 20% dibandingkan bila hasil keduanya negatif 80%.³² Kim dkk, 283 pasien KPKBSK yang layak dibedah 203 karsinoma sel skuamosa dan 35 adenokarsinoma, ekspresi protein gen p53 yang bermutasi, p21-Ras, HER-2 dan Bcl-2 didapatkan 18,1%, 54,6%, 42% dan 71,8%. Analisis multivariat umur, stage, jenis tumor dan hanya pada kombinasi Bcl-2 + HER-2 saja yang berhubungan bermakna dengan tahan hidup ($p = 0,003$) tetapi tidak pada ekspresi protein gen p53.³⁴ D'Amico dkk, evaluasi panel 10 petanda biologi molekuler 408 pasien KPKBSK yang layak dibedah, petanda yang dipilih mewakili 5 jalur onkogenik tumor: pengaturan pertumbuhan (EGFR, erb-b2), siklus sel (Rb, Ki 67), apoptosis (p53, Bcl-2), angiogenesis (fc viii) dan adhesi metastasis (CD-44, *sialyl-Tn*, *blood group A*). Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi merupakan prognosis independen kuat (HR 1,63, $p = 0,37$) dengan angka tahan hidup 5 tahun 70% dibandingkan pasien p53 negatif 52%. Angka tahan hidup tergantung berapa jumlah petanda yang positif, angka tahan hidup 5 tahun pasien dengan 0-3, 2 dan 3-5 marker positif adalah 77%, 62% dan 58%. Penilaian prognosis melalui beberapa petanda molekuler dari 5 jalur mekanisme

onkogenik dapat menganalisa variabel yang paling berperan pada suatu populasi.³³ Posturino dkk 515 kasus KPKBSK stage I. Petanda imunositokimia: darah grup A dan prekursor antigen darah, reseptor laminin; c-erbB1 / EGFR dan c-erbB2 / Neu; Bcl-2, p53 dan angiogenesis didapatkan pT merupakan faktor prognosis kuat untuk tahan hidup $p = 0,008$ tetapi tidak satupun petanda imunositokimia sebagai faktor prediktif tahan hidup.²⁷ Huncharek dkk dengan metaanalisis 829 kasus. Sensitiviti analisis didapatkan bias seleksi yang mempengaruhi variabiliti ekspresi protein gen p53 yang bermutasi memiliki efek yang berbeda tergantung sifat biologis KPKBSK, konfounder termasuk riwayat merokok, ras, geografik dan status ekonomi. Data yang didapat tidak mendukung peran ekspresi protein gen p53 yang bermutasi sebagai petanda prognostik KPKBSK. Multipel faktor sebagai sumber bias dalam hubungan ekspresi protein gen p53 yang bermutasi dengan tahan hidup.²⁵

KESIMPULAN

1. Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi didapatkan pada 37,2% sediaan blok parafin pasien kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil yang layak bedah.
2. Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi tidak berhubungan dengan variabel gambaran klinis jenis kelamin, kelompok umur dan riwayat merokok.
3. Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi lebih banyak pada jenis karsinoma sel skuamosa dibandingkan adenokarsinoma dan memiliki peran pada stage awal perkembangan tumor (T1 – T2).
4. Ekspresi protein gen p53 yang bermutasi memiliki nilai prognosis baik pada stage awal I – II.
5. Jenis sel kanker adenokarsinoma memiliki tahan hidup lebih pendek dibandingkan karsinoma sel skuamosa.

DAFTAR PUSTAKA

1. American Cancer Society. Cancer facts & figures 2007. Atlanta: ACS; 2007.
2. Syahrudin E. Characteristic of patients in Indonesian association for the study of lung cancer data. In: Committee PIPKRA editors. Abstracts of the 4th Scientific Respiratory Medicine Meeting. Jakarta: PIPKRA; 2006.p.51.
3. Minna JD. Neoplasm of the lung. In: Braunwald

- E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL editors. *Harrison's Principles of internal Medicine*. 15th ed. New York: McGraw-Hill; 2001. p.1155-73.
4. Moore DF and Lee JS. Staging and prognostic factors non-small cell lung cancer. In: Pass HI, Mitchell JB, Johnson DH, Turrisi AT editors. *Lung cancer: principles and practice*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1996. p.481-94.
5. Stancu M, King T, Maizel A. Molecular biology of lung cancer. In: Weitberg AB, Klastersky J editors. *Cancer of the lung*. New Jersey: Humana Press; 2002. p.81-101.
6. Chan DC, Soriano A, Kane MA, Helfrich B, Bunn PA. Biology of lung cancer. In: Hansen H editor. *Textbook of lung cancer*. United kingdom: Martin Dunitz Ltd; 2000. p.27-62.
7. Szabo E, Shaw GL. Intermediate markers and molecular genetics of lung carcinogenesis. *Cancer Control Journal* 1997;4:1-12.
8. Szak ST, Pietenpol JA. High affinity insertion/deletion lesion binding by p53. Evidence for a role of the p53 central domain. *Biochem Clin* 1999;274:3904-9.
9. Gewies A. Introduction to apoptosis. *Apo Review* 2003;1:1-26.
10. Szak ST, Pietenpol JA, Carbone DP. P 53. In: Pass HI, Mitchell JB, Johnson DH, Turrisi AT, Minna JD editors. *Lung cancer: principles and practice*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Publishers; 2000. p.217-38.
11. Szymańska K, Hainaut P. TP53 and mutations in human cancer. *Actabp* 2003;1:231-38.
12. Horio Y, Takahashi T, Kuroishi T, Hibi K, Suyama M, Niimi T, et al. Prognostic significance of p53 mutations and 3p deletion in primary resected non small cell lung cancer. *Cancer Res* 1993;53:1-4.
13. Murakami I, Hiyama K, Ishioka S, Yamakido M, Kasagi F, Yokosaki Y. P53 gen mutations are associated with shortened survival in patients with advanced non small cell lung cancer: an analysis of medically managed patients. *Clin Cancer Res* 2000;6:526-30.
14. Steels E, Paesmans, Berghmans T, Branle F, Lemaitre F, Mascaux C, et al. Role of p53 as a prognostic factor for survival in lung cancer: a systematic review of the literature with a meta-analysis. *Eur Respir J* 2001;18:705-19.
15. Soussi T, Legros Y, Lubin R, Ory K, Schlichtholz B. Multifactorial analysis of p53 alteration in human cancer: a review. *Int J Cancer* 1994;57:1-9.
16. Pasturino U, Andreola S, Tagliabue E, Pezzella F, Incarboni M, Sozzi G, et al. Immunocytochemical markers in stage I lung cancer: relevance to prognosis. *J Clin Oncol* 1997;15:2858-65.
17. Schiller JH, Adak S, Feins RH, Keller SM, Fry WA, Livingston RB, et al. Lack of prognostic significance of p53 and K-ras mutations in primary resected non-small cell lung cancer on E4592: a laboratory ancillary study on an eastern cooperative oncology group prospective randomized trial of postoperative adjuvant therapy. *J Clin Oncol* 2001;19:448-57.
18. Hanafi AR, Syahrudin E, Hudoyo A, Hidayat H, Suzanna E. Expression p53 mutation protein in non small cell lung carcinoma tissues in persahabatan hospital. *Respirology* 2008;13:194-5.
19. Marleen FS, Syahrudin E, Hudoyo A, Endarjo S, Suzanna E. The expression protein bcl-2 in non small cell lung cancer patients in persahabatan hospital. *Respirology* 2008;13:194-5.
20. Agustin H, Syahrudin E, Yunus F, Endarjo S, Suzanna E. The telomerase protein expression in non small cell lung cancer patients in persahabatan hospital. *Respirology* 2008;13:194-5.
21. Syahrudin E, Agustin H, Hidayat H, Suzanna E, Wibawanto A, Hudoyo A. High expression epidermal growth factor receptor (EGFR) and telomerase protein in "smoker" non-small cell lung cancer patients. WCLC - 13th World Conference on Lung Cancer. San Francisco 2009 [cited on August 5th 2009]. Available from: URL: <http://www.2009worldlungcancer.org>
22. Martin B, Verdebout JM, Mascaux C, Paesmans M, Rouas G, Verhest A, et al. Expression of p53 in preneoplastic and early neoplastic bronchial lesions. *Oncology reports* 2002;9:223-9.
23. Cheng YL, Lee SC, Harn HJ, Chen CJ, Chang YC, Chen JC, et al. Prognostic prediction of the immunohistochemical expression of p53 and p16 in resected non-small cell lung cancer. *Euro J Cardio Thoracic Surg* 2003;23:221-8.
24. Nishio M, Koshikawa T, Koroishi T, Suyama M, Uchida K, Takagi Y et al. Prognostic significance of abnormal p53 accumulation in primary, resected non-small-cell lung cancers. *J Clin Oncol* 1996;14:497-502.
25. Huncharek M, Kupelnick B, Geschwind JF, Caubet JF. Prognostic significance of p53 mutations in non-small cell lung cancer: metaanalysis of 829 cases from eight published studies. *Cancer Lett* 2000;153:219-26.
26. Schneider PM, Praeuer HW, Stoeltzing O, Boehm J, Manning J, Metzger R, et al. Multiple molecular marker testing (p53, c-Ki-ras, c-erbB-

- 2) improves estimation of prognosis in potentially curative resected non-small lung cancer. *Br J Cancer* 2000;83:473-9.
27. Pasturino U, Andreola S, Tagliabue E, Pezzella F, Incarbone M, Sozzi G, et al. Immunocytochemical markers in stage I lung cancer: relevance to prognosis. *J Clin Oncol* 1997;15:2858-65.
 28. Hashimoto T, Tokuchi Y, Hayashi M, Kobayashi Y, Nishida K, Hayashi S, et al. p53 null mutations undetected by immunohistochemical staining predict a poor outcome with early-stage non-small cell lung carcinomas. *Cancer Res* 1999;59:5572-7.
 29. Quinlan DC, Davidson AG, Summers CL, Warden HE, Doshi HM. Accumulation of p53 protein correlates with a poor prognosis in human lung cancer. *Cancer Res* 1992;52:4828-31.
 30. Mitsudomi T, Oyama T, Nishida K, Ogami A, Osaki T, Nakanishi R et al. p53 nuclear immunostaining and gene mutations in nsclc and their effects on patient survival. *Ann Oncol* 1995;6:9-13.
 31. Lee JS, Yoon A, Kalapurakal SK, Ro JY, Lee JJ, Tu N et al. Expression of p53 oncoprotein in non-small-cell lung cancer: A favorable prognostic factor. *J Clin Oncol* 1995;13:1893-903.
 32. Han H, Landreneau RJ, Santucci TS, Tung MY, Macherey RS, Shackney SE, et al. Prognostic value of immunohistochemical expressions of p53, HER-2/neu and Bcl-2 in stage I non-small cell lung cancer. *Hum Pathol* 2002;33:105-10.
 33. D'Amico TA, Massay M, Herndon JE 2nd, Moore MB, Harpole DH, A biological risk model for stage I lung cancer: immunohistochemical analysis of 408 patients with the use of ten molecular markers. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999;117:736.
 34. Kim YC, Park KO, Kim JA, Park CS, Lim SC, Jang AS. The Interactive effect of Ras, HER2, P53 and Bcl-2 expression in predicting the survival of non small cell lung cancer patients. *Lung cancer* 1998;22:181-90.
 35. Schiller JH, Adak S, Feins RH, Keller SM, Fry WA, Livingston RB, et al. Lack of prognostic significance of p53 and K-ras mutations in primary resected non-small cell lung cancer on E4592: a laboratory ancillary study on an eastern cooperative oncology group prospective randomized trial of postoperative adjuvant therapy. *J Clin Oncol* 2001;19:448-57.
 36. Guang SG, Ogura T, Sekine I, Yokozaki M, Esumi H, Kodama T. Association between p53 mutation and clinicopathological features of non-small cell lung cancer *Jpn J Clin Oncol* 1997;27:211-5.
 37. Burhan E, Arief N, Hudoyo A, Suratman E, Yusuf A, Syahrudin E. Angka tahan hidup penderita kanker paru jenis karsinoma sel kecil yang layak dibedah. *J Respir Indo* 2007;27:206-13.
 38. Tan DF, Li Q, Rammath N, Beck A, Wiseman S, Anderson T, et al. Prognostic significance of expression of p53 oncoprotein in primary (stage I-IIIa) nsclc. *Anticancer Res* 2003;23:1665-72.
 39. Mitsudomi T, Hamajima N, Ogawa M, Takahashi T. Prognostic significant of p53 alterations in patients with non small cell lung cancer: a meta-analysis. *Clin Cancer Res* 2000;6:4055-63.
 40. Niklinski J, Niklinska W, Laudanski J, Chyczewska E, Chyczewski L, Prognostic molecular markers in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2001;34:53-8.
 41. Geradts J, Fong KM, Zimmerman PV, Maynard R, Minna JD. Correlation of abnormal RB, p16ink4a and p53 expression with 3p loss of heterozygosity other genetic abnormalities and clinical feature in 103 primary non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 1999;5:791-800.

PRAS

