

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) merupakan bentuk keganasan pada kepala leher dan kanker dengan peringkat kejadian keenam di dunia. Setiap tahun, diperkirakan terdapat lebih dari 600.000 kasus baru HNSCC di seluruh dunia dengan 355.000 kematian setiap tahunnya. Di Amerika Serikat, didapatkan lebih dari 60.000 kasus baru dan 13.000 kematian akibat HNSCC (Siegel *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2016). *Oral squamous cell carcinoma* (OSCC), merupakan bagian dari HNSCC, yaitu keganasan yang terjadi secara spesifik pada daerah rongga mulut dengan insidensi sebanyak 377.000 kasus pada tahun 2020 di seluruh dunia (Sung *et al.*, 2021). Persebaran lokasi OSCC dapat melibatkan lidah, dasar mulut, permukaan bukal, gusi, serta palatum, dengan lidah sebagai daerah yang paling sering terjangkit dan memiliki prognosis terburuk bila dibandingkan lokasi lainnya (Ng *et al.*, 2017). Di Indonesia, penelitian insidensi OSCC yang dilakukan oleh Maulina *et al.* (2017) menyatakan terdapat 111 kasus baru pada tahun 2014-2015 di Jawa Barat, dengan predileksi lokasi terbanyak pada mukosa bukal dan lidah. Wibowo *et al.* (2017) melaporkan bahwa di departemen Bedah Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Dr. Soetomo, terdapat 153 kasus keganasan dalam rongga mulut, dengan 88,2% kasus merupakan OSCC dengan predileksi terbanyak pada lidah selama tahun 2007-2011.

Oral squamous cell carcinoma memiliki risiko kematian yang cukup tinggi dengan *5 years survival rate* kurang dari 50% (Ng *et al.*, 2017). Meskipun

penelitian terhadap pengobatan pada kanker terus berkembang dan mampu meningkatkan kualitas dan harapan hidup penderita OSCC, secara umum, *survival rate* dari penderita OSCC tidak mengalami perubahan yang signifikan selama 30 tahun terakhir (Gaykalova *et al.*, 2014; Chang *et al.*, 2017). Saat ini penentuan prognosis dan rencana perawatan dari OSCC seringkali ditentukan melalui lokasi keganasan dan klasifikasi Tumor, Nodul limfe, Metastasis (*TNM stage*) (Lindemann *et al.*, 2018). Akan tetapi beberapa penelitian menunjukkan hasil perawatan OSCC yang tidak memuaskan, dengan lesi yang ditentukan berada di stadium awal ternyata memiliki respon perawatan dan perjalanan penyakit yang buruk (Lin *et al.*, 2020). Oleh karena itu, diperlukan *biomarker* dengan efektifitas yang lebih baik dalam memperkirakan prognosis dari OSCC (Zhou *et al.*, 2016).

Dengan berkembangnya penelitian di bidang biomolekular, Gen Tumor Protein 53 (TP53) merupakan salah satu target penelitian yang terus menerus diinvestigasi pada perkembangan penyakit kanker. Gen TP53 merupakan gen penyandi protein *tumor suppressor* p53 yang memiliki peran penting baik secara fisiologis maupun patologis, salah satunya menekan pembentukan tumor dan melindungi kerusakan *deoxyribonucleic acid* (DNA) melalui stimulasi *cell cycle arrest*, *DNA repair*, atau apoptosis (Júnior *et al.*, 2014; Hientz *et al.*, 2017). Mutasi TP53 terdapat pada hampir 50% dari keganasan pada manusia dan mayoritas mutasi terjadi pada *DNA binding domain*, yang menyebabkan gangguan pengikatan elemen respons transkripsi dan transaktivasi dari *downstream target genes*. Beberapa protein p53 yang termutasi juga diketahui dapat menghambat fungsi protein hasil translasi dari alel TP53 yang normal (Lindemann *et al.*, 2018). Secara umum, mutasi pada gen TP53 menyebabkan gangguan pada kinerja protein p53

sebagai *tumor suppressor* (Wang *et al.*, 2017; Zamaruddin *et al.*, 2013), bahkan dapat menyebabkan *gain of function (GOF)* sebagai onkogen, sehingga memengaruhi tumorigenesis dan progresivitas dari kanker dan memberikan dampak secara klinis (Zhou *et al.*, 2016). Mutasi pada gen TP53 diketahui juga memiliki pengaruh pada tingkat keparahan dari OSCC, memperparah metastasis dan ketidakstabilan genomik, serta menyebabkan *survival rate* yang lebih rendah (Muller dan Vousden, 2013; Júnior *et al.*, 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Zhou *et al.* (2016) dan Osman *et al.* (2015) menunjukkan bahwa mutasi pada gen TP53, terutama pada 6 *hotspot* kodon yaitu kodon 248, 273, 245, 175, 282, dan 179 mutasi dapat meningkatkan keparahan dan progresivitas dari OSCC, serta menurunkan sensitivitas HNSCC pada perawatan kemoterapi maupun kemoradioterapi menggunakan medikamentosa berbasis *cisplatin*. Mutasi pada 6 *hotspot* tersebut diketahui menghasilkan protein p53 yang berubah secara konformasi dengan gangguan fungsional transkripsional dan kemampuan pro-apoptosis yang tidak adekuat (Hanel *et al.*, 2013).

Dari keenam mutasi tersebut, hanya mutasi pada kodon 175 dan 245 telah banyak dibuktikan secara *in vivo* dan *in vitro* berpengaruh pada progresivitas dan prognosis yang buruk dari OSCC. Mutasi titik pada kodon 175 diketahui dapat mempromosikan pertumbuhan sel kanker yang invasif pada HNSCC (Neskey *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2016); meningkatkan pertumbuhan tumor dengan kapasitas metastatik yang lebih tinggi; bersama *Kirsten rat sarcoma virus (KRAS)* mempercepat pertumbuhan tumor rongga mulut dan mempromosi progresivitas tumor menjadi karsinoma (Acin *et al.*, 2011). Pada mutasi kodon 245 dilaporkan dapat mempromosikan pertumbuhan sel yang invasif pada HNSCC dan mudah

bermetastasis (Zhou *et al.*, 2016; Neskey *et al.*, 2015); menurunkan ekspresi *Notch1* dan *B-cell translocation gene 2* (BTG2) (Salameti *et al.*, 2019); menyebabkan ekspresi p21 dan Noxa rendah setelah induksi kemoterapi (Osman *et al.*, 2015). Kedua kodon tersebut memiliki potensi sebagai *marker* diagnosis genetik yang baik untuk menentukan prognosis, karena mutasi pada kedua kodon tersebut telah diketahui dapat meningkatkan progresivitas, *survival rate*, dan resesistensi terhadap radiasi dan kemoterapi (Osman *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2016; Lindemann *et al.*, 2018). Akan tetapi, hingga saat ini dampak kedua mutasi tersebut terhadap derajat diferensiasi histopatologi OSCC di Indonesia belum pernah diteliti.

Imunohistokimia (IHK) merupakan teknik yang paling sering digunakan dalam menentukan hubungan antara protein p53 dengan progresivitas keganasan, akan tetapi teknik ini menunjukkan hasil yang terbatas dan kontradiktif terhadap partisipasi protein p53 pada proses karsinogenesis (Júnior *et al.*, 2014). Untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat, pada penelitian ini akan digunakan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) yang dilanjutkan dengan *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) untuk mendeteksi adanya mutasi pada gen TP53 pada ekson 5 kodon 175 dan ekson 7 kodon 245 yang diketahui memiliki dampak pada progresivitas dan prognosis OSCC (Osman *et al.* 2015), yang kemudian akan dibandingkan dengan hasil pemeriksaan histopatologis secara IHK untuk mengetahui adanya perbedaan tingkat ekspresi p53 dan dengan pengecatan rutin menggunakan *hematoxylin eosin* untuk mengetahui pengaruh mutasi terhadap derajat diferensiasi histopatologi dari OSCC. Diferensiasi dari sel kanker diketahui memiliki hubungan dengan prognosis dan agresivitas dari OSCC (Lin *et al.*, 2020). Menurut Sarode dan Sarode (2013), OSCC dengan derajat diferensiasi yang baik

memiliki prognosis dan *survival rate* yang baik, serta risiko terjadinya rekurensi regional dan metastasis jauh yang lebih rendah. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya mutasi gen TP53 ekson 5 kodon 175 and ekson 7 kodon 245 serta hubungannya dengan ekspresi p53 dan derajat diferensiasi gambaran histopatologis pada penderita OSCC di RSUD Dr. Soetomo.

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapa prevalensi mutasi TP53 ekson 5 kodon 175 pada penderita OSCC di RSUD Dr. Soetomo?
2. Berapa prevalensi mutasi TP53 ekson 7 kodon 245 pada penderita OSCC di RSUD Dr. Soetomo?
3. Apakah terdapat ekspresi p53 yang lebih tinggi pada penderita OSCC dengan mutasi gen TP53 ekson 5 kodon 175 dibandingkan dengan tanpa mutasi gen TP53 ekson 5 kodon 175?
4. Apakah terdapat ekspresi p53 yang lebih tinggi pada penderita OSCC dengan mutasi gen TP53 ekson 7 kodon 245 dibandingkan dengan tanpa mutasi gen TP53 ekson 7 kodon 245?
5. Apakah terdapat hubungan antara mutasi TP53 ekson 5 kodon 175 dengan derajat diferensiasi gambaran histopatologis pada penderita OSCC di RSUD Dr. Soetomo?
6. Apakah terdapat hubungan antara mutasi TP53 ekson 7 kodon 245 dengan derajat diferensiasi gambaran histopatologis pada penderita OSCC di RSUD Dr. Soetomo?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengestimasi prevalensi mutasi TP53 ekson 5 kodon 175 dan ekson 7 kodon 245 dan membuktikan hubungan mutasi tersebut dengan ekspresi p53 serta derajat diferensiasi gambaran histopatologis pada penderita OSCC di RSUD Dr. Soetomo

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengestimasi prevalensi mutasi TP53 ekson 5 kodon 175 pada penderita OSCC di RSUD Dr. Soetomo.
2. Mengestimasi prevalensi mutasi TP53 ekson 7 kodon 245 pada penderita OSCC di RSUD Dr. Soetomo.
3. Membuktikan adanya ekspresi p53 yang lebih tinggi pada penderita OSCC dengan mutasi gen TP53 ekson 5 kodon 175 dibandingkan dengan tanpa mutasi gen TP53 ekson 5 kodon 175.
4. Membuktikan adanya ekspresi p53 yang lebih tinggi pada penderita OSCC dengan mutasi gen TP53 ekson 7 kodon 245 dibandingkan dengan tanpa mutasi gen TP53 ekson 7 kodon 245.
5. Menganalisis hubungan antara mutasi TP53 ekson 5 kodon 175 dengan derajat diferensiasi gambaran histopatologis pada penderita OSCC di RSUD Dr. Soetomo.
6. Menganalisis hubungan antara mutasi TP53 ekson 7 kodon 245 dengan derajat diferensiasi gambaran histopatologis pada penderita OSCC di RSUD Dr. Soetomo.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi genetika molekular tentang mutasi gen TP53 pada OSCC di Jawa Timur.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai tambahan pertimbangan diagnosis dan pertimbangan pengelolaan penderita OSCC.