

# Ekspresi Protein *p53*, *Rb*, dan *c-myc* pada Kanker Serviks Uteri dengan Pengecatan Immunohistokimia

## The expression of *p53*, *Rb*, and *c-myc* protein in cervical cancer by immunohistochemistry stain

ADI PRAYITNO<sup>1,\*</sup>, RUBEN DARMAWAN<sup>2</sup>, ISTAR YULIADI<sup>3</sup>, AMBAR MUDIGDO<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret (UNS), Surakarta 57126

<sup>2</sup> Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret (UNS), Surakarta 57126

<sup>3</sup> Bagian Kebidanan dan Penyakit Kandungan, RSUD dr Muwardi, Surakarta 57126

Diterima: 14 Februari 2005. Disetujui: 1 April 2005.

### ABSTRACT

The pathogenesis of cancer as whole (50%) is caused by gene mutation. Pathogenesis of cervical cancer has focusing on Human Papilloma Virus (HPV). Early-7 (E7) proteins of HPV shell bind the Rb tumor suppressor gene, so pRb (Rb protein) can't express. Because of the E2F transcription factor gene can't bound with pRb, so E2F gene are going active and help c-myc for DNA replication and to stimulate the cell cycle. E6 protein of HPV is bind to and facilitates the degradation of the p53 tumor suppressor gene product. The objective of this experiment is to know the expression of p53, Rb and c-myc proteins in cancer of uterine cervix. Nineteen blocks paraffin tissue of cervical cancer are cut in thoroughly cleaned cryotome and place in glass plate that covered with poly-elysine. The immunohistochemistry is done with monoclonal antibody anti p53, Rb and c-myc proteins. The Result of this experiment is shown that the expression of proteins of p53 protein is 40%, Rb protein is 30.8% and c-myc protein is 50.1%. The conclusion from this experiment is that the expression of p53, Rb and c-myc proteins in cervical cancer are in mild category (30-70%). The experiment about cervical cancer is suggested.

© 2005 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

**Key words:** cervical cancer; *p53*; *Rb*; *c-myc*; immunohistochemistry.

### PENDAHULUAN

Banyak faktor penyebab terjadinya kanker, baik internal maupun external. Faktor internal terutama keberadaan gen-gen yang berperan pada siklus sel telah menjadi pusat perhatian dalam hubungannya dengan proses terjadinya pertumbuhan tumor. Dalam hubungannya dengan pertumbuhan tumor, terdapat dua golongan gen: Pertama adalah kelompok pemicu terjadinya tumor yang lazim disebut *tumor oncogenes*, seperti: gen *c-myc* dan gen *ras*; Kedua adalah kelompok penekan terjadinya tumor yang lazim disebut *tumor suppressor gene*, seperti: gen *p53* dan gen *Rb*. Hingga saat ini banyak peneliti sementara menyimpulkan bahwa penyebab terjadinya kanker (50%) adalah adanya mutasi pada gen-gen tersebut (Putsztai dkk., 1996; Cotrans dkk., 1999).

Kanker serviks uteri adalah kanker yang paling sering ditemukan terutama di negara-negara berkembang dan sekaligus merupakan penyebab kematian pada perempuan di dunia pada umumnya. Di Indonesia kanker serviks uteri ini menduduki peringkat pertama diantara jenis kanker lainnya (Badan Registrasi Kanker, 1998). Studi epidemiologi mencurigai bahwa kanker serviks uteri disebabkan oleh agen saat melakukan hubungan seksual. Saat ini patogenesis terjadinya kanker serviks uteri tersebut

difokuskan pada keberadaan HPV (Putsztai dkk., 1996; Schmits, 1997a,b). Protein E6 dari HPV-16 and 18 akan mengakibatkan inaktivasi gen *p53* melalui mekanisme pengikatan yang disebut *ubiquitin-dependent proteolytic pathway (E6AP)*, sehingga akan terjadi penurunan kadar protein *p53 (wild type)*. Protein E7 (*onco protein*) akan mengikat gen *pRb*, sehingga akan berakibat sama seperti pada protein *p53*. Ikatan E6 dengan *pRb* tersebut menyebabkan tidak terikatnya gen *E2F (faktor transkripsi)* oleh protein-*pRb*, sehingga gen *E2F* menjadi aktif dan akan membantu *c-myc* untuk terjadinya replikasi DNA dan menstimuli siklus sel (Mendelshon dkk., 1995; Puszta dkk., 1996; Dellas, 1997; Cotrans dkk., 1999).

Dari uraian di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui bagaimana gambaran ekspresi protein-protein pemicu tumor dan penekan tumor pada kanker serviks uteri.

### BAHAN DAN METODE

Sampel didapat hari hasil biopsi (*frozen section*) serviks uteri pada bagian Kebidanan dan Penyakit Kandungan Rumah Sakit dr. Muwardi Surakarta dari bulan Juli-Desember 2000. sebanyak 19 belas blok parafin jaringan kanker serviks uteri dipotong menggunakan microtom yang bersih dengan hati-hati dan ditempatkan pada *glass plate* yang telah dilapisi dengan *poly-elisen*. Pengecatan imunohistokimia dikerjakan dengan metode *TSA indirect* (NEN Life Science Products, RENAISSANCE) menggunakan antibodi monoklonal anti protein *p53*, *pRb*, dan *c-myc*

#### \* Alamat korespondensi:

Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126  
Tel. & Fax.: +62-271-632494.  
e-mail: drgadiprayitno@yahoo.com

(1:500). Untuk *Counter stain* dilakukan dengan pengecatan *HE*. Hasil foto mikroskop dibuat dengan perbesaran aX100 lensa obyektif.

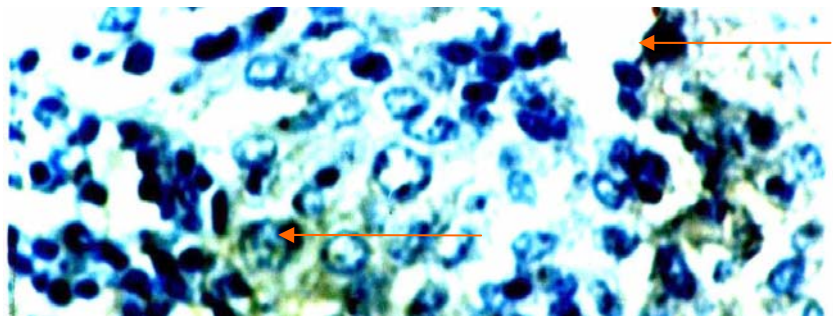
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Kanker serviks uteri adalah kanker penyebab kematian tersering pada perempuan di negara-negara yang sedang berkembang pada umumnya. Di Indonesia data ini tidak jauh berbeda (Badan Registrasi Kanker, 1998). Faktor resiko yang diketahui adalah hubungan seksual pada usia yang sangat muda dan pasangan yang selalu berganti-ganti. Faktor resiko lainnya adalah status sosial ekonomi yang rendah, pemakaian kontrasepsi oral, merokok, paritas yang tinggi dan adanya riwayat penyakit menular seksual. Penyebab penyakit menular seksual pertama kali diduga oleh Virus herpes simpleks tipe 2, tetapi kemudian dipastikan bahwa penyebabnya adalah virus human papiloma setelah mempelajari patogenesis kanker serviks uteri dan *condyloma acuminata* (Schmits, 1997a,b; Cotrans dkk., 1999). Sembilan puluh persen penderita Kanker serviks uteri menunjukkan HPV-DNA positif (Borysiewicz, 1996) dan hampir 100% kasus *Squamous Cell Ca.* juga menunjukkan HPV-DNA positif (Hollema, 1998). HPV dapat menyebabkan *verucca*, *papilloma* dan kanker pada kulit serta mukosa manusia (Mendelshon dkk., 1995). *HPV* tipe 16 dan 18 dianggap paling berpotensi sebagai penyebab kelainan tersebut (Hollema, 1998).

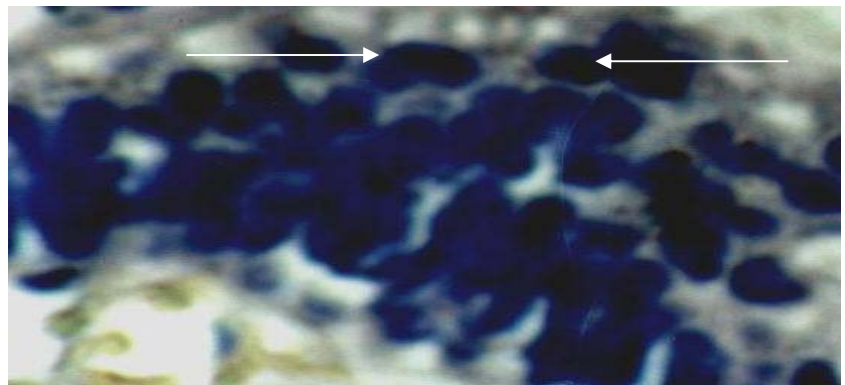
**Tabel 1.** Ekspresi protein *p53*, *Rb* dan *c-myc* (%) pada kanker serviks uteri.

No. sampel	<i>p53</i>	<i>Rb</i>	<i>c-myc</i>
1.	30*	40	40
2.	30*	40	50
3.	30*	30*	60
4.	40	30*	70
5.	50	50	40
6.	40	40	50
7.	50	40	70
8.	40	30*	60
9.	30*	20*	40
10.	50	50	30*
11.	40	20*	50
12.	40	30*	50
13.	40	20*	30*
14.	40	50	60
15.	50	40	70
16.	40	10*	30*
17.	40	60	70
18.	40	40	60
19.	30*	30*	50
Rata-rata	40	30,8	50,1

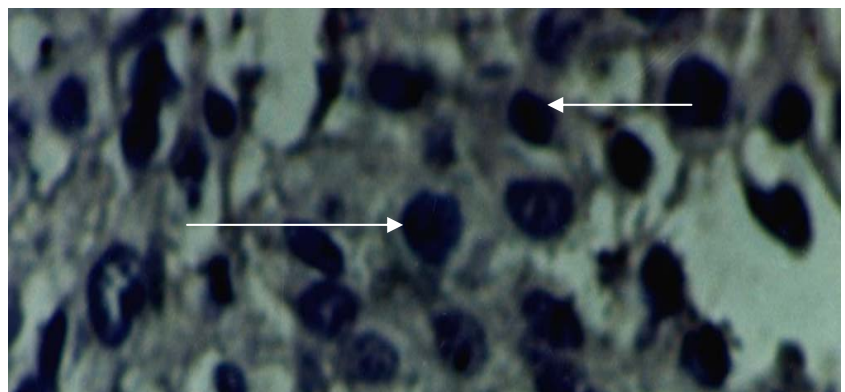
Keterangan: persentase didapat dari sel positif/100 sel/satu lapang pandang. 5-30% : katagori ekspresi ringan (\*); 31-70%: kategori ekspresi sedang; 71-100%: kategori ekspresi kuat.



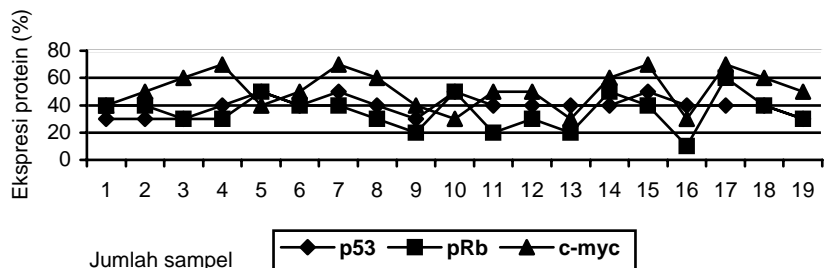
**Gambar 1.** Ekspresi protein *p53* pada kanker serviks uteri. Warna hitam kecoklatan pada inti sel kanker (tanda panah) memperlihatkan ekspresi protein *p53* tersebut.



**Gambar 2.** Ekspresi protein *Rb* pada kanker serviks uteri. Warna hitam kecoklatan pada inti sel kanker (tanda panah) memperlihatkan ekspresi protein *pRb* tersebut.



**Gambar 3.** Ekspresi protein *c-myc* pada kanker serviks uteri. Warna hitam kecoklatan pada inti sel kanker (tanda panah) memperlihatkan ekspresi protein *c-myc* tersebut.



**Gambar 4.** Ekspresi *p53* (biru), *Rb* (merah) dan *c-myc* (warna terang) dari 19 sampel kanker serviks uteri.

*Human Papilloma Virus (HPV)* adalah virus DNA-circular dengan genome 7800-8000 base pairs. *Human Papilloma Virus* ada lebih dari 70 jenis yang tidak dapat diidentifikasi secara serologis, tetapi dengan DNA-hybridization dan PCR-spesifik primer dapat teridentifikasi (Mendelshon dkk., 1995). Genome virus ini terdiri dari *the early region (E)* yang mengkode protein yang berperan pada replikasi genome, mengontrol transkripsi dan replikasi serta transformasi sel. *The late region (L)* berisi *L-genes* yang mengkode protein capsid (Smits, 1997a,b). Definisi tipe HPV yang terbaru tidak lebih dari 90% terlihat adanya homologi pada sequence DNA E6, E7 dan L1. Protein E6 (*onco-protein*) high-risk HPV (tipe 16 dan 18) mempunyai peran dalam proliferasi sel yang dihubungkan dengan keberadaan tumor suppressor gene-p53. E6-protein HPV 16 and 18 akan mengakibatkan inaktivasi gen p53 melalui mekanisme pengikatan yang disebut ubiquitin-dependent proteolytic pathway (E6AP). Jadi dengan penurunan kadar protein p53 dalam sel akan berakibat pada kegagalan pengendalian pertumbuhan sel, karena tidak terjadinya hambatan aktivasi sel (Ngan dkk., 1997; Mendelshon dkk., 1995; Puszta dkk., 1996; Cotrans dkk., 1999). Protein E7 (*onco-protein*) high-risk HPV mempunyai peran dalam proliferasi sel yang dihubungkan dengan keberadaan tumor suppressor gene-Rb. Protein E7 (*onco protein*) akan mengikat gen Rb. Ikatan tersebut menyebabkan tidak terikatnya gen E2F (faktor transkripsi) oleh protein Rb, sehingga gen E2F menjadi aktif dan akan membantu c-myc (faktor transkripsi) untuk terjadinya replikasi DNA dan menstimuli siklus sel (Mendelshon dkk., 1995; Puszta dkk., 1996; Dellas, 1997; Cotrans dkk., 1999). Foto-foto hasil penelitian ini disajikan pada Gambar 1-3.

Protein c-myc (*proto-oncogene*) adalah protein yang disandi oleh gen c-myc, yang berfungsi sebagai protein inti sel untuk transkripsi dan replikasi sel dalam siklus sel, sehingga dikelompokkan dalam gen-gen pemicu terjadinya tumor. Gen ras adalah famili proto-oncogenes juga yang merupakan second major class dari GTP-binding proteins, dimana dalam banyak penelitian protein ini dipastikan berperan dalam mitogenic signal transduction pada siklus sel. Gen p53 adalah gen yang mengkode phosphoprotein inti sel sebesar 53 kDa, dan bertindak sebagai negatif regulator dalam siklus sel, sehingga dikelompokkan dalam gen-gen penekan tumor. Gen Rb adalah gen yang ditemukan bertanggung jawab pada tumor retina-mata (retinoblastoma) dan merupakan prototipe dari gen-gen penekan tumor (Puszta dkk., 1996).

Perbedaan potensi berbagai tipe HPV terhadap karsinogenesis tergantung afinitas protein-E6 dalam mengikat gen p53 dan protein-E7 dalam mengikat gen Rb. yang mempunyai arti yang penting dalam karsinogenesis kanker serviks uteri. Hal tersebut diatas bukan merupakan proses mutasi akibat pengaruh karsinogen (Mendelshon, 1995).

Dari Tabel 1 dan Gambar 4. terlihat bahwa ekspresi c-myc terlihat lebih tinggi dibandingkan pRb dan p53 dengan rata-rata 50,1%. Hal tersebut menunjukkan bahwa siklus sel sedang berlangsung, karena fungsi protein c-myc adalah sebagai protein pemicu terjadinya transkripsi sel. Ekspresi protein p53 (40%) masih dalam batas normal, artinya protein p53 yang berfungsi sebagai protein penekan tumor tidak menonjol aktivitasnya dalam rangka memperbaiki gen-gen yang rusak atau mutasi. Ekspresi protein Rb (30,8%) dapat dianggap rendah, artinya protein Rb yang berfungsi sebagai protein penekan tumor tidak menonjol aktivitasnya yaitu mengikat faktor transkripsi

(E2F) dan selanjutnya siklus sel yang diperankan protein c-myc akan berlangsung (Cotrans dkk., 1999; Puszta dkk., 1996).

Penelitian lebih lanjut dapat diarahkan pada hubungan antara stadium kanker, dengan ekspresi berbagai macam protein /gen yang ada hubungannya dengan replikasi dan siklus sel yang mengarah pada keganasan sel/organ/jaringan/sistem/tubuh. Klasifikasi Internasional untuk Stadium Keganasan Serviks Uteri yang dikemukakan oleh Morehead (1965) sebagai berikut:

*International classification of the cervical cancer:*

Stage 0 : Intra epithelial carcinoma

Stage 1 : Carcinoma in situ

Stage 2 : The carcinoma extends beyond the cervix but not reached the pelvic wall

Stage 3 : The carcinoma has reached the pelvic wall

Stage 4 : The carcinoma has invaded another organ.

## KESIMPULAN

Ekspresi rata-rata protein p53 adalah 40%, Rb adalah 30,8% dan c-myc adalah 50,1%, sehingga disimpulkan bahwa ekspresi protein p53, Rb dan c-myc pada kanker serviks uteri berkategori sedang (30-70%).

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kami ucapkan kepada DCRG-URGE Dikti Depdiknas RI Jakarta, PAU Bioteknologi UGM Yogyakarta, dan penghargaan khusus diberikan kepada Prof. Dr. dr. Noerhayati Soeripto, DTM&H, Prof. dr. Sofia Mubarika, MMedSc., Ph.D, Prof. Marsetyawan HNES, MSc., Ph.D dan Wayan T. Artama, drh., S.U., Ph.D.

## DAFTAR PUSTAKA

- Badan Registrasi Kanker, 1998. *Badan Registrasi Kanker*. Jakarta: Ikatan Ahli Patologi Indonesia – Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Borysiewicz. 1996. A recombinant vaccinia virus encoding HPV type 16 and 18, E6 and E7 proteins as immunotherapy for cervical cancer. *The Lancet* 347:1523-1527.
- Cotrans, R.S., V. Kumar and SL. Robbins. 1997. *Robbins Patologic basis of Disease*. 6th ed. London: WB Saunders Co.
- Dellas, A. 1997. Investigation of the bell and c-myc expression in relationship to the Ki labelling index in cervical intra epithelial neoplasia. *Interna Journal of Gynecology Pathology* 16 (3): 212-218.
- Hollema. 1996. *Viral Carcinogenesis*. Surabaya: Dutch Foundation for The Post Graduated Course, UNAIR.
- Mendelshon, J., P. Howley, M. Israel, Liotta. 1995. *The Molecular Basis of the Cancer*. Philadelphia: WB Saunders Co.
- Morehead, R.P. 1965. *Human Pathology*. New York: The Blakistone Division – McGraw Hill Book Co.
- Ngan, H.Y.S., M. Stanley, S.S. Liu, and H.K. Ma. 1994. HPV and p53 in cervical cancer. *Genitourin Medical* 70: 1888-1901.
- Ngan, H.Y.S., S.W. Tsao, and M. Stanley. 1997. Abnormal expression and mutation of p53 in cervical cancer: A study at protein, RNA and DNA levels. *Genitourin Medical* 73: 54-58.
- Puszta, L., C.E. Lewis, and E. Yap. 1996. *Cell Proliferation in Cancer-Regulation Mechanisms of Neoplastic Cell Growth*. Oxford: Oxford University Press.
- Schmits, H.L. 1997a. Overview: epidemiology and diagnosis of cervical cancer. *Seminar Nasional Upaya Peningkatan Deteksi HPV Pada Kanker Serviks Secara Biologi Molekuler dan Pengelolaannya*. Pusat Kedokteran Tropis UGM, Yogyakarta.
- Schmits, H.L. 1997b. Overview: Molecular biology and detection of HPV infection. *Seminar Nasional Upaya Peningkatan Deteksi HPV Pada Kanker Serviks Secara Biologi Molekuler dan Pengelolaannya*. Yogyakarta: Pusat Kedokteran Tropis UGM.