

ARTIKEL PENELITIAN

Profil Ekspresi mRNA Gen *Murine Double Minute 2*, *Krüppel-like Factor 4*, dan *c-Myc* pada Fibrosarkoma

Humaryanto,¹ M. Nurhalim Shahib,² Yoni Fuadah Syukrani,²
Nucki Nursjamsi Hidayat²

¹Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Jambi,

²Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran Bandung

Abstrak

Fibrosarkoma hanya terjadi 1–3% dari seluruh keganasan jaringan lunak. Hingga saat ini etiologi fibrosarkoma belum diketahui dengan pasti. Beberapa faktor dapat menjadi penyebab patogenesis fibrosarkoma antara lain radiasi, terpapar zat kimia tertentu, serta infeksi *human herpes virus 8* (HHV8) dan *Epstein-Barr virus* (EBV). Penelitian terkini menunjukkan bahwa banyak sarkoma terkait dengan mutasi genetik. Penelitian ini bertujuan melihat profil ekspresi mRNA gen *Krüppel-like Factor4*, *Murine Double Minute2*, dan *c-Myc* pada fibrosarkoma menggunakan teknik *real time* PCR kuantitatif (*quantitative real time PCR*, qRT-PCR). Analisis data menggunakan metode kuantitatif relatif $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Penelitian ini menggunakan 10 sampel kasus fibrosarkoma yang ditemukan di Kota Jambi dari tahun 2011–2015. Hasil ΔCt (+SD) *MDM2*, *KLF-4*, dan *c-Myc* disusun dari nilai yang terkecil hingga tertinggi adalah $1,85 \pm 2,14$; $2,06 \pm 3,86$; $2,9 \pm 2,66$ secara berurutan. Dibanding dengan level ekspresi dengan *GAPDH* sebagai *housekeeping gene*, gen *MDM2* dan *KLF-4* relatif menurun dua kali lipat, sedangkan gen *c-Myc* relatif menurun lebih dari 3 kali lipat. Simpulan, penelitian ini menunjukkan bahwa pada kasus fibrosarkoma, gen *c-Myc* disupresi lebih kuat dibanding dengan gen *MDM2* dan *KLF-4*.

Kata kunci: *c-Myc*, fibrosarkoma, ekspresi gen relatif, *KLF-4*, *MDM2*

Studies on mRNA Gene Expression of MDM2, KLF4, and c-Myc in Fibrosarcoma

Abstract

Fibrosarcoma is a rare soft tissue sarcoma, reported only 1–3% of all soft tissue sarcomas. Like any other soft-tissue sarcomas the definitive caused has not yet understood. Recognized causes include exposure to ionizing radiation, various physical and chemical factors, infection with human herpes virus (HHV8) and Epstein-Barr virus (EBV). Current research indicates many sarcomas are associated with genetic mutations. In this study, we investigated profile of mRNA gene expression KLF4, MDM2, and c-Myc of RNA in fibrosarcoma cases. The genes expression was examined using quantitative real time PCR (qRT-PCR) and we analyzed the relative gene expression using the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. Ten samples of fibrosarcoma cases found in Jambi city from 2011 to 2015 were used. The three targeting genes were placed in the order from lowest to highest base on their ΔCt values compared to internal control genes using GAPDH genes. The results are as follows: MDM2 1.85 ± 2.14 , KLF-4 2.06 ± 3.86 , and c-Myc 2.9 ± 2.66 respectively. A relative quantification by normalized target gene relative to GAPDH, describes the changes in expression of three genes. The status of MDM2 and KLF-4 were relatively decreased expression by 2 fold, and the states of c-Myc were relatively decreased by more than 3 fold. This suggest that in fibrosarcoma the c-Myc gene are suppressed stonger than those MDM2 and KLF-4 genes.

Key words: c-Myc, fibrosarcoma, KLF-4, MDM2, relative gene expression

Korespondensi: Humaryanto. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Jambi. *E-mail:* humaryantomd@yahoo.com

Pendahuluan

Fibrosarkoma ialah keganasan jaringan lunak yang berasal dari sel-sel fibrosit yang hanya terjadi 1–3% dari seluruh keganasan jaringan lunak. Berdasar atas data dari *the American Society*, diperkirakan terdapat sebanyak 8.100 kasus baru keganasan jaringan lunak selama tahun 2000, sedangkan di Belanda dilaporkan pula 350 kasus baru keganasan jaringan lunak setiap tahunnya.^{1–3} Menurut Laporan Registrasi Kanker Berbasis Rumah Sakit di RS Kanker Dharmas Jakarta pada tahun 2003–2007, dari 10.195 kasus kanker jumlah kasus kanker jaringan lunak, jaringan ikat, dan subkutan sebanyak 20 kasus fibrosarkoma, ketiga terbanyak setelah kasus rhabdomyosarkoma dan *malignant fibrous histiocytoma*. Walau kejadian sarkoma jaringan lunak relatif rendah, kelainan ini memiliki angka morbiditas dan juga mortalitas yang tinggi. Di samping itu, khususnya di Indonesia, penderita datang dalam kondisi stadium lanjut sehingga akan memberikan dampak angka mortalitas yang semakin tinggi.

Faktor genetik yang berperan penting dalam perkembangan sarkoma jaringan lunak, yaitu translokasi dan mutasi gen supresor tumor dan onkogen.⁴ Keberadaan gen-gen yang berperan pada siklus sel telah menjadi pusat perhatian yang berhubungan dengan proses pertumbuhan serta progresivitas tumor. Banyak penelitian dilakukan untuk menilai peningkatan ekspresi gen yang berkorelasi dengan instabilitas genom tumor padat pada karsinoma organ intestinal, misalnya pada gaster, esofagus, serta kolorektal, kemudian payudara, kandung kemih serta kulit dan beberapa tumor pada pembuluh darah serta melanoma. Adapun untuk kasus sarkoma masih sangat jarang diteliti.

Gangguan genetik multipel atau epigenetik akan memengaruhi progresivitas sel-sel tumor. Kondisi ini akan mengakibatkan perubahan fungsi serta peranan gen supresor tumor dan onkogen. *Murine double minute two* atau MDM2 merupakan *p53 specific-E3 ring finger ubiquitin ligase* yang mempunyai sifat regulasi negatif terhadap aktivitas p53.^{5,6} MDM2 adalah onkoprotein yang dapat meregulasi stabilitas p53 dengan cara mendegradasi p53. Amplifikasi gen *MDM2* menyebabkan kadar protein p53 menurun diakibatkan ekspresi berlebih protein MDM2. Penurunan kadar p53 tersebut akan mengganggu fungsi p53 yang mengakibatkan

pertumbuhan sel-sel tidak terkontrol sehingga terjadi keganasan.^{5–7} MDM2 juga mempunyai kapasitas regulasi translasi mRNA p53 secara tidak langsung melalui proses interaksi dengan L26 atau secara langsung berikatan dengan mRNA p53.⁸ Interaksi antara mRNA p53 dan Mdm2 dimediasi oleh domain *RING C-terminal* dari MDM2 dan urutannya mRNA p53 yang mengodekan letak ikatan Mdm2 dalam terminal N p53. Interaksi ini juga mengontrol aktivitas ligase E3 Mdm2 ini.^{8,9}

Progresivitas sel-sel tumor yang meningkat juga berkaitan dengan gangguan siklus sel dan proses mitosis. Kondisi ini dapat mengganggu diferensiasi sel sehingga ganas. Peran ini diduga dapat dinilai dengan cara ekspresi *Krüppel-like factors* (KLFs) 4. *Krüppel-like factors* (KLFs) 4 memiliki peran penting mengatur berbagai proses seluler, termasuk proliferasi sel, diferensiasi, apoptosis, serta juga pemeliharaan homeostasis jaringan, meregulasi transkripsi *DNA-binding* yang penting di dalam proses diferensiasi dan pertumbuhan sel.^{10–12} Sel dapat mengekspresikan beberapa KLF untuk dapat membangun jaringan transkripsi yang mengontrol proliferasi sel. Kemampuan molekul seperti KLF4/GKLF yang berperan penting dalam proses proliferasi sel mengangkat isu apakah mereka berperan dalam perkembangan kanker. KLF memainkan peran penting dalam pertumbuhan dan metastasis tumor melalui pengaturan ekspresi gen siklus sel.¹¹

Di dalam siklus sel yang berfungsi sebagai protein inti sel untuk transkripsi dan replikasi sel adalah *c-Myc*.^{13,14} Gen *c-Myc* mengode protein yang mengikat *DNA-sequence* tertentu yang terlibat dalam proliferasi dan onkogenesis. Gen *c-Myc* telah terbukti mempunyai peranan dalam regulasi proliferasi, mitogenesis, diferensiasi, dan juga program kematian sel.¹⁵ Ekspresi gen *c-Myc* yang meningkat pada beberapa tumor menunjukkan bahwa gen *c-Myc* berperan penting dalam karsinogenesis. Banyak mekanisme yang mampu mengakibatkan aktivasi *c-Myc* selama tumorigenesis, termasuk peningkatan transkripsi oleh jalur sinyal onkogenik lainnya, terdapat penyusunan ulang kromosom, dan juga kaitan resistensi protein Myc terhadap proteolisis yang dimediasi oleh ubiquitin (*ubiquitin-mediated proteolysis*, UMP).¹⁶

Berdasar atas uraian tersebut maka penelitian ini dilaksanakan untuk mengetahui bagaimana gambaran ekspresi mRNA gen *MDM2*, *KLF4*,

dan *c-Myc* pada kasus fibrosarkoma.

Metode

Teknik pengambilan sampel mempergunakan teknik *total sampling*, semua sampel diseleksi berdasar atas kelengkapan data, blok parafin, dan juga jenis tumor. Objek penelitian yang digunakan adalah sediaan blok parafin (FFPE, *fixed formalin paraffin embedded*) penderita yang telah didiagnosis fibrosarkoma dengan cara pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan hematoksilin eosin yang berasal dari biopsi dan atau operasi yang diterima di Bagian Patologi Anatomi RSUD H. Abdul Manap di Kota Jambi selama kurun waktu 2007–2013. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 kasus fibrosarkoma. Pengerjaan sampel dari mulai isolasi RNA sampai tahap *real time-PCR* dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler Unit Penelitian Kedokteran (UPK) Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran.

Sebelum mengisolasi RNA maka sediaan blok parafin dideparafinisasi, yaitu dengan menambahkan 800 μL *hemo-dexylol* pada 5–20 μL potongan jaringan ke dalam tabung reaksi 1,5 mL. Kemudian, dicampurkan 400 μL etanol absolut dan dilanjutkan melakukan sentrifugal 12.000–14.000 rpm. Palet jaringan dikeringkan pada suhu $\pm 55^\circ\text{C}$ selama 10 menit, kemudian ditambahkan 100 μL larutan bufer parafin homogenisasi (botol 9b), 16 μL larutan 10% SDS, dan 40 μL larutan enzim parafin homogenisasi. Setelah itu, dilakukan vorteks segera secara selaan dan intermiten serta inkubasi semalam pada suhu $\pm 55^\circ\text{C}$. Isolasi RNA sampel yang telah diinkubasi diproses menggunakan protokol *KAPA SYBR® FAST one-step qRT-PCR Kits*.

Proses amplifikasi qPCR menggunakan *KAPA SYBR® FAST one-step qPCR Kits* yang didesain menurut NCBI *sequence* untuk mengaplikasi gen *MDM2*, *KL4*, dan *c-Myc* dengan desain primer sebagai berikut.

MDM2 forward:

5'-GATTTTCGGACGGCTCTCGC-3'

MDM2 reverse:

5'-CGCGCAGCGTTCACACTAGTG-3'

KLF4 forward:

5'-TATGACCCACACTGCCAGAA-3'

KLF4 reverse:

5'-TGGGAACTTGACCATGATTG-3'

c-Myc forward:

5'-AATGAAAAGCCCCCAAGGTAGTTATCC-3'
c-Myc reverse:

5'-GTCGTTTCCGCAACAAGTCCTCT TC-3'

GAPDH forward:

5'-TGCACCACCAACTGCTTAGC-3'

GAPDH reverse:

5'-GGCATGGACTGTGGTCATGAG-3'.

Pada tahapan ini dilakukan pencampuran *KAPA SYBR® FAST master mix* (2 \times), *KAPA RT mix* (50 \times), dUTP (10 mM), ROX *reference Dye High/Low*, *template RNA*, dan primer. Pemeriksaan qPCR menggunakan mesin merek Rotor-Gene (Qiagen) dengan protokoler *cycling* dimulai dengan sintesis cDNA pada suhu 42°C selama 5 menit, inaktivasi RT pada suhu 95°C selama 2–5 menit, denaturasi pada suhu 95°C selama 3 detik, *annealing* pada suhu 60°C , dan terakhir fase disosiasi sesuai buku petunjuk.

Secara kualitatif ekspresi gen dinilai berdasar atas nilai Ct, yaitu nilai kuantifikasi jumlah kopi ekspresi gen yang melewati garis ambang (*threshold*) yang telah ditetapkan, digradasikan menjadi overekspresi (<15), terekspresi sangat tinggi (15–20), tinggi (20–25), sedang (25–30), lemah (30–35), dan terekspresi sangat lemah (35–40). Nilai ekspresi ditentukan mulai dari 1 sampai dengan 5, yaitu ekspresi ringan sampai dengan terekspresi sangat tinggi.¹⁷

Setelah proses amplifikasi diperoleh kurva disosiasi yang kemudian dianalisis ekspresi relatifnya dengan menggunakan metode yang membandingkan target Ct dengan nilai referensi yang dipilih, yaitu level ekspresi *housekeeping gene* yang pada penelitian ini menggunakan gen *GAPDH*, dengan perhitungan $\Delta\text{Ct} = \text{Ct}_{\text{target gene}} - \text{Ct}_{\text{housekeeping gene}}$. Bila nilai ΔCt memiliki nilai positif maka nilai Ct gen target lebih besar daripada nilai *GADPH* (+ ΔCt) dan sebaliknya nilai negatif bila Ct gen target lebih rendah daripada *GADPH* ($-\Delta\text{Ct}$). Kemudian perbandingan level ekspresi didapat dengan menggunakan rumus metode $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$.¹⁸

Hasil

Penelitian ini menggunakan 10 sampel yang telah didiagnosis fibrosarkoma dari pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan hematoksilin eosin. Karakteristik subjek pada penelitian ini diperoleh bahwa yang berjenis kelamin laki-laki sebanyak 6 sampel dan perempuan 4 sampel. Kelompok usia terbanyak berkisar 42–52 tahun dan lokasi terbanyak di ekstremitas (Tabel 1).

Tabel 1 Karakteristik Subjek Penelitian

		n
Jenis kelamin	Laki-laki	6
	Perempuan	4
Usia (tahun)	19–30	1
	31–41	1
	42–52	5
	53–63	1
	64–74	1
	75–85	1
Lokasi tumor	Ektremitas	7
	Badan	2
	Kepala	1

Dari Tabel 2 tampak bahwa ekspresi ketiga target gen, yaitu gen *MDM2*, *KLF4*, dan *c-Myc* bersama gen kontrol internal/referensi, yaitu *GAPDH* termasuk ke dalam kelompok rendah dengan nilai ekspresi 2. Gen *MDM2* ($33,27 \pm 4,43$) dibanding dengan gen target yang lainnya relatif terekspresi lebih tinggi.

Pada Tabel 3, dari tiga gen target disusun dari nilai yang terkecil hingga tertinggi berdasarkan nilai *cycle threshold* (Ct), yaitu *MDM2* $1,85 \pm 2,14$; *KLF-4* $2,06 \pm 3,86$; dan *c-Myc* $2,9 \pm 2,66$. Analisis ekspresi gen secara relatif menggunakan metode $2^{-\Delta\Delta Ct}$ dibanding dengan *GAPDH* (*normalized target gene relative to GAPDH*) maka secara relatif diperoleh dari tiga target gen, gen *MDM2* dan juga *KLF-4* relatif menurun dua kali lipat. Gen *c-Myc* relatif penurunnya lebih dari 3 kali lipat bila dibanding dengan gen kontrol internal (*GAPDH*).¹⁷

Pembahasan

Pada penelitian ini jumlah sampel yang diperoleh selama kurun waktu 2007–2013 di RSU H. Abdul

Tabel 2 Kategori Ekspresi Gen secara Kualitatif pada Level mRNA berdasarkan Nilai Ct

Gen Target n=10	Gen Ct n=10	Kategori Ekspresi	Nilai Ekspresi
<i>cMYC</i>	$34,32 \pm 2,39$	Rendah	2
<i>KLF4</i>	$33,48 \pm 1,43$	Rendah	2
<i>MDM2</i>	$33,27 \pm 4,43$	Rendah	2
<i>GAPDH</i>	$31,42 \pm 2,21$	Rendah	2

Manap Kota Jambi relatif sedikit, yaitu 10 sampel. Menurut Laporan Registrasi Kanker Berbasis Rumah Sakit di RS Kanker Dharmais Jakarta pada tahun 2003–2007, dari 10.195 kasus kanker jumlah kasus kanker jaringan lunak, jaringan ikat, dan subkutan terdiri atas 20 kasus fibrosarkoma, ketiga terbanyak setelah kasus rhabdomyosarkoma (31 kasus) dan *malignant fibrous histiocytoma* (21 kasus). Hal ini menunjukkan bahwa benar kasus fibrosarkoma sangat sedikit. Berdasarkan kelompok usia terbanyak adalah kelompok usia 40–50 tahun. Hal ini sesuai dengan literatur bahwa fibrosarkoma terjadi pada rentang usia yang luas, tetapi pada umumnya terjadi pada usia 30–50 tahun dan tidak terdapat perbedaan insidensi yang signifikan antara laki-laki dan wanita.^{1,2} Berdasar atas gradasinya, terbanyak adalah gradasi derajat sedang 5 kasus, kemudian derajat ringan 2 kasus dan berat 3 kasus.

Berdasarkan atas laporan, lokasi fibrosarkoma yang paling banyak terdapat pada ekstremitas bawah diikuti dengan ekstremitas atas, badan, serta leher dan kepala.^{1,2} Kejadian di daerah retroperitoneal jarang terjadi. Pernah dilaporkan pula kejadian fibrosarkoma pada payudara, tiroid, jantung, paru-paru, hepar, dan sistem saraf pusat. Fibrosarkoma terutama berasal dari jaringan fibrosa intramuskular dan intermuskular, fasia,

Tabel 3 Analisis Ekspresi Gen Target Relatif RT-PCR Menggunakan Metode Livak Schmittgen

Gen Target (n=10)	GAPDH Ct (n=10)	Gen Ct (n=10)	Gen ΔCt^*		$\Delta\Delta Ct$	Normalized Target Gene Relative to GAPDH $2^{-\Delta\Delta Ct}$
			+ ΔCt	- ΔCt		
<i>GAPDH</i>	$31,42 \pm 2,21$	$31,42 \pm 2,21$	0		0	1
<i>MDM2</i>		$33,27 \pm 4,43$			1,85	0,28
<i>KLF4</i>		$33,48 \pm 1,43$			2,06	0,24
<i>cMYC</i>		$34,32 \pm 2,39$			2,90	0,13

*) Average target gene Ct – average GAPDH Ct. Gen target ditempatkan dari nilai yang terkecil hingga tertinggi berdasarkan nilai Ct dibanding dengan *GAPDH*. Nilai ΔCt ketiga gen target lebih tinggi dibanding dengan *GAPDH* sehingga dimasukkan ke dalam kelompok ΔCt positif (+ ΔCt) dan tidak ditemukan nilai negatif. + ΔCt menunjukkan ekspresi yang rendah dibanding dengan *GAPDH*.¹⁷

aponeurosis, serta tendon.^{1,2}

Tabel 2 menunjukkan bahwa pada fibrosarkoma gen *MDM2* distimulasi lebih kuat bila dibanding dengan gen *KLF4* dan *c-Myc*. Ekspresi berlebih *MDM2* berpengaruh dalam patogenesis pada berbagai keganasan, yaitu peranannya sebagai regulator negatif tumor supresor p53. Hal ini tampak paling banyak didapatkan pada keganasan jaringan lunak dan juga glioma. Pada kondisi normal, *MDM2* meningkatkan degradasi p53 yang melalui jalur *ubiquitin* dan *protease-dependent*.⁶ Pada keganasan jaringan lunak secara umum, tingkat ekspresi keduanya akan memengaruhi agresivitas sel-sel tumor. Dari berbagai jenis histopatologi keganasan pada jaringan lunak, fibrosarkoma merupakan salah satu jenis yang mempunyai ekspresi *MDM2* yang tinggi dan beberapa penelitian membuktikan hubungan bermakna ekspresi *MDM2* dengan prognosis penderita fibrosarkoma.¹⁹

Pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa pada kasus fibrosarkoma, gen *c-Myc* disupresi lebih kuat dibanding dengan gen *MDM2* dan *KLF-4*. Gen *c-Myc* diketahui berperan penting pada banyak kasus kanker dengan ekspresi berlebih onkogen *Myc*. Deregulasi *c-Myc* ditemukan pada mayoritas karsinoma payudara pada tahap awal dan akhir kanker kolorektal. Ekspresi *c-Myc* yang berlebih juga berhubungan dengan etiologi karsinoma hepatoseluler (HCC) itu.¹⁶ Pada limfomagenesis aktivasi *Myc* ternyata mengakibatkan inaktivasi spontan jalur ARF-Mdm2-p53 *in vivo* yang dapat menghilangkan fungsi pos pemeriksaan pelindung dan mempercepat progresi menjadi keganasan.^{20,21} Macias dkk.²² dalam penelitiannya menyatakan jalur RP-Mdm2-p53 (*ribosomal protein-mediated suppression of Mdm2 E3 ligase activity*) memiliki peran penting sebagai penghambat limfomagenesis yang paralel dengan sinyal p19ARF-Mdm2-p53 untuk menghambat tumorigenesis *c-Myc-induced*.

Pada penelitian ini gen target *KLF4* relatif terekspresi lebih lemah dibanding dengan gen target *MDM2*, namun lebih kuat bila dibanding dengan gen *c-Myc* (lihat Tabel 2). Ekspresi gen relatifnya lebih lemah dua kali daripada gen kontrol internal (lihat Tabel 3). *KLF* memiliki sifat transkripsi yang berbeda dan juga mampu memodulasi aktivitas masing-masing dengan berbagai mekanisme.¹² Studi sebelumnya telah menunjukkan bahwa fungsi *KLF4* dapat berperan ganda, yaitu sebagai tumor penekan/supresor atau juga berperan sebagai onkogen.^{11,12} Ekspresi

KLF4 menurun pada beberapa kanker manusia termasuk lambung, kolorektal, kandung kencing, dan prostat. Kondisi penurunan ekspresi tersebut akan menyebabkan hiperproliferasi seluler dan transformasi menjadi ganas. Di sisi lain, tingkat *KLF4* tinggi juga telah dikaitkan dengan kanker. Ditemukan bahwa *KLF4* diekspresikan tinggi pada 70% karsinoma *mammæ* dan sebagian besar karsinoma sel skuamosa orofaring.^{11,12}

Penulis mengakui bahwa penelitian ini masih belum sempurna untuk dapat menjawab fenomena penyakit fibrosarkoma terutama yang berkaitan dengan progresivitas penyakit serta prognosis. Dengan demikian, perlu penelitian lanjutan yang diharapkan dapat menganalisis kaitan regulasi gen target *MDM2*, *KLF4*, dan *c-Myc* terhadap mekanisme keganasan fibrosarkoma itu dalam jumlah lebih besar dan sarkoma jaringan lunak secara umum, serta perannya terhadap kejadian rekurensi maupun sebagai biomarker dalam diagnosis maupun penentuan gradasinya.

Simpulan

Penelitian ini menunjukkan bahwa pada kasus fibrosarkoma melalui pemeriksaan *real time* PCR diekspresikan gen *KLF4*, *MDM2*, dan *c-Myc* dengan gambaran dari tiga gen target tersebut. Gen *MDM2* dan *KLF-4* relatif menurun dua kali lipat, sedangkan gen *c-Myc* relatif menurun lebih dari 3 kali lipat dibanding dengan gen kontrol internal (*GAPDH*). Berarti pada fibrosarkoma gen *c-Myc* disupresi lebih kuat dibanding dengan gen *MDM2* dan *KLF-4*.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti dalam kesempatan ini menyampaikan banyak terima kasih serta penghargaan kepada semua pihak, terutama kepada tim promotor, Unit Penelitian Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Program Pascasarjana S-3 Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, serta pihak lain yang berperan membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Weiss SW, Goldblum JR, Folpe AL. Enzinger and Weiss's soft tissue tumors. Edisi ke-5. Philadelphia: Mosby Elsevier; 2007.
2. Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F. Pathology and genetics of tumours of soft

- tissue and bone. Lyon, France: IARC Press; 2002.
3. DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. Cancer: principles and practice of oncology. Edisi ke-7. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2005.
 4. van de Rijn M, Fletcher JA. Genetics of soft tissue tumors. *Annu Rev Pathol.* 2006;1:435–66.
 5. Hu W, Feng Z, Levine AJ. The regulation of multiple p53 stress responses is mediated through MDM2. *Genes Cancer.* 2012;3(3–4):199–208.
 6. Senturk E, Manfredi JJ. Mdm2 and tumorigenesis: evolving theories and unsolved mysteries. *Genes Cancer.* 2012;3(3–4):192–8.
 7. Zhao Y, Yu H, Hu W. The regulation of MDM2 oncogene and its impact on human cancers. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2014;46(3):180–9.
 8. Candeias MM, Malbert-Colas L, Powell DJ, Daskalogianni C, Maslon MM, Naski N, dkk. p53 mRNA controls p53 activity by managing Mdm2 functions. *Nat Cell Biol.* 2008;10(9):1098–105.
 9. Gajjar M, Candeias MM, Malbert-Colas L, Mazars A, Fujita J, Olivares-Illana V, dkk. The p53 mRNA-Mdm2 interaction controls Mdm2 nuclear trafficking and is required for p53 activation following DNA damage. *Cancer Cell.* 2012;21(1):25–35.
 10. McConnell BB, Yang VW. Mammalian Krüppel-like factors in health and diseases. *Physiol Rev.* 2010;90(4):1337–81.
 11. Li J, Zheng H, Yu F, Yu T, Liu C, Huang S, dkk. Deficiency of the Krüppel-like factor KLF4 correlates with increased cell proliferation and enhanced skin tumorigenesis. *Carcinogenesis.* 2012;33(6):1239–46.
 12. Tetreault MP, Yang Y, Katz JP. Krüppel-like factors in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2013;13(10):701–13.
 13. Dang CV. c-Myc target genes involved in cell growth, apoptosis, and metabolism. *Mol Cell Biol.* 1999;19(1):1–11.
 14. Lutz W, Leon J, Eilers M. Contributions of Myc to tumorigenesis. *Biochim Biophys Acta.* 2002;1602(1):61–71.
 15. Wang C, Tai Y, Lisanti MP, Liao DJ. c-Myc induction of programmed cell death may contribute to carcinogenesis: a perspective inspired by several concepts of chemical carcinogenesis. *Cancer Biol Ther.* 2011;11(7):615–26.
 16. Wade M, Wahl GM. c-Myc, genome instability, and tumorigenesis: the devil is in the details. Dalam: Eisenman RN, penyunting. *The Myc/Max/Mad transcription factor network.* Berlin: Springer Heidelberg; 2006. hlm. 169–203.
 17. M. Nurhalim Shahib, Budiman, Zoraya A. Feranty. Studies on gene expression at the RNA level associated with the senile lens change in human lens cataract. *DJMMS.* 2015;2(3):11–8.
 18. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta CT$ method. *Methods.* 2001;25(4):402–8.
 19. Rayburn E, Zhang R, He J, Wang H. MDM2 and human malignancies: expression, clinical pathology, prognostic markers, and implications for chemotherapy. *Curr Cancer Drug Targets.* 2005;5(1):27–41.
 20. Marumoto T, Zhang D, Saya H. Aurora-A. A guardian of poles. *Nat Rev Cancer.* 2005;5(1):42–50.
 21. Chen D, Kon N, Li M, Zhang W, Qin J, Gu W. ARF-BP1/Mule is a critical mediator of the ARF tumor suppressor. *Cell.* 2005;121(7):1071–83.
 22. Macias E, Jin A, Deisenroth C, Bhat K, Mao H, Lindström MS, dkk. An ARF-independent c-MYC-activated tumor suppression pathway mediated by ribosomal protein-Mdm2 interaction. *Cancer Cell.* 2010;18(3):231–43.