

Mutasi Gen p53: Faktor Prediktif Kanker Payudara?

Putri Y. Suyanto, Ahmad R. Utomo, Ferry Sandra
Cancer Division, Stem Cell and Cancer Institute

ABSTRAK

Farmakogenetik dalam terapi kanker adalah pemberian terapi kepada pasien berdasarkan status atau profil genetik dari sel kanker. Dengan demikian, pemberian kemoterapi diharapkan bisa lebih efektif dan meningkatkan kualitas hidup pasien dengan menghindari terapi yang diketahui secara genetik tidak memberikan keuntungan klinis. Pemeriksaan DNA gen p53 sebagai salah satu *tumor suppressor gene* yang termutasi pada hampir sebagian besar tumor diharapkan mampu menjadi faktor prediktif ketika dilakukan secara rutin terhadap jaringan tumor dari pasien sebelum menentukan strategi kemoterapi. Status mutasi gen p53 pada tingkat DNA di sel kanker payudara cenderung berasosiasi dengan respon klinis yang baik untuk kemoterapi golongan *taxane*, yang mengganggu proses polimerasi mikrotubula. Sedangkan kemoterapi yang bersifat genotoksik (merusak DNA) seperti *anthracycline* dan *alkylating agents*, mutasi pada gen p53 memiliki pengaruh yang lebih kompleks terhadap respon pasien.

Kata-kata kunci : p53, kanker payudara, kemoterapi

ABSTRACT

Pharmacogenetic in cancer treatment means the identification of certain genetic marker that may influence patient response to a certain therapeutic regiment. Since therapy is given in accordance to specific genetic status of the patient, the outcome is expected to be effective. Moreover, patient's quality of life may be improved by avoiding unwanted side effects of therapy that will not provide clinical benefit as predicted genetically. Examination of p53 DNA as commonly mutated tumor suppressor gene may be adopted as routine procedure to contribute in planning therapeutic strategy. DNA mutation of p53 in breast cancer cells is associated with good clinical response with taxane based chemotherapy, which deregulates microtubule metabolism. On the other hand, genotoxic chemotherapeutic senyawats such as anthracycline and DNA alkylating agents resulted in a complex clinical response of patients with mutated p53.

Key words: p53 mutation, breast cancer, chemotherapy

Kanker payudara menduduki peringkat cukup tinggi di Indonesia, dan kasusnya kebanyakan merupakan kasus sporadik.¹ Prognosis dari kanker payudara terus membaik berkat deteksi dini dan terapi secara sistemik. Stratifikasi dan klasifikasi pasien yang baik memungkinkan pasien mendapatkan pengobatan yang tepat dan menghindari resiko yang tidak perlu dialami.² Penggunaan *adjuvant* anti-hormon, kemoterapi, atau terapi berbasis antibodi monoklonal (Trastuzumab) mampu meningkatkan *survival rate* dari pasien kanker

payudara beresiko tinggi yang ditentukan dengan beberapa marker prognostik seperti ekspresi gen reseptor hormon Estrogen/Progesteron, status limfodi, dan amplifikasi gen Her-2.^{3,4} Akhir-akhir ini ditemukan bahwa mutasi DNA pada gen p53 memiliki nilai prognostik dan juga prediktif pada kanker payudara.

Menurut Aryandono, faktor prognostik adalah faktor yang bisa memperkirakan kesintasan pasien terlepas dari terapi yang telah dijalani, sedangkan faktor prediktif adalah faktor yang bisa memperkirakan tingkat

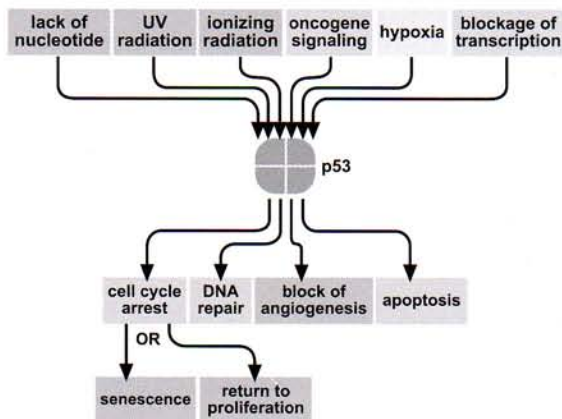
ALAMAT KORESPONDENSI

Ahmad R. Utomo, Phd
Jl. Jend. Ahmad Yani No.2, Pulomas, Jakarta 13210, Indonesia.
Email: arhutomo@sci-indonesia.org

kesembuhan yang terkait dengan jenis terapi tertentu.⁵ Status limfonodi dan umur muda, misalnya, adalah faktor prognostik yang buruk.^{1,5} Sedangkan status amplifikasi gen Her-2 memiliki nilai prognostik sekaligus prediktif.⁶ Pasien kanker payudara dengan Her-2 positif memiliki prognostik buruk, namun memiliki nilai prediktif yang baik apabila menjalani terapi trastuzumab (terapi antibodi yang khusus menargetkan sel kanker yang mengalami amplifikasi gen Her-2).⁷

p53 DAN PERANANNYA DALAM REGULASI SEL

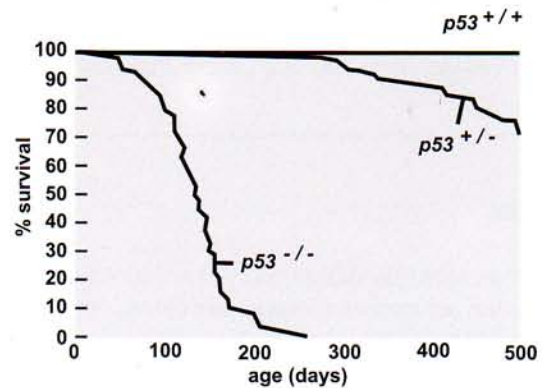
p53 merupakan protein yang dikode oleh gen *TP53*/p53 memiliki berat molekuler sekitar 53 kilodalton.⁸ Gen ini memiliki 11 ekson dan memiliki total sekuens sepanjang 20 kb. p53 mengatur baik represi maupun aktivasi transkripsi sejumlah gen-gen *downstream* yang berperan vital dalam respon sel terhadap stres lingkungan, efek genotoksik (seperti alterasi DNA yang disebabkan oleh UV, radiasi, karsinogen, obat kemoterapi sitotoksik), maupun efek non genotoksik (seperti hipoksia, aktivasi onkogen, represi nukleotida, kerusakan mikrotubula, dan kehilangan kontak antar sel).⁸ Sebagian besar fungsinya adalah induksi apoptosis, mengontrol dan menghentikan siklus sel (*cell cycle arrest*), berperan dalam perbaikan DNA, dan menghambat angiogenesis (Gambar 1).⁸ Aktivitas spesifik kualitatif dan kuantitatif p53 tergantung pada integritasnya (status mutasi), jumlah, modifikasi spesifik post translasi sebagai respon terhadap stres lingkungan dan interaksi dengan sejumlah kofaktornya.⁹



Gambar 1. Peranan p53 dalam merespon perubahan di lingkungan sel⁸

Fungsi p53 dalam mengatur respon sel terhadap stres lingkungan berperan besar dalam mencegah timbulnya tumor, sehingga p53 dikenal sebagai salah satu contoh dari gen penekan tumor (*Tumor Suppressor Gene*). Pembuktian fungsi gen p53 sebagai penekan tumor terlihat dari fenotipe mencit yang direayasa untuk termutasi atau kehilangan satu atau dua alel gen p53 cenderung untuk mati lebih awal karena mendapatkan

tumor (Gambar 2), dibandingkan mencit lain yang masih memiliki dua alele normal dari gen p53.^{8,10} Studi pada manusia juga menunjukkan bahwa hampir separuh lebih jenis tumor ditemukan mutasi pada gen p53 ini.¹¹



Gambar 2. Survival Rate pada berbagai status p53.⁸

Mutasi pada gen p53 bisa menyebabkan hilangnya fungsi penekan tumor dengan mekanisme alterasi fungsi protein p53 sebagai faktor induksi apoptosis, dan sebagai faktor transkripsi. Mutasi *germline* pada gen p53 dijumpai pada kasus kanker hereditas seperti *Li-Fraumeni Syndrome*, dimana penderitanya mendapatkan berbagai macam kanker secara dini. Namun persentase mutasi somatik gen p53 juga dijumpai pada sekitar 25-30% kasus kanker payudara sporadis. Sebagian besar mutasi gen p53 terlokalisasi pada daerah pengikatan DNA dan ± 90% mutasi yang terjadi berupa *missense point mutation*. Dari sejumlah penelitian menunjukkan bahwa poin mutasi lebih banyak terjadi pada ekson 5 hingga 8.¹⁰

METODE DETEKSI MUTASI p53

Masih diperdebatkan bahwa mutasi pada p53, yang didasarkan pada hasil pemeriksaan dengan imunohistokimia (IHC), dapat digunakan untuk menentukan prognosis dan sensitifitas terhadap kemoterapi.¹² Di lain pihak, mutasi pada p53 berkaitan erat dengan buruknya prognosis dan mempengaruhi sensitifitas terhadap kemoterapi tertentu dengan teknik genomik.¹³ Secara historis, mutasi p53 dideteksi dengan teknik IHC dari preparat histopatologi dengan asumsi bahwa mutasi gen p53 memperpanjang waktu paruh protein p53 sehingga mudah dideteksi.¹⁴ Namun laporan meta-analisis yang melibatkan 9800 pasien kanker payudara menunjukkan bahwa mutasi p53 dengan teknik IHC tidak memiliki nilai prognostik maupun prediktif.¹⁵ Dilain pihak hasil meta-analisis dari 6000 pasien kanker payudara menunjukkan bahwa mutasi gen p53 yang dideteksi dengan metoda berbasis analisis DNA menunjukkan nilai prognostik.¹⁵ Ada beberapa kelemahan dari metode IHC untuk deteksi mutasi p53,

antara lain: preservasi jaringan yang tidak optimal bisa berefek pada preservasi protein p53, adanya mutasi yang tidak selalu berefek pada kestabilan protein p53 pada level yang dapat dideteksi dengan IHC, serta adanya faktor stres seperti kerusakan DNA pada tumor itu sendiri yang juga bisa memicu kestabilan protein p53 sehingga memberikan kesan adanya 'mutasi' pada gen p53.¹² *False negative* pada IHC dapat terjadi pada kasus *non-missense mutation* seperti *premature stop codon* atau delesi yang menyebabkan protein tidak tertranslasi.¹² Analisa mutasi yang akan lebih akurat dideteksi dengan metode sekuensing DNA mengingat mutasi terjadi pada level DNA.¹³

Kelemahan penggunaan metoda sekuensing yang selama ini belum dilakukan secara rutin adalah perlunya akses kepada penggunaan fasilitas laboratorium dengan kompleksitas tinggi, pengalaman pengerjaan teknik molekuler yang memadai, dan biaya yang masih relatif mahal dibandingkan dengan teknik IHC.¹⁵ Salah satu cara untuk menekan biaya sekuensing adalah melakukan teknik pra-skrining terhadap sampel untuk mendeteksi adanya dugaan mutasi, seperti teknik *Single Strand Conformation Polymorphism* (SSCP),¹⁶ *Denaturant Gradient Gel Electrophoresis* (DGGE),¹⁷ dan *Denaturant High Performance Liquid Chromatography* (DHPLC).¹⁸ Dengan demikian, hanya sampel yang diduga memiliki mutasi sajalah yang perlu dikirim untuk sekuensing sebagai analisa final.

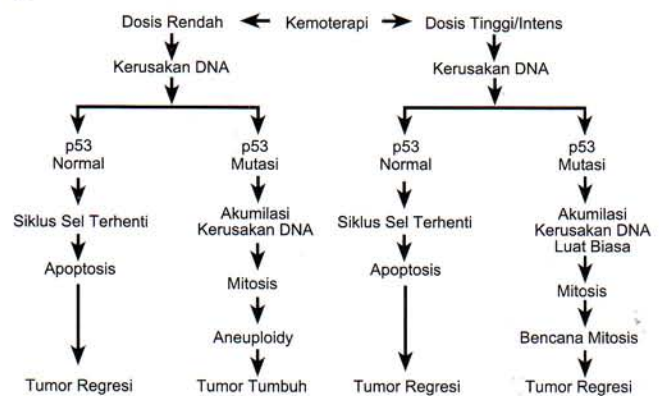
MUTASI p53 PADA KANKER PAYUDARA

Mutasi p53 dijumpai pada sekitar 35% kasus kanker payudara.¹⁰ Mutasi muncul lebih sering pada tumor dengan kondisi histopatologi agresif seperti ukuran besar (>20 mm), limfonodi positif, status *Estrogen Receptor* (ER) dan *Progesteron Receptor* (PR) negatif, anaplasia tingkat tinggi serta tingkat proliferasi yang tinggi dan umumnya dijumpai pada *ductal carcinoma*.^{12,13} Kondisi yang demikian berkorelasi dengan tingkat kematian yang tinggi pada pasien kanker payudara.¹⁰ Pasien dengan mutasi p53 memiliki *survival rate* yang buruk dibandingkan pasien yang tidak memiliki mutasi p53.^{13,16}

DATA KLINIS PENGARUH MUTASI p53 PADA KEMOTERAPI GENOTOKSIK

Sejumlah penelitian menunjukkan ada korelasi antara mutasi gen p53 dengan respon terhadap kemoterapi yang bersifat genotoksik. Pemberian regimen kemoterapi gabungan telah menjadi salah satu terapi standar bagi pasien kanker, salah satunya gabungan obat golongan anti metabolit, anti-topoisomerase seperti *anthracycline*, dan *alkylating agent* seperti 5-Fluorouracil, Epirubicin & Cyclophosphamide (FEC) atau Cyclophosphamide, Methotrexate & Fluorouracil (CMF) yang kesemuanya

berakhir pada kerusakan DNA (*genotoxic*).¹⁷ 5-Fluorouracil (5-FU) dan termasuk golongan anti metabolit, bekerja dengan menghambat enzim timidilat sintase melalui inkorporasi dengan 5-fluorouridine-5'-triphosphate (FUTP) pada RNA dan inkorporasi dengan 5-fluoro-2'-deoxyuridine-5'-triphosphate (FdUTP) ke DNA menyebabkan kerusakan DNA ataupun RNA. Cyclophosphamide termasuk golongan *alkylating agent*, menyebabkan kerusakan DNA melalui penambahan gugus alkil di DNA (*cross-linking DNA damage*).^{18,19} Methotrexate termasuk golongan anti metabolit yang berfungsi menghambat enzim dihidrofolat reduktase (DNFR) yang berperan dalam perubahan dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat untuk sintesis timidin dan basa purin.²⁰



Gambar 3. Sebagai respon dari genotoksik kemoterapi baik dalam dosis rendah maupun tinggi, p53 normal menghentikan siklus sel dan menginduksi apoptosis yang berakibat pada regresi tumor. Mutasi pada p53 memberikan respon sel yang berbeda pada kemoterapi dosis rendah dan dosis tinggi (*High Dose or Dose Dense*). Pada dosis rendah, sel dengan mutasi p53 gagal menginduksi apoptosis sehingga mentoleransi kerusakan DNA. DNA yang tidak terbaiki terbawa mitosis sehingga menghasilkan aneuploidi yang mendukung pertumbuhan tumor dan mendukung resistensi. Pada dosis tinggi, sel dengan mutasi p53 memasuki siklus sel dengan kondisi kerusakan DNA yang luar biasa sehingga menyebabkan bencana mitosis (*mitotic catastrophe*)

Laporan terdahulu yang melibatkan total 63 pasien kanker payudara lokal lanjut menunjukkan bahwa pasien dengan mutasi p53, yang mengganggu situs pengikatan Zinc pada protein p53, cenderung mengalami kekambuhan dibanding dengan pasien tanpa mutasi p53 ketika diberikan monoterapi berbasis *anthracycline*.²¹ Sekitar 69% pasien dengan mutasi p53 (yang dianalisa dengan gabungan teknik *Constant Denaturant*

Gel Electrophoresis (CDGE) dan sekuensing DNA mengalami kekambuhan atau pemburukan, dibanding dengan hanya sekitar 8% pasien tanpa mutasi p53. Lebih pentingnya lagi, korelasi mutasi p53 dengan terapi tidak terlihat dengan metoda imunohistokimia.²¹ Kesintasan dalam lima tahun juga terlihat berbeda antara pasien dengan mutasi p53 (40%) dan tanpa mutasi p53 (70%). Grup peneliti yang sama juga melaporkan dengan jumlah pasien yang lebih besar (96 pasien) bahwa pasien dengan mutasi p53 (29%) memiliki respon yang lebih buruk terhadap monoterapi doxorubicin.²² Fenomena resistensi pasien dengan mutasi p53 terhadap doxorubicin juga terlihat pada studi yang melibatkan 108 pasien, dimana 20% diantaranya mengalami mutasi p53 yang dievaluasi dengan teknik *Denaturing High-Performance Liquid Chromatography* (DHPLC) dan sekuensing DNA. Sekitar 38% pasien dengan normal p53 memberikan respon baik terhadap doxorubicin, sedangkan hanya sekitar 24% pasien dengan mutasi p53 yang memberikan respon yang baik terhadap doxorubicin.²³

Disamping monoterapi, pemberian doxorubicin yang dikombinasikan dengan genotoksik lain juga menemukan resistensi pada pasien kanker dengan mutasi gen p53. Kandioler-Eckersberger melaporkan pemberian regimen FEC (5-Fluorouracil, Epirubicin, Cyclophosphamide) pada 53 pasien kanker payudara menunjukkan hasil yang berbeda antara pasien dengan status sel kanker p53 normal dan p53 mutasi. Pasien dengan status kanker p53 termutasi memiliki respon yang kurang baik (cenderung lebih resisten) terhadap kemoterapi golongan *anthracycline*. 27% pasien dengan p53 normal memiliki respon klinis yang baik, dibandingkan dengan 17% pasien dengan mutasi gen p53.²⁴

Resistensi kanker payudara lokal lanjut yang mengalami mutasi p53 juga terlihat pada hasil genotoksik kemoterapi yang berbasis *non-anthracycline*. Andersson melaporkan bahwa pasien dengan mutasi p53 (28% dari total 376 pasien) juga mendapatkan pemburukan kesintasan setelah terapi CMF. Perbedaan kesintasan setelah 10 tahun dengan terapi CMF menunjukkan 50% pada pasien tanpa mutasi p53 dan 30% pada pasien dengan mutasi p53, yang dievaluasi dengan menggunakan teknik CDGE.¹⁹ Pengaruh resistensi akibat mutasi p53 juga terlihat dengan terapi *neoadjuvant 5-Fluorouracil dan Mitomycin C* yang melibatkan 35 pasien kanker payudara lanjut lokal.²²

Inaktivasi fungsi p53 banyak dijumpai pada jenis tumor dengan mutasi BRCA1 dengan fenotipe *basal like*.^{23,25} *Anthracycline* sebagai pemicu apoptosis melalui jalur p53 dijumpai pada jenis fenotipe *luminal*. Fenotipe *basal like* umumnya dijumpai memiliki prognosis yang buruk, tidak mengekspresikan ER, PR, Her-2, CK 5/6, EGFR.²⁵ Golongan anti metabolit, *alkylating agents*, dan

anthracycline bekerja dengan merusak DNA. Kerusakan DNA yang tidak dapat diperbaiki akan memacu apoptosis yang diregulasi oleh p53. Bila p53 dalam keadaan termutasi maka apoptosis sebagai respon terhadap kerusakan DNA yang diinduksi oleh anti metabolit, *alkylating agents*, dan *anthracycline* tidak berlangsung dengan baik.

Di lain pihak pemberian kemoterapi genotoksik yang diberikan secara bertubi-tubi dengan dosis tinggi (*dose dense chemotherapy*) ternyata juga menyebabkan sel kanker payudara dengan mutasi gen p53 menjadi lebih sensitif.^{26,27} Kompleksitas pengaruh mutasi gen p53 terhadap kemoterapi bersifat genotoksik diduga karena dualisme peran p53 sebagai faktor induksi apoptosis dan faktor penghenti siklus sel.¹⁵ Kemoterapi genotoksik yang diberikan dalam rentang waktu yang lama dan dosis yang relatif rendah cenderung menimbulkan efek resistensi terhadap apoptosis pada sel yang kehilangan gen p53. Hal ini disebabkan karena sel yang kehilangan fungsi normal gen p53 (yaitu dengan mutasi), kerusakan DNA yang terjadi tidak menginduksi terjadinya apoptosis dan sel masih mampu melanjutkan siklus pertumbuhan. Namun, ketika kemoterapi genotoksik diberikan secara intensif, kerusakan DNA yang terlampaui berat mengakibatkan sel dengan mutasi gen p53 masuk ke siklus pertumbuhan dengan mengalami keguncangan mitosis (*mitotic catastrophe*) yang mematikan.¹⁵

DATA KLINIS PENGARUH MUTASI P53 PADA KEMOTERAPI BERBASIS TAXANE

Tren berbeda ditunjukkan pada pemberian kemoterapi golongan *taxane*. Golongan ini bekerja tidak dengan target asam nukleat tetapi pada tubulin. *Taxane* berperan untuk mengaktivasi terjadinya polimerisasi mikrotubulin sehingga proses mitosis sel terhenti. Golongan *taxane* seperti *paclitaxel* dan *docetaxel*, dan *tubulin binding agents* lainnya seperti *alkaloid vinca* menunjukkan kecenderungan efek respon yang lebih baik pada pasien kanker dengan mutasi p53.^{23,25} Secara umum, golongan *taxane* bekerja dengan menginduksi prematur mitosis. Pada kondisi p53 termutasi, sel kehilangan fungsi p53 untuk melakukan penghentian siklus pertumbuhan (*cell cycle G2/M checkpoint arrest*). Akibatnya sel dengan mutasi p53 menjadi lebih sensitif terhadap terapi berbasis *taxane* karena rentan untuk menjalani *mitotic catastrophe* yang berakhir pada kematian sel.^{23,25,28,29}

Studi klinis yang melibatkan 32 pasien dengan pemberian *neoadjuvant paclitaxel* menunjukkan bahwa 5 dari 6 pasien dengan mutasi p53 memiliki *Complete Response* (CR) dan *Partial Response* (PR), sedangkan hanya 10 dari 26 pasien dengan p53 normal memiliki CR dan PR.²⁴ Demikian pula studi yang menggunakan monoterapi *docetaxel* menunjukkan tingkat respon 50%

(dari 10 pasien yang kankernya mengalami mutasi pada gen p53) dibandingkan dengan 36% (dari 45 pasien yang tidak mengalami mutasi pada gen p53)²³ Di lain pihak nilai prediktif mutasi gen p53 pada terapi *taxane* tidak terlihat, apabila p53 diperiksa dengan metoda immunohistokimia.³⁰

PENGALAMAN DAN TANTANGANNYA DI INDONESIA

Studi yang dilakukan oleh Aryandono terhadap 226 pasien kanker payudara di Indonesia dengan metode IHC, menunjukkan bahwa ada korelasi usia pasien dengan ekspresi p53 dan prognosis dari pasien tersebut. Pasien dengan usia < 40 menunjukkan p53 positif sebanyak 90.4% dan memiliki prognosis yang buruk, ketidakstabilan genetik, serta peningkatan probabilitas untuk mengalami metastasis kelenjar getah bening^{1,5} Profil genetik di Indonesia nampaknya berbeda dengan tempat lainnya, di mana pasien muda memiliki ekspresi ER dan PR yang lebih tinggi dari pasien usia tua tetapi ekspresi p53 pada pasien usia muda jauh lebih rendah dibandingkan usia tua ER dan PR negatif umumnya dijumpai pada kasus p53 termutasi.⁵ Tumor dengan ekspresi ER dan PR berkorelasi positif untuk pemberian kemoterapi golongan anti hormonal seperti *Tamoxifen* dan memberikan prognosis yang lebih baik^{10,13,31} Perbedaan profil genetik pasien kanker payudara di Indonesia yang berbeda mungkin memberikan respon terhadap kemoterapi yang berbeda pula.

Untuk ke depannya, akan sangat menarik untuk melakukan studi retrospektif untuk mengevaluasi prevalensi mutasi gen p53, perbandingan metoda DNA analisis seperti sekuensing, DGGE, atau DHPLC dengan IHC, dan kaitan mutasi p53 dengan riwayat pengobatannya (respon klinis, kesintasan pasien) di Indonesia. Data sebelumnya menunjukkan kemungkinan adanya keunikan genotipe kanker payudara dimana prevalensi mutasi *BRCA2* lebih banyak ditemukan dibandingkan mutasi pada gen *BRCA1*, suatu fenomena yang berbeda dari yang di laporkan di publikasi internasional lainnya.^{32,33} Menariknya mutasi gen *BRCA1* atau 2 biasanya juga diikuti oleh mutasi gen p53, dimana juga belum dilaporkan sejauh ini di Indonesia.

Kemungkinan besar tingkat keberhasilan kemoterapi pada pasien kanker payudara, selain juga ditentukan oleh mutasi gen p53, tapi juga oleh jenis kanker payudara (*basal, locally advanced*, status hormon), strategi pemilihan kemoterapi (*genotoxic vs taxane*), atau jumlah dan frekuensi dosis kemoterapi (dosis tinggi dan/atau sering *dose dense*).

KEPUSTAKAAN

1. Aryandono T, Harijadi, Soeripto. Survival from operable breast cancer: prognostic factors in Yogyakarta, Indonesia. *Asian Pac J Cancer Prev* 2006;7:455-9.
2. Lee W, Lockhart AC, Kim RB, Rothenberg ML. Cancer Pharmacogenomics: Powerful Tools in Cancer Chemotherapy and Drug Development. *Oncologist* 2005;10:104-11.
3. Yu Q. Restoring p53-mediated apoptosis in cancer cells: new opportunities for cancer therapy. *Drug Resist Updat* 2006;9:19-25.
4. Overgaard J, Yilmaz M, Guldberg P, Hansen LL, Alsner J. TP53 Mutation is an Independent Prognostic Marker for Poor Outcome in Both Node-negative and Node-positive Breast Cancer. *Acta Oncologica Acta Oncologica J1 - Acta Oncologica* 2000; 39:327-33.
5. Aryandono T, Harijadi, Soeripto. Breast Cancer in Young Women: Prognostic Factors and Clinicopathological Features. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2006;7:451-4.
6. Ross J, Fletcher J. The Her-2/neu oncogene in breast cancer: prognostic factor, predictive factor, and target for therapy. *Oncologist* 1998;3:237 - 52.
7. Kroese M, Zimmern RL, Pinder SE. Her-2 status in breast cancer--an example of pharmacogenetic testing. *J R Soc Med* 2007;100:326-9.
8. Weinberg R. The Biology of Cancer. New York: Garland Science, Taylor and Francis; 2007.
9. Lacroix M, Toillon R-A, Leclercq G. p53 and breast cancer, an update. *Endocrine-related cancer* 2006;13:293-325.
10. Lacroix M, Toillon RA, Leclercq G. p53 and breast cancer, an update. *Endocrine-related cancer* 2006;13:293-325.
11. Haupt S, Berger M, Goldberg Z, Haupt Y. Apoptosis - the p53 network. *Journal of cell science* 2003; 116:4077-85.
12. Oliveira A, Ross J, Fletcher J. Tumor suppressor genes in breast cancer: the gatekeepers and the caretakers. *Am J Clin Pathol* 2005;124.
13. Olivier M, Langerod A, Carrieri P, et al. The Clinical Value of Somatic TP53 Gene Mutations in 1,794 Patients with Breast Cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12:1157-67.
14. Sjogren S, Inganas M, Norberg T, et al. The p53 gene in breast cancer: prognostic value of complementary DNA sequencing versus immunohistochemistry. *Journal of the National Cancer Institute* 1996;88:173-82.
15. Bertheau P, Espie M, Turpin E, et al. TP53 status and response to chemotherapy in breast cancer. *Pathobiology* 2008;75:132-9.

16. Gasco M, Crook T. p53 family members and chemoresistance in cancer: what we know and what we need to know. *Drug Resist Updat* 2003;6:323-8.
17. Grace K, Dy AAA. Systemic cancer therapy: Evolution over the last 60 years. *Cancer* 2008;113:1857-87.
18. Noordhuis P, Holwerda U, Van der Wilt CL, et al. 5-Fluorouracil incorporation into RNA and DNA in relation to thymidylate synthase inhibition of human colorectal cancers. *Ann Oncol* 2004;15:1025-32.
19. Andersson J, Larsson L, Klaar S, et al. Worse survival for TP53 (p53)-mutated breast cancer patients receiving adjuvant CMF. *Ann Oncol* 2005;16:743-8.
20. Tian H, Cronstein BN. Understanding the mechanisms of action of methotrexate: implications for the treatment of rheumatoid arthritis. *Bulletin of the NYU hospital for joint diseases* 2007;65:168-73.
21. Aas T, Borresen A-L, Geisler S, et al. Specific P53 mutations are associated with de novo resistance to doxorubicin in breast cancer patients. *Nat Med* 1996;2:811-4.
22. Geisler S, Borresen-Dale AL, Johnsen H, et al. TP53 gene mutations predict the response to neoadjuvant treatment with 5-fluorouracil and mitomycin in locally advanced breast cancer. *Clin Cancer Res* 2003;9:5582-8.
23. Di Leo A, Tanner M, Desmedt C, et al. p-53 gene mutations as a predictive marker in a population of advanced breast cancer patients randomly treated with doxorubicin or docetaxel in the context of a phase III clinical trial. *Ann Oncol* 2007;18:997-1003.
24. Kandioler-Eckersberger D, Ludwig C, Rudas M, et al. TP53 Mutation and p53 Overexpression for Prediction of Response to Neoadjuvant Treatment in Breast Cancer Patients. 2000. p. 50-6.
25. Bidard FC, Matthieu MC, Chollet P, et al. p53 status and efficacy of primary anthracyclines/alkylating agents-based regimen according to breast cancer molecular classes. *Ann Oncol* 2008;19:1261-5.
26. Bertheau P, Plassa F, Espie M, et al. Effect of mutated TP53 on response of advanced breast cancers to high-dose chemotherapy. *Lancet* 2002;360:852-4.
27. Bertheau P, Turpin E, Rickman DS, et al. Exquisite Sensitivity of TP53 Mutant and Basal Breast Cancers to a Dose-Dense Epirubicin & #8722; Cyclophosphamide Regimen. *PLoS Medicine* 2007;4:e90.
28. Blagosklonny MV, Robey R, Bates S, Fojo T. Pretreatment with DNA-damaging agents permits selective killing of checkpoint-deficient cells by microtubule-active drugs. *J Clin Invest* 2000; 105:533-9.
29. Galmarini CM, Falette N, Tabone E, et al. Inactivation of wild-type p53 by a dominant negative mutant renders MCF-7 cells resistant to tubulin-binding senyawat cytotoxicity. *British journal of cancer* 2001; 85:902-8.
30. Van Poznak C, Tan L, Panageas KS, et al. Assessment of Molecular Markers of Clinical Sensitivity to Single-senyawat Taxane Therapy for Metastatic Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2002;20:2319-26.
31. Carey LA, Dees EC, Sawyer L, et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* 2007;13:2329-34.
32. Purnomosari D, Paramita D, Aryandono T, Pals G, van Diest P. A novel BRCA2 mutation in an Indonesian family found with a new, rapid, and sensitive mutation detection method based on pooled denaturing gradient gel electrophoresis and targeted sequencing. *J Clin Pathol* 2005;58:493-9.
33. Purnomosari D, Pals G, Wahyono A, et al. BRCA1 and BRCA2 germline mutation analysis in the Indonesian population. *Breast Cancer Research and Treatment* 2007;106:297-304.