

ANALISA MUTASI GEN H-RAS DALAM KANSER MULUT MENGGUNAKAN  
TEKNIK RFLP

WAN FAHMI WAN MOHAMAD NAZARIE

DISERTASI YANG DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI  
SEBAHAGIAN DARIPADA SYARAT MEMPEROLEH IJAZAH  
SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIAN

PROGRAM BIOTEKNOLOGI  
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

2007



**UMS**  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: ANALISA MUTASI GEN H-RAS DALAM

KANSER MULUT ~~IA~~ DENGAN MENGGUNAKAN TEKNIK  
RFL

Ijazah: SARJANA MUDA SAINS (BIOTEKNOLOGI)

SESI PENGAJIAN: 2004/2005

Saya WAN FAHMI BIN WAN MOHAMAD NAZARIE  
(HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPS/Sarjana/Doktor Falsafah)\* ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:

1. Tesis adalah hakmilik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sabaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. \*\*Sila tandakan ( / )

SULIT

(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

Disahkan oleh

W Fahmi

(TANDATANGAN PENULIS)

[Signature]

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: 2, JALAN TPS 3/15,

TAMAN PELANGI,  
43500 SEMENYIH, SELANGOR

Nama Penyelia

Tarikh: 16. APRIL 2007

Tarikh: \_\_\_\_\_

CATATAN: \* Potong yang tidak berkenaan.

\*\* Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

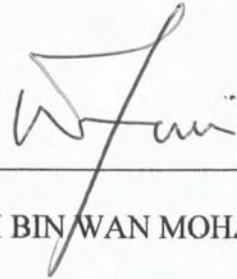
@ Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan, atau disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



**PENGAKUAN**

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang setiap satunya telah dijelaskan sumbernya.

20 April 2007



---

WAN FAHMI BIN WAN MOHAMAD NAZARIE

HS 2004 - 2760

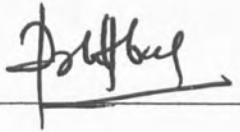


## PENGESAHAN

Tandatangan

1. PENYELIA

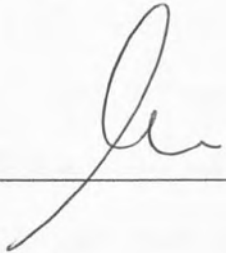
(DR. ROZIAH HAJI KAMBOL)



---

2. PEMERIKSA 1

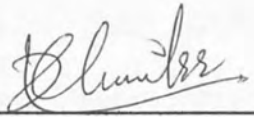
(DR. CLEMENTE MICHAEL WONG VUI LING)



---

3. PEMERIKSA 2

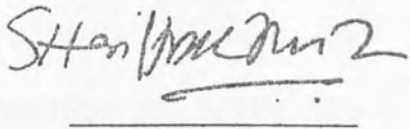
(DR. LEE PING CHIN)



---

3. DEKAN

(SUPT/K PROF. MADYA DR. SHARIFF A.K OMANG)



---



## PENGHARGAAN

Syukur Alhamdulillah. Segala pujian ke atas kudrat Allah S.W.T dan segala keagunganNYA, selawat dan salam ke atas baginda Rasulullah nabi junjungan. Berkat dan atas keizinanNYA saya berjaya menyiapkan tugas projek tahun akhir ini dengan seribu kepayahan yang sukar untuk ditafsirkan. Ucapan jutaan terima kasih ke atas mama, abah dan keluarga yang tidak putus-putus memberikan semangat dan ingatan kepada saya sepanjang menjalankan kajian ini. Semoga kerukunan keluarga ini berkekalan hingga ke Jannah. Kepada penyelia; Dr Roziah bt Haji Kambol, terima kasih atas tunjuk ajar dan maafkan segala kekurangan yang ada dalam menyiapkan kajian ini. Kepada rakan taulan, pelajar-pelajar program Bioteknologi tahun akhir terutama kepada Zati, Farah, Kit Mei, Aileen dan Suat Cheng serta mereka yang tidak tertulis di sini tetapi banyak membantu dari segi moral dan sokongan, terima kasih. Jutaan terima kasih ditujukan kepada Dr Zil Falil Alwi, Pengarah, pelajar-pelajar Sarjana Pusat Genom Manusia, Universiti Sains Malaysia (USM), Kubang Kerian, Kelantan yang telah memberi peluang kepada saya untuk mempelajari dan menyiapkan projek tahun akhir saya ini terutama kepada Penyelia saya Farini Mohd Sobri dari Pusat Pengajian Sains Pergigian (PPSG), USM yang banyak membantu saya dalam menyiapkan projek ini. Terima kasih tidak terhingga juga kepada saudari Nur Faizlin binti Md Jadi yang sentiasa menemani kala susah dan senang dengan senyuman dan kata semangat. Semoga beliau sentiasa memperoleh apa yang dihajati dan berbahagia selalu. Wallahua'lam.



## ABSTRAK

Kajian ini dijalankan untuk mengenalpasti mutasi yang berlaku pada gen H-Ras di dalam sampel kanser mulut pesakit yang menjalani rawatan di Hospital Universiti Sains Malaysia (HUSM), Kelantan. Gen Ras yang berfungsi sebagai suis molekular di dalam pelbagai jenis isyarat transduksi telah dikenalpasti sebagai faktor pertumbuhan dan pembentukan tumor manusia. Mutasi yang menyebabkan kanser mulut telah dilaporkan berlaku pada kodon 12 dan kodon 61 gen H-Ras. Kaedah yang telah digunakan mengenalpasti mutasi yang berlaku adalah tindakbalas berantai polimerase (PCR) untuk mengamplifikasi gen H-Ras dan teknik fragmen pemotongan pemanjangan polimorfisma (RFLP) dengan menggunakan dua jenis enzim pembatasan iaitu enzim *MspI* dan enzim *BstNI* untuk memotong pada tapak pengenalan spesifik. Kedua-dua teknik ini telah berjaya mencapai objektif kajian ini untuk mengenalpasti mutasi yang berlaku. Sebanyak 20 sampel DNA pesakit kanser mulut telah digunakan di dalam kajian ini. Hasil daripada kajian ini menunjukkan sebanyak 2 daripada 20 sampel telah mengalami mutasi pada kodon 12 iaitu mutasi jenis heterozigus dan tiada sampel yang mengalami mutasi pada kodon 61. Kajian ini tidak dapat menyimpulkan bahawa gen H-Ras samada memainkan atau tidak memainkan peranan dalam pembentukan kanser mulut kerana faktor lain seperti persekitaran juga terlibat dalam pembentukan kanser mulut. Kajian lanjut juga harus dilakukan dengan menggunakan saiz sampel yang lebih besar bagi mendapatkan keputusan yang lebih jitu.



## ABSTRACT

This study was done to identify the presence of mutation of H-Ras gene in oral cancer patients who underwent surgery at Hospital Universtiti Sains Malaysia (HUSM), Kelantan. Ras gene which functions as a molecular switch in a large network of signaling pathways, have been recognized as a major etiological factor for the initiation and the development of human tumors. Mutations of H-Ras gene in oral cancer have been reported occurred at codon 12 and codon 61. Technique that have been used were polymerase chain reaction (PCR) to amplify the H-Ras gene and restriction fragment length polymorphisms (RFLP) used two different types of restriction enzymes which are *MspI* and *BstNI* to cut DNA at specific recognition site. These two techniques have achieved the objective of study to identify the presence of mutation. A total of twenty DNA samples from oral cancer patients were studied and showed that only 2 out of 20 samples were diagnosed to have mutation at codon 12. Meanwhile, none of the samples were diagnosed to have mutation at codon 61. In this study, mutation at H-Ras gene cannot be concluded as a factor of development of oral cancer because there is another factor such as environment factor that plays important role in development of oral cancer.



## KANDUNGAN

	Muka Surat
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xi
SENARAI SIMBOL	xiii
<b>BAB 1        PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
<b>BAB 2        KAJIAN LITERATUR</b>	<b>5</b>
2.1    Kanser	5
2.2    Kanser Mulut	6
2.3    Simptom kanser mulut	7
2.4    Faktor penyebab kanser mulut	8
2.5    Pembentukan kanser mulut	9
2.6    Protoonkogen dan onkogen	10
2.7    Famili gen Ras	12
2.8    Mekanisma protein Ras	14
2.9    Laluan isyarat transduksi protein Ras	16





2.10	Mutasi titik gen Ras	18
2.11	Tindakbalas berantai polimerase (PCR)	19
2.12	RFLP sebagai teknik pengesanan mutasi dan aplikasinya	20
2.13	Penjjukan DNA sebagai teknik kepastian mutasi	22
<b>BAB 3</b>	<b>BAHAN DAN KAEDAH</b>	<b>25</b>
3.1	Persampelan tisu	25
3.2	Pengekstrakan DNA	25
3.3	Amplifikasi Tindakbalas Berantai Polimerase (PCR)	27
3.4	Elektroforesis gel agaros	30
3.4.1	Penyediaan larutan penimbal LB	30
3.5	Polimorfisma Fragmen Pemotongan Pemanjangan (RFLP)	31
3.6	Elektroforesis gel poliakrilamida (PAGE)	32
<b>BAB 4</b>	<b>KEPUTUSAN DAN ANALISIS DATA</b>	<b>33</b>
4.1	Amplifikasi PCR Kodon 12 dan Kodon 61 Gen H-Ras	33
4.2	Analisa mutasi menggunakan teknik RFLP	36
<b>BAB 5</b>	<b>PERBINCANGAN</b>	<b>39</b>
5.1	Amplifikasi PCR Kodon 12 dan Kodon 61	39
5.2	Analisa Teknik RFLP	40



<b>BAB 6</b>	<b>KESIMPULAN</b>	45
	RUJUKAN	47
	LAMPIRAN	54



## SENARAI RAJAH

No. Rajah		Muka Surat
2.1	Jujukan asid amino protein Ras di mana domain Pertama adalah terminal-N (asid amino 1-86), domain Kedua adalah bahagian ke-2 (asid amino 87-165), Domain ketiga adalah terminal-C (asid amino 167-185) dan domain keempat adalah motif terpelihara, CAAX menghasilkan pengubahsuaian pos-translasi (asid amino 185-189)	14
2.2	Kitaran protein Ras di dalam sel yang normal antara Ras yang aktif dan tidak aktif	15
2.3	Gambarajah menunjukkan titik mutasi berlaku di dalam sampel di mana terdapat dua puncak yang bertindih pada anak panah di atas	22
4.1	Keputusan amplifikasi PCR bagi kodon 12 di atas elektroforesis 2% gel agaros	34
4.2	Keputusan amplifikasi PCR bagi kodon 61 di atas elektroforesis 2% gel agaros	35
4.3	Keputusan pemotongan enzim pembatasan enzim <i>MspI</i> pada kodon 12 di atas gel elektroforesis 20% poliakrilamida (PAGE)	37
4.4	Keputusan pemotongan enzim pembatasan <i>BstNI</i> pada kodon 61 di atas 20% poliakrilamida gel elektroforesis (PAGE)	38



**SENARAI JADUAL**

No. Jadual		Muka Surat
3.1	Senarai primer yang digunakan untuk amplifikasi PCR bagi kodon 12 dan kodon 61 gen H-Ras	27
3.2	'Mastermix' bagi amplifikasi tindakbalas berantai polimerase (PCR)	28
3.3	Kondisi PCR bagi gen H-Ras	29
3.3	Senarai enzim, jujukan pengenalan, anggaran saiz fragmen selepas pemotongan dan masa inkubasi untuk pencerakinan RFLP	31



## SENARAI SIMBOL

APS	Ammonium persulphate
Bp	Base pairs
°C	Degree Celsius
PCR	Polymerase Chain Reaction
μm	micrometer
mm	millimeter
RNA	Ribonucleic acid
DNA	Deoxyribonucleic acid
dNTP	deoxyribonucleotide triphosphate
dATP	deoxy adenil triphosphate
dCTP	deoxy sitosina triphosphate
dTTP	deoxy thiamina triphosphate
dGTP	deoxy guanyl triphosphate
MgCl	Magnesium klorida
mL	millilitre
μL	microlitre
mg	miligram
rpm	revolution per minute
RFLP	restriction fragment length polymerase
%	percent
Kb	kilobes



μM	micro molar
UV	ultraviolet
V	Voltan
PCR	Tindakbalas berantai polimerase
PAGE	Polyacrylamide gel electrophoresis
SSCP	Single stranded conformational polymorphism
SCC	Squamous cell carcinoma
TEMED	N, N, N', N'-Tetramethylethylenediamine
TBE	Tris-Boric EDTA
LB	Lithium buffer
TL	Tissue lysis
TB	Tissue binding solution
BW	Column washes solution B
TW	Column washes solution T
AE	Elution buffer



## BAB 1

### PENDAHULUAN

Kanser mulut merupakan kanser yang biasa menyerang manusia dan merupakan masalah kesihatan utama di kebanyakan negara-negara membangun yang boleh membawa maut. Pada tahun 1990, sebanyak 306 000 kes baru kanser mulut dilaporkan seluruh dunia dan 2/3 daripadanya berlaku di negara-negara membangun. Di negara-negara Barat kadarnya hanya 2-4% sahaja tetapi kadar tertinggi adalah dilaporkan di kebanyakan negara Asia Selatan seperti India dan Sri Lanka, iaitu sebanyak 40% daripada kes-kes yang dilaporkan (Warnakulasurya *et al*, 2002). Pada tahun 2000, data yang dikeluarkan oleh Pertubuhan Kesihatan Sedunia (WHO) menunjukkan bahawa karsinoma sel skuamos (SCC) di dalam kaviti mulut merupakan kanser yang kelapan menyerang manusia di seluruh dunia (Wan *et al*, 2004). Menurut Lim (2002), kanser mulut merupakan punca kematian keempat di Malaysia. Dianggarkan kira-kira 30,000 kejadian kanser berlaku setiap tahun.

Di Malaysia, data Kementerian Kesihatan Malaysia menunjukkan insiden kanser mulut di kalangan lelaki lebih tinggi iaitu 5.2 bagi setiap 100,000 penduduk berbanding hanya kes 4 kes bagi 100,000 penduduk bagi wanita. Kaum India disahkan paling ramai mengidap kanser mulut, diikuti kaum Bumiputera di Sabah dan Sarawak berbanding



kaum Melayu dan Cina. Kanser mulut menduduki tangga yang kesepuluh di dalam carta kanser di negara ini yang menyebabkan 7% kematian akibat kanser ini (Bee *et al*, 2001).

Kanser mulut merupakan kanser yang berlaku di dalam kaviti mulut. Kanser ini mempunyai beberapa jenis termasuklah kanser bibir, lidah, lantai mulut, farinks, tekak, lelangit dan tonsil. Sel kanser mulut merebak mengikut aliran sistem limfa dan boleh menyerang nodus limfa pada leher, mengakibatkan kemunculan benjolan atau bengkak pada leher yang akan menyebabkan kematian di mana kadar kematian manjadi tinggi iaitu sebanyak 50-70% (Shetty, 2004).

Tiga faktor risiko utama yang boleh menyebabkan kanser mulut iaitu tabiat merokok, terlalu banyak meminum alkohol dan memakan sirih (Ogden *et al*, 1991). Asap rokok dan alkohol berlebihan boleh menyebabkan masalah di kaviti mulut yang boleh terjadi pada bahagian bibir, dinding dalam pipi, kelenjar liur, lelangit keras, lelangit lembut, lantai mulut iaitu pada bahagian di bawah mulut, gusi, lidah dan tonsil. Faktor lain yang boleh menyumbang kepada kanser mulut ialah jangkitan virus papilloma manusia, tetapi jarang berlaku. Selain daripada itu kebanyakan daripada karsinogenesis kaviti mulut adalah bahan kimia, radiasi dan agen mutasi yang menyebabkan perubahan genetik dan struktur kromosom dengan cara mutasi titik, pemotongan dan penyusunan semula gen (Odgen *et al*, 1991).

Terdapat beberapa teknik untuk mengesan mutasi yang telah digunakan oleh penyelidik-penyelidik. Antaranya adalah tindakbalas berantai polimerase (PCR),





polimorfisma kepastian bebenang tunggal (SSCP) dan fragmen pemanjangan pemotongan polimorfisma (RFLP) dimana tumor dikenalpasti hasil daripada mutasi titik pada gen H-Ras (Anderson *et al*, 1994). RFLP merupakan satu teknik di mana suatu sampel dapat dibezakan melalui analisa fragmen berlaku akibat pemotongan DNA menggunakan enzim pembatasan, yang hanya memotong jujukan molekul DNA yang spesifik. Enzim pembatasan kemudiannya akan memisahkan DNA berdasarkan saiz dengan menggunakan gel elektroforesis poliakrilamida (PAGE).

H-Ras atau Harvey-Ras adalah ahli di dalam famili Ras. Famili protoonkogen Ras mengandungi tiga jenis gen; Neuroblastoma-Ras (N-ras), Harvey-Ras (H-Ras) dan Kirsten-Ras (K-Ras) yang terletak masing-masing pada kromosom 1, 11 dan 12. ketiga-tiga gen ini memainkan peranan penting dalam pertumbuhan dan pembezaan sel. Famili Ras mengkodkan protein bermembran yang dikenali sebagai p21<sup>ras</sup>, mempunyai aktiviti GTPase dan terlibat dalam isyarat transduksi. Gen H-Ras terletak kedudukan 13.1 lengan q pada kromosom 11. Gen Ras mengandungi empat pengkod ekson yang mengkodkan protein pengikat-membran, p21 yang mempunyai aktiviti GTPase dan terlibat dalam aktiviti transduksi isyarat (Yoo dan Robinson, 2000). Gen H-Ras adalah ahli kepada kelas gen yang dikenali sebagai protoonkogen. Protoonkogen adalah gen yang hadir di dalam sel normal yang terlibat dalam pengawalan pertumbuhan sel, pembezaan dan pembiakan. Gen Ras ditukarkan menjadi onkogen yang aktif dengan mutasi titik pada kodon 12, 13 atau 61. Gen Ras adalah paling biasa dikesan di dalam kanser manusia. Apabila mutasi, onkogen ini mempunyai potensi untuk menukarkan sel yang normal menjadi sel kanser (Suzen dan Parry, 1998).



Penemuan pertama onkogen Ras sebagai jujukan transformasi virus sarkoma murin Harvey dan Kirsten. Mekanisma pengaktifan onkogen Ras adalah secara mutasi titik di mana mutasi ini membawa kepada pertukaran proto-onkogen kepada onkogen dan menyebabkan pembangunan kanser melalui siri yang rumit. Pengaktifan mutasi menyebabkan pengurangan terhadap fungsi aktiviti protein p21<sup>ras</sup> intrinsik GTPase yang membawa kepada pertambahan kadar pertumbuhan sel. Di dalam kajian terdahulu, pengaktifan protoonkogen Ras yang berlaku secara semulajadi dan di dapati bahawa mutasi berlaku pada kodon 12, 13 dan 61 (Micheal *et al*, 2002; Wan *et al*, 2004; Grendys *et al*, 1997; Das dan Nagdal, 2000; Yoo dan Robinson 2000). Selain itu juga, kajian yang lain menyatakan kumpulan famili onkogen ini, berlaku ekspresi Ras berlebihan di dalam kanser mulut. Mengikut kajian Williams (2000), mutasi pada H-Ras adalah kurang berlaku di barat di mana hanya 5% daripada keseluruhan kes. Sebaliknya, mutasi pada gen H-Ras berlaku di Asia adalah tinggi berbanding di Barat iaitu sebanyak 35% daripada keseluruhan kes kanser mulut.

**Objektif kajian ini adalah untuk:-**

1. Mengamplifikasi gen H-Ras di dalam genomik DNA pesakit kanser mulut menggunakan kaedah tindakbalas berantai polimerase (PCR)
2. Mengenalpasti mutasi pada gen H-Ras di dalam kanser mulut menggunakan teknik fragmen pemanjangan pemotongan polimorfisma (RFLP)



## BAB 2

### KAJIAN LITERATUR

#### 2.1 Kanser

Kanser merupakan kumpulan penyakit yang terdiri daripada pelbagai manifestasi antara interaksi tisu dengan jenis sel di dalam tubuh manusia (Coleman *et al*, 2002). Secara umumnya, kanser terbentuk hasil daripada pengumpulan perubahan genetik dan diikuti dengan evolusi klonal (Das dan Nagdal, 2002). Semua sel kanser mempunyai dua ciri asas iaitu pertumbuhan sel yang tidak normal dan metastasis. Di dalam sel normal, pertumbuhan sel adalah dikawal oleh gen yang diekspreskan pada masa dan tempat yang sesuai. Namun, di dalam sel kanser, mutasi yang berlaku pada gen atau gen tersebut diekspreskan pada waktu yang tidak sesuai dan pengekspresan gen adalah berterusan tanpa henti.

Sejak 30 tahun dahulu, saintis telah menemui bahawa kanser adalah suatu penyakit genetik, di mana dua jenis gen iaitu gen penindas tumor dan onkogen bertindakbalas yang menyebabkan pertumbuhan tidak terkawal dan akhirnya kanser berlaku. Tambahan pula, dengan siapnya Projek Genom Manusia, telah memberi banyak

maklumat mengenai mutasi yang menjadi penyebab sel menjadi kanser. Selain itu, pemahaman mengenai kanser sebagai penyakit genetik telah membawa kepada penemuan rawatan gen spesifik. Seseorang saintis pula menjangkakan terapi gen akan dapat menggantikan kemoterapi dalam masa 25 tahun akan datang (Klug *et al*, 2004). Pengubahsuaian genetik yang mempunyai kaitan dengan kanser adalah seperti penggantian nukleotida tunggal, penyusunan semula kromosom, amplifikasi kromosom dan pemotongan kromosom. Namun, tidak seperti penyakit genetik lain, kanser adalah disebabkan mutasi yang seringkali berlaku pada sel somatik (Klug *et al*, 2004).

## 2.2 Kanser Mulut

Kaviti mulut merupakan bahagian mulut yang merangkumi bibir, lidah, lelangit atas, lelangit bawah, gusi dan farinks. Pada bahagian ini, kelenjar liur pada kaviti mulut menghasilkan air liur untuk melembabkan mulut. Kanser mulut termasuklah kanser pada bibir, lidah, mulut dan farinks. Kira-kira 3% kejadian kanser mulut boleh berlaku dan 1.6% menyebabkan kematian di seluruh dunia (Shetty, 2004).

Seperti organ bahagian tubuh yang lain, kaviti mulut terdiri daripada pelbagai jenis sel. Sel yang sentiasa membahagi akan menghasilkan lebih tisu yang dikenali sebagai tumor. Tumor ini dapat dikelaskan kepada dua jenis iaitu benigna dan malignan. Tumor benigna bukan sel kanser di mana sel ini dapat dikeluarkan dan tidak membahagi lagi melalui pembedahan. Tumor benigna ini tidak merebak ke bahagian tubuh yang lain. Jenis tumor yang kedua adalah tumor malignan yang menyebabkan sel ini akan merebak



dan merosakkan tisu dan organ yang berdekatan dengannya. Sel kanser ini akan merebak dan seterusnya memasuki sistem limfa. Kemasukan sel kanser ke dalam sistem limfa akan membentuk tumor peringkat sekunder di dalam bahagian tubuh yang lain. Perebakan sel kanser ini dikenali sebagai metastasis.

Jenis kanser mulut yang biasa adalah dari jenis skuamos. Sel ini membentuk lebih daripada 90% tumor di dalam kaviti mulut. Lebih daripada 100 jenis kanser mulut terbentuk pada pelbagai jenis organ di dalam badan. Setiap organ mengandungi pelbagai jenis tisu dan kanser kebiasaannya terbentuk di antara tiga jenis tisu iaitu tisu epitelial, tisu penghubung dan tisu darah. Di dalam kanser mulut, jenis sel yang mengalami kanser adalah sel skuamos karsinoma. Sel skuamos ini adalah leper dan saiznya seperti sel yang terdapat pada tisu epitelial (King, 2000).

### **2.3 Simptom Awal Kanser Mulut**

Tanda-tanda awal kanser mulut adalah lesi putih (leukoplakia), lesi merah (eritroplakia) iaitu mempunyai warna merah terang dan licin, gabungan lesi putih dan merah, luka pada bibir yang sukar sembuh, mulut kerap berdarah, gigi bergoyang, terasa sakit setiap kali menelan makanan, lidah dan anggota lain dalam mulut terasa kebas, terdapat benjolan pada leher, rahang menjadi bengkak, sakit telinga dan lesi putih. Lazimnya tanda-tanda ini bersifat benigna iaitu sel tidak normal dan tidak berbahaya tetapi boleh berubah menjadi malignan kanser (Norlaila, 2006)



## 2.4 Faktor Penyebab Kanser Mulut

Terdapat beberapa faktor penyebab berlakunya kanser mulut. Namun, tiga faktor risiko utama yang boleh menyebabkan kanser mulut adalah tabiat merokok, terlalu banyak meminum alkohol dan memakan sirih. Faktor lain yang boleh menyumbang kepada kanser mulut iaitu jangkitan virus papilloma manusia, tetapi ianya jarang berlaku (Dafna, 2001). Selain itu, amalan lama sesetengah orang tua, terutama wanita India, yang suka memakan sirih juga boleh meningkatkan risiko mendapat kanser mulut. Memakan sirih tanpa tembakau adalah racun dan boleh menyebabkan kanser mulut berlaku. Amalan memakan sirih bercampur kapur, pinang dan sedikit tembakau wujud di India, Pakistan, Bangladesh, Sri Lanka, Thailand, Kemboja, Malaysia, Indonesia, China dan Papua New Guinea.

Rokok tembakau mengandungi lebih kurang 70 bahan penyebab kanser. Apabila perokok merokok, bahan kimia tersebut akan mengalir ke paru-paru melalui mulut dan merebak ke seluruh tubuh badan. Saintis juga telah membuktikan dalam beberapa siri kajian bahawa bahan kimia ini dapat merosakkan DNA dan menukarkan gen yang penting. Selain daripada itu, kekurangan diet terutamanya vitamin A, vitamin C, vitamin E, besi, folat dan beberapa unsur surih yang terdapat di dalam makanan juga dikaitkan kepada peningkatan risiko mendapat kanser mulut. Agen-agen kimia pada persekitaran, radiasi dan virus juga adalah faktor utama berlakunya beberapa kanser paru-paru dan mulut (Dafna, 2001).



## 2.5 Pembentukan Kanser Mulut

Pembentukan kanser mulut merupakan suatu proses yang rumit dan berperingkat-peringkat di mana sel kanser menjadi semakin malignan, membahagi secara cepat dan tidak teratur (Shetty, 2004). Proses ini membawa kepada gangguan laluan regulator normal yang mengawal pembahagian, pembezaan sel dan apoptosis. Pembentukan kanser mulut melalui pelbagai proses di antara enam hingga sepuluh proses genetik yang membawa kepada karsinogenesis mulut. Perubahan genetik yang berlaku semasa proses pembentukan kanser termasuklah mutasi titik, amplifikasi, pengubahsuaian dan pemotongan (William, 2000).

Di dalam proses ini berlaku perubahan genetik yang mengubah fungsi normal onkogen dan gen penindas tumor (Perry, 1999). Apabila satu sel kanser menjadi tumor atau membahagi secara tidak normal, sel tersebut akan sentiasa membahagi dan membeza sehingga meningkatkan populasi sel kanser (Shetty, 2004). Proses ini juga menyebabkan peningkatan penghasilan faktor pertumbuhan atau bilangan reseptor pada permukaan sel, meningkatkan keupayaan isyarat dalaman sel dan penghasilan faktor transkripsi (William, 2000). Di dalam kanser mulut, sel-sel kanser adalah kurang stabil berbanding sel normal. Ketidakstabilan bahan genetik telah meningkatkan kadar mutasi, pembezaan sel dan akhirnya kepada pembentukan kanser mulut malignan (Perry, 1999).

Peringkat akhir pembentukan kanser mulut adalah metastasis. Metastasis adalah satu siri pembentukan yang kompleks di mana sel kanser mulut akan menceroboh tisu



yang bersebelahan. Apabila sel kanser mulut mula merebak, biasanya akan menyerang sistem limfa. Sel kanser yang memasuki aliran ini akan dibawa oleh limfa iaitu sejenis cecair tidak berwarna di dalam tubuh manusia. Sel kanser ini kemudiannya akan menyerang nodus limfa pada bahagian leher dan bahagian tubuh yang lain (Norlaila, 2004).

## 2.6 Protoonkogen dan Onkogen

Pada tahun 1989, J. Michael Bishop dan Harold Varmus telah menerima Hadiah Nobel kerana penglibatan mereka dalam penemuan protoonkogen dan potensinya untuk bertukar menjadi onkogen penyebab kanser (Gupta dan Jangir, 2003). Protoonkogen adalah gen yang hadir di dalam sel normal, mengawal pertumbuhan sel, pembezaan, pembahagian sel dan terlibat dalam transformasi neoplastik jika gen ini ditukar secara kuantitatif atau kualitatif (Woolf, 2000; Suzen dan Parry, 2001). Kawalan pertumbuhan homeostatik dan pembezaan di dalam populasi sel menyebabkan berlaku interaksi di antara penggalakan pertumbuhan sel dikenali sebagai protoonkogen dengan perencanan pertumbuhan sel yang dikenali sebagai gen penindas tumor (Woolf, 2000).

Menurut Jie Xu *et al* (1998), interaksi antara onkogen aktif dan mutasi terhasil daripada kehilangan fungsi gen penindas tumor yang muncul untuk membawa sel normal ke arah pertumbuhan sel yang tidak dikawal. Gen yang menghasilkan protein ini telah ditemui sebagai suatu yang penting kepada isyarat pertumbuhan sel normal dan ekspresi berlebihan atau mutasi yang membawa kepada pertumbuhan tidak terkawal dan penyebab



## RUJUKAN

- Adjei, A. 2001. *Review: Blocking oncogenic Ras Signalling for Cancer Therapy*. Journal of the National Cancer Institute, **93**, 1062-1074.
- Anderson, J. A., Irish, J.C., McLachlin, C.M., and Ngan, B.Y. 1994. *H-ras oncogene mutation and human papillomavirus infection in oral carcinomas*, Journal of Otolaryngology Head & Neck surgery, **120**.
- Bee, S. T., Kok, H. N., and Rashidah, E. 2001. *Health beliefs in oral cancer: Malaysian estate Indian scenario*. Patient Education and Counseling, **42**: 205–211.
- Coleman, W., Tsongalis, G. 2002. The molecular Biology of Human Cancer. Dlm: Coleman, W., Tsongalis, G. *Cancer Epidemiology; incidence and etiology of human neoplasm*. Human Press, 3-22.
- Crespo, P., Xu, N., Simonds, W.F., and Gutkind, J.S. 1994. *Ras dependent activation of MAP kinase pathway mediated by G-proteins by subunits*. Nature, **369**, 418-420.
- Dafna, B. 2001. *Minireview: A Ras by any other name*. Journal of Molecular and Cellular Biology. **21**:1441-1443.
- Das, B. and Nagpal, J. 2002. Understanding the biology of oral cancer. *Med Sci Monit.* **8** (11), 258-266. Edited by Hiroshi Maruta, 2002. *Tumor-suppressing viruses, genes, and drug : An innovative cancer therapy approaches*. Academic Press, USA.
- Fasano, O., Aldrich, T., Tamanoi, F., Taparowsky, E., Mark, F. and Wigler, M. 1984. *Analysis of the transforming potential of the human H-Ras gene by random mutagenesis*. Proc.National Academic Scientist. **81**, 4008-4012.



- Grendys, E.C., Barnes, W.A., Weitzel, J., Sparkowski, J. and Schlegel, R. 1997. *Identification of H, K and N-Ras point mutation in stage IB cervical carcinoma.* Gynecologic Oncology, **65**:343-347.
- Hatzaki, A., Razi, E., Anagnostopoulou, K., Illiadis, K., Kodaxis, A., Papaionnaoua, D., Labropouluos, S., Vasilaki, M., Kosmidis, P., Saetta, A., Mihalatos, M. and Nasiolas, G. 2001. *A modified mutagenic PCR-RFLP method for K-Ras codon 12 & 13 mutation detection in NSCLC patient.* Molecular and Cellular Probes **15**, 243-247.
- Hilger, R.A., Scheulen, M.E. and Strumberg, D. 2002. *The Ras-Raf-MEK-ERK Pathway in the treatment of cancer.* International Journal for Cancer Research and Treatment. **25**, 511-518.
- Karp, G. 2003. Cell and molecular biology; concepts and experiments. *John Wiley & Sons, Inc.* 651-666.
- King, R.J.B. 2000. *Cell and molecular biology; concepts and experiment.* John Wiley & Sons, Inc. 651-666.
- Klug, W., Cummings, M. and Spenser, C. 2004. *Concepts of genetics*, Prentice Hall, 8<sup>th</sup> Edition. 434-455.
- Lim, G. 2002. *Overview of Cancer in Malaysia.* Japanese Journal of Clinical Oncology, **32**, 37-42.
- McKenna, W.G., Muschel, R.J., Gupta, K.A., Hahn, M.S., and Bernhard, E.J. 2003. *The Ras signal transduction pathway and its role in radiation sensitivity.* Journal of Oncogene, **22**, 5866-5875.



- Mehrotra R., Singh, M., Kumar, D., Pandey, A.N. and Gupta, R.K. 2003. *US: Age specific incidence rate and pathological spectrum of oral cancer in Allahabad*. Indian Journal of Medical Science, **57**:400-4.
- Mehrotra, R., Gupta, A., Singh, M. and Ibrahim, R. 2006. *Review: Application of cytology and molecular biology in diagnosing premalignant or malignant oral lesion*. Molecular Cancer, **5**:11.
- Michael, H., Shannon, L.,D., Sarah, J.A. and Romeo, A.S. 2002. *Amplification of wild-type K-Ras promotes growth of head and neck squamous cell carcinoma*. Cancer Research, **62**:7154-7156.
- Norlaila H. J. 2006. *Rokok, arak punca utama kanser mulut*. Harian Metro. 26 Februari, 13.
- Ogden, G.R., Cowpe, J.G. and Green, M.W. 1991. *Detection of field change in oral cancer using oral exfoliative cytologic study*. Cancer, **68**:1611-5.
- Osada, H. 2000. *Bioprobes, Biochemical tools for investigating cell function*. Dlm: Yoshida, M., *Cell proliferation: from signal transduction to cell cycle*. Springer. 15-42.
- Panov, S., Roganovic, D., Stavric, G., Yashar, G. and Popov, Z. 2004. *High Frequency of the H-Ras oncogene codon 12 mutation in Macedonian patients with urinary bladder cancer*. Journal Genetics and Molecular Biology **27**, 1-14.
- Parsons, B., Culp, S., Manjanatha, M., Heflich, R. 2002. *Occurrence of H-Ras codon 61 CAA to AAA mutation during mouse liver tumor progression*, Oxford University Press. **23**, 943-948.



- Perry, A.R. 1999. *Oncogenes*. Encyclopedia of Life Sciences, Institute of Cancer Research, 1-8.
- Rhee, J.C., Khuri, F.R. and Shin, D.M. 2004. *Advances in chemoprevention of head & neck cancer*. The Oncologist, **9**:302-311.
- Shetty, R. 2004. *Oral cancer and basic science research: a clinician's observation*. Journal of Oral and Maxillo Facial Pathology, **7** (2):34-36.
- Singer, M. 1992. *The Ras gene and Cancer: Winding your ways through DNA*. Symposium at University of California, San Francisco.
- Soparker, C.N., O'Brian, J.M. and Albert, D.M. 1993. *Investigation of the role of the ras protooncogenes point mutation in human uvea melanomas*. Investigative Ophthalmology Visual Sciences, **34**: 2203-2209.
- Srivastava, A., Norris, J., Shmookler, R. and Goldstein, S. 1984. *c-Ha-ras-1 protooncogene amplification and overexpression during the limited replicative life span of normal human fibroblast*. The Journal of Biological Chemistry, **260**:6404-6409.
- Suzen, S. and Parry, J. 1998. *Analysis of Ras gene mutation in human oral tumors by polymerase chain reaction and direct sequencing*. Turkey Journal of Medical Science. **31**, 217-223.
- Vogelstein, B., Kinzler, K. 2002. The genetics basis of human cancer. Dlm: Warnakulasurya, S., *Cancer of the oral cavity and pharynx*. Mc Graw Hills. 733-784.
- Vogelstein, B., Kinzler, K. 2002. The genetics basis of human cancer. Dlm: Park, M., *Oncogenes*. McGraw Hills. 177-196.

- Vousden, K., Bos, J., Marshall, C. and Phillips, D. 1986. *Mutations activating human c-Ha-ras1 protooncogenes (H-Ras1) induced by chemical carcinogens and depurination*. Proc National Academic Scientist. **83**, 1222-1226.
- Wan, C.T., Sen, T.T., Jenq, Y.K., Ying, T.J., Ching, L.W.H., Kung, C.Y., Yoo, J., and Robinson, R.A. 2000. *Ras gen mutations in salivary gland tumors*. Arch Pathology Laboratory Medical, **124**: 836–839.
- Warnakulasuriya, S., G. Sutherland, and C. Scully. 2005. *Tobacco, oral cancer, and treatment of dependence*. Oral Oncology **41**:244-260.
- Williams, H. 2000. Molecular pathogenesis of oral squamous carcinoma *Journal Clinical Pathology: Molecular Pathology*, **53**:165-172.
- Wong, D., Todd, R., Tsuji, T. and Donoff, R. 1996. *Molecular biology of human oral cancer*. Journal of Oral Biology Medical, **7**, 319-328.
- Woolf, N. 2000. *Cell, tissue and disease, the basic of pathology*. Harcourt Publisher Limited, 483-501.
- Xu, J., Gimenez, I., Cunningham, J., Collet, A., Luna, M., Lanfranchi, H., Spitz, M. and Conti, C. 1998. *Alteration of p53, Cyclin D1, Rb and H-Ras in Human Oral Carcinomas Relaed to Tobacco Use*. Journal of Cancer, **83**, 204-212.
- Yoo, J. and Robinson, R.A. 2000. *Ras gene mutation in salivary gland tumors*. Arch Path Lab Med, **124**:836-839.

