

Differential Expression Analysis of Cervical Cancer Tumorigenesis using GEO2R

Pendahuluan

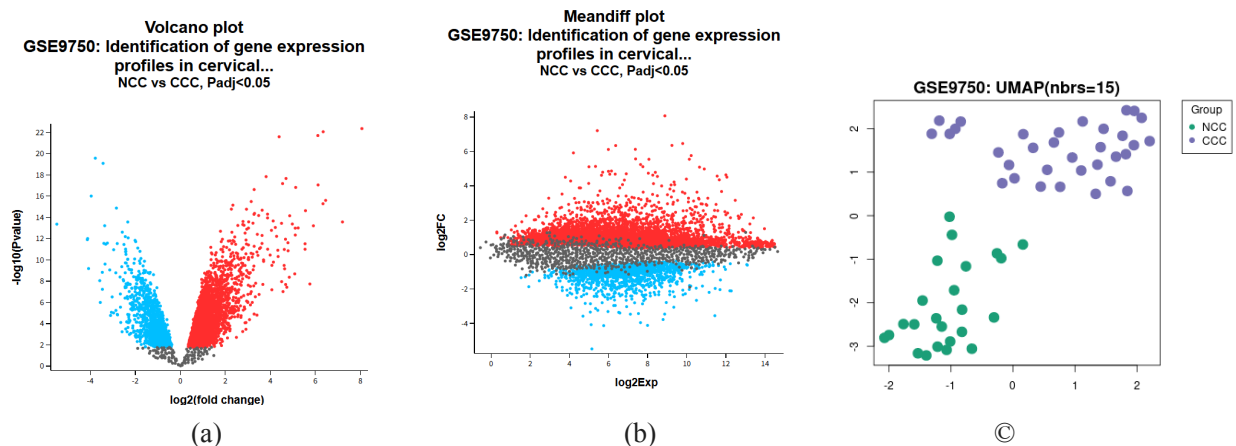
Kanker masih menjadi penyebab utama kematian di seluruh dunia, dengan total 10 juta kematian akibat kanker yang dilaporkan. Pada wanita, kanker serviks adalah salah satu tipe yang menyumbang kematian hingga 350.000 di seluruh dunia pada tahun 2022. Di Indonesia sendiri, kanker serviks merupakan penyakit kanker peringkat kedua yang paling sering diderita wanita pada umur 15 hingga 44 tahun. Analisis ekspresi gen berbasis *microarray* memungkinkan identifikasi perubahan transkriptom secara global antara jaringan normal (NCC) dan jaringan kanker serviks (CCC). Dengan pendekatan diferensial ekspresi gen (DEG) menggunakan metode statistik seperti Limma dan koreksi *multiple testing* (FDR), dapat diidentifikasi gen-gen yang secara signifikan berubah dan berpotensi berperan dalam proses karsinogenesis. Melalui analisis ini, diharapkan dapat mengidentifikasi dan mengkarakterisasi perubahan ekspresi gen yang signifikan antara jaringan serviks normal dan kanker guna memahami program transkriptomik yang mendasari proses karsinogenesis.

Metode

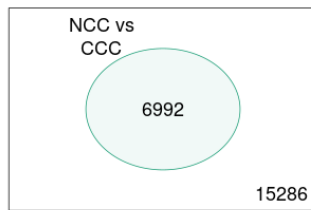
Analisis DEG dilakukan menggunakan dataset GDS3233 Cervical Cancer Tumorigenesis (nomor seri GSE9750). Data memiliki 61 sampel yang terdiri dari *cervical cancer cell line*, *normal cervical cell*, dan *cervical cancer cell*. Kelompok (*cluster*) ditentukan berdasarkan jenis sel, yaitu pada kelompok 1 dinamai NCC (*normal cervical cell*) dan kelompok 2 dinamai CCC (*cervical cancer cell*). Parameter yang digunakan dalam analisis DEGs menggunakan GEO2R adalah adjusted P value < 0.05, P value < 0.05, dan log FC ≥ 1 . Skema replikasi yang digunakan adalah dengan membandingkan dua kelompok data dari sel normal dan sel kanker yang telah dibagi sebelumnya dan mengulangi analisis sebanyak tiga kali dengan pengaturan dan parameter yang sama.

Hasil dan Interpretasi

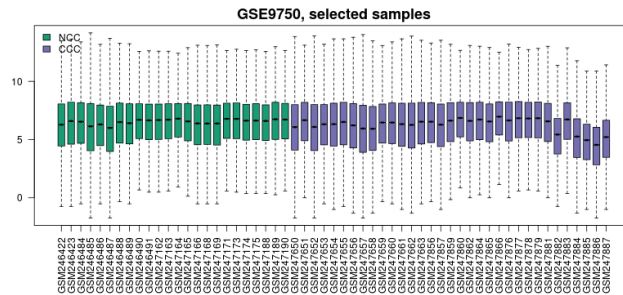
Pada pengulangan 1, 2, dan 3 terdapat total 22.278 gen, setelah melalui analisis DEG dengan parameter adj.P.Val < 0.05 dan logFC ≥ 1 , terdapat 2.732 gen yang signifikan. Sebanyak 2.022 gen mengalami *up-regulasi* dan 710 gen mengalami *down-regulasi*. Parameter diterapkan untuk menyortir gen yang sangat banyak dan melihat signifikansinya. Hasil analisis menggunakan GEO2R dapat dilihat melalui beberapa gambar berikut.



GSE9750: limma, Padj<0.05



(d)



(e)

Gambar 1. (a). Volcano plot (b) Mean difference plot (c) UMAP plot (d) Venn diagram dan (e) Boxplot

Pada gambar (a) volcano plot menunjukkan gen yang mengalami *up*-regulasi (titik berwarna merah) sangat banyak, sedangkan titik berwarna biru yang menunjukkan gen yang mengalami *down*-regulasi lebih sedikit. Hal ini menunjukkan gen-gen mengalami perubahan yang cukup ekstrim karena tumor mengaktifkan sejumlah besar gen. Data ini didukung oleh gambar (b) MD plot yang menunjukkan sebaran gen sangat banyak pada ekspresi menengah sampai tinggi. UMAP plot (c) menunjukkan ada dua kelompok atau *cluster* terpisah, yaitu NCC dan CCC yang tidak mengalami *overlap* yang berarti kedua cluster memiliki perbedaan biologi yang sangat jelas antara sel normal dengan sel kanker. Diagram venn (d) menunjukkan terdapat 15.286 gen yang tidak signifikan dan 6.992 gen signifikan. Diagram box plot (e) menunjukkan semua sampel hampir pada garis tengah yang sejajar, yang berarti data sudah ternormalisasi dengan baik. Dari diagram-diagram tersebut dapat disimpulkan data yang diperoleh sangat baik dan dapat dianalisis lebih lanjut.

Pola DEG yang konsisten antar replikasi ditambah dengan pembagian kelompok sampel yang jelas menunjukkan perubahan transkripsi yang sangat luas mengindikasikan ekspresi gen tumor yang spesifik pada kanker serviks. Dominansi gen yang mengalami *up*-regulasi menunjukkan peningkatan proliferasi sel dan *signaling*, sedangkan gen yang mengalami *down*-regulasi kemungkinan mengalami kehilangan aktivitas normal akibat jalur penekanan sel tumor.

Kesimpulan

Kanker serviks pada dataset GSE9750 mengalami perubahan transkriptom luas dengan dominasi aktivasi gen terkait proliferasi sel dan remodeling jaringan, serta penurunan ekspresi gen supresor tumor tertentu. Pola ini konsisten dengan mekanisme molekuler tumorigenesis yang dimediasi oleh infeksi HPV dan disregulasi siklus sel.