



# Implikasi Hipermetilasi Gen MGMT di Kanker Otak: Contoh Aplikasi Farmakogenomik

Ahmad R. Utomo, Ferry Sandra

Stem Cell and Cancer Institute, Kalbe Farma Pharmaceutical Company  
Jakarta 13210, Indonesia

## ABSTRAK

Farmakogenomik bertujuan untuk mengoptimasi strategi pengobatan dengan memperhatikan faktor genetik dan epigenetik pasien. Hipermetilasi promotor adalah proses epigenetik yang menghambat ekspresi gen. Hipermetilasi gen MGMT terjadi di sekitar 30-40% pasien glioblastoma. Tindakan bedah yang diikuti dengan kombinasi obat Temozolomide (obat sitotoksik yang meng-alkilasi DNA) dan terapi radiasi merupakan strategi terbaik saat ini untuk pasien glioblastoma. Lebih dari itu, pasien yang mengalami hipermetilasi MGMT memiliki respon yang lebih baik dan median kelangsungan hidup yang lebih lama dibanding dengan pasien yang tidak mengalami hipermetilasi. Menariknya, lebih dari 70% pasien yang masih hidup selama 3 tahun atau lebih ternyata mengalami hipermetilasi di gen MGMT. Maka, hipermetilasi di promotor gen MGMT adalah faktor prediktif yang positif dan menjadi paradigma untuk kemoterapi kanker di masa depan.

*Kata-kata kunci: hipermetilasi, glioblastoma, temozolomide, farmakogenomik*  
*Abbreviations: MGMT: O6-methylguanine (O6-MG)-DNA-methyltransferase*

## PENDAHULUAN

Pengobatan kanker hingga sekarang masih merupakan tantangan. Fatalnya efek samping (*Adverse Drug Reaction/ADR*) zat kemoterapi dan timbulnya resistensi atau tidak responnya pasien terhadap kemoterapi adalah gambaran kompleksitas strategi terapi dalam melawan kanker<sup>(1)</sup>. Secara tradisional, faktor genetik pasien belum menjadi parameter yang dipertimbangkan dalam memilih jenis pengobatan kanker<sup>(2)</sup>. Parameter yang umum digunakan dalam pemilihan dan pemberian dosis kemoterapi adalah jenis tumor, karakter patologi/histologi, tahapan klinis, umur, berat badan dan luas permukaan tubuh<sup>(2,3)</sup>.

Namun parameter tradisional tersebut tidak bisa menjelaskan mengapa respon pasien dan kanker pasien terhadap kemoterapi berbeda-beda, walaupun memiliki parameter yang sama. Pengetahuan biologi molekuler modern menunjukkan bahwa faktor genetik seseorang dan status genetik di kanker pasien itu sendiri memiliki peran penting dalam menentukan keberhasilan kemoterapi yang maksimal dan yang memberikan efek samping minimal. Maka salah satu cabang ilmu dalam era paska genomik yang mempelajari interaksi genetik dengan pengobatan/farmakologi adalah Farmakogenomik<sup>(1)</sup>.

## DEFINISI FARMAKOGENOMIK

Farmakogenomik diartikan sebagai "individualisasi pengobatan melalui seleksi jenis obat atau dosis obat tertentu yang didasarkan kepada tes profil genetika seseorang terhadap efek obat baik secara langsung (tes genotip) atau tidak langsung (tes fenotip)"<sup>(4)</sup>. Dengan demikian aplikasi farmakogenomik bertujuan untuk mengoptimalkan toksisitas obat terhadap kanker dan mengurangi efek samping. Dengan kata lain, status genetik dari pasien dan dari kanker di tubuh pasien dianalisis terlebih dahulu guna menyeleksi jenis, dosis, dan strategi yang optimal sebelum kemoterapi dimulai.

Untuk jenis kanker tertentu seperti kanker payudara atau kanker paru-paru, prinsip farmakogenomik sudah mulai diterapkan dengan mendeteksi status ekspresi *Estrogen Receptor* (ER), amplifikasi gen *Her2/neu*, atau mutasi gen *EGFR* sebelum pengobatan dengan Tamoxifen, Trastuzumab (antibodi melawan Her2) atau Iressa (antibodi melawan EGFR)<sup>(4)</sup>. Artinya, pasien yang jaringan kankernya tidak mengekspresikan amplifikasi gen Her2 atau tidak mengalami mutasi di EGFR di permukaan selnya tentu saja bukan kandidat yang tepat. Di samping mengoptimalkan kinerja jenis obat-obat yang berbasis antibodi dalam melawan kanker, farmakogenomik juga memberikan kontribusi dengan mengoptimalkan kemoterapi konvensional yang sudah ada<sup>(2)</sup>. Dalam rentang 5 tahun terakhir, aplikasi farmakogenomik mulai terlihat dalam perawatan penderita kanker glioblastoma.



## Glioblastoma dan Mekanisme Resistensi dengan gen DNA Repair

Glioblastoma adalah jenis kanker yang sulit dideteksi dini. Prognosis kanker glioblastoma sangat buruk; mayoritas penderitanya meninggal sekitar 2 tahun setelah diagnosis<sup>(5)</sup>. Faktor prognosis, yaitu parameter yang bisa memperkirakan laju perkembangan kanker, adalah umur, nekrosis, dan skor *Karnofsky Performance Status* (KPS)<sup>(5-7)</sup>. Mengenai umur, 50% pasien yang berumur dibawah 40 tahun bisa hidup selama 18 bulan, 20% untuk pasien berumur antara 40-60 tahun, dan hanya 10% bagi pasien di atas 60 tahun<sup>(5)</sup>. Keberadaan nekrosis memberikan prognosis buruk terhadap nasib penderita. Nekrosis yang mencapai 50% atau lebih dari volume kanker, memberi kemungkinan untuk bertahan hidup selama 10 bulan saja<sup>(7)</sup>. Selanjutnya, makin tinggi skor KPS, makin baik prognosis pasien. Tingkat kelangsungan hidup pasien dengan skor KPS di atas 70 adalah 34% dan di bawah 70 adalah 13% untuk bertahan hidup selama 18 bulan<sup>(5)</sup>.

Hingga saat ini standar pengobatan terbaik konvensional adalah tindakan bedah dengan *resection* atau mengambil jaringan kanker sebanyak mungkin, diikuti oleh radioterapi dan/atau kemoterapi<sup>(8)</sup>. Standar ini lahir dari hasil uji klinis secara acak melibatkan sekitar 600 pasien dari berbagai pusat di Eropa yang menunjukkan bahwa pasien bedah yang diikuti oleh gabungan radioterapi dengan kemoterapi (temozolomide) memiliki respon yang lebih baik dibanding dengan radioterapi saja. Tingkat kelangsungan hidup selama 2 tahun adalah 10% untuk pasien dengan radioterapi, dan 26% untuk pasien yang mendapatkan kombinasi radioterapi dan kemoterapi (dengan temozolomide). Namun demikian, tingkat kelangsungan hidup secara keseluruhan belum banyak berubah, kurang dari 5% penderita masih bertahan setelah 5 tahun<sup>(8)</sup>.

Temozolomide, sebagaimana mayoritas zat kemoterapi lainnya, adalah zat bersifat *genotoxic* (merusak DNA) sekaligus *cytotoxic* (penyebab kematian sel)<sup>(9)</sup>. Cara kerja Temozolomide adalah dengan meng-alkilasi DNA di posisi oksigen yang ke-6 (O6) dari gugus guanidine, sehingga menghasilkan alkilasi guanidine atau O6-meG. Contoh lain zat kemoterapi yang mengalkilasi DNA adalah nitrosourea (seperti BCNU atau carmustine), procarbazine, dan streptozotocin<sup>(9)</sup>. Terbentuknya gugus O6-meG ini dikenali dan diperbaiki menjadi gugus guanidine kembali oleh enzim MGMT (O6 methylguanine DNA methyltransferase)<sup>(9)</sup>.

Normalnya, gugus guanine berpasangan dengan gugus cytosine. Apabila gugus O6-meG ini tidak diperbaiki, maka ia akan berpasangan dengan gugus thymine. Berpasangannya gugus O6-meG (yang mirip dengan gugus aslinya yaitu guanidine) dengan thymine akan merusak struktur helix dari DNA. Struktur ini akan terdeteksi sebagai pasangan yang *mismatch* (tidak sepadan) dan akan diperbaiki oleh sekelompok gen dari jenis *Mismatch Repair* (MMR)<sup>(9)</sup>.

Ketika gen MMR gagal memperbaiki lesi *mismatch* tersebut, ia akan mengaktifkan proses apoptosis (kematian sel) sehingga terjadilah *cytotoxicity*. Terjadinya apoptosis ini bertujuan agar sel yang memiliki potensi perubahan genetik bisa tereliminasi secara alami sehingga mengurangi kemungkinan tercetusnya kanker. Kegagalan MMR dalam memperbaiki lesi bisa terjadi apabila gen MGMT yang bertugas mengenali O6-meG dan menggantikannya dengan Guanine tidak melakukan tugasnya dengan baik<sup>(9)</sup>.

Studi *in vitro* menunjukkan bahwa sel yang tidak memiliki ekspresi gen MGMT memiliki sensitifitas yang tinggi ketika dipaparkan dengan zat kemoterapi yang meng-alkilasi DNA<sup>(10)</sup>. Di lain pihak, sel yang memiliki ekspresi gen MGMT secara normal atau lebih, akan memiliki resistensi terhadap zat DNA alkilasi tersebut. Maka, salah satu mekanisme resistensi sel kanker terhadap kemoterapi adalah dengan mengekspresikan gen MGMT. Di samping itu, sel kanker yang sudah tidak lagi memiliki gen MGMT juga akan menjadi resisten terhadap akibat *cytotoxicity* apabila ia juga kehilangan ekspresi gen MMR<sup>(11)</sup>. Hilangnya fungsi gen MGMT dan MMR sekaligus memberikan efek yang lebih hebat dalam pertumbuhan kanker karena ia memberikan kemudahan dalam memutasi gen-gen lainnya, sehingga bisa menjadi jenis kanker yang lebih ganas<sup>(12)</sup>. Hal-hal seperti ini menjadi dasar pertimbangan dalam farmakogenomik : status genetik dari kanker itu sendiri perlu dijadikan pertimbangan dalam pemilihan dan penetapan strategi kemoterapi.

## Korelasi hipermetilasi gen MGMT dengan respon terhadap temozolomide

Sejak ditemukannya fenomena hipermetilasi DNA<sup>(13)</sup>, beberapa gen yang penting dalam metabolisme sel, perbaikan DNA, atau pencetusan kanker dievaluasi daerah promotornya untuk dilihat kadar hipermetilasi di daerah tersebut<sup>(12)</sup>. Beberapa laporan menunjukkan bahwa gen MGMT terhipermetilasi di daerah promotornya sehingga menghambat ekspresi gen tersebut. Frekuensi hipermetilasi di gen MGMT terjadi di berbagai jenis kanker, termasuk di sekitar 30-40% pasien glioblastoma, kolorektal, nasofaring, dan rahim. Di sisi lain, jenis kanker seperti payudara, ovarium, endometrium, hati dan pankreas jarang mengalami hipermetilasi di gen MGMT<sup>(12)</sup>.

Konsekuensi dari hipermetilasi gen MGMT ternyata memiliki dampak klinis yang bermakna dalam kemoterapi. Di tahun 2000, tim yang dipimpin James Herman di sekolah kedokteran Johns Hopkins, AS menganalisis secara retrospektif hipermetilasi gen MGMT dari 47 sampel kanker otak dari pasien, sebelum mereka menjalani tindakan bedah yang diikuti dengan radiasi dan kemoterapi dengan Temozolomide<sup>(14)</sup>. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hipermetilasi promoter gen MGMT terjadi di 40% dari pasien. Persentase hipermetilasi ini tidak dipengaruhi oleh umur, skor KPS dan tingkat keganasan kanker. Dalam analisis univariasi, adanya hipermetilasi berkorelasi dengan respons klinis dan tingkat kelangsungan hidup (*Overall Survival*).



Waktu median kelangsungan hidup pasien yang memiliki hipermetilasi dan yang tidak mengalami hipermetilasi adalah 21 bulan dan 8 bulan. Lebih jauh lagi, 63% dari pasien yang mengalami hipermetilasi memiliki respon parsial atau seluruhnya terhadap kemoterapi, dibandingkan dengan hanya 1% dari pasien yang tidak memiliki hipermetilasi<sup>(14)</sup>.

Fungsi hipermetilasi gen MGMT sebagai faktor prediktif terhadap respon pasien terhadap standar terapi glioblastoma terulang secara prinsip oleh grup di Eropa yang melibatkan 206 pasien glioblastoma<sup>(15)</sup>. Hipermetilasi promotor gen MGMT terjadi di sekitar 45% pasien. Pasien yang mengalami hipermetilasi di gen MGMT mendapatkan median tingkat kelangsungan hidup selama 22 bulan dengan tingkat respon 46% untuk 2-tahun ketika dirawat dengan radioterapi dan kemoterapi, dibanding dengan 15 bulan dan tingkat respon 23% untuk 2-tahun di pasien yang dirawat dengan radioterapi saja. Dengan demikian pasien yang mengalami hipermetilasi di promotor gen MGMT mendapatkan keuntungan ketika dirawat dengan kemoterapi Temozolomide. Menariknya lagi, pasien yang masih hidup setelah 3 tahun, 74% dari mereka memiliki MGMT hipermetilasi<sup>(16)</sup>.

### Metoda deteksi hipermetilasi MGMT

Meski secara prinsip hipermetilasi gen MGMT berbanding lurus dengan tingkat ekspresi gen MGMT, jenis pemeriksaan gen MGMT untuk menimbang manfaat yang akan diterima pasien sebelum kemoterapi dengan temozolomide adalah penting<sup>(17)</sup>. Hipermetilasi mengakibatkan hambatan ekspresi gen MGMT sehingga membuat sel kanker menjadi sensitif terhadap paparan temozolomide<sup>(11)</sup>. Akibatnya ekspresi gen MGMT dalam bentuk protein yang biasanya dideteksi dengan metoda imunohistokimia pun bisa berkurang di sel yang mengalami hipermetilasi di promotornya. Akan tetapi sinyal protein MGMT yang terlihat dengan metoda imunohistokimia (teknik umum di laboratorium patologi anatomi pada umumnya) bisa berasal dari sel non-kanker, seperti sel leukosit<sup>(17)</sup>. Maka teknik PCR (*polymerase-chain reaction*) adalah teknik yang lebih akurat karena ia hanya mendeteksi adanya hipermetilasi di sel kanker (di mana hipermetilasi gen MGMT tidak ditemukan di sel normal), suatu bentuk sinyal yang tidak bisa dibedakan dengan teknik imunohistokimia<sup>(17)</sup>.

### Molekul penghambat MGMT

Dalam kondisi alternatif pengobatan terhadap glioblastoma sangat terbatas, timbul pertanyaan apakah pasien yang gen MGMT-nya tidak termetilasi, tidak perlu diberi temozolomide atau kehilangan harapan untuk perbaikan? Saat ini beberapa uji klinis sedang dilakukan untuk menghambat ekspresi gen MGMT dengan memberikan molekul kecil O6-Benzylguanine (O6-BG)<sup>(18)</sup>. O6-BG bekerja dengan menon-aktifkan protein MGMT dengan mengikat daerah aktif protein MGMT tersebut dan berkompetisi terhadap lesi O6-MeG<sup>(18)</sup>. Maka pasien yang awalnya mengekspresikan gen MGMT diharapkan akan juga menjadi sensitif terhadap kemoterapi yang menggunakan Temozolomide, sebagaimana pasien yang mengalami hipermetilasi gen MGMT<sup>(11)</sup>.

Dengan bertambah dalamnya pengetahuan tentang kinerja genetik yang berkaitan dengan timbulnya kanker, beberapa strategi kemoterapi muncul dengan memanfaatkan kombinasi berbagai obat. Promotor dari gen PTEN, misalnya, juga sering terhipermetilasi dengan frekuensi sekitar 35%<sup>(19)</sup>. Beberapa uji praklinis<sup>(20)</sup> telah memberikan gambaran bahwa sel yang kehilangan fungsi PTEN memiliki sensitifitas yang khas terhadap Rapamycin. Dengan demikian, kombinasi Rapamycin dengan temozolomide bisa digunakan untuk pasien glioblastoma yang memiliki hipermetilasi di gen MGMT dan PTEN.

### PROSPEK MASA DEPAN

Untuk saat ini, uji prospektif klinis masih sangat diperlukan untuk memvalidasi efektifitas farmakogenomik sehingga bisa menjadi praktik yang bisa diadopsi secara meluas. Maka di samping parameter klinis dan histologis, masa depan pemeriksaan glioblastoma khususnya, dan kanker pada umumnya akan juga melibatkan parameter genetik secara rutin untuk melihat profil beberapa gen di saat yang bersamaan dan menentukan kombinasi terapi yang optimal.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Phillips K, Veenstra D, Oren E, Lee J, Sadew W. Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions: a systematic review. *JAMA* 2001;286: 2270-79.
2. Weinstein J. Teaching Old Drugs New Tricks. *N Engl J Med.* 2000;343: 1408-1409
3. Ezzeldin H, Diasio R. Genetic Testing in Cancer Therapeutics. *Clin Cancer Res.* 2006;12: 4137-41.
4. Swen JJ, Huizinga TW, Gelderblom H, de Vries EGE, Assendelft WJJ, Kirchheiner J, Guchelaar H-J. Translating Pharmacogenomics: Challenges on the Road to the Clinic. *PLoS Medicine* 2007;4: e209
5. Grossman S, Batara J. Current management of glioblastoma multiforme. *Semin Oncol.* 2004;31: 635-4
6. Ohgaki H, Kleihues P. Epidemiology and etiology of gliomas. *Acta Neuropathologica* 2005; 109: 93-108.
7. Raza S, Lang F, Aggarwal B, Fuller G, Wildrick D, Sawaya R. Necrosis and glioblastoma: a friend or a foe? A review and a hypothesis. *Neurosurgery* 2002;51: 2-12.
8. Stupp R, Hegi ME, Gilbert MR, Chakravarti A. Chemoradiotherapy in Malignant Glioma: Standard of Care and Future Directions. *J Clin Oncol.* 2007;25: 4127-36.
9. Kaina B, Christmann M, Naumann S, Roos W. MGMT: key node in the battle against genotoxicity, carcinogenicity and apoptosis induced by alkylating agents. *DNA Repair (Amst).* 2007;6: 1079-99 .
10. Gerson S. Clinical relevance of MGMT in the treatment of cancer. *J Clin Oncol.* 2002;20: 2388-99.
11. Liu L, Gerson SL. Targeted Modulation of MGMT: Clinical Implications. *Clin Cancer Res.* 2006; 12: 328-31.
12. Esteller M, Herman J. Generating mutations but providing chemosensitivity: the role of O6-methylguanine DNA methyltransferase in human cancer. *Oncogene* 2004; 23: 1-8.
13. Herman J, Baylin S. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N Engl J Med.* 2003;349: 2042-2054.
14. Esteller M, Garcia-Foncillas J, Andion E, Goodman SN, Hidalgo OF, Vanadocha V, Baylin SB, Herman JG. Inactivation of the DNA-Repair Gene MGMT and the Clinical Response of Gliomas to Alkylating Agents. *N Engl J Med.* 2000; 343: 1350-54.
15. Hegi ME, Diserens A-C, Gorlia T, Hamou M-F, de Tribolet N, Weller M, Kros JM, Hainfellner JA, Mason W, Mariani L, Bromberg JEC, Hau P, Mirimanoff RO, Cairncross JG, Janzer RC, Stupp R. MGMT Gene Silencing and Benefit from Temozolomide in Glioblastoma. *N Engl J Med.* 2005;352: 997-1003.
16. Krex D, Klink B, Hartmann C, von Deimling A, Pietsch T, Simon M, Sabel M, Steinbach JP, Heese O, Reifenberger G, Weller M, Schackert G, for the German Glioma Network. Long-term survival with glioblastoma multiforme. *Brain* 2007;130: 2596-2606
17. Stupp R, Hegi ME. Methylguanine Methyltransferase Testing in Glioblastoma: When and How? *J Clin Oncol.* 2007; 25: 1459-1460.
18. Rabik C, Njoku M, Dolan M. Inactivation of O6-alkylguanine DNA alkyltransferase as a means to enhance chemotherapy. *Cancer Treat Rev.* 2006;32: 261-276.
19. Baeza N, Weller M, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. PTEN methylation and expression in glioblastomas. *Acta Neuropathologica* 2003;106: 479-485.
20. Wang MY, Lu KV, Zhu S, Dia EQ, Vivanco I, Shackelford GM, Cavenee W. K, Mellinger IK, Cloughesy TF, Sawyers CL, Mischel PS. Mammalian Target of Rapamycin Inhibition Promotes Response to Epidermal Growth Factor Receptor Kinase Inhibitors in PTEN-Deficient and PTEN-Intact Glioblastoma Cells. *CAN-04-4392. Cancer Res.* 2006;66: 7864-69