

Penyakit yang Berhubungan dengan Penghambatan Apoptosis

Rochman Naim

Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor, Jawa Barat, Indonesia

Pada makhluk hidup multiseluler, homeostasis dipertahankan melalui keseimbangan antara proliferasi/perkembangan sel dan kematian sel. Dengan ketiadaan perubahan dalam laju proliferasi sel, perubahan dalam laju kematian sel dapat mengakibatkan terjadinya akumulasi atau kehilangan sel. Akumulasi sel terjadi bila laju kematian sel lebih rendah dibanding proliferasi sel, sebaliknya bila laju kematian sel lebih besar maka kehilangan sel akan terjadi.

Walaupun telah banyak diketahui tentang kontrol dari proliferasi sel, kontrol dari kematian sel masih sangat sedikit diketahui dan masih terus dipelajari. Kematian sel secara fisiologik terjadi terutama melalui bentuk kematian sel yang disebut dengan apoptosis. Keputusan dari suatu sel mengalami apoptosis dapat dipengaruhi oleh sejumlah rangsangan dari luar sel.

Kegagalan sel untuk mengalami kematian sel apoptotik mungkin melibatkan patogenesis dari sejumlah penyakit manusia yang meliputi penyakit-penyakit yang dikarakterisasi dengan terjadinya akumulasi sel, yaitu kanker, penyakit autoimun, dan penyakit viral tertentu. Akumulasi sel dapat berasal dari proliferasi sel yang meningkat atau kegagalan sel untuk melakukan proses apoptosis terhadap rangsangan yang sesuai. Walaupun banyak perhatian telah difokuskan pada peran potensial dari proliferasi sel pada penyakit-penyakit di atas, makin banyak bukti yang menunjukkan bahwa perubahan-perubahan dalam kontrol sel yang dapat bertahan hidup merupakan hal yang penting dalam patogenesis penyakit di atas yang disebut juga dengan penyakit proliferasi.

KEMATIAN SEL DALAM KANKER

Sel-sel dari sejumlah tumor ganas (*malignancy*) pada manusia memiliki kemampuan yang menurun untuk mengalami apoptosis dalam responnya terhadap beberapa rangsangan fisiologik⁽¹⁾. Hal ini lebih terlihat pada tumor-tumor yang bersifat metastatik. Kebanyakan sel normal tergantung pada faktor-faktor spesifik lingkungannya untuk mempertahankan viabilitasnya⁽²⁾. Ketergantungan ini yang mungkin mencegah

sel normal untuk dapat bertahan hidup pada lingkungan non-fisiologiknya. Sel-sel tumor metastatik dapat menghindari mekanisme homeostatik ini dan dapat bertahan hidup pada lingkungan yang berbeda dengan lingkungan/jaringan tempat mereka berkembang. Untuk melakukan proses ini, sel-sel tumor harus meningkatkan kemampuannya untuk tidak terikat/tergantung dari faktor-faktor bertahan hidup yang membatasi distribusinya. Kemajuan yang telah dicapai saat ini telah membuka basis molekuler tentang peningkatan resistensi sel tumor terhadap apoptosis, dan beberapa gen yang kritikal dalam regulasi apoptosis telah diketahui.

Gen *BCL2* ditemukan pertama kali lokasinya pada sisi translokasi antara kromosom 14 dan 18, dan berada dalam kebanyakan limfoma folikuler manusia⁽³⁾. Sebagai suatu *oncogene*, pada awalnya *BCL2* ditemukan memiliki sedikit atau tidak ada kemampuan untuk meningkatkan progresi siklus sel atau proliferasi sel. Namun, terjadinya overekspresi dari *BCL2* secara spesifik menghambat sel untuk mengalami apoptosis dalam responnya terhadap sejumlah rangsangan⁽⁴⁾. Lebih lanjut, introduksi gen yang menghambat fungsi *BCL2* dapat menginduksi apoptosis pada sejumlah tipe tumor. Hal ini telah menghantarkan pada suatu hipotesis bahwa kebanyakan tumor secara kontinyu bersandar pada produk gen *BCL2* atau gen yang berhubungan dengan *BCL2* untuk mencegah kematian sel. Sesuai dengan hipotesis ini, ekspresi *BCL2* telah berhubungan dengan prognosis yang buruk pada kanker prostat, kanker kolon, dan neuroblastoma⁽⁵⁾.

Gen *BCL2* merupakan salah satu dari sejumlah gen yang dapat mengontrol proses awal apoptosis suatu sel⁽⁶⁾. Pada sel tumor yang dikultur, overekspresi *BCL2* atau gen yang berhubungan ditemukan mendukung resistensi sel terhadap kematian dalam responnya terhadap agen kemoterapeutika seperti *cytosine arabinoside*, *methotrexate*, *vincristine*, dan *cisplatin*⁽⁷⁾. Penemuan ini telah memberi gambaran baru karena agen kemoterapi pada awalnya diduga membunuh sel dengan menginduksi kerusakan metabolik yang *irreversible* yang berakibat kematian nekrosis sel target. Saat ini terlihat bahwa mekanisme primer kebanyakan agen kemoterapeutika dalam

menginduksi kematian sel terjadi melalui penyimpangan fisiologi seluler yang berakibat terinduksinya apoptosis. Hal ini sesuai dengan penemuan bahwa overekspresi *BCL2* atau gen yang berhubungan secara *in-vitro* dapat mengakibatkan fenotipe resistensi *multidrug*.

Sejumlah agen kemoterapeutika bekerja dengan cara menginduksi kerusakan DNA. Kematian sel dalam responnya terhadap kerusakan DNA pada banyak kasus merupakan akibat dari apoptosis. Produk gen *p53* dibutuhkan oleh sel untuk menginduksi apoptosis dalam responnya terhadap kerusakan genotoksik⁽⁸⁾. Hal ini terlihat pada tumor yang tidak memiliki gen *p53* ternyata tidak dapat mengalami apoptosis dalam responnya terhadap kerusakan DNA yang diinduksi oleh agen kemoterapeutika dan radiasi⁽⁹⁾. Sel-sel yang tidak dapat mengalami apoptosis dalam responnya terhadap kerusakan DNA mungkin lebih cenderung untuk memperoleh penyimpangan genetik dibanding sel yang normal. Kesalahan atau kekeliruan dalam “perbaikan” DNA yang rusak dapat berkontribusi terhadap laju mutasi yang tinggi yang telah diobservasi pada banyak kasus kanker manusia.

Tumor promoter seperti *phorbol myristate acetate* (PMA) dan *alpha-hexachlorocyclo-hexane* dapat bertindak sebagai faktor spesifik untuk bertahan hidup bagi sel-sel yang memperlihatkan perkembangan tumor⁽¹⁰⁾. Hal ini menunjukkan bahwa penghambatan apoptosis merupakan hal yang lebih penting dalam perkembangan tumor ganas.

KEMATIAN SEL DAN AUTOIMUNITAS

Regulasi fisiologik dari kematian sel merupakan hal esensial untuk “pemusnahan” limfosit yang secara potensial autoreaktif dalam perkembangannya dan untuk “pemusnahan” sel-sel yang berlebih setelah selesainya respon imun. Kegagalan memusnahkan sel autoimun yang meningkat selama perkembangan atau yang berkembang sebagai hasil mutasi somatik selama respon imun dapat mengakibatkan penyakit autoimun. Hasil pada hewan model telah mendemonstrasikan pentingnya disregulasi apoptosis dalam etiologi penyakit autoimun. Sebagai contoh, satu molekul yang penting dalam regulasi kematian sel pada limfosit adalah reseptor permukaan sel yang dikenal dengan nama Fas, anggota dari famili reseptor *tumor necrosis factor* (TNF)⁽¹¹⁾. Stimulasi Fas pada limfosit yang teraktivasi dapat menginduksi apoptosis. Dua bentuk dari penyakit autoimun yang bersifat hereditas berhubungan dengan apoptosis berperantara Fas (*Fas-mediated apoptosis*)⁽¹²⁾. Mencit (*mouse*) strain MRL-lpr, yang memperlihatkan *systemic lupus erythematosus* yang fatal pada umur 6 bulan, memiliki suatu mutasi pada reseptor Fas. Sebaliknya, mencit strain GLD, yang memperlihatkan penyakit yang mirip, memiliki suatu mutasi pada *Fas ligand*⁽¹²⁾. Pada manusia telah diidentifikasi adanya bentuk Fas yang disekresikan⁽¹³⁾. Pasien *systemic lupus erythematosus* memiliki level Fas *soluble* yang meningkat, yang mungkin secara kompetitif menghambat interaksi *Fas ligand-Fas*. Akibatnya akan terjadi penurunan apoptosis berperantara Fas yang akan mendukung akumulasi sel-sel autoimun pada penyakit tersebut di atas. Penyakit autoimun mirip lupus yang juga dilaporkan pada mencit

transgenik memperlihatkan adanya overekspresi *BCL2* pada sel-sel B-nya⁽¹⁴⁾. Mencit strain nonobese diabetik (NOD) memperlihatkan adanya hubungan antara lokus *BCL2* dan diabetes autoimun⁽¹⁵⁾.

Investigasi terhadap peran apoptosis dalam perkembangan penyakit autoimun pada manusia seperti *systemic lupus erythematosus*, *rheumatoid arthritis*, *psoriasis*, dan *autoimmune diabetes mellitus* mulai meningkat. Perubahan kepekaan limfosit terhadap kematian apoptosis secara *in vitro* telah dilaporkan pada beberapa penyakit di atas⁽¹⁶⁾.

KEMATIAN SEL DALAM INFEKSI VIRAL

Kerusakan fisiologi sel sebagai akibat infeksi virus dapat menyebabkan sel yang terinfeksi mengalami apoptosis. Kematian sel yang terinfeksi mungkin digambarkan sebagai suatu mekanisme pertahanan seluler untuk mencegah propagasi virus. Sel T sitotoksik juga beraksi untuk mencegah penyebaran virus dengan mengenal dan membunuh sel-sel yang mengandung peptida viral dalam kaitannya dengan molekul kelas I dari kompleks histokompatibilitas utama permukaan sel⁽¹⁷⁾. Sel T dapat menginduksi kematian sel dengan aktivasi program endogen kematian sel dari sel target. Sel T sitotoksik menginduksi apoptosis dengan aktivasi reseptor Fas pada permukaan sel target atau dengan introduksi protease seperti *granzyme B* yang mengaktivasi apoptosis dari dalam sitoplasma sel target⁽¹⁸⁾.

Untuk menghindari sistem pertahanan *host*, sejumlah virus telah mengembangkan mekanisme untuk merusak regulasi normal apoptosis dalam sel yang terinfeksi. Sebagai contoh infeksi adenoviral yang efektif tergantung pada fungsi protein E1B dengan berat molekul 19 kDa⁽¹⁹⁾. Protein ini telah memperlihatkan penghambatan secara langsung apoptosis, dan fungsinya pada adenovirus dapat digantikan oleh *BCL2*. Sekuens primer dan analisis mutasional menunjukkan bahwa ada kemiripan struktural di antara kedua gen *E1B* dan *BCL2*⁽²⁰⁾. Gen *BHRF1* dari virus *Epstein-Barr* dan gen *LMW5-HL* dari virus *African swine fever* memiliki sekuens dan fungsi yang mirip dengan *BCL2*⁽²¹⁾.

Gen viral lainnya yang tidak memiliki kemiripan dengan *BCL2* dapat juga menghambat apoptosis. Sebagai contoh gen *p35* dan *inhibitor of apoptosis gene* (IAP) yang ditemukan pada *baculovirus* dapat menghambat apoptosis dalam responnya terhadap sejumlah rangsangan⁽²²⁾. Kemampuan *p35* untuk menghambat apoptosis tidak tergantung pada ekspresi protein viral lainnya. Virus *pox* terlihat menghambat apoptosis dengan memproduksi *inhibitor* molekul efektor kematian *interleukin-1 β -converting enzyme* (ICE). ICE merupakan suatu *cysteine protease* yang berhubungan erat dengan protein yang dikode oleh gen kematian sel *ced3* pada cacing *Caenorhabditis elegans*. Produk gen *ced3* dibutuhkan oleh sel untuk mengalami apoptosis selama perkembangan dalam *C. elegans*⁽²³⁾. Gen *crmA* dari virus *cowpox* berfungsi sebagai *inhibitor* ICE⁽²⁴⁾. Gen *crmA* dapat menghambat apoptosis dalam responnya terhadap sejumlah rangsangan dan juga dibutuhkan untuk menghambat perkembangan respon inflamatorik terhadap sel-sel yang terinfeksi virus *cowpox*^(24,25).

Pencegahan apoptosis juga penting untuk pembentukan *viral latency*. Virus *Epstein-Barr* membentuk infeksi laten pada sel-sel B. Gen viral *LMP-1* yang diproduksi selama infeksi laten secara spesifik meregulasi *upstream* ekspresi *BCL2*, yang secara potensial mengakibatkan sel yang terinfeksi laten bertahan hidup⁽²⁶⁾. Infeksi kronis dari virus *Sindbis* juga telah dilaporkan tergantung pada ekspresi *BCL2* sel host⁽²⁷⁾.

Inhibitor-inhibitor Apoptosis		
Inhibitor fisiologik	Gen-gen viral	Agen farmakologik
1. Faktor pertumbuhan ekstraseluler	1. <i>Adenovirus E1B</i>	1. <i>Inhibitor calpain</i>
2. Matriks	2. <i>Baculovirus p35</i>	2. <i>Inhibitor cysteine protease</i>
3. Ligand CD40	3. <i>Baculovirus IAP</i>	3. <i>Tumor promoter: PMA, fenobarbital, alfa hexachloro-cyclohexane</i>
4. Asam amino netral	4. <i>Cowpox virus crmA</i>	
5. Zinc	5. <i>Epstein-Barr virus BHRF1, LMP-1</i>	
6. Estrogen	6. <i>African swine fever virus LMW5-HL</i>	
7. Androgen	7. <i>Herpesvirus ν1 34.5</i>	

Penyakit-penyakit Penghambat Apoptosis
1. Kanker: <i>follicular lymphomas, carcinoma</i> dengan mutasi <i>p53</i> , <i>hormone-dependent tumor (breast cancer, prostate cancer, ovarian cancer)</i>
2. Penyakit autoimun: <i>systemic lupus erythematosus, immune-mediated glomerulonephritis</i>
3. Infeksi viral: <i>herpesvirus, poxvirus, adenovirus</i>

KEPUSTAKAAN

- Hoffman B, Liebermann DA. *Oncogene* 1994; 9: 1807.
- Boudreau N, Sympson CJ, Werb Z, Bissel MJ. *Science* 1995; 267: 891.
- Tsujimoto Y, Gorham J, Cossman J, Jaffe E, Croce CM. *Science* 1985; 229: 1390.
- Hockenbery DM, Oltvai ZN, Yin XM, Milliman CL, Korsmeyer SJ. 1993. *Cell* 75: 241.
- Hague A, Moorghen M, Hicks D, Chapman M, Paraskeva C. *Oncogene* 1994; 9: 3367.
- Oltvai ZN, Milliman CL, Korsmeyer SJ. *Cell* 1993; 74: 609.
- Miyashita T, Reed JC. *Blood* 1993; 81: 151.
- Lowe SW, Schmitt EM, Smith SW, Osborne BA, Jacks T. *Nature* 1993; 362: 847.
- Lowe SW et al. *Science* 1994; 266: 807.
- Bursch W et al. *Carcinogenesis* 1990; 11: 847.
- Watanabe-Fukunaga R, Brannan CI, Copeland NG, Jenkins NA, Nagata S. *Nature* 1992; 356: 314.
- Suda T, Takahashi T, Golstein P, Nagata S. *Cell* 1993; 75: 1169.
- Cheng J et al. *Science* 1994; 263: 1759.
- Strasser A et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 8661.
- Garchon HJ, Luan JJ, Eloy L, Bedossa P, Bach JF. *Eur J Immunol*. 1994; 24: 380.
- Emlen W, Niebur J, Kadera R. *J Immunol*. 1994; 152: 3685.
- Henkart PA. *Immunity* 1994; 1: 343.
- Kagi D et al. *Science* 1994; 265: 528.
- Rao L. et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89: 7742.
- Boyd JM et al. *Cell* 1994; 79: 341.
- Neilan JG et al. *J Virol*. 1993 ; 67: 4391.
- Sugimoto A, Friesen PD, Rothman JH. *EMBO J*. 1994; 13: 2023.
- Miura M, Zhu H, Rotello R, Hartweg EA, Yuan J. *Cell* 1993; 75: 653.
- Ray CA et al. *Cell* 1992; 69: 597.
- Gagliardini V et al. *Science* 1994; 263: 826.
- Henderson S et al. *Cell* 1991; 65: 1107.
- Levine B et al.. *Nature* 1993; 361: 739.

*Good books, like good friends, are few and chosen ;
the more select, the more enjoyable*
(AB Alcott)