



Pemendekan Telomer Pada Penderita Diabetes Melitus (DM)

Telomere Shortening In Patients With Diabetes Melitus (DM)

M Syamsul Mustofa

Department of Biology, Faculty of Medicine, YARSI University, Jakarta

KATA KUNCI *Diabetes Melitus; Telomer; Telomerase; Stres Oksidatif; Pemendekan Telomer*

KEYWORDS *Diabetes Melitus; Telomeres; Telomerase; Oxidative Stress; Telomere Shortening*

ABSTRAK *Diabetes Melitus (DM) merupakan suatu penyakit multisistem dengan ciri hiperglikemia akibat kelainan sekresi insulin, resistensi seluler terhadap insulin, atau kedua-duanya. Kelainan tersebut menyebabkan abnormalitas dalam metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Kelainan metabolisme dapat mengakibatkan kerusakan DNA telomer. Tulisan ini membahas tentang pemendekan telomer pada penderita Diabetes Melitus. Penderita diabetes melitus mengalami peningkatan stres oksidatif, yang secara simultan diikuti oleh penurunan sistem pertahanan antioksidan, ketidakseimbangan antara stres oksidatif dan mekanisme pertahanan antioksidan. Stres oksidatif yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan organel sel, enzim dan peningkatan peroksidasi lipid dan timbulnya komplikasi penyakit diabetes. Telomer adalah struktur DNA non-coding yang terdapat di ujung kromosom. Telomer merupakan untai tunggal kaya G, dengan urutan nukleotida (5'-TTAGGG-3'). DNA telomer sangat rentan terhadap kerusakan oksidatif pada urutan GGG. Stres oksidatif yang tinggi mengakibatkan pemendekan telomer dan proses penuaan lebih cepat. Pemendekan telomer pada penderita DM tipe 2 lebih cepat dibandingkan dengan bukan penderita DM.*

ABSTRACT *Diabetes mellitus (DM) is a multisystem disease characterized by hyperglycemia due to abnormalities in insulin secretion, cellular resistance to insulin, or both. The disorder causes abnormalities in the metabolism of carbohydrates, fats, and proteins. Metabolic disorders can lead to telomere DNA damage. This paper discusses telomere shortening in patients with diabetes mellitus. Patients with diabetes mellitus have increased*

oxidative stress, which is followed by a simultaneous decrease in the antioxidant defense system, the imbalance between oxidative stress and antioxidant defense mechanisms. High oxidative stress can cause damage to cell organelles, enzymes and increased lipid peroxidation and the incidence of diabetes complications. Telomeres are non-coding DNA structures found at the ends of chromosomes. The telomere is a single-stranded G-rich, with a nucleotide sequence (5'-TTAGGG-3'). Telomere DNA is highly susceptible to oxidative damage at GGG sequence. High oxidative stress results in telomere shortening and aging faster. Telomere shortening in patients with type 2 diabetes progresses more rapidly than non-diabetic patients.

DIABETES MELITUS

Diabetes Melitus (DM) merupakan suatu penyakit multisistem dengan ciri hiperglikemia akibat kelainan sekresi insulin, resistensi seluler terhadap insulin, atau keduanya. Kelainan tersebut menyebabkan abnormalitas dalam metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Penderita diabetes memiliki peningkatan risiko terhadap penyakit makrovaskuler dan penyakit mikrovaskuler. Penyakit makrovaskuler meliputi penyakit serebrovaskular, penyakit arteri koroner dan penyakit pembuluh darah perifer serta sebagian besar aterosklerosis. Penyakit mikrovaskuler, meliputi retinopati, nefropati, neuropati perifer dan otonom serta penyakit ekstremitas bawah (Kangralkar dkk., 2010).

Klasifikasi DM menurut *American Diabetes Association* (ADA) tahun 2009 menjadi (1). Diabetes melitus tipe 1 (DMT-1) disebut juga *insulin-dependent diabetes mellitus* (IDDM) atau diabetes remaja, diperkirakan berjumlah antara 5-10% dari penderita diabetes, disebabkan oleh kerusakan sel- β pankreas adanya gangguan sistem imun; (2). Diabetes

melitus tipe 2 (DMT- 2) disebut juga *non-insulin dependent diabetes mellitus* (NIDDM) atau diabetes onset dewasa, meliputi individu-individu yang memiliki resistensi insulin. Jumlah antara 90-95% dari penderita diabetes. Kerusakan autoimun dari sel- β tidak terjadi meskipun etiologi spesifik tidak diketahui, (3). Diabetes melitus tipe lain disebabkan karena kelainan genetik fungsi sel beta, kelainan genetik kerja insulin, penyakit endokrinopati pankreas, karena obat/zat kimia, infeksi; (4). Diabetes kehamilan (gestasional), didefinisikan sebagai intoleransi glukosa dengan *onset* pada waktu kehamilan. Biasanya toleransi glukosa akan kembali normal pada trimester ketiga.

Penderita diabetes di dunia pada tahun 2000 diperkirakan sekitar 2.8% atau 171 juta, dan pada tahun 2030 meningkat menjadi 4.4% atau 366 juta (Wild dkk., 2004). Mitra dkk. (2007) menyampaikan prevalensi penderita DM di dunia pada tahun 2007 sekitar 4% atau 143 juta, dan akan meningkat menjadi 300 juta pada tahun 2025.

Correspondence :

M Syamsul Mustofa, Department of Biology, Faculty of Medicine, YARSI University, Jakarta.

Email: samsul.mustofa@yarsi.ac.id

Peneliti lain melaporkan, penderita diabetes di dunia (usia 20-79 tahun) pada tahun 2010 berjumlah 6,4%, atau kurang lebih 285 juta orang, dan akan meningkat menjadi 7,7%, atau 439 juta pada 2030.

Hal ini terjadi peningkatan pada tahun 2030, di negara berkembang sebesar 69% dan di negara maju 20% (Shaw dkk., 2010). Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) memprediksi penderita DM di Indonesia mengalami kenaikan dari 8,4 juta jiwa pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta jiwa pada tahun 2030. Hal ini akan menjadikan Indonesia menduduki peringkat ke 4 (empat) dunia dalam prevalensi diabetes (Wild dkk., 2004). Peningkatan penderita diabetes diperkirakan berkaitan dengan pertumbuhan populasi penduduk, bertambahnya usia lanjut, urbanisasi dengan perubahan gaya hidup dan kurang gerak fisik. Hal ini menyebabkan peningkatan jumlah diabetes di seluruh dunia menjadi 54% pada 2030 (Shaw dkk., 2010; Wild dkk., 2004). Angka kematian global dapat dihubungkan dengan penderita diabetes. Diperkirakan sekitar 5.2 % atau 2.9 juta dari kematian global pada tahun 2000 disebabkan karena menderita DM (Roglic dkk., 2005).

Peningkatan jumlah kematian karena DM juga terjadi pada tahun 2007 sebesar 5,5 % dan pada 2010 menjadi hampir 6,8 % atau 4 juta kematian (Roglic dan Unwin, 2010). Peningkatan jumlah kematian ini disebabkan terjadi peningkatan kematian 29 % di wilayah Amerika Utara, 12% di Wilayah Asia Tenggara dan 11% di Kawasan Pasifik Barat. Hal ini berhubungan dengan peningkatan prevalensi penderita DM di beberapa negara padat penduduk (Amerika Serikat, India dan Indonesia). Di negara

lain, jumlah kematian akibat DM tetap sama dengan perkiraan tahun 2007 (Roglic dan Unwin, 2010).

Diabetes dan Stres oksidatif

Stres oksidatif didefinisikan sebagai suatu keadaan peningkatan produksi dan penurunan kemampuan eliminasi molekul-molekul yang bersifat sangat reaktif didalam tubuh seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). Ketidakseimbangan antara ROS dan pertahanan antioksidan menyebabkan stres oksidatif (Srvidya dkk., 2009). ROS meliputi Radikal bebas yaitu: Superoksida ($\bullet\text{O}_2^-$), Hidroksil ($\bullet\text{OH}$), Peroksil ($\bullet\text{RO}_2$), Hidroperoksil ($\bullet\text{HRO}_2$ -) dan spesies non radikal yaitu: Hidrogen peroksida (H_2O_2), Asam hidroklor (HOCl). RNS meliputi Radikal bebas yaitu: Nitrat oksida ($\bullet\text{NO}$), Nitrat dioksida ($\bullet\text{NO}_2^-$), dan spesies non radikal yaitu: Peroksinitrit (ONOO^-), Nitros oksida (HNO_2), Alkil peroksinitrat (RONOO). Molekul-molekul reaktif, $\bullet\text{O}_2^-$, $\bullet\text{NO}$ dan ONOO^- adalah spesies yang paling banyak dipelajari dan berperan penting dalam komplikasi diabetes.

ROS dan RNS dalam keadaan fisiologik terbentuk sebagai hasil dari mekanisme pertahanan tubuh seperti pada proses fagositosis, fungsi netrofil, dan *shear stress* yang menyebabkan vasorelaksasi. Produksinya yang berlebihan akan menyebabkan stres oksidatif yang mengakibatkan keadaan patologik seperti kerusakan protein, lipid dan DNA yang mengakibatkan disfungsi dan kerusakan sel permanen (Moussa, 2008; Salpeaa dkk., 2010; Srvidya dkk., 2009). Radikal superoksida pada DM dapat mengakibatkan berbagai kerusakan melalui pembentukan *Advanced Glycation End Products* (AGEs), jalur poliol, jalur

heksosamin dan Protein Kinase C (PKC) yang pada akhirnya menimbulkan komplikasi penyakit mikrovaskular (penyakit serebrovaskular, penyakit arteri koroner dan penyakit pembuluh darah perifer dan sebagian besar aterosklerosis), dan penyakit mikrovaskular (termasuk retinopati dan nefropati, neuropati perifer dan otonom) serta penyakit ekstremitas bawah (Kaneto dkk., 2010; Kangralkar dkk., 2010). Disamping itu juga dapat pemicu pemendekan telomer (Sampson dkk., 2006; Kaszubowska, 2008; Salpeaa dkk., 2010).

Stres oksidatif pada DM dapat terjadi melalui jalur non enzimatik, jalur enzimatik dan jalur mitokhondria. Jalur non enzimatik berasal dari sifat oksidatif glukosa itu sendiri. Keadaan hiperglikemi secara langsung akan menyebabkan peningkatan produksi ROS. Glukosa dapat mengalami oksidasi membentuk radikal hidroksil. Glukosa dapat bereaksi dengan protein membentuk *Amadori products* yang selanjutnya diikuti oleh pembentukan AGEs. Dalam keadaan hiperglikemi, terjadi peningkatan metabolisme glukosa melalui jalur poliol (sorbitol) yang juga meningkatkan produksi radikal superoksida.

Jalur-jalur enzimatik pada DM dapat meningkatkan produksi ROS dan RNS, seperti jalur NOS, *NAD(P)H oxidase* dan *xanthine oxidase*. Sumber lain produksi nonenzimatik dari ROS dan RNS adalah dari rantai respirasi mitokhondria. Selama berlangsung proses fosforilasi oksidatif, elektron akan ditransfer dari pengangkut elektron NADH dan FADH₂ melewati bagian dalam membran mitokhondria menuju oksigen untuk membentuk ATP. Dalam keadaan normal, radikal

superoksida akan segera dieliminir melalui mekanisme pertahanan tubuh (Srvidya dkk., 2009).

Penderita diabetes melitus diketahui mengalami peningkatan stres oksidatif. Peningkatan stres oksidatif secara simultan diikuti oleh penurunan sistem pertahanan antioksidan, yang mengakibatkan ketidakseimbangan antara stres oksidatif dan mekanisme pertahanan antioksidan. Stres oksidatif yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan organel sel, enzim dan peningkatan peroksidasi lipid (Moussa, 2008). Lipid bereaksi dengan radikal bebas, mengalami peroksidasi membentuk peroksida lipid. Peroksida lipid terurai membentuk berbagai produk termasuk malondialdehid (MDA) (Kangralkar dkk., 2010). Menurut Qujeq dkk., (2005), peningkatan MDA terjadi secara signifikan dalam eritrosit tikus diabetes dibandingkan dengan kontrol.

Peningkatan kadar MDA darah juga menunjukkan adanya kerusakan membran lipid yang disebabkan oleh oksigen reaktif. Terjadinya peningkatan peroksida lipid, berhubungan dengan meningkatnya kejadian aterosklerosis dan komplikasi pada diabetes melitus (Moussa, 2008).

Diabetes dan Antioksidan

Radikal bebas diproduksi dalam tubuh secara terus menerus sebagai hasil dari proses metabolisme normal dan interaksi dengan rangsangan lingkungan. *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS) dapat dieliminir melalui sejumlah mekanisme antioksidan enzimatik dan non enzimatik. Superoksida dismutase (SOD) segera mengubah superoksida menjadi H₂O₂ yang kemudian akan mengalami

detoksifikasi menjadi air oleh enzim katalase (CAT) didalam lisosom atau oleh enzim *glutathione (GSH) peroxidase* di dalam mitokhondria. Enzim lain yang penting adalah *glutathione reductase*, yang meregenerasi *glutathione* yang digunakan sebagai donor hidrogen oleh enzim *glutathione peroxidase* selama eliminasi H_2O_2 .

Disamping enzim-enzim diatas, terdapat pula zat-zat yang bersifat antioksidan non enzimatik seperti vitamin A, C dan E, *a-lipoic acid*; *carotenoids*; *trace elements* seperti *copper* (tembaga), *zinc* (seng) dan selenium; koenzim Q10 (CoQ10) dan kofaktor seperti *folic acid*, *uric acid*, albumin dan vitamin-vitamin B1, B2, B6 dan B12 (Moussa, 2008).

Glutathione (GSH) bekerja sebagai *scavenger* langsung dan kosubstrat bagi enzim GSH peroksidase. GSH merupakan penyanggah utama proses reduksi oksidasi intraseluler. Vitamin E merupakan vitamin yang larut didalam lemak, berperan mencegah peroksida lipid. Bentuk paling aktif dari vitamin E pada manusia adalah *a-tocopherol*.

Sistem pertahanan antioksidan mengatur tingkat ROS secara keseluruhan dan mempertahankan homeostasis fisiologis. Rendahnya kadar ROS di bawah titik ambang homeostatik dapat mengganggu peran fisiologis oksidan dalam proliferasi dan pertahanan sel. Peningkatan ROS melebihi batas ambang dapat menyebabkan kematian sel, percepatan penuaan usia dan timbulnya penyakit (Kangralkar dkk., 2010).

Hiperglikemia menyebabkan kadar antioksidan selular turun dan sebaliknya kadar radikal bebas meningkat (Sharma dkk., 2010; Tsuruta dkk., 2010). Pada pasien dengan DM

tipe 2, tingkat glutathione (GSH) eritrosit menjadi rendah, dan terjadi peningkatan kadar *glutathione disulphide* (GSSG). Hal ini terjadi karena adanya penurunan aktivitas *glutathione reductase* (GR) dan penurunan transport GSSG keluar dari sel (Livingstone dan Davis, 2007).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemberian antioksidan dapat mengurangi efek yang ditimbulkan stres oksidatif. Antioksidan lebih efektif dan lebih murah daripada terapi konvensional dalam pengelolaan beberapa penyakit. Oleh karena itu, antioksidan atau nutrisi dengan kapasitas antioksidan yang tinggi mungkin sebagai alternatif untuk memperoleh kesehatan yang lebih baik dan bermanfaat dengan potensi untuk mengurangi keparahan diabetes dan komplikasi yang terkait (Erejuwa dkk., 2011).

Penderita DM tipe 2 mengalami kerusakan oksidatif dalam sel- β , dan terdapat hubungan terbalik antara volume sel- β dan tingkat kerusakan DNA. Kerusakan sel- β pada DM tipe 2 juga dipengaruhi oleh hiperglikemia kronis dan menjadi target komplikasi sekunder (Salpeaa dkk., 2010). Semakin meningkat hiperglikemia, sel- β akan terus mengalami penurunan massa sel, sebagaimana dilaporkan oleh Zhang dkk. (2010), bahwa jaringan pankreas dari spesimen otopsi penderita DMT2 menunjukkan peningkatan apoptosis pada sel- β sekitar 3-10 kali lipat dibandingkan dengan orang tanpa diabetes. Paparan konsentrasi glukosa suprafisiologi secara terus menerus menyebabkan penurunan fungsi sel, disebut toksisitas glukosa.

Berkurangnya massa dan fungsi sel- β menjadi penyebab berkurangnya sekresi insulin (Robertson, 2004).

Hiperglikemia kronis mengakibatkan hilangnya ekspresi gen insulin disertai dengan penurunan ekspresi atau pengikatan aktifitas DNA pada dua gen faktor transkripsi pankreas: *PDX-1* dan *MafA* yang selanjutnya menekan biosintesis dan sekresi insulin.

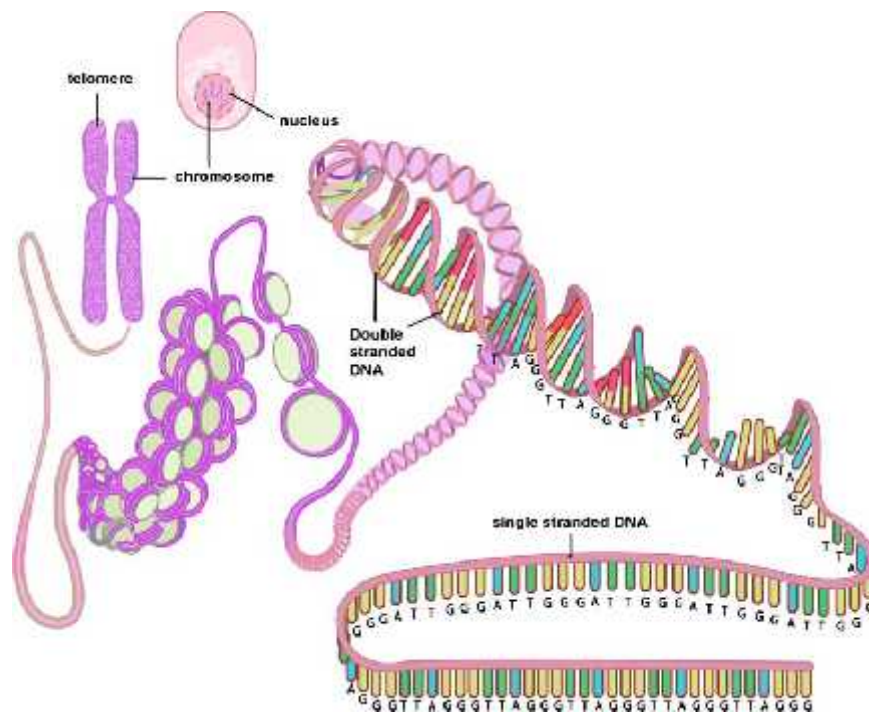
Adanya perubahan faktor transkripsi tersebut menjelaskan terjadinya penekanan biosintesis dan sekresi insulin, yang disebabkan oleh toksisitas glukosa pada sel-β (Kaneto dkk., 2010).

TELOMER

Telomer adalah struktur DNA *non-coding* yang terdapat di ujung kromosom. Telomere merupakan untai tunggal kaya G, dengan urutan

nukleotida (5'-TTAGGG-3')_n, dikenal sebagai *telomeric sequence* yang mempunyai ukuran panjang antara 5 sampai 15 kilobase (kb). Pada manusia, setiap ujung kromosom mempunyai 1.000 sampai 2.000 *telomeric sequence*. Keseluruhan panjang dari *telomeric sequence* dikenal sebagai *Terminal Restriction Fragment* (TRF) (Borek, 2002; Hiyama dan Hiyama, 2007).

Telomer berfungsi menjaga stabilitas dan integritas kromosom agar tidak terjadi penggabungan dan peleburan dengan kromosom lain, atau terjadi degradasi oleh enzim nuklease. Telomer berperan penting dalam menentukan banyaknya pembelahan sel yang dapat dilakukan secara normal (Wong dkk., 2008). (Gambar 1).



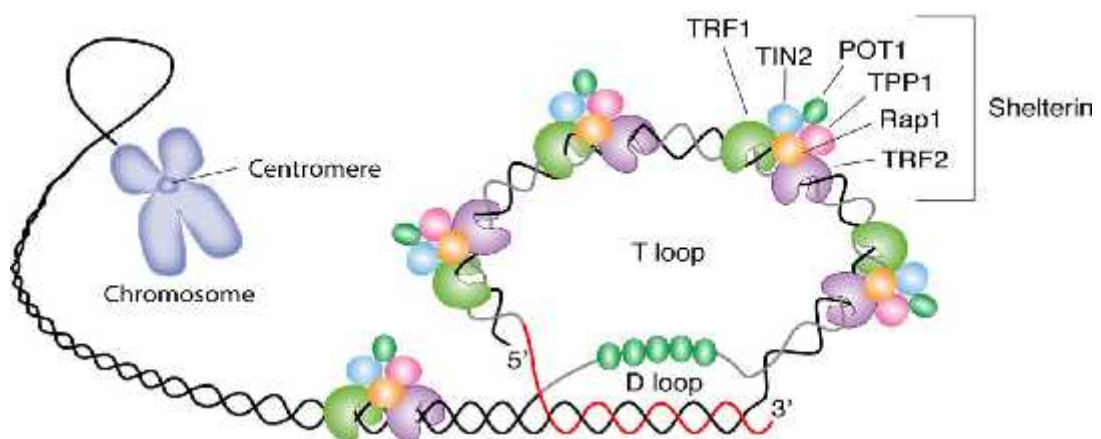
Gambar. 1 Telomer yang terletak di ujung dari kromosom linier pada vertebrata terdiri dari ulangan TTAGGG (Zhu dkk., 2011)

Ujung-G pada tahap *non-mitotic* dari siklus sel, terlindungi oleh *telomere shelterin complex*. Telomer mengikat bagian internal dengan membentuk dua lingkaran (*loop*), *D-loop* dan *t-loop*. *telomere shelterin complex* dirancang untuk melindungi ujung kromosom dan dibentuk oleh protein yang berbeda dengan telomer, seperti *telomeric repeat binding factor 1* (TRF1) dan 2 (TRF2) yang mengikat pada untai ganda DNA telomer. Protein lain yaitu *protein protection of telomeres 1* (Pot1), mengikat langsung ke untai tunggal DNA, dan mengikat ujung 3' *overhang* untuk pembentukan *D-loop*.

Protein lain yang terlibat dalam kompleks *shelterin* yang direkrut oleh TRF1 dan TRF2 yaitu *repressor activator protein 1* (Rap1), *TPP1*, dan *TRF1-interacting nuclear factor 2* (TIN2) (Gambar 2). *Shelterin* melindungi untai ganda DNA telomer agar tidak terjadi kerusakan. Adanya kerusakan protein *shelterin* dapat diidentifikasi sebagai untai ganda DNA yang pecah dan selanjutnya memicu kerusakan DNA. Pemendekan telomer akan mengakibatkan destabilisasi kromosom dan tidak

mempunyai *telomere shelterin complex*. Akibatnya, *t-loop* tidak dapat dibentuk dan ujung kromosom akan membuka. Hal ini menjadikan untai ganda DNA rusak, dan menyebabkan keadaan selular sangat tidak stabil dan dapat mengakibatkan aktivasi p53 dan menyebabkan penuaan atau apoptosis (Oeseburg dkk., 2010).

Telomer dilindungi oleh 6 protein (TRF1, TRF2, TPP1, POT1, TIN2, dan Rap1), secara kolektif dikenal sebagai *shelterin*, yang secara fisik merupakan perisai DNA. TRF1, TRF2, dan TPP1 khusus mengenali dan untuk mengikat ulangan untai ganda TTAGGG; POT1 mengikat untai tunggal telomer, *overhang*; TIN2 dan Rap1 menyelesaikan kompleks *shelterin* (Calado dkk., 2008). Setiap terjadi pembelahan, sel telomer memendek antara 30-200 bp dan memicu terjadinya penuaan. Hal ini didukung penelitian bahwa pada telomer sel somatik dari individu yang sudah tua memiliki telomer lebih pendek daripada individu yang lebih muda (Cao dkk., 2011).



Gambar 2. Untai tunggal (ss) *overhang* melipat ke daerah untai ganda dari telomer membentuk telomer pelindung t)-loop dan menginvasi untai ganda telomer membentuk D- loop.

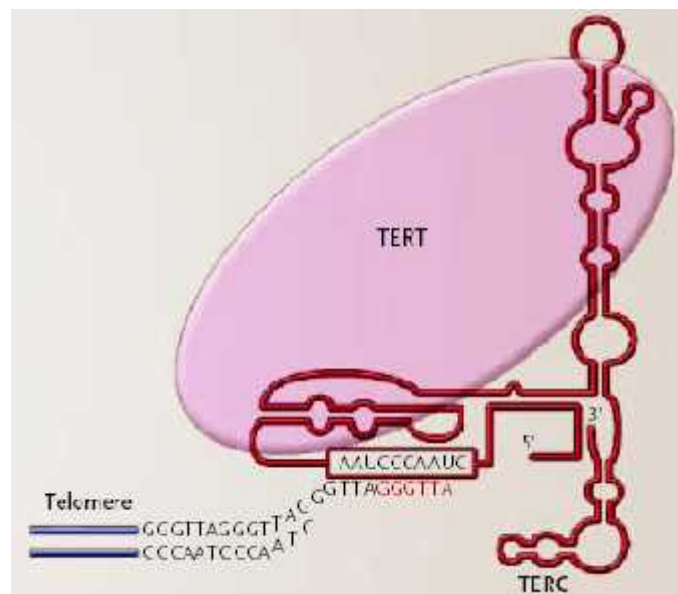
Laju pemendekan telomer berhubungan dengan tingkat stres oksidatif. Semakin tinggi stres oksidatif pemendekan telomer meningkat secara signifikan dibandingkan dengan normal (Cui dkk., 2012).

Telomerase

Telomerase merupakan enzim *reverse transcriptase* yang berfungsi memperpanjang telomer dengan menambahkan urutan nukleotida TTAGGG *telomeric sequence* di ujung kromosom, (Ishikawa, 2000) dan bekerja sebagai suatu *immortalizing enzim*. Telomerase terdiri dari dua subunit yang penting yaitu *Telomerase Reverse Transcriptase* (TERT), suatu subunit katalitik protein, dan *Telomerase RNA Componen* (TERC atau TR), (Artandi, 2006) yang digunakan sebagai *template reverse transcriptase* untuk memperpanjang telomer. Mekanisme penambahan telomer dilakukan oleh telomerase dengan cara memecahkan

end-replication problem, dengan demikian replikasi secara penuh di ujung kromosom bisa terlaksana (Gambar. 3) (Artandi, 2006). Protein telomerase seperti TEP1, POT1, dan TPP1 berperan penting dalam mempertahankan integritas telomer pada sel normal (Indran dkk., 2010).

Telomerase berperan dalam mempertahankan telomer dan berhubungan dengan keutuhan atau keabadian (*immortality*) sel kanker, *germ-line cells*, dan *embryonic stem cells*. Aktivitas telomerase dimulai sejak terjadinya konsepsi, tetapi ketika embrio menjadi dewasa aktivitas telomerase menurun dan hal ini terjadi pada semua sel kecuali pada *germ cell* dan *stem cell* (Hiyama dan Hiyama, 2007). Telomerase pada sel somatik hanya ditemukan pada populasi *stem cell*, sebagai contoh, pada kulit, sistem hematopoietik, dan *gut epithelia*.



Gambar 3. Struktur dan fungsi telomer.

Telomerase terdiri dari dua sub-unit yaitu, *telomerase reverse transcriptase* (TERT) dan *Telomerase RNA Componen* (TERC atau TR). Telomerase berfungsi menambahkan *telomeric sequence* di ujung kromosom dengan penulisan urutan secara terbalik pada daerah *template* TERC (di dalam kotak) dari RNA menjadi enam nukleotida DNA (urutan ditunjukkan warna merah). Telomerase dapat melanjutkan perpanjangan telomer melalui suatu mekanisme seperti roda bergigi searah, dengan berulang-kali penguraian (*dissociating*) dari sintesis telomer yang baru, penyetelan kembali, dan menambahkan enam nucleotides yang lain pada waktu yang sama (Artandi, 2006).

Sel manusia jika dikultur secara *in vitro* dan TERT tidak mencukupi untuk memelihara telomer, maka telomer semakin memendek setiap kali pembelahan sel yang akan menyebabkan *cellular senescence*, sehingga *sub group* telomer kehilangan kemampuan untuk melindungi ujung kromosom. Sebaliknya apabila TERT *overexpression*, akan memberi kemampuan sel normal untuk berkembang secara tak terbatas yang akan menjadi sel kanker (Artandi, 2006). Cui dkk. (2012) menyampaikan, bahwa peningkatan ROS intraseluler menyebabkan hilangnya aktivitas TERT.

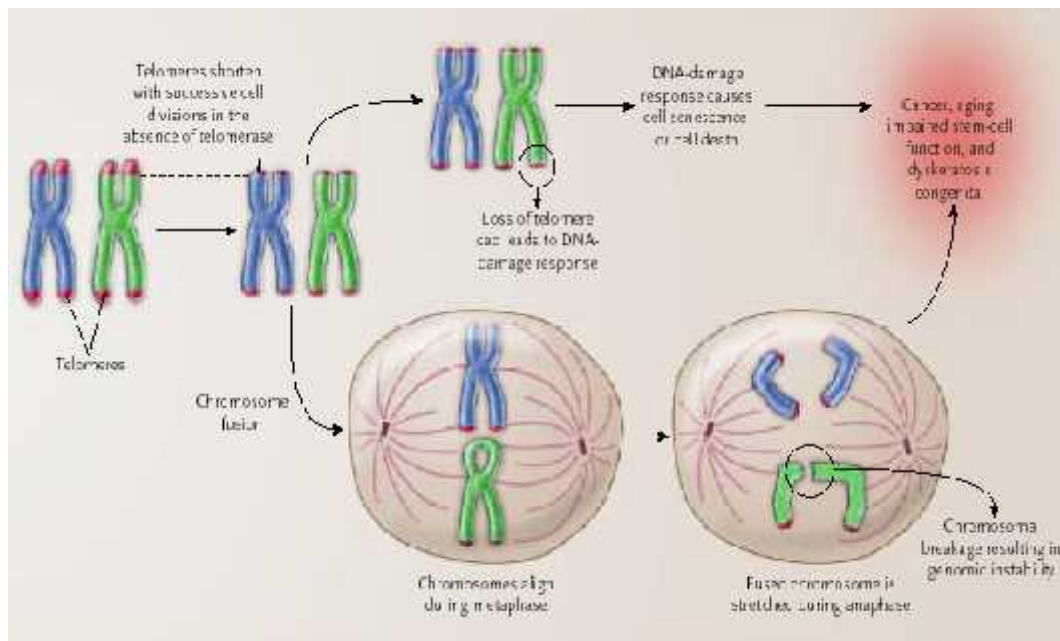
Selain itu Kuhlow dkk. 2010, menyampaikan bahwa defisiensi telomerase seperti yang ditemukan di TERC pada hewan percobaan menyebabkan penurunan jumlah sel- β karena kapasitas regenerasi pankreas

terganggu, sehingga toleransi glukosa terganggu menyebabkan sekresi insulin secara *in vivo* berkurang.

Efek Pemendekan Telomer

Teori *telomere shortening* (pemendekan telomer) menyatakan bahwa pemendekan telomer terjadi pada setiap pembelahan mitosis (jika telomerase tidak cukup atau tidak ada), yang mengakibatkan terjadinya penuaan. Terjadinya pemendekan DNA telomer yang terus menerus menyebabkan perubahan protein di sekitar telomer, dan hal ini akan menimbulkan perubahan ekspresi gen dari keseluruhan kromosom (Aho dkk., 2005). Pada sel yang kekurangan telomerase, telomer memendek secara progresif pada setiap pembelahan sel yang disebabkan tidak adanya kemampuan *DNA polymerase* untuk melakukan replikasi secara penuh pada ujung kromosom.

Jika telomer yang melindungi kromosom menjadi lemah, maka akan terjadi kerusakan DNA dan menyebabkan *cellular senescence* atau apoptosis. Hilangnya perlindungan telomer menyebabkan terjadinya sambungan telomer yang tidak sesuai dan menghasilkan suatu penyatuan kromosom, yang sangat peka terhadap terjadinya kerusakan, menghasilkan ketidakstabilan genomik. Kedua respon ini dapat berperan dalam proses terjadinya kanker, *aging*, lemahnya fungsi *stem cell*, dan pewarisan *dyskeratosis congenita syndrome* (Artandi, 2006).



Gambar 4. *Cellular Effects* pada pemendekan telomer.

Proses sintesis DNA dan pembelahan sel akan selalu menyebabkan terjadi pemendekan telomer yang disebabkan *DNA polymerase* tidak dapat mengkopi satu untai dari untai ganda DNA kromosom sampai selesai. Kejadian ini disebut sebagai *end replication problem* (Hiyama dan Hiyama, 2007). Akibatnya, terjadi *gap* untai tunggal yang dibuat pada setiap akhir dari siklus replikasi. Selanjutnya *exonuclease* memotong untai tunggal *overhang* dan mengakibatkan hilangnya kira-kira 100 bp *telomeric sequence* pada setiap siklus sel (Wong dkk., 2008).

Terjadinya pemendekan telomer yang terus menerus mengakibatkan fungsi telomer sebagai penutup dan pelindung kromosom menghilang. Keadaan ini memungkinkan ujung kromosom saling bersatu dan menghasilkan kromosom disentrik, yang menyebabkan ketidak stabilan pada genom. Sebagai konsekuensi hilangnya integritas genomik akan mengawali hilangnya pengaturan pada

tingkat genom, selanjutnya mempengaruhi kontrol pertumbuhan dan menghasilkan *tumorigenesis* (Calado dan Young, 2008; Ishikawa, 2000). Fenomena ini tidak dapat diperbaiki, selanjutnya sel somatik akan memasuki apoptosis. Semakin banyak sel mati atau masuk *cellular senescence* fungsi organpun semakin menurun (Ishikawa, 2000).

Pemendekan Telomer pada Penderita DM

Hiperglikemia menginduksi stres oksidatif dan mempercepat proses penuaan lokal dan sistemik, sebagaimana tercermin pada dinamika telomer. Mekanisme yang terjadi pada penderita DM tipe 2, kemungkinan terjadi induksi stres oksidatif tinggi, yang pada gilirannya menyebabkan kerusakan DNA telomerik sehingga terjadi pemendekan telomer, dan akhirnya menyebabkan penuaan dini serta timbulnya komplikasi penyakit diabetes (Salpeaa dkk., 2010).

Tingkat pemendekan telomer sangat tergantung pada induksi oksidatif dan keseimbangan oksidan selular (Sampson dkk., 2006). DNA Telomer sangat rentan terhadap kerusakan oksidatif pada urutan GGG. Susunan urutan 5' guanin GG dan GGG lebih mudah teroksidasi daripada guanin tunggal dalam DNA dan 5' guanin GGG lebih mudah teroksidasi daripada 5' guanin GG (Borek, 2002; Kajimoto dan Kaneto, 2004; Livingstone dan Davis, 2007). Urutan GGG telomer (5'-TTAGGG-3') juga lebih mudah terjadi kerusakan oksidatif (David dkk., 2011; Grach, 2013).

Studi lain menemukan bahwa radiasi ultraviolet dikombinasikan dengan riboflavin menginduksi pembentukan *8-oxo-7, 8-dihidro-2'-deoxyguanosine* (8-oxodG) dalam fragmen DNA dengan urutan telomer yang lebih mengarah ke penampilan kerusakan di daerah guanin urutan GGG (Grach, 2013). Guanin memiliki potensi oksidasi terendah di antara basa DNA, artinya basa asam nukleat tersebut paling mudah teroksidasi oleh •OH dan singlet oksigen.

Sebagai contoh, interaksi guanin dengan •OH pada C8 melalui transfer elektron, membentuk *8-oxoG*. Fenomena ini dikaitkan dengan migrasi kation radikal ke guanin yang memiliki potensi redoks terendah, dengan cara melalui penghentian penangkapan dan pembentukan produk. *8-oxoG* mempunyai potensi redoks paling rendah, selanjutnya teroksidasi menjadi *spiroiminodihydantoin* dan *guanidinohydantoin*. Reduksi ini menghasilkan *2,6-diamino-4-hydroxy-5-formamidopyrimidine* (FapyG). Paparan oksidatif pada DNA menghasilkan *8-oxoG* dan produk modifikasi paling melimpah. Diperkirakan tingkat basa *8-*

oxoG, 1-2 per 10^6 residu guanin dalam DNA inti dan sekitar 1-3 per 10^5 dalam DNA mitokondria. Perkiraan ini menunjukkan bahwa dapat dibentuk hingga 100.000 *8-oxoG* lesi dalam DNA per sel setiap hari (Radak dan Boldogh, 2010).

Jalan utama untuk menghapus lesi oksidatif tersebut adalah melalui perbaikan yaitu dengan jalur *base excision repair* (BER). Secara singkat, *8-oxoguanine DNA Glycosylase* (OGG1) merupakan *glycosylase* utama yang dapat memotong *8-oxodG* dan *me-Fapy* dengan efisiensi, mulai masuk jalur BER dengan menghapus basa guanin yang rusak, diikuti oleh sayatan, perbaikan sintesis, dan ligasi di jalur BER untuk menyelesaikan proses perbaikan (David, dkk., 2011). Jika lesi basa tidak diperbaiki, basa ini dapat menimbulkan masalah karena *8-oxodG* mengganggu TRF1 dan TRF2 dalam mengikat pada ulangan DNA telomerik, misalnya, TRF2 yang terlibat dalam pembentukan t-loop (David, dkk., 2011).

Penurunan perbaikan *8-oxoG* bisa disebabkan oleh kombinasi peristiwa, seperti ketidak-seimbangan antara *8-oxoG* dan OGG1 karena terkait usia untuk mengimpor atau menargetkan OGG1 masuk ke dalam kompartemen inti dan mitokondria (Radak dan Boldogh, 2010). Panjang telomer pada penderita DM tipe 2 lebih pendek secara signifikan dibandingkan dengan kontrol *non-diabetes* (Kuhlow dkk., 2010; Sampson dkk., 2006), yaitu sekitar 780 bp lebih pendek daripada individu yang normal (Salpeaa dkk., 2010). Monickaraj dkk. (2012), membandingkan panjang telomer mtDNA antara pasien dengan diabetes mellitus tipe 2 (n = 145) dan pada subyek dengan toleransi glukosa normal (n = 145).

Hasil menunjukkan bahwa panjang telomer berkorelasi positif dengan adiponektin, HDL dan kadar glikemik, serta berkorelasi negatif dengan adipositas dan resistensi insulin. Analisis regresi menunjukkan bahwa pemendekan telomer berhubungan secara signifikan dengan DMT2. Murillo dkk. (2012).

Menyampaikan hasil penelitiannya terhadap 93 pria DMT2 dengan diagnosis menderita sudah 10 tahun atau lebih, 96 dengan diagnosis menderita kurang dari satu tahun, dan 98 pria sehat dengan usia yang sesuai. Hasil yang ditemukan adalah pemendekan telomer lebih cepat pada kelompok pria dengan DMT2 sudah 10 tahun atau lebih, dibandingkan dengan kelompok kontrol pria sehat (5,4 vs 9,6 Kb) ($p = 0,04$) dan dengan kelompok pria penderita kurang dari satu tahun (5.4 vs 8.7 kb) ($p = 0,05$).

Selain itu juga ditunjukkan terjadi peningkatan progresif stres oksidatif. Penelitian *cross-sectional* yang dilakukan oleh Testa dkk. (2011), dari 901 subyek dengan 501 pasien dengan diabetes tipe 2, di antaranya 284 memiliki setidaknya satu komplikasi dan 217 yang tanpa komplikasi, dan 400 subyek kontrol. Panjang telomer leukosit (LTL) diukur dengan kuantitatif *real-time* PCR. Hasil yang diperoleh adalah pasien dengan komplikasi diabetes memiliki panjang telomer leukosit jauh lebih pendek dari kedua pasien tanpa komplikasi diabetes dan subyek kontrol sehat. Selain itu, di antara pasien dengan komplikasi diabetes, LTL menjadi signifikan dan secara bertahap lebih pendek dengan meningkatnya jumlah komplikasi diabetes.

Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa pemendekan telomer terkait juga dengan adanya komplikasi diabetes. Shen dkk. (2012) melakukan penelitian mengenai hubungan antara panjang telomer leukosit (LTL) dan DMT2 dalam studi kasus-kontrol retrospektif dengan sampel 4016 subyek semua dari etnis Han China, (1.936 terkait kasus DMT2 dan 2080 kontrol). Analisis regresi logistik dilakukan untuk mengevaluasi hubungan antara LTL dan DMT2, disesuaikan dengan usia dan jenis kelamin.

Hasilnya menunjukkan rasio panjang telomer (T)/jumlah salinan gen tunggal (S) (T/S) dari LTL ditemukan jauh lebih pendek dalam kasus DMT2 (1.00 T/S, 95%) dibandingkan dengan kontrol (1,08 T/S, 95%) selama rentang usia yang luas.

KESIMPULAN

Penderita diabetes melitus mengalami peningkatan stres oksidatif secara simultan diikuti oleh penurunan sistem pertahanan antioksidan, yang mengakibatkan ketidakseimbangan antara stres oksidatif dan mekanisme pertahanan antioksidan. DNA telomer (5'-TTAGGG-3')_n, sangat rentan terhadap kerusakan oksidatif pada urutan GGG, menghasilkan 8-oxoG. 8-oxoG yang mempunyai potensi redoks paling rendah, selanjutnya teroksidasi. Jalan utama untuk menghapus lesi oksidatif yaitu dengan perbaikan melalui jalur *base excision repair* (BER). Hiperglikemia dan proses perbaikan melalui jalur BER mengakibatkan telomer lebih pada penderita DM lebih pendek dari bukan penderita.

KEPUSTAKAAN

- Aho AD, Wagner W and Mahlknecht U 2005. Stem cells and ageing. The potential of stem cells to overcome age-related deteriorations of the body in regenerative medicine. *EMBO reports* VOL 6. S35 - 38.
- American Diabetes Association 2009. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>.
- Artandi SE 2006. Telomeres, Telomerase, and Human Disease. *N Engl J Med* 355;12 www.nejm.org september 21, 1195 - 1197.
- Borek C 2002. Telomere Control & Cellular Aging *LE Magazine*. Available at <http://www.lef.org/>.
- Cao K, Blair CD, Faddah DA, Kieckhafer JE, Olive M, Erdos MR, Nabel EG, dan Collins FS 2011. Progerin and telomere dysfunction collaborate to trigger cellular senescence in normal human fibroblasts. *J Clin Invest*. 121(7):2833-2844.
- Calado RT, dan Young NS 2008. Telomere maintenance and human bone marrow failure. *Blood*. 2008;111:4446-4455.
- Cui H, Kong K, dan Zhang H 2012. Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction, and Aging. *J Signal Transduct*. Volume 2012, Article ID 646354, 1-13.
- David BR, Ghosh A, Lu J, Bohr VA, and Liu Y 2011. Factors that influence telomeric oxidative base damage and repair by DNA glycosylase OGG1 DNA Repair (Amst). 2011 January 2. 10(1): 34-44. doi:10.1016/j.dnarep.2010.09.008.
- Erejuwa OO, Sulaiman SA, Wahab MS, Sirajudeen KNS, Salleh MS, Gurtu S 2011. Effect of Glibenclamide alone versus Glibenclamide and Honey on Oxidative Stress in Pancreas of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *International Journal of Applied Research in Natural Products*. Vol. 4 (2): 1-10.
- Grach A 2013. Telomere Shortening Mechanisms in The Mechanisms of DNA Replication. Chapter 18. Published by InTech. Janeza Trdine 9, 51000 Rijeka, Croatia Copyright © 2013 InTech.
- Hiyama E and Hiyama K 2007. Telomere and telomerase in stem cells. *Brit J Cancer* (2007) 96: 1020 - 1024.
- Indran IR, Hande MP, dan Pervaiz S 2010. hTERT Overexpression Alleviates Intracellular ROS Production, Improves Mitochondrial Function, and Inhibits ROS-Mediated Apoptosis in Cancer Cells. *Cancer Res*; 71(1): 266-76.
- Ishikawa F 2000. Aging clock: the watchmaker's masterpiece. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci*. 57: 698-704.
- Kajimoto Y dan Kaneto H 2004. Role of oxidative stress in pancreatic β -cell dysfunction. *Ann N Y Acad Sci* 1011: 168-176.
- Kaneto H, Katakami N, Matsuhisa M, dan Matsuoka T 2010. Role of Reactive Oxygen Species in the Progression of Type 2 Diabetes and Atherosclerosis. *Mediators Inflamm*. 2010. 2010: 453892.
- Kangralkar VA, Patil SD, Bandivadekar RM 2010. Oxidative Stress and Diabetes a Review. *Int J Pharm Appl*. Vol 1, Issue 1, June, 2010, pp 38-45. <http://www.bipublication.com>.
- Kaszubowska L 2008. Telomere Shortening and Ageing of The Imune System. *J Phys Pharm*. 59, Suppl (9): 169-186. www.jpp.krakow.pl.
- Kuhlow D, Florian F, von Figura G, Weimer S, Schulz N, Petzke KJ, Zarse1 K, Pfeiffer AFH, Rudolph KL, Ristow M 2010. Telomerase deficiency impairs glucose metabolism and insulin secretion. *Aging*, October 2010, Vol 2 No 10. www.impactaging.com.
- Livingstone C, Davis J 2007. Targeting therapeutics against glutathione depletion in diabetes and its complications. *Br J Diabetes Vasc Dis* 2007. (7): 258-65.

- Mitra A, Bhattacharya D dan Roy S 2007. Dietary influence on TYPE 2 Diabetes (NIDDM). *J. Hum. Ecol.*, 21(2): 139-147.
- Monickaraj F, Aravind S, Gokulakrishnan K, Sathishkumar C, Prabu P, Prabu D, Mohan V, Balasubramanyam M 2012. Accelerated aging as evidenced by increased telomere shortening and mitochondrial DNA depletion in patients with type 2 diabetes. *Mol Cell Biochem.* 2012 Jun;365(1-2):343-50. Epub 2012 Mar 13.
- Moussa SA 2008. Oxidative stress in Diabetes mellitus. *Romanian J Bhiophys.*, Vol. 18, No. 3, P. 225-236, Bucharest.
- Murillo OB, Albarrán TF, Arenas AD, Benítez BL, Malacara HJM, Martínez GS, Hernández GM, Solorio S, Garay SME, Mora VC. 2012. Telomere length and type 2 diabetes in males, a premature aging syndrome. *Aging Male.* 2012 Mar;15(1):54-8. Epub 2011 Aug 9.
- Oeseburg H, de Boer RA, van Gilst WH, van der Harst P 2010. Telomere biology in healthy aging and disease. *Pflugers Arch - Eur J Physiol* (2010) 459:259-26.
- Qujeq D, Habibinudeh M, Daylmatoli M, Rezvani T 2005. Malondialdehyde and carbonyl contents in the erythrocytes of streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Diabetes & Metabolism.*13: 96-98.
- Radak Z and Boldogh I 2010. 8-Oxo-7,8-dihydroguanine: Links to gene expression, aging, and defense against oxidative stress. *Free Radical Biology & Medicine* 49 (2010): 587-596.
- Robertson RP 2004. Chronic Oxidative Stress as a Central Mechanism for Glucose Toxicity in Pancreatic Islet Beta Cells in Diabetes. *JBC*, Vol. 279, No. 41, pp. 42351-42354.
- Roglic G, Unwin N, Bennett PH, Mathers C, Tuomilehto J, Nag S, Connolly V, King H 2005. The Burden of Mortality Attributable to Diabetes. Realistic estimates for the year 2000. *Diabetes Care* (28):2130-2135.
- Roglic G, Unwin N 2010. Mortality attributable to diabetes: Estimates for the year 2010 diabetes research and clinical practice (87): 15 -19.
- Salpeaa KD, Talmuda PJ, Coopera JA, Maubareta CG, Stephensb JW, Abelaka K, Humphriesa SE 2010. Association of telomere length with type 2 diabetes, oxidative stress and UCP2 gene variation. *Atherosclerosis* 209: 42-50. www.elsevier.com/locate/atherosclerosis.
- Sampson MJ, Winterbone MS, Hughes JC, Dozio N, Hughes DA 2006. Monocyte Telomere Shortening and Oxidative DNA Damage in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 29:283-289.
- Sharma R, Buras E, Terashima T, Serrano F, Massaad CA, Hu L, Bitner B, Inoue T, Chan L, Pautler RG 2010. Hyperglycemia induces oxidative stress and impairs axonal transport rates in mice. *PloS one* 5(10):e13463.
- Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ 2010. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes res Clin Pract* 87: 4 -14.
- Shen Q, Zhao X, Yu L, Zhang Z, Zhou D, Kan M, Zhang D, Cao L, Xing Q, Yang Y, Xu H, He L, and Liu Y 2012. Association of Leukocyte Telomere Length with Type 2 Diabetes in Mainland Chinese Populations. *J Clin Endocrinol Metab* 97: 0000-0000. 2012.
- Srvidya AR, Yadev AK, Dhanbal SP 2009. Antioxidant and antimicrobial activity of rhizome of *Curcuma aromatica* and *Curcuma zeodaria*, Leaves of *Arbutilon indicum*. *Arch. Pharm. Res.* 1(1): 14-19.
- Testa R, Olivieri F, Sirolla C, Spazzafumo L, Rippo MR, Marra M, Bonfigli AR, Ceriello A, Antonicelli R, Franceschi C, Castellucci C, Testa I, Procopio AD. 2011. Leukocyte telomere length is associated with complications of Type 2 diabetes mellitus. *Diabet. Med.* 28, 1388-1394
- Tsuruta R, Fujita M, Ono T, Koda Y, Koga Y, Yamamoto T, Nanba M, Shitara M, Kasaoka S, Maruyama I, Yuasa M,

- Maekawa T 2010. Hyperglycemia enhances excessive superoxide anion radical generation, oxidative stress, early inflammation, and endothelial injury in forebrain ischemia/reperfusion rats. *Brain research* 1309: 155-163.
- Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H 2004. Global Prevalence of Diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 27: 1047-1053.
- Wong LSM, de Boer RA, Samani NJ, van Veldhuisen DJ, van der Harst P 2008. Telomere biology in heart failure. *Eur J Heart Failure* 10: 1049-1056.
- Zhang Z, Liew CW, Handy DE, Zhang Y, Leopold JA, Hu J, Guo L, Kulkarni RN, Loscalzo J, dan Stanton RC 2010. High glucose inhibits glucose-6-phosphate dehydrogenase, leading to increased oxidative stress and β -cell apoptosis. *Faseb J.* 24: 1497-1505. www.fasebj.org.
- Zhu H, Belcher M, dan Harst F 2011. Healthy aging and disease: role for telomere biology? *Clinical Science* 120: 427-440 (Printed in Great Britain).