

# Enzim Telomerase dan Karsinogenesis

*Hanna Ratnawati*

*Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha, Bandung*

## **Pendahuluan**

Kromosom yang merupakan lilitan DNA pembawa sifat genetik, dulu diduga statis tapi ternyata selalu berubah, yaitu pada ujung lilitan DNA selalu memendek atau memanjang. Adanya perubahan pada segmen terminal DNA inilah yang oleh para peneliti dikatakan berhubungan dengan proses perkembangan sel kanker dan proses penuaan (aging).

Gen terdapat pada molekul DNA pada kromosom dalam inti sel. Segmen DNA pada ujung kromosom inilah yang dikenal sebagai telomer dan merupakan salah satu faktor dalam terjadinya kanker.

## **Struktur Biomolekuler Telomer**

Telomere adalah segmen DNA yang terletak pada bagian terminal kromosom eukaryot. Telomere terdiri dari urutan nukleotida yang sangat spesifik, yang pada manusia urutannya adalah TTAGGG yang berulang ratusan bahkan ribuan kali, sehingga rumus umum struktur

nukleotida telomere adalah (TTAGGG)<sub>n</sub>. T, A dan G menunjukkan nukleotida (kumpulan senyawa pembentuk DNA) yang berisi basa thymin, adenin, dan guanin. Pada manusia terdapat 2000 pengulangan pada unit dasarnya, sedangkan pada *Tetrahymena-ciliata* (mahluk bersel tunggal yang hidup di empang) terdapat 70 pengulangan pada setiap unitnya (Greider, 1996). Dalam satu organisme pada jenis sel yang berbeda, maka jumlah pengulangan nukleotidanyapun berbeda.

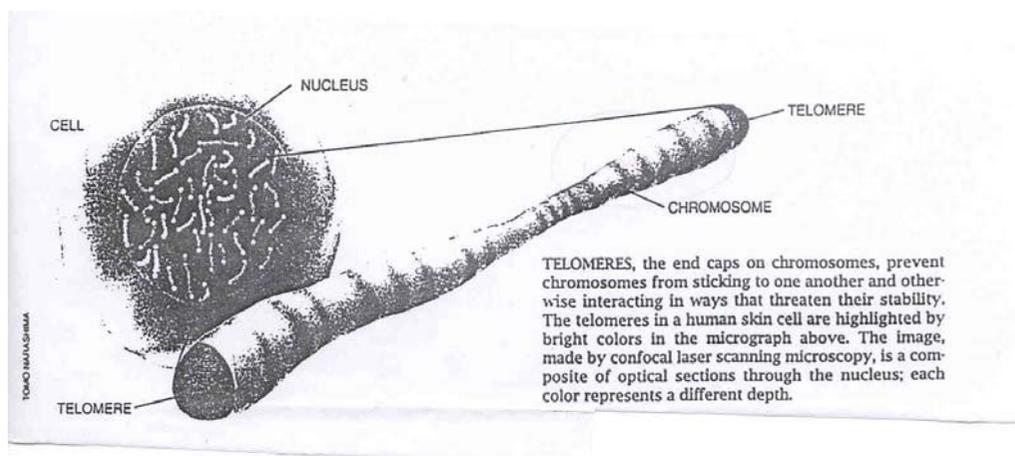
Telomere mempunyai dua fungsi utama yaitu untuk melindungi DNA dari kerusakan dan yang kedua yaitu berperan penting pada replikasi DNA, sehingga telomere berperan dalam mempertahankan kestabilan kromosom pada setiap proses pembelahan sel. Telomere dipelihara keutuhannya oleh enzim telomerase yaitu suatu *ribonucleo-protein DNA polymerase* yang berperan dalam proses elongasi telomer di dalam sel-sel eukaryot.

## Enzim Telomerase

Enzim telomerase pertama kali ditemukan ketika peneliti mengetahui bahwa panjang telomere berbeda-beda antara organisme satu dengan lainnya, bahkan antara satu sel dengan sel lainnya pada satu organisme. Bentuk yang tepat dari enzim ini bisa berbeda antara satu spesies dengan spesies lainnya, tapi masing-masing versi mempunyai *RNA specific template* untuk membentuk subunit telomeric yang baru.

Ketika suatu sel bereplikasi, maka sel anak (*daughter cell*) akan menerima satu set gen yang lengkap sehingga sel anak hasil pembelahan tersebut memiliki kode genetik yang sama persis dengan sel inangnya. Bila ada beberapa unit gen yang hilang, maka sel tersebut akan

mengalami gangguan fungsi (*malfunction*) dan bahkan bisa sampai mati. Pada tahun 1972 James D. Watson, menemukan bahwa DNA polimerase yaitu suatu enzim untuk replikasi DNA ternyata tidak bisa meng'copy' seluruh panjang kromosom, ada suatu daerah di bagian ujung kromosom (telomer) yang tidak di 'copy', sehingga telomere akan bertambah pendek pada sel anak, akibatnya akan mengancam kehidupan dan proses replikasi sel. Oleh karena itu pada telomer terdapat subunit DNA yang harus tetap dibuat 'copy' nya agar panjang kromosom tetap dan sel dapat bertahan untuk terus mengalami mitosis. Keadaan ini disebut sebagai "*end replication problem*" dan hal ini dapat diatasi oleh enzim telomerase.



Gambar 1. Telomer (Dikutip dari Scientific American, February 1996, Greider dkk.)

Gambar 2 dan 3 memperlihatkan cara kerja enzim telomerase dan bagaimana telomerase mengatasi "end replication problem".

Pada saat kromosom bereplikasi, mula-mula terjadi pembelahan *double helix DNA*, kemudian masing-masing rantai/ *single strands DNA* sebagai *template* akan membentuk 'copy' DNA bagi kromosom turunannya dengan bantuan enzim *DNA polimerase*. Namun demikian ada gap / celah di bagian ujung kromosom turunannya yang tidak diisi oleh nukleotida, sehingga terdapat pemendekan pada ujung kromosom turunannya.

Enzim telomerase mengatasi hal tersebut dengan membuat rantai DNA tambahan yang terdiri dari urutan nukleotida yang berulang (merupakan subunit telomer). Tambahan tersebut dibuat sebelum proses replikasi berlangsung, akibatnya ujung kromosom (telomer) akan memiliki panjang yang tetap sama dengan kromosom inangnya.

Menurut Silvia Bachetti, Profesor biologi molekuler di Universitas Mc Master, Hamilton, Ontario-Canada, aktivitas telomerase pada sel normal terutama ditemukan pada sel-sel dari sistem reproduksi karena sel-sel tersebut

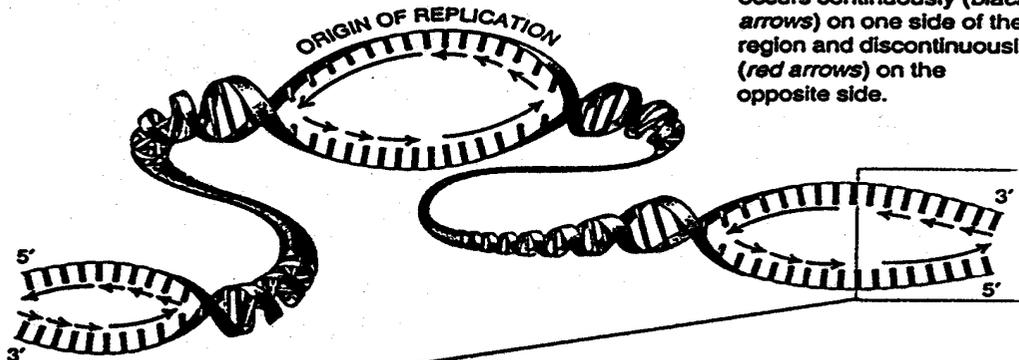
mempunyai daya proliferasi yang tak terbatas. Sedangkan pada sel-sel hematopoietik ada sedikit aktivitas telomerase yang diperlukan untuk pembentukan berbagai type sel darah. Pada keratinocyte di kulit dan sel-sel mukosa intestin, aktivitas telomerasenya rendah. Juga ditemukan aktivitas telomerase pada sel limfosit dan sel hepar. (J.W.Shay). Pada masa pertumbuhan aktivitas telomerase dapat di deteksi hampir pada semua jaringan, tetapi pada hampir semua sel normal dewasa aktivitas telomerase direpresi. Malahan terjadi pemendekan telomere pada sel somatik normal, termasuk 'stem cell' dengan maksud untuk pembaharuan sel. Jadi pada sel somatik mempunyai program proses penuaan

### **Telomerase dan Karsinogenesis.**

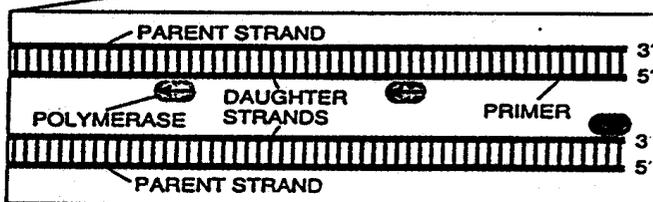
Saat ini tumbuhnya suatu kanker tidak lagi merupakan suatu misteri, karena para peneliti telah berhasil mengidentifikasi proses paling dasar pada tumbuhnya kanker yaitu pada tingkatan molekuler. Kanker adalah suatu proses yang multistep meliputi inisiasi (perubahan genetik yang irreversibel) dan promosi (populasi klonal sel-

sel inisiasi yang meluas) dan akhirnya terjadi keganasan.

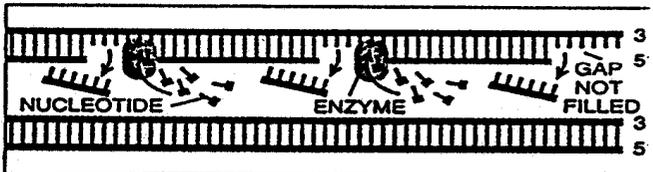
**1** Copying of chromosomal DNA, shown highly schematically, proceeds from regions known as origins of replication, at which the parent strands separate. Synthesis of each daughter strand occurs continuously (black arrows) on one side of the region and discontinuously (red arrows) on the opposite side.



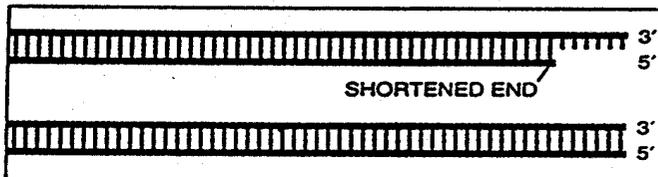
**2** Separated parent strands serve as templates on which polymerases synthesize daughter strands. The parts constructed as fragments extend from bits of RNA called primers.



**3** Other enzymes remove primers and fill the gaps between adjacent fragments.



**4** But the enzymes cannot fill the gap remaining at one end (the 5' tip) of each daughter strand.

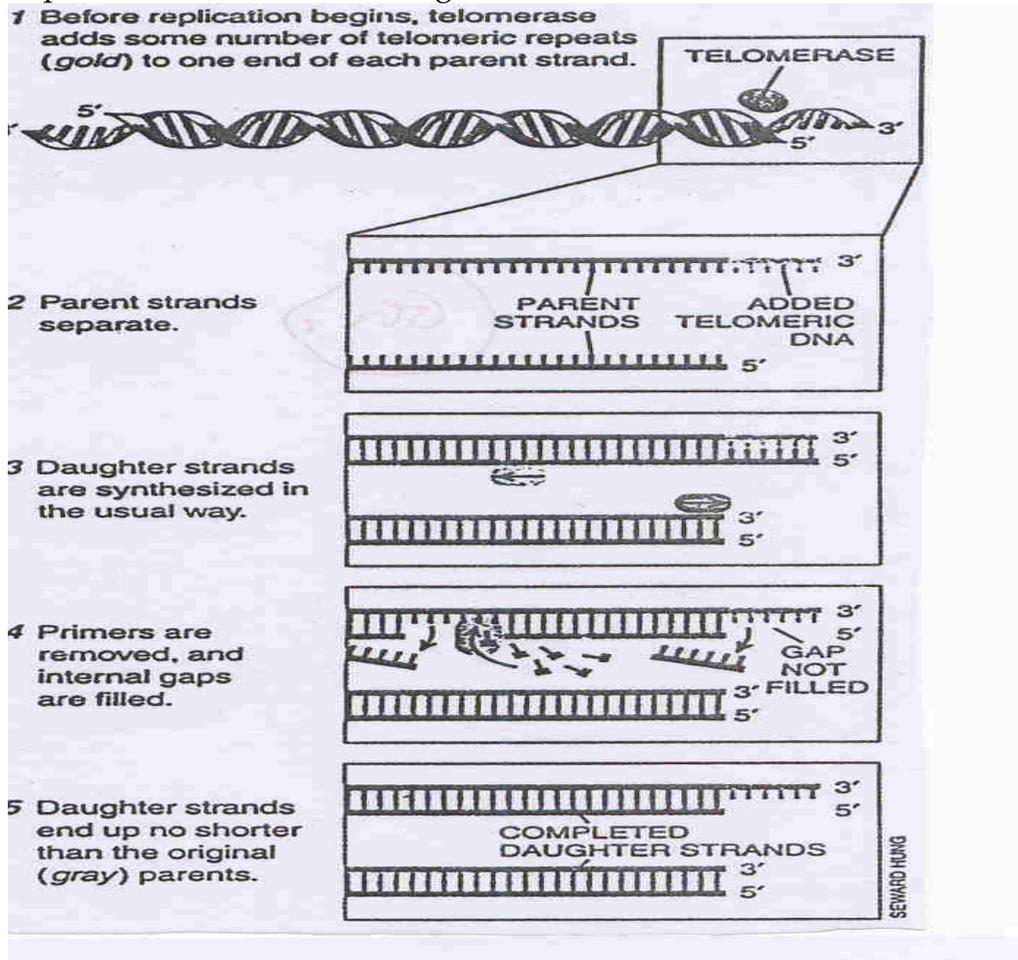


Gambar 2. The end replication problem (Dikutip dari Scientific American, February 1996, Greider dkk.)

Akumulasi mutasi gen inilah yang menjadi kunci dalam proses terjadinya kanker pada manusia. Akibat adanya mutasi genetik yang multiple, akan menyebabkan terlepasnya

kontrol normal replikasi. Sel yang mengalami mutasi tersebut beserta turunannya akan bermultiplikasi secara tidak terkontrol sehingga dapat menginfiltrasi jaringan disekitarnya.

Bahkan sekelompok sel tumor yang lain dapat bermetastasis ke organ



Gambar 3. Cara telomer mengatasi "end replication problem" (Dikutip dari Scientific American, February 1996, Greider dkk.)

Telah kita ketahui bahwa enzim telomerase berperan dalam setiap replikasi sel yaitu dapat mempertahankan panjang telomer kepada sel turunannya, sehingga apabila sel-sel kanker tidak mempunyai enzim telomerase yang cukup, maka

pertumbuhan sel-sel kanker tersebut akan terhenti dengan sendirinya yaitu pada saat enzim tersebut tidak dapat lagi mempertahankan panjang telomer yang terus menerus akibat adanya kontrol proliferasi sel yang abnormal

Secara teoritis tidak adanya enzim telomerase dapat mengerem tumbuhnya tumor dengan cara meneruskan pembelahan sel sehingga telomernya makin pendek dan mati sebelum membuat kerusakan lebih lanjut. Namun jika sel-sel kanker tersebut dapat mensintesa telomerase maka sel-sel kanker akan terus berproliferasi dan menjadi *immortal cell*.

Pada tahun 1989, Gregg B. Morin dari Yale menemukan untuk pertama kalinya enzim telomerase pada sel kanker manusia, yaitu pada media kultur dari sel kanker. Para ahli menduga enzim telomerase sangat berperan dalam mempertahankan proliferasi sel-sel kanker. Namun demikian, bukti-bukti yang mendukung hipotesis tersebut baru diperoleh pada tahun 1994 oleh Christopher M. Counter, Silvia Bacchetti, Harley dkk. yang memperlihatkan bahwa aktivitas enzim telomerase pada tumor tidak hanya secara *in vitro* tetapi juga secara *in vivo*. Selanjutnya Harley dkk mendeteksi aktivitas telomerase pada 90 dari 101 sampel tumor yang diambil dari 12 jenis tumor dan tidak satupun dari 50 sampel jaringan somatik normal (yang terdiri dari 4 macam jaringan) yang

menunjukkan adanya aktivitas enzim telomerase. Sedangkan Jerry W. Shay mendeteksi telomerase pada 906 dari 1056 sampel jaringan tumor (86%) pada 15 jenis tumor, dan tidak didapatkan pada sel-sel somatik normal yang berada jauh dari tumor tersebut, kecuali pada sel-sel gamet testis dan ovarium dan '*stem cell*'. Kadang-kadang aktivitas telomerase juga didapatkan pada jaringan yang letaknya berdekatan dengan jaringan tumor yaitu sebanyak 6% (21/361), hal ini diduga karena adanya mikrometastase. Pada lesi pre-maligna dan tumor benigna dideteksi adanya aktivitas telomerase sebanyak 24% (84/352). Pada karsinoma kolorektal, Yoshida, Li dkk. menemukan peningkatan enzim telomerase pada sel-sel tumor karsinoma kolorektal yang berasal dari sedian pencucian kolonoskopi dan pada karsinoma kolorektal nonpoliposis yang bersifat herediter. Brown (1998) menemukan peningkatan telomerase pada seluruh spesimen tumor karsinoma kolorektal yang diperiksanya. Pada penelitian-penelitian diatas menunjukkan bahwa aktivitas telomerase yang tinggi berhubungan dengan prognosis pasien yang buruk.

Pada beberapa type tumor, seperti neuroblastoma, aktivitas telomerase sudah dapat dideteksi pada stadium dini, dan aktivitasnya akan sangat meningkat pada stadium yang telah lanjut. Pada neuroblastoma dan kanker lambung dengan aktivitas telomerase yang tinggi, maka angka harapan hidup penderita menurun secara bermakna, dibandingkan bila aktivitas telomerase rendah atau tidak terdeteksi. Namun demikian pada keadaan tertentu, yaitu pada neuroblastoma yang sudah bermetastase jauh, aktivitas telomerase berada pada tingkat yang sangat rendah atau tidak ada sama sekali. Hal ini berhubungan dengan telomer yang sudah sangat pendek dan menunjukkan adanya remisi spontan. (J.W.Shay.,1995).

Meskipun telomerase pada sel-sel kanker meningkat aktivitasnya tetapi De Lange melaporkan bahwa telomer sel-sel kanker lebih pendek dibandingkan jaringan normal disekitarnya. Para peneliti menduga telomerase menjadi aktif setelah sel kehilangan kemampuannya untuk berproliferasi. Hal ini berdasarkan penelitian pada tahun 1990 yang mengatakan bahwa telomere pada sel tumor lebih pendek daripada telomere jaringan

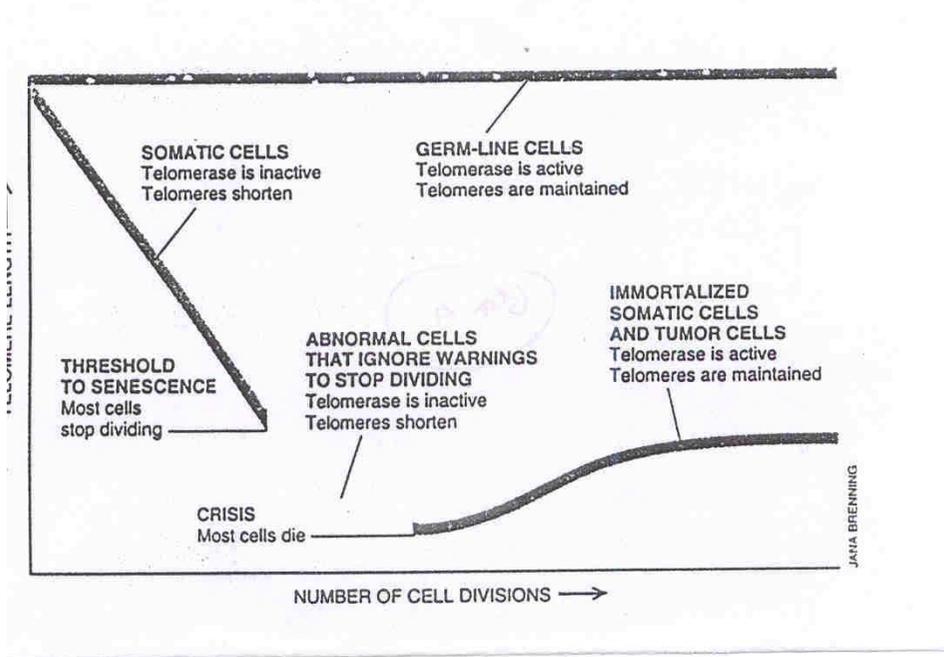
normal disekitarnya. Penelitian oleh Greider's, Bachetti's dan Harley's menjelaskan mengapa telomere pada sel kanker lebih pendek/kecil. Para peneliti menginduksi sel normal manusia dengan protein virus sehingga menyebabkan sel tidak menghiraukan lagi signal / tanda yang diberikan untuk menghentikan pembelahan. Sel akan terus mengalami replikasi / berproliferasi meskipun telah memasuki masa tua. Mereka menemukan bahwa sebagian besar telomer sel-sel tersebut menjadi sangat pendek, sehingga akhirnya mengalami kematian. Namun pada sekelompok kecil sel tetap bertahan hidup dan menjadi immortal dan terus melakukan replikasi. Pada sel immortal, telomere biasanya pendek tetapi ada peningkatan aktifitas telomerase. Kenyataan ini menerangkan bahwa aktifitas telomerase pada sel kanker akan meningkat setelah melalui tahapan tertentu yaitu pada saat sel kehilangan sejumlah substansi telomeric / subunit telomernya. Akhirnya enzim telomerase diaktivasi untuk menstabilkan telomernya, sel kanker akan menjadi '*immortal cell*', terjadilah proliferasi sel yang terus menerus. (Greider, 1996).

Berdasarkan bukti-bukti tersebut di atas, para peneliti

menjelaskan bagaimana regulasi aktivasi telomerase pada keadaan normal dan pada karsinogenesis. Dalam keadaan normal, telomerase dibuat secara rutin oleh embrio yang sedang berkembang. Pada saat tubuh telah terbentuk dengan sempurna, maka aktivitas telomerase ditekan pada sebagian besar sel-sel somatik dan telomere makin memendek setelah sel-sel tersebut bereplikasi. Kalau telomere telah memendek sampai batas tertentu, maka suatu sinyal/tanda akan ditimbulkan pada sel untuk berhenti membelah. Batas ini dikenal dengan nama "*Threshold to senescence*", selanjutnya sel akan mengalami proses penuaan dan akhirnya mati. Tetapi bila terjadi mutasi genetik, sinyal tersebut di atas akan dilanggar dan sel akan

terus melakukan replikasi, kromosom terus menerus kehilangan subunit telomernya, akhirnya dapat menyebabkan kematian sel. Tetapi bila pada saat terjadi mutasi, telomerase telah terlebih dahulu dibuat maka sel akan terus membelah dan menjadi immortal dan akhirnya terbentuk pertumbuhan neoplasma maligna. Penelitian lain mengenai regulasi telomerase, yaitu secara *in vitro* dengan menggunakan kultur jaringan. Dilakukan hibridisasi antara sel somatik normal (aktivitas telomerase negatif) dengan sel immortal (aktivitas telomerase positif).

Ternyata aktivitas telomerase tidak dijumpai pada sel hasil hibridisasi. Hal ini menunjukkan adanya gen supressor yang menghambat



Gambar 4. "Treshold of senescence" pada sel normal (Dikutip dari Scientific American, February 1996, Greider dkk.).

progresivitas pertumbuhan sel, dan ini sudah dibuktikan pada kromosom manusia. Jadi aktivitas telomerase ditekan sedemikian rupa pada sel tubuh manusia normal, tetapi terjadi reaktivasi pada sel kanker. Dari penelitian-penelitian tersebut memberi petunjuk mengenai aktivasi telomerase pada sel normal dan sel kanker. Phenomena ini membuat peneliti berusaha mencari obat yang dapat menghambat aktivitas enzim telomerase sehingga bisa menghambat *malignancy*.

#### Analisis Aktivitas Telomerase

- ♦ *Telomeric Repeat Amplification Protocol (TRAP)*.

Dengan teknik ini dapat mendeteksi aktivitas telomerase secara kualitatif dari ekstrak kultur sel atau sampel biologis lainnya. Prinsip test ini adalah membuat amplifikasi produk elongasi yang dimediasi oleh telomerase secara sangat spesifik dan dikombinasikan dengan pemeriksaan PCR ELISA.

- ♦ *TRAP / HPA Assay*.

Hybridization Protection Assay (HPA) dapat menggantikan tahap deteksi oleh ELISA. Teknik ini menggunakan probe yang merupakan zat non radioaktif, tidak memerlukan elektroforesis,

cepat, serta dapat dinilai secara kuantitatif.

### **Prospek untuk Terapi Kanker.**

Dari hasil penelitian yang menunjukkan adanya enzim telomerase pada bermacam-macam sel kanker dan tidak ditemukannya telomerase pada sel normal berarti hal ini dapat dijadikan dasar pengobatan kanker. Bila ada suatu zat yang dapat menghambat aktifitas enzim telomerase maka dapat menghambat pertumbuhan sel kanker tanpa merusak fungsi dari sel normal lainnya, jadi bersifat selektif. Hal ini berbeda dengan obat-obat anti kanker yang tersedia saat ini, yang pada umumnya selain merusak sel-sel kanker tetapi juga mengganggu fungsi jaringan normal dan seringkali toksik. Disamping itu juga, karena telomerase didapat pada bermacam-macam sel kanker, maka diharapkan suatu zat dapat digunakan secara luas pada bermacam-macam jenis kanker.

Kemungkinan pembuatan obat ini sekarang diteliti secara aktif oleh perusahaan farmasi dan bioteknologi. Tetapi ada beberapa hal yang harus diperhatikan, yaitu peneliti harus mendeterminasi sel mana yang secara normal membuat telomerase dan harus diketahui seberapa penting telomerase bagi sel-

sel tersebut. Karena sel kanker mempunyai telomer yang lebih pendek, sehingga efek obat telomerase inhibitor akan menyebabkan sel-sel tersebut kehilangan telomernya dan mengalami kematian. Sel-sel normal lainnya yang juga memiliki aktivitas telomerase akan mengalami hal yang sama. Jadi dapat terjadi efek samping yang tidak diinginkan (Greider, 1996).

Harley, Greider dkk. membuktikan bahwa suatu zat penghambat telomerase dapat menyebabkan telomer dari sel yang sedang dikultur mengecil dan sel tersebut kemudian mati setelah kurang lebih 25 siklus pembelahan sel. Blackburn dkk dari University of California menemukan bahwa sel kadangkadangkang berkompensasi akibat hilangnya telomerase. Sel akan memperbaiki ujungnya yang pendek dengan cara membuat rekombinan DNA dari kromosom lainnya sehingga sel dapat bertahan hidup. Kalau aktivasi alternatif ini dilakukan oleh sel tumor, maka target terapi dengan telomerase inhibitor akan gagal.

Percobaan dengan binatang diharapkan dapat memecahkan hal itu. Juga dapat menjelaskan apakah telomerase inhibitor akan mengeliminasi sel-sel tumor *in vivo* dan bekerja cukup cepat sehingga dapat mencegah sel-sel

kanker merusak jaringan yang vital. Untuk mengembangkan suatu telomerase inhibitor, peneliti harus mengetahui secara tepat tentang fungsi dari enzim itu. Bagaimana enzim ini terikat pada DNA? Bagaimana enzim ini menentukan jumlah subunit telomeric yang akan dibuatnya. DNA yang membentuk telomer terdiri dari bermacam-macam protein, oleh karena itu harus diketahui jenis protein yang mempengaruhi aktivitas enzim tersebut. Apakah dengan mengubah aktivitasnya dapat mempengaruhi panjang telomere? Hal-hal tersebut masih membutuhkan banyak waktu untuk dipelajari dan kita berharap di masa depan dapat ditemukan interaksi diantara molekul-molekul yang mempengaruhi panjang telomer.

Manfaat lain yang dapat diperoleh dari penelitian mengenai regulasi panjang telomere yaitu dapat mengembangkan terapi gen untuk berbagai kanker yaitu dengan cara mengekstraksi sel dari tubuh pasien, kemudian dikultur dan diubah susunan genetisnya, ditambahkan telomerase mengingat enzim tersebut dapat meningkatkan proliferasi sel, lalu mengembalikannya ke dalam tubuh pasien itu lagi. Dengan penambahan telomerase diharapkan dapat menambah kapasitas replikasi se-

hingga jumlah '*therapeutic cells*' yang akan dimasukkan ke dalam tubuh pasien bisa lebih banyak. Penelitian mengenai telomerase ini diharapkan merupakan suatu strategi yang inovatif untuk memerangi penyakit kanker.

### **Kesimpulan**

Telomere adalah segmen terminal DNA kromosom eukaryot yang berfungsi menjaga kestabilan kromosom. Pemendekan telomere pada setiap siklus replikasi berhubungan dengan proses penuaan sel. Panjang telomere juga dikaitkan dengan perkembangan sel kanker yang diperlihatkan dengan meningkatnya aktivitas enzim telomerase pada sel-sel kanker.

Aktivitas telomerase pada suatu jaringan dapat digunakan sebagai alat diagnosis pada beberapa type neoplasma, dan juga bisa membantu dalam menentukan prognosis atau mendeteksi adanya metastase dan remisi spontan pada neoplasma. Saat ini sedang diteliti secara aktif, zat yang dapat menghambat aktivitas enzim telomerase (telomerase inhibitor) sehingga bisa untuk terapi atau menghambat tumbuhnya sel-sel kanker.

### Daftar Pustaka

- Cotran R.S., Kumar F., Robbins,** *Pathologic Basic of Disease, 5<sup>th</sup> ed.,* W.B.Saunders Co. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 1994
- Greider Carol W., Blackburn Elisabeth H.,** *Telomere, Telomerase and Cancer,* Scientific American, February 1996.
- Kim Nam W., Piatyszek Mieczyslaw A., Prowse Karen R., Harley Calvin B., West Michael D., Ho Peter L.C., Coviello Gina M., Wright Woodring E., Weinrich Scott L., Shay Jerry W.,** *Specific Association of Human Telomerase Activity with Immortal Cells and Cancer.* Science vol. 226, 1994.
- Klingelhutz A.J.,** *Telomerase activation and cancer,* J Mol Med, 1997 January.
- Rufer Nathalie, Dragowska Wieslawa, Thornbury Gayle, Roosnek Eddy, Lansdorp Peter M.,** *Telomere length dynamics in human lymphocyte subpopulation measured by flow cytometry,* Nature Biotechnology, vol. 16, 1998.
- Shahib M.N. dan Martaadisoebrata D.,** *Studi DNA Telomere dan Aktivitas telomerase pada Plasenta Normal (Studi Pendahuluan),* Majalah Kedokteran Bandung, vol. 29, 1997.
- Shay Jerry W.,** *Telomerase and Cancer : Diagnostics, Prognostics and Therapeutic Implications,* Presented at The Annual Meeting of the Association for Molecular Pathology, November 1995.
- Zakian Virginia A.,** *Telomeres : Beginning to Understand the End,* Science vol. 270, 1995