

Peran Kaspase pada Apoptosis sebagai Salah Satu Usaha dalam Kemoterapi Kanker

Sri Utami

Bagian Biologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha Bandung.

Abstract

Apoptotic is a programmed, manage form of cell death through a signal transduction cascade which is genetically controlled. Besides taking role in a development system, immune system maintenance and tissue homeostatic, apoptotic is also the main response to chemotherapy. Apoptotic takes a significant role in cancer prevention and therapy.

Apoptotic induced chemotherapy generally objects in the DNA destroying, cell membrane lipid component, and proliferation inhibition. So that the cancer therapy is expected to alter the signal transduction cascade to achieve homeostatic as balanced as the previous condition.

Protease enzyme group, that is caspase, takes role in arranging and executing cell death apoptotically and is influenced by the p53 protein. Only some from 14 caspase group members do not involve in apoptotic mechanism. They which are called apoptotic initiators are caspase-2, 8, 9, and 10. While caspase-3, 6, and 7 are called the effectors or executors and are directly involved in cell destroying mechanism. Caspase-12 takes role in cytokine activation as well as mediating the apoptotic.

It has been arranged in vivo researches and they that use cancer cell culture in order to comprehend the mechanisms involving caspase in chemotherapy inducing apoptotic process.

Keywords: apoptotic, initiator-effector caspase, ligand-receptor, cytochrome-c, chemotherapy.

Pendahuluan

Istilah apoptosis diperkenalkan oleh Kerr et al. pada tahun 1970-an, untuk menjelaskan kematian sel, yang ditandai dengan kondensasi dan fragmentasi kromatin, fragmentasi DNA, menyusutnya volume sel, karioreksis, dan pembentukan badan-badan apoptotik.¹ Apoptosis merupakan bentuk kematian sel yang terprogram, yang melibatkan beberapa gen yang berperan penting dalam mekanisme penghancuran sel. Apoptosis sangat penting dalam organogenesis embrio, sistem imun, menghilangkan sel-sel yang secara genetik mengalami kelainan, dan memelihara homeostasis jaringan dewasa.^{2,3} Apoptosis terlibat dalam proses penuaan dan berbagai

jenis penyakit seperti kanker, AIDS, Alzheimer, dan Parkinson.⁴ Proses apoptosis ini dapat terjadi dari jenis cacing hingga manusia dan bervariasi sesuai dengan tingkat evolusi.

Berdasarkan perbedaan morfologi dan biokimiawi, kematian sel ada dua macam yaitu apoptosis dan nekrosis.^{2,5} Nekrosis terjadi bila sel terkena jejas fisik seperti hipotermia dan hipoksia, atau oleh senyawa-senyawa kimia dan mikroorganisme yang menyebabkan kerusakan membran sel sehingga terjadi kegagalan homeostasis. Selanjutnya diikuti dengan masuknya air dan ion-ion di sekitar sel yang menyebabkan pembengkakan sel, rusaknya organel, dan pecahnya membran sel, sehingga seluruh

kandungan sel keluar ke cairan ekstraseluler. Kerusakan jaringan yang meluas pada nekrosis ini menyebabkan inflamasi.²

Secara morfologis, apoptosis ditandai dengan beberapa ciri yaitu (1) masih adanya integritas membran, (2) sel mengkerut karena berkurangnya sitoplasma, (3) kondensasi nukleus dan fragmentasi sel, dan (4) terbentuknya badan-badan apoptotik yang dikenal sebagai nekrosis sekunder. Badan-badan apoptotik ini mengandung ribosom, mitokondria, dan bahan-bahan lain baik dari nukleus maupun sitosol, yang akan difagositosis oleh makrofag sehingga tidak menimbulkan inflamasi.^{2,4} Secara biokimiawi, apoptosis dimulai dengan (1) pengaktifan berbagai macam protein atau enzim yang bergantung pada energi ATP, (2) fragmentasi DNA sebelum lisis, (3) pelepasan sitokrom-c dan *apoptosis induction factor* (AIF) dari mitokondria ke sitoplasma, (4) pengaktifan kaskade kaspase, dan (5) perubahan pada asimetri membran.^{6,7}

Pada sel yang normal, apoptosis bergantung pada keseimbangan antara protein yang berperan sebagai aktivator dan inhibitor apoptosis. Banyak jalur transduksi sinyal yang berperan dalam proses apoptosis yang meliputi faktor-faktor intrinsik dan ekstrinsik, melalui jalur mitokondria dan reseptor apoptosis. Protein-protein seperti p53, Bcl-2, Bax, dan kaspase, sangat berpengaruh terhadap proses apoptosis.^{7,8,9}

Pada umumnya, penatalaksanaan kanker melalui pembedahan atau menginduksi kematian sel dengan radioterapi, kemoterapi, atau imunoterapi.¹⁰ Beberapa tahun terakhir, perkembangan terapi kanker bertujuan untuk membunuh sel kanker secara

apoptosis.¹¹ Ini disebabkan karena apoptosis tidak menyebabkan inflamasi pada sel-sel di sekitarnya seperti halnya nekrosis. Penelitian membuktikan bahwa pemaparan obat antikanker melibatkan gen yang menunjukkan ciri-ciri yang sama dengan apoptosis.¹²

Bermacam-macam zat sitotoksik mempunyai target yang berbeda-beda sehingga obat antikanker (kemoterapi) diklasifikasikan berdasarkan targetnya, misalnya berperan sebagai zat yang merusak DNA (Cyclophosphamide, Cisplatin, dan Doxorubisin), senyawa antimetabolit (methotrexate dan 5-fluorouracil), penghambat mitosis (Vincristine), analog nukleotida (6-mercaptopurine), atau sebagai inhibitor topoisomerase (etoposide). Mekanisme apoptosis yang diinduksi oleh kemoterapi ini pada umumnya bertujuan untuk merusak DNA, komponen lipid membran sel, dan protein seluler yang menyebabkan ketidakseimbangan homeostasis. Terapi tersebut bertujuan untuk mengubah kaskade transduksi sinyal sehingga tercapai keseimbangan seperti kondisi sebelumnya.⁶

Kaspase

Kaspase (*caspase*) merupakan akronim dari *cysteine aspartate-specific protease*, adalah kelompok enzim protease sistein yang berperan penting dalam mengatur dan mengeksekusi kematian sel secara apoptosis.

Di dalam sel, kaspase diekspresikan dalam bentuk zimogen yang tidak aktif dan menjadi aktif melalui proses-proses proteolitik bila di dalam substrat terdapat residu aspartat.^{4,7,13} Beberapa anggota kaspase ini tidak terlibat dalam apoptosis, namun lebih berperan dalam

proses-proses yang memerantarai sitokin (Tabel 1).^{6,7}

Tabel 1. Kelompok kaspase dan fungsi fisiologis dari masing-masing kelompok.⁷

Kelompok Kaspase	Nama Alternatif	Fungsi Fisiologis
1	ICE	Aktivasi sitokin
2	Nedd2, ICH-1	Inisiator apoptosis
3	CPP32, Yama, apopain	Efektor apoptosis
4	ICE II, TX, ICH-2	Aktivasi sitokin
5	ICE III, TY	Aktivasi sitokin
6	Mch2	Efektor apoptosis
7	Mch3, ICE-LAP3, CMH-1	Efektor apoptosis
8	Mch5, MACH, FLICE	Inisiator apoptosis
9	ICE-LAP6, Mch6	Inisiator apoptosis
10	Mch4	Inisiator apoptosis
11	Ich-3	Aktivasi sitokin
12		Aktivasi sitokin
13	ERICE	Aktivasi sitokin
14	MICE	Aktivasi sitokin

Pada mammalia, telah diidentifikasi 14 anggota kaspase, namun pada manusia, fungsi fisiologis dan sel target dari beberapa anggota kaspase (kaspase-11 hingga kaspase-14), belum diidentifikasi dengan baik.⁷

Kaspase mempunyai tiga domain yaitu ujung amino terminal, domain besar dan domain kecil. Ujung amino terminal berperan dalam mengatur aktivitas enzim, domain besar atau kaspase hulu (kaspase-2, 8, 9, dan 10) berperan sebagai inisiator (pemicu) apoptosis yang terdiri lebih dari 100 asam amino. Domain kecil atau kaspase hilir (kaspase-3, 6, dan 7) yang berperan sebagai efektor atau eksekutor apoptosis, adalah bagian yang terlibat langsung dalam penghancuran sel.

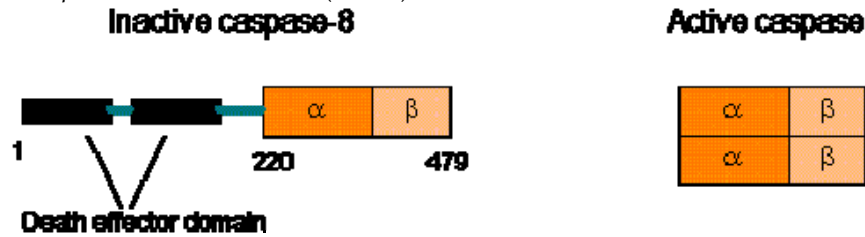
Kaspase hilir kurang dari 30 asam amino.⁷ Kaspase-12 selain memediasi aktivitas sitokin, juga

berperan dalam apoptosis pada jalur retikulum endoplasma dengan mekanisme yang belum jelas.^{3,6,7,12,13,14} Aktivasi kaspase terjadi ketika ketiga domain mengalami pemotongan residu asam aspartat yang menghilangkan domain amino terminal sehingga terjadi penggabungan domain besar dan domain kecil yang membentuk heterodimer kemudian diikuti oleh proses proteolitik. Dua heterodimer kemudian bergabung menjadi tetramer yang merupakan bentuk aktif dari kaspase (Gambar 1).^{12,13,15}

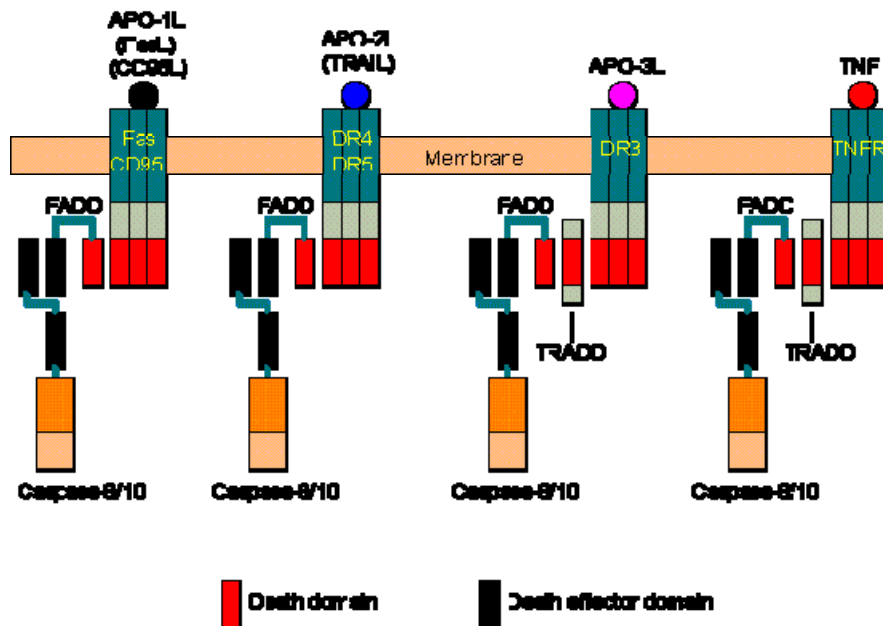
Aktivasi proteolitik dari efektor kaspase dapat memecah substrat tertentu, misalnya protein lamin yang menyebabkan pengerutan nukleus dan pembentukan *budding*. Pemecahan protein sitoskelet (fodrin, gelsolin, plectin, actin, dan sitokeratin) menyebabkan perubahan bentuk sel.

Demikian pula dengan pemecahan *initiator caspase-activated DNase (ICAD)*

menyebabkan fragmentasi DNA.⁶



Gambar 1. Aktivasi kaspase dengan pembentukan heterodimer.¹⁶



Gambar 2. Ikatan reseptor dan ligan yang sesuai, yang menstimuli aktivitas kaspase-8 atau kaspase-10.¹⁶

Apoptosis yang dimediasi oleh kaspase, dibagi menjadi dua jalur yaitu jalur reseptor kematian dan jalur mitokondria. Pada jalur reseptor kematian, protein yang bertindak sebagai reseptor adalah kelompok *tumor*

necrosis factor receptor (TNF-R) yang meliputi CD95 (APO-1/Fas), TNF-R1, DR4 (TRAIL-R1) dan DR5 (TRAIL-R2). Reseptor-reseptor di atas berikatan dengan ligan yang sesuai seperti CD95-L (APO-1-L/Fas-L), TNF- α , dan TNF-

related apoptosis-inducing ligand (TRAIL). Ikatan antara reseptor dan ligan bisa bergantung atau tidak bergantung pada protein p53. Disamping mengaktifkan reseptor, protein p53 juga mengaktifkan protein PERP sebagai penyebab apoptosis bila terjadi kerusakan DNA.^{6,17} Rangsangan ligan terhadap reseptor menyebabkan trimerisasi dan menginduksi pembentukan *death-inducing signaling complex* (DISC) yang mengandung adaptor sitoplasma spesifik dan kaspase-8. Beberapa protein adaptor misalnya *Fas-associated death domain* (FADD) berikatan dengan reseptor CD95 dan DR4/5, sedangkan *TNF-R-associated death domain* (TRADD) berasosiasi dengan TNF-R1. Protein adaptor FADD mengandung domain kedua, tempat mengikat kaspase-8/kaspase-10 yang disebut *death effector domain* (DED). Selanjutnya kaspase 8 diaktifkan oleh proses-proses proteolitik sehingga dapat memecah beberapa protein termasuk prokaspase 3 yang akan membawa ke program kematian (Gambar 2).¹²

Apoptosis ditekan oleh kelompok protein *inhibitor apoptosis* (IAP) yang berinteraksi dengan enzim-enzim yang menghambat aktivitas kaspase inisiator maupun efektor. Pada kultur sel, telah diidentifikasi beberapa IAP pada mamalia yaitu XIAP, c-IAP1, dan c-IAP2. Selama apoptosis, hambatan IAP dilawan oleh kelompok protein Smac yang disebut juga DIABLO. Protein Smac disintesis di dalam sitosol intermembran mitokondria. Stimulasi apoptosis, menyebabkan Smac dibebaskan kembali ke dalam sitosol bersama-sama dengan sitokrom-c.⁴

Hubungan Kaspase, Apoptosis, dan Kanker

Data menunjukkan bahwa banyak obat antikanker yang mekanisme kerjanya melalui apoptosis.^{4,6,12} Hal ini disebabkan sifat senyawa karsinogenik baik kimia maupun radiasi adalah menghambat pertumbuhan dan mampu menginduksi kematian sel. Peningkatan kaskade apoptosis dengan bermacam-macam rangsangan tersebut meningkatkan protein-protein pengatur yang melibatkan aktivitas kaspase, degradasi DNA, dan fragmentasi sel. Obat antikanker akan menginduksi sinyal apoptosis dengan mengubah aktivitas kaspase intraseluler.¹⁰

Beberapa penelitian telah dilakukan, antara lain dengan menggunakan lini sel (*cell line*) karsinoma hepar HepG2 di dalam kultur yang diberi manumycin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mitomycin dapat menghentikan siklus sel pada fase G2/M dan menginduksi apoptosis dengan meningkatkan protein p53 dan p21.³ Penelitian lain menggunakan Doxorubicin, Methotrexate, atau Bleomycin dapat menginduksi ekspresi CD95 dan CD95L pada membran sel yang diikuti oleh peristiwa apoptosis, baik secara autokrin maupun parakrin. Pada lini sel yang resisten terhadap CD95, obat antikanker menginduksi apoptosis tetapi melalui jalur lain yang belum jelas. Misalnya pada leukemia sel T, obat-obat antineoplastik seperti daunorubicin, doxorubicin, etoposide, dan mitomycin C dapat menginduksi apoptosis, baik yang sensitif maupun resisten terhadap CD95. Dari beberapa penelitian kemudian diketahui bahwa aktivasi kaspase-8 yang diinduksi oleh zat antikanker, menyebabkan apoptosis yang tidak bergantung pada ikatan antara ligan CD95L dan reseptor CD95.^{12,14} Penelitian menggunakan lini

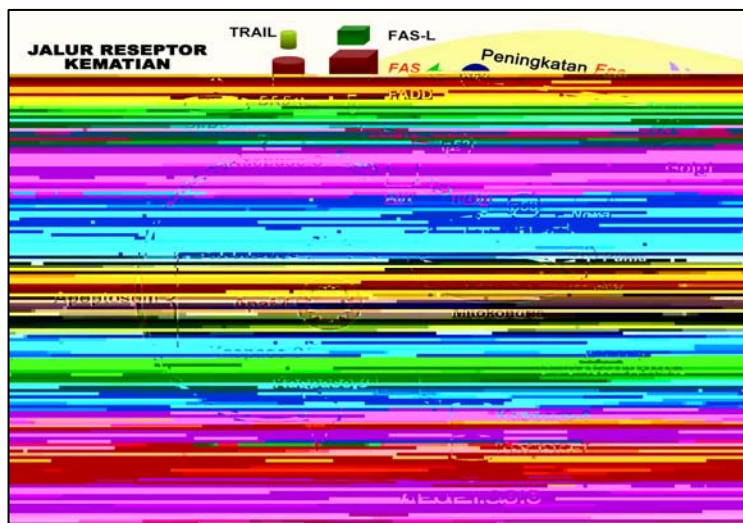
sel limfoma B dengan zat antineoplastik Rubicin dan Taxol baik pada mencit maupun manusia juga menunjukkan bahwa apoptosis yang terjadi adalah independen reseptor maupun ligan.¹⁴

Pada jalur mitokondria, protein kelompok Bcl-2 berperan penting dalam mengatur apoptosis. Protein kelompok Bcl-2 terdiri atas dua kelompok, yaitu protein antiapoptosis (Bcl-2 dan Bcl-X_L), dan protein proapoptosis yaitu Bax, Bok, Bak, Bid, Bim, Bik, Bad, Bmf, Hrk, Noxa, dan PUMA.⁷ Telah dilaporkan bahwa obat antikanker menginduksi proapoptotik dan menghambat antiapoptotik. Ekspresi berlebih dari Bcl-2 atau Bcl-X_L dapat mencegah pelepasan sitokrom-c dari mitokondria, aktivasi kaspase, dan fragmentasi DNA. Sedangkan protein sitosol Bid dapat dipecah dan diaktifkan oleh kaspase-8 yang aktif, sehingga translokasi Bid ke mitokondria akan menginduksi pelepasan sitokrom-c. Pelepasan sitokrom-c dari mitokondria selain disebabkan oleh kemoterapi, juga oleh faktor-faktor lainnya seperti radiasi ultraviolet, penurunan faktor tumbuh, dan ligasi Fas dan TNFR.³

Pada jalur mitokondria tersebut di atas, protein p53 sebagai faktor transkripsi, berperan menginduksi

apoptosis dengan meningkatkan ekspresi beberapa gen yang akan meningkatkan apoptosis seperti *Fas*, *DR5*, *Bax*, *Noxa*, *IGFBP3*, *PIG3*, dan *PAG608*. Protein Bax dan Noxa akan membebaskan sitokrom-c dari mitokondria. Pembebasan sitokrom-c dari ruang intermembran mitokondria ke dalam sitosol, merupakan kunci untuk mengaktifkan kaspase-9. Sitokrom-c akan berinteraksi dengan *apoptotic protease-activating factor-1* (Apaf-1), ATP/dATP, dan kaspase-9, dengan membentuk badan yang disebut apoptosom. Apoptosom ini bertindak sebagai aktivator pada inisiator kaspase. Kaspase-9 bentuk aktif ini kemudian mengaktifkan kaspase-3, kaspase-6, dan kaspase-7 yang menyebabkan program kematian sel melalui proses-proses proteolitik berbagai target (Gambar 3).^{6,7,13,18}

Penelitian oleh Blanc et al.¹⁵ membuktikan bahwa pemaparan cisplatin di dalam kultur sel kanker payudara MCF-7, menyebabkan apoptosis dengan terjadinya perubahan pada nukleus dan fragmentasi DNA. Dalam hal ini cisplatin mempengaruhi kaspase-3 untuk mengamplifikasi pembebasan sitokrom-c dari mitokondria.



Gambar 3. Dua jalur kaskade kaspase pada apoptosis yang meliputi jalur kematian dan jalur mitokondria.¹⁹

Kesimpulan

1. Kaspase mempunyai 14 anggota, sebagian dari anggota kaspase berperan sebagai inisiator apoptosis (kaspase-2, 8, 9, dan 10), sebagian berperan sebagai efektor/eksekutor apoptosis (kaspase-3, 6, dan 7), sedangkan sisanya berperan dalam memediasi sitokin (kaspase-1, 4, 5, 11, 12, 13, dan 14). Mekanisme yang mengaktifasi efektor sampai saat ini belum jelas.
2. Kaspase berperan dalam apoptosis melalui beberapa jalur yaitu reseptor kematian (kaspase-8), dan jalur mitokondria (kaspase-9). Kaspase-12, selain berperan dalam aktivasi sitokin, juga berperan pada apoptosis melalui jalur retikulum endoplasma.
3. Pengetahuan tentang mekanisme apoptosis yang dimediasi oleh kaspase, dapat digunakan untuk menentukan kemoterapi beberapa jenis kanker.

Daftar Pustaka

1. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implication in tissue kinetics. *BJ C* 1972;26: 239-57.
2. Guimarães CA, Linden R. Programmed Cell Death: Apoptosis and Alternative Deathstyles. *Eur j Biochem* 2004; 271: 1638-50.
3. Tong X, Lin S, Fujii M, Hou DX. Molecular mechanisms of echinocystic acid-induced apoptosis in HepG2 cells. *Biochem and Biophys Res Comm* 2004; 321: 539-46.
4. Shi Y. Caspase Activation, Inhibition, and Reactivation: A Mechanistic View. *Protein Science* 2004; 13:1979 - 87.
5. Edinger, AL, Thompson CB. Death by design: apoptosis, necrosis, and autophagy. *Curr Op Cell Bio* 2004;16:663-69.
6. Herr, I., Debatin, K.M. Cellular Stress Response and Apoptosis in Cancer Therapy. *Blood Rev* 2001; 98(9): 2603-14.
7. Ashe, P.C., Berry, M.D. Apoptotic Signaling Cascades. *Prog Neuro-Psycho & Biol Psychiatry* 2003; 27: 199-214.
8. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science* 1998; 281: 1312-1316.
9. Budihardjo I, Oliver H, Lutter M, Luo X, Wang X. Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. *An Rev Cell & Developmental Bio* 1999; 15: 269-290.
10. Kanduc D, Mittelman A, Serpico R, Sinigaglia E, Sinha AA, Natale C, Santacroce R, Di Corcia MG, Lucchese A, Dini L, Pani P, Santacroce S, Simone S., Bucci R, Farber E. Cell death: apoptosis versus necrosis (review). *Int J Oncol* 2002; 21: 165-170.
11. Kauffman SH, Earnshaw WC. Induction of apoptosis by cancer chemotherapy. *Experimental of Cell Res* 2000; 256: 42-49.
12. Wesselborg S, Engels IH, Rossmann E, Los M, Osthoff KS. Anticancer Drugs Induce Caspase-8/FLICE Activation and Apoptosis in the Absence of CD95 Receptor/Ligand Interaction. *Blood* 1999; 93(9): 3053-63.
13. Wetzel EB, Green DR. Caspases Induce Cytochrome c Release from Mitochondria by Activating Cytocolic Factors. *J Biochem* 1999; 274(25): 17484-90.
14. WiederT, Essmann F, Prokop A, Schmetz K, Osthoff KS, Beyaert R, Dörken B, Daniel PT. Activation of Caspase-8 in Drug-Induced Apoptosis of B-lymphoid

- cells is Independent of CD95/Fas Receptor-Ligan Interaction and Occurs Downstream of Caspase-3. *Blood* 2001; 9(5): 1378-1387.
15. Blanc C, Deveraux QL, Krajewski S, Jänicke RU, Porter AG, Reed JC, Jaggi R, Marti M. Caspase-3 is Essential for Procaspase-9 processing and Cisplatin-Induced Apoptosis of MCF-7 Breast Cancer Cells. *Cancer Res* 2000; 60: 4386-4390.
 16. Anonymous. <http://www.web-books.com/mobio/free/Ch6G.htm>. 27 Pebruari 2006
 17. Attardi LD, Reczek EE, Cosmas C, Demicco EG, McCurrach ME, Lowe SW, Jacks T. PERP, an apoptosis-associated target of p53, is a novel member of the PMP-22/gas3 family. *Genes and Development* 2000;14: 704-718.
 18. Gao CF, Ren S, Zhang L, Nakajima T, Ichinose S, Hara T, Koike K, Tsuchida N. Caspase-Dependent Cytosolic Release of Cytochrome c and Membran Translocation of Bax in p53-Induced Apoptosis. *Exp Cell Res* 2001; 265: 145 - 151.
 19. Handayani, T. Kesan Antiproliferasi dan Mekanisme Tindakan Xantorizol ke atas Titisan Sel Hepatoma HepG2. 2007. Tesis Sarjana Universitas Kebangsaan Malaysia.

