

## EFEK EKSTRAK BIJI JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* L) TERHADAP REGULASI EKSPRESI GEN TGF- $\beta$ 1 SEBAGAI MARKER TUMOR

### EFFECTS OF *Jatropha curcas* L SEED EXTRACT IN REGULATION EXPRESSION TUMOR MARKER OF TGF- $\beta$ 1 GENE

Endah Wulandari<sup>1\*</sup>, Rr Ayu Fitri Hapsari<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biochemistry and <sup>2</sup>Histology, Faculty of Medicine and Health of Islamic State University Syarif Hidayatullah, Jakarta.

#### ABSTRACT

*The role of TGF- $\beta$ 1 is known as the main immunosuppressor associated with tumor, but on the other opinion, it is associated with proliferation and tumor invasion. The increase and decrease of the secretion of TGF- $\beta$  is to regulate the proliferation, differentiation, and death of various cell types. Now we all know the extract of *Jatropha curcas* L seed serves as antitumor. Allegedly, it can regulate the expression of TGF- $\beta$ 1 in control of cell number. The purpose of this study is to determine the effects of *Jatropha* seeds to the regulation of gene expression of TGF- $\beta$ 1 as a tumor marker. The method is performed by giving a dose groups the extract of *jatropha* seed (0, 5, 25, 50, 250 mg/BB) in mice. Then measurement of mRNA expression (RT-PCR), the protein of TGF- $\beta$ 1 levels (ELISA), and qualitative observations of liver histology were done. The expression of TGF- $\beta$ 1 mRNA is significantly 4.39 to 7.34 times higher than (ANOVA,  $p < 0.05$ ) and the protein of TGF- $\beta$ 1 levels are lower (ANOVA,  $p > 0.05$ ) than the control. Histological observation of liver showed the extract of *jatropha* seed induces damage nucleus of hepatocytes cell and sinusoidal. The effects extract of *jatropha* seed increased the level of TGF- $\beta$ 1 mRNA but not followed by increasing protein of TGF- $\beta$ 1 levels, and it was stimulated necrosis and apoptosis of hepatocytes cell.*

**Key words:** TGF- $\beta$ 1, *Jatropha curcas* L, tumor

#### ABSTRAK

*Peran TGF- $\beta$ 1 diketahui sebagai immunosuppressor utama yang berhubungan dengan tumor tetapi dilain pihak terkait dengan proliferasi dan invasi tumor. Peningkatan dan penurunan sekresi TGF- $\beta$ 1 untuk meregulasi proliferasi, diferensiasi dan kematian dari berbagai jenis sel. Saat ini diketahui ekstrak biji jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) berfungsi sebagai antitumor. Diduga dapat meregulasi ekspresi TGF- $\beta$ 1 dalam pengendalian jumlah sel. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek biji jarak pagar terhadap regulasi ekspresi gen TGF- $\beta$ 1 sebagai marker tumor. Metode yang dilakukan dengan memberikan kelompok dosis ekstrak biji jarak pagar (0, 5, 25, 50, 250 mg/BB) pada tikus. Lalu dilakukan pengukuran ekspresi mRNA (RT-PCR), kadar protein TGF- $\beta$ 1 (ELISA), dan pengamatan histologi hepar secara kualitatif. Ekspresi mRNA TGF- $\beta$ 1 cenderung lebih tinggi 4,39-7,34 kali secara bermakna (ANOVA;  $p < 0,05$ ) dan kadar protein TGF- $\beta$ 1 cenderung lebih rendah secara tidak bermakna (ANOVA;  $p > 0,05$ ) dibandingkan kontrol. Pengamatan histologi hepar menunjukkan pemberian ekstrak biji jarak menginduksi kerusakan nukleus sel hepatosit dan sinusoid. Efek ekstrak biji jarak meningkatkan kadar mRNA tetapi tidak diikuti peningkatan kadar protein TGF- $\beta$ 1, serta menstimulasi terjadinya nekrosis dan apoptosis sel hepatosit.*

**Kata kunci:** TGF-  $\beta$ 1, hepar, jarak pagar, tumor

#### PENDAHULUAN

Tumor atau neoplasma terbentuk diawali akibat mutasi gen yang menyebabkan terjadi peningkatan massa jaringan abnormal, tumbuh berlebihan, tidak terkordinasi dan tumbuh terus-menerus meskipun rangsang yang menimbulkan telah hilang. Proliferasi ini mempunyai sifat progresif, menimbulkan pembengkakan/benjolan

pada jaringan tubuh (Ringer, 2013; Lei *et al.*, 2011).

Tumor hingga saat ini masih menjadi masalah terbesar dalam manajemen terapi. Kematian yang banyak terjadi pada kasus tumor merupakan suatu bentuk kegagalan baik bagi paramedis yang menangani juga bagi pasien dan keluarganya.

*Transforming growth factor- $\beta$ 1* (TGF- $\beta$ 1) merupakan sitokin pleiotropik, disekresikan oleh berbagai sel termasuk sel imun, sel tumor dan sel stroma. Disregulasi sinyal TGF- $\beta$ 1 berperan dalam

**Corresponding author :** Endah Wulandari  
**Email:** endah.wulandari@uinjkt.ac.id

inisiasi dan perkembangan berbagai kanker sehingga disebut pula bahwa TGF- $\beta$ 1 sebagai salah satu *tumor marker* (Han dan Alvarez-Breckenridge, 2015). *Up-regulation* TGF- $\beta$ 1 merupakan *marker* awal perkembangan tumor payudara, sehingga terapi yang lebih tepat dapat diterapkan lebih awal (Choud *et al.*, 2008). Selain itu TGF- $\beta$ 1 diketahui sebagai immunosuppressor utama yang berhubungan dengan tumor. TGF- $\beta$ 1 merupakan protein yang disekresikan untuk meregulasi mekanisme proliferasi, diferensiasi dan kematian dari berbagai jenis sel, sehingga disebut pula sebagai salah satu *marker tumor*. Semua jenis sel imun, termasuk sel B, sel T dan sel dendritik serta makrofag, mensekresi TGF- $\beta$ 1 yang mengatur proliferasi, diferensiasi dan mengaktifasi sitokin lain dalam pertumbuhan sel. TGF- $\beta$ 1 merupakan sitokin penentu dalam pemulihan jaringan akibat produksi yang berlebihan dari mekanisme fibrogenesis (Kisseleva dan David, 2008). Selain itu TGF- $\beta$ 1 diketahui berperan pula dalam pembentukan tumor melalui pengaktifan fibroblas dan penyesuaian kolagen yang berkurang. Dalam hal ini TGF- $\beta$ 1 dapat diregulasi dalam memicu perkembangbiakan fibroblas dan juga menghambat menjadi tumor melalui mekanisme apoptosis, penghambatan aktivitas pembentukan fibroblas dengan menghalangi TGF- $\beta$ 1 berikatan dengan reseptor (Wollbold *et al.*, 2009).

Usaha untuk menekan kejadian angka kematian akibat tumor hingga saat ini masih terus diupayakan, salah satunya melalui pemanfaatan bahan herbal. Pada penelitian ini digunakan tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.), karena tanaman ini mudah didapatkan dan hingga saat ini masyarakat masih menggunakan tanaman tersebut sebagai obat penyembuh luka, dengan cara mengoleskan ekstrak daun jarak pagar pada luka. Selain itu, senyawa curcin yang terdapat dalam biji tanaman jarak pagar dilaporkan mempunyai efek antikanker atau antitumor meskipun mekanismenya belum diketahui (Agbogidi *et al.*, 2013). Informasi tentang tanaman jarak pagar terhadap aktivitas TGF- $\beta$ 1 belum ada, oleh karena itu pada penelitian ini perlunya menggali manfaat tanaman jarak pagar dalam menekan mekanisme fibrogenesis secara molekuler melalui regulasi TGF- $\beta$ 1. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek biji jarak pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap regulasi ekspresi gen TGF- $\beta$ 1.

## METODOLOGI

Desain penelitian ini merupakan studi eksperimental, yang terdiri atas 5 kelompok perlakuan. Setiap kelompok terdiri atas 5 tikus

yang diperoleh melalui perhitungan Ferderer. Jenis tikus yang digunakan adalah *Rattus norvegicus* L galur *Sprague Dawley* dengan usia 9-10 minggu dan berat 250-350 gram. Bahan biji jarak pagar (*Jatropha curcas* L) diperoleh dari BALITTRO (Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat) Bogor, Jawa Barat dalam bentuk serbuk. Setiap kelompok diberi perlakuan dengan pemberian ekstrak biji jarak pagar (*Jatropha curcas* L) dengan dosis 0, 5, 25, 50, 250 mg/kg BB. Alat yang digunakan berupa alat-alat gelas, alat bedah, timbangan analitik, *homogenizer*, *centrifuge*, spektrofotometer, *ELISA reader* (Memmert), PCR kuantitatif (*Light Cycler*), mikrotom, oven, penangas air.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta dari Maret 2015-November 2016. Parameter yang diukur adalah kadar mRNA dan protein TGF- $\beta$ 1, serta pengamatan histologi jaringan hepar. Pemeriksaan dengan teknik PCR dan ELISA dilakukan di Laboratorium Biokimia, sedangkan pembuatan preparat dan teknik pewarnaan hematoksin-Eosin (HE) dilakukan di Laboratorium Histologi.

Pengukuran kadar mRNA TGF- $\beta$ 1 meliputi isolasi RNA jaringan hepar menggunakan RNA *mini* Kit (Tissue) Geneaid dari 25 mg jaringan hepar. Tahapan yang dilakukan adalah: melisiskan sel jaringan hepar dengan merkaptotanol, pengikatan RNA dengan penambahan etanol 70 % dalam ddH<sub>2</sub>O (RNase-free dan DNase-free), pencucian RNA, purifikasi RNA dengan penambahan DNase I dan mengukur indeks kemurnian, hasil isolasi dianggap baik bila rasio A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub>  $\geq$  1,7. Untuk pengukuran RT-PCR menggunakan cetakan RNA 200 ng, melalui *Light cycler* 1,5 Roche dengan prosedur KAPA SYBR FAST *one step* qRT-PCR universal KAPA Bioystems. *Primer* gen TGF- $\beta$ 1 mouse dirancang menggunakan program *Primer 3*, 5'GGATACCAACTATTGCTTCAGCTCC-3' dan 5'AGGCTCCAAATATAGGG GCAGGGTC-3' (produk 156 bp) dan primer kalibrator 18S 5'-AAACGGCTA CCACATCCAAG-3' dan 5'-CCTCCAATGGATCCTCGTTA-3' (produk 155 bp). Nilai *Cycle Threshold/C(t)* yang diperoleh, dihitung menggunakan rumus metode *livak*, sehingga diperoleh kadar mRNA.

Pengukuran kadar protein TGF- $\beta$ 1 menggunakan prosedur kit ELISA Cusabio. Pertama dilakukan pembuatan homogenat dari 30 mg jaringan hepar dalam 1 mL akuabides, lalu diukur kadar protein total menggunakan spektrofotometer. Selanjutnya dilakukan pengenceran standar TGF- $\beta$ 1 yang sudah tersedia dalam kit, sehingga diperoleh kadar: 125; 62,5;

31,25; 15,625; 7,813; 3,906 dan 0 pg/mL. *Microplate* yang tersedia dalam kit sudah berisi antibodi spesifik anti-TGF- $\beta$ 1 pada setiap *well*. Lalu ditambahkan 100  $\mu$ L sampel homogenat/standar yang telah dibuat ke dalam *well* secara duplo. *Well* ditutup lalu diinkubasi pada suhu 37° C selama 2 jam. Cairan dibuang tanpa dicuci, lalu ditambahkan 100  $\mu$ L *Biotin-Antibody* pada setiap *well*. *Microplate* ditutup kembali dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 jam. Lalu dilakukan pencucian dengan 200  $\mu$ L *wash buffer* sebanyak 3 kali. Kemudian ditambahkan 100  $\mu$ L HRP-Avidin, diinkubasi pada suhu 37° C selama 1 jam. *Well* dicuci kembali dengan 200  $\mu$ L *wash buffer* sebanyak 5 kali. TMB Substrat sebanyak 90  $\mu$ L ditambahkan pada setiap *well* di tempat gelap, lalu diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit. Setelah itu ditambahkan 50  $\mu$ L *stop solution* dan segera dibaca dengan menggunakan *ELISA Reader* pada panjang gelombang 450 nm. Kadar TGF- $\beta$ 1 pg/mg protein total diperoleh melalui kurva standar dan selanjutnya dibagi total protein.

Pembuatan Preparat Histologi dan Pewarnaan dengan Hematoksin-Eosin. Potongan kecil jaringan hepar setelah pembedahan dimasukkan dalam *buffer* formalin 10 %. Lalu dilakukan proses dehidrasi dengan alkohol bertingkat (30 %, 50 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, dan absolut) secara berurutan 2 kali selama 20 menit. Proses *clearing* (menghilangkan alkohol), jaringan dimasukkan dalam campuran toluol-alkohol (1:1), dan toluol murni selama 25 menit. Proses *embedding* (menghilangkan cairan *clearing* untuk kemudian digantikan dengan paraffin), jaringan dimasukkan ke dalam toluol-paraffin (1:1) dan didiamkan semalam. Jaringan kemudian dimasukkan ke dalam 4 kali paraffin cair berbeda selama 15 menit di dalam inkubator suhu 62° C. Proses pencetakan (membuat blok). Paraffin cair dituang secukupnya ke dalam cetakan kotak yang terbuat dari kertas karton. Jaringan dimasukkan ke dalam paraffin cair tersebut, lalu *embedding cassette* diletakkan di atasnya. Tuang kembali paraffin cair untuk merekatkan, lalu biarkan pada suhu ruang hingga blok membeku. Proses pemotongan blok paraffin jaringan dengan mikrotom, ketebalan 6  $\mu$ m. Hasil potongan direndam dalam penangas air suhu 40° C, pilih jaringan terlihat meregang. Lalu potongan diletakkan pada kaca objek yang sebelumnya sudah dioleskan campuran albumin dan gliserin yang telah didiamkan semalaman. Preparat dikeringkan dan dapat disimpan sampai siap diberi pewarnaan.

Pewarnaan dengan Hematoksin-Eosin, dilakukan dengan merendam preparat yang sudah

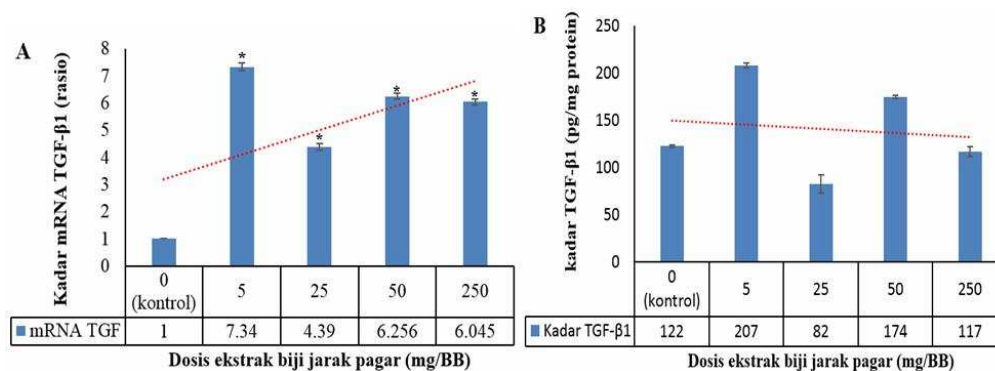
dibuat ke dalam *xylol* selama 10 menit sebanyak 2 kali; alkohol bertingkat (alkohol absolut, dan 95 %) selama 5 menit sebanyak 2 kali; alkohol bertingkat (90 %, 80 %, 70 %) selama 1 menit; akuades selama 4 menit; pewarna hematoksin selama 4 menit; akuades selama 1 menit sebanyak 3 kali; asam alkohol selama 30 detik; akuades selama 1 menit; dan larutan eosin selama 1 menit. Setelah itu, preparat dilihat dibawah mikroskop untuk memastikan pewarnaan sudah benar (sitoplasma merah dan inti ungu). Bila preparat sudah sesuai yang diharapkan, preparat direndam dalam: akuades selama 1 menit sebanyak 3 kali; alkohol bertingkat (70 %, 80 %, 90 %, 95 % dan absolut) selama 1 menit; *xylol* selama 3 menit sebanyak 3 kali. Segera setelah perendaman dalam *xylol* terakhir, preparat diteteskan canada balsam secukupnya, lalu ditutup *cover glass* dengan hati-hati untuk mencegah terbentuknya gelembung udara. Kemudian preparat dilabel sesuai kode jaringan dan ditunggu hingga mengering dan siap dilakukan pengamatan di mikroskop. Preparat diamati lalu difoto menggunakan mikroskop *Olympus BX41* dan *software Olympus DP2-BSW* pada komputer dengan perbesaran 10x. Pengamatan sel hepatosit dilakukan secara kualitatif dengan melihat struktur nukleus, sinusoid dan matriks homogen.

Data kadar mRNA dan protein TGF- $\beta$ 1 dianalisis menggunakan ANOVA bila seluruh kelompok normal dan homogen, dan bila salah kelompok data tidak normal atau tidak homogen dilakukan uji *Kruskal-Wallis*.

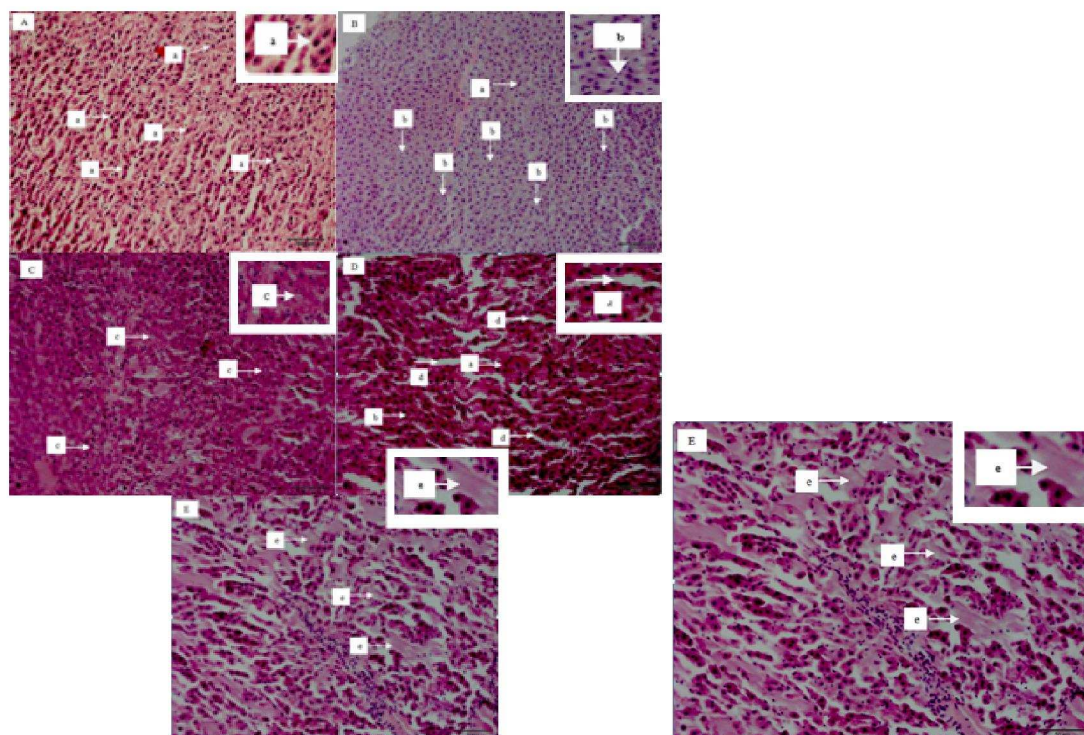
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Data hasil ekspresi mRNA TGF- $\beta$ 1 dan kadar protein TGF- $\beta$ 1 ditampilkan pada Gambar 1. Terlihat kadar mRNA TGF- $\beta$ 1 kontrol (dosis 0 ekstrak biji jarak pagar) dibandingkan dengan perlakuan ekstrak biji jarak pagar dosis 5 mg/BB terjadi peningkatan 7 kali; 25 mg/BB terjadi peningkatan 4 kali; 50 dan 250 mg/BB terjadi peningkatan 6 kali, dan secara keseluruhan berbeda bermakna (ANOVA;  $p < 0,05$ ). Demikian pula terlihat bahwa kadar TGF- $\beta$ 1 pada ekstrak biji jarak pagar dosis 5 dan 50 mg/BB lebih tinggi dibandingkan kontrol, dengan selisih 52-82 pg/mg protein total, namun tidak bermakna secara statistik (ANOVA,  $p > 0,05$ ). Pada ekstrak biji jarak pagar dosis 25 dan 250 mg/BB kadar TGF- $\beta$ 1 lebih rendah dibandingkan kontrol dan tidak bermakna secara statistik (ANOVA,  $p > 0,05$ ).

Berdasarkan analisis regresi, pemberian dosis ekstrak biji jarak pagar meningkatkan kadar mRNA dibandingkan kontrol (Gambar 1A), tetapi tidak diikuti dengan peningkatan kadar protein TGF- $\beta$ 1. Analisis regresi kadar protein TGF- $\beta$ 1



Gambar 1. Ekspresi gen TGF- $\beta$ 1 setelah pemberian ekstrak biji jarak pagar. (A) kadar mRNA TGF- $\beta$ 1 setelah pemberian ekstrak biji jarak dengan dosis 0, 5, 25, 50, dan 250 mg/BB (ANOVA; \* $p < 0,05$ ). (B) Kadar TGF- $\beta$ 1 setelah pemberian ekstrak biji jarak dengan dosis 0, 5, 25, 50, dan 250 mg/BB (ANOVA;  $p > 0,05$ ).



Gambar 2. Histopatologi jaringan hepar dengan pewarnaan HE setelah pemberian ekstrak biji jarak dengan dosis: (A) kontrol: 0 mg/BB (B) 5 mg/BB (C) 25 mg/BB (D) 50 mg/BB dan (E) 250 mg/BB. Keterangan: a = sel hepatosit dengan nukleus normal, b = sel hepatosit dengan nukleus kecil, c = sel hepatosit dengan nukleus menggelembung, d = sinusoid melebar dan e = terdapat matriks homogen diantara sinusoid (gambar besar: perbesaran 100x; skala 50  $\mu$ m; gambar sisipan (insert): perbesaran 400x).

menurun setelah pemberian dosis ekstrak biji jarak pagar (Gambar 1B). Baik kadar mRNA maupun protein TGF- $\beta$ 1 memiliki kemiripan pola setelah pemberian ekstrak biji jarak, menunjukkan adanya regulasi ekstrak biji jarak pagar pada proses transkripsi (proses pembentukan mRNA

dari cetakan DNA) dan translasi (proses pembentukan protein dari mRNA) dalam mekanisme sintesis protein. Regulasi sintesis protein dimaksud yaitu bila protein yang diperlukan akan ditranskripsikan dan sebaliknya bila tidak diperlukan produksi protein dihentikan.

Walaupun terjadi peningkatan kadar mRNA, tidak seluruhnya disintesis menjadi protein (Zhang *et al.*, 2014).

Penurunan ekspresi protein TGF- $\beta$ 1 dapat disebabkan karena (1) walaupun mRNA terbentuk, tetapi tidak ditranslasikan menjadi protein setelah adanya repressor protein (2) pengaturan pasca-transkripsi melalui pengurangan dan penambahan nukleotida pada rantai RNA, (3) translasi dihambat melalui fosforilasi, (4) pasca sintesis dimaksud bila tidak diperlukan atau sudah masa *half life* akan didegradasi atau protein terbentuk namun terhambat berikatan dengan reseptor (Herman *et al.*, 2014). Efek ekstrak biji jarak pagar belum diketahui mekanisme regulasinya, sehingga masih perlu penelitian lebih lanjut. Stimulasi regulasi transkripsi lokasi *long non-coding* RNA (lncRNA) MALAT1 pada gen TGF- $\beta$ 1 pada penelitian Yang *et al.* (2016), dapat menekan proliferasi dan migrasi sel pada *epithelial-mesenchymal transition* (EMT) di sel *retinal pigment epithelial* (RPE). Menurut Yin *et al.* (2016) terapi jalur target pasca ekspresi protein TGF- $\beta$ 1 seperti sinyal ERK1/2, NF- $\kappa$ B dan PUMA juga efektif pada pencegahan pembentukan tumor. Regulasi pasca sintesis protein TGF- $\beta$ 1 melalui pengikatan reseptor dapat pula berperan utama dalam regulasi inisiasi tumor dan metastasis, hal ini tergantung sinyal yang diterima reseptor TGF- $\beta$ 1. Delesi TGF- $\beta$ 1 tipe II (T $\beta$ R $\text{II}$ ) di *epithelial mammae* tikus mempercepat pembentukan tumor dan meningkatkan metastasis di paru-paru. Sinyal TGF- $\beta$ 1 dan reseptor menginduksi peningkatan jumlah sirkulasi sel tumor dan metastasis pada tikus (Novitskiy *et al.*, 2014). Penelitian lain mengemukakan bahwa pada tikus yang diiduksi kanker kandung kemih, penghilangan sinyal TGF- $\beta$ 1 pada pasca sintesis protein menyebabkan penghambatan pertumbuhan dan invasi tumor (Liang *et al.*, 2016).

Pada Gambar 2 terlihat histologi model organ hepar setelah pemberian dosis ekstrak biji jarak pagar. Pada pemberian ekstrak biji jarak pagar dosis 5 mg/BB menunjukkan sebagian besar sel hepatosit memiliki nukleus kecil, dosis 25 mg/BB menunjukkan sebagian sel hepatosit memiliki nukleus menggelembung, dosis 50 mg/BB menunjukkan sinusoid melebar pada jaringan hepar; dan dosis 250 mg/BB menunjukkan diantara sinusoid yang melebar terdapat matriks homogen dibandingkan dengan kontrol dengan sebagian sel hepatosit dengan nukleus dan sinusoid normal. Nukleus dan sinusoid abnormal merupakan salah satu ciri sel mengarah ke nekrosis dan apoptosis (Guicciardi *et al.* 2013). Pemberian ekstrak biji jarak pagar dari

dosis 50-250 mg/BB meregulasi peningkatan transkripsi mRNA TGF- $\beta$ 1, penurunan sintesis protein TGF- $\beta$ 1 dan menstimulasi terjadinya nekrosis dan apoptosis. Diduga penurunan protein TGF- $\beta$ 1 terkait terjadinya nekrosis dan apoptosis jaringan hepar. Keterbatasan pada penelitian ini adalah tidak menghitung jumlah sel yang mengalami nekrosis dan apoptosis, sehingga perlunya penelitian lanjutan mengenai korelasi kadar protein TGF- $\beta$ 1 dengan terjadinya nekrosis dan apoptosis sel hepatosit secara kuantitatif setelah pemberian ekstrak biji jarak pagar.

## KESIMPULAN

Efek ekstrak biji jarak pagar dapat meningkatkan kadar mRNA TGF- $\beta$ 1, tetapi tidak diikuti peningkatan kadar protein TGF- $\beta$ 1. Ekstrak biji jarak pagar menstimulasi terjadinya nekrosis dan apoptosis sel hepatosit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agbogidi, O.M., Akparobi, S.O., and Eruotor, P.G. 2013. Health and environmental benefits of *Jatropha curcas* linn. *App Sci Rep.* 1(2):36-39.
- Choud J., Zavadova E., Halaska M.J., Strnad P., Fucikova T., and Rob L. 2008. Preoperative transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta 1) plasma levels in operable breast cancer patients. *Eur J Gynaecol Oncol.* 29(6):613-6.
- Guicciardi, M.E., Malhi, H., Mott, J.L., and Gores, G.J. 2013. Apoptosis and necrosis in the liver. *Compr Physiol.* DOI: 10.1002/sphy.c1200020.
- Han, J., and Alvarez-Breckenridge, C.A., 2015. TGF- $\beta$ 1 signaling and its targeting for glioma treatment. *Am J Cancer Res.* 5(3):945-955.
- Herman, D., Thomas, C.M., and Stekel, D.J. 2012. Adaptation for protein synthesis efficiency in a naturally occurring self-regulating operon. *PLoS One.* DOI:10.1371/j.pone0049678.
- Kisseleva, T., and David, A.B. 2008. Mechanisms Of Fibrogenesis. *Exp Biol Med.* 233:109-122
- Lei, Z.X., Yin, J.D., Chang, W.J., Li, L.J., Zhong, L.Z., and Long, C.J. 2011. Transforming growth factor- $\beta$ 1 phage model peptides isolated from a phage display 7-mer peptide library can inhibit the activity of keloid fibroblasts. *Chinese Medical Journal.* 124(3):429-435.
- Liang, Yu., Zhu, F., Zhang, H., Chen, D., Zhang, X., Gao, Q., and Li, Y. 2016. Conditional of TGF- $\beta$  signaling inhibits tumor progression and invasion in an induced mouse bladder

- cancer model. *Scientific Reports*. DOI:10.1038/srep29479.
- Novitskiy, S.V., Forrester, E., Pickup, M.W., Gorska, A.E., Chytil, A., Aakre, M., Polosukhina, D., Owens, P., Yusupova, D.R., Zhao, Z., Shyr, Y., and Moses, H. 2014. Attenuated transforming growth factor beta signaling promotes metastasis in a model of HER2 mammary carcinogenesis. *Breast cancer Res.* 16:4-25.
- Ringer, SA. 2013. Core concepts: thermoregulation in the newborn, part II: prevention of aberrant body temperature. *NeoReviews.* 13(14):221-229.
- Yang, S., Yao, H., Li, M., Li, H., and Wang, F. 2016. Long non-coding RNA MALAT1 mediates Transforming Growth Factor Beta1-induced epithelial-Mesenchymal transition of retinal pigment epithelial cells. *PloS One.* DOI:10.1371/j.pone0152687.
- Yin, Q., Liu, S., Dong, A., Mi, X., Hao, F., and Zhang, K. 2016. Targeting Transforming Growth Factor-Beta1 (TGF- $\beta$ 1) inhibit tumorigenesis of anaplastic thyroid carcinoma cell through ERK1/2-NF- $\kappa$ B-PUMA signaling. *Med Sci Monit.* 22:2267-2277.
- Zhang, Y., Nicholatos, J., Dreier, J.R., Ricoult, S.J.H., Widenmaler, S.B., Hotamisligil, G.S., Kwiatkowski, D.J., and Manning, B.D. 2014. Coordinated regulation of protein synthesis and degradation by mTORC1. *Nature.* 513:440-443.