

PERUBAHAN MOLEKULER GEN PENEKAN TUMOR P-53 AKIBAT PAJANAN RADIASI PENGION

Mukh Syaifudin

Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi – BATAN

ABSTRAK

Siklus sel dikontrol oleh sejumlah gen yang membentuk suatu jaringan kerja yang apabila salah satu gen tersebut mengalami perubahan fungsi maka akan berpengaruh pada seluruh sistem. Untuk itu sel normal mempunyai sejumlah mekanisme intrinsik yang melibatkan “gatekeeper” molekular untuk menghindarkan diri dari pembelahan yang tidak terkontrol. Pembentukan dan perkembangan biakan tumor terjadi jika protein khusus yang mengatur pembelahan sel mengalami perubahan fungsi, ekspresi gen atau hilang kedua-duanya. Salah satu gen penekan tumor yang berhubungan erat dengan pengendalian siklus sel adalah p53, dan model karsinogenesis atraktif mutakhir menunjukkan bahwa p53 merupakan target utama radiasi. Gen ini dapat menginduksi growth arrest dan atau kematian sel (apoptosis) setelah asam deoksiribonukleat (DNA) tertuka akibat suatu mutagen seperti radiasi pengion. Mutan gen ini ditemukan pada lebih dari 50% kanker manusia. Tulisan ini membahas peranan gen p53 sebagai pelindung vital sel manusia dari kanker dan perubahannya akibat paparan radiasi pengion.

Kata kunci: p53, gen penekan tumor, mutasi, apoptosis, growth arrest, radiasi pengion

ABSTRACT

CHANGES IN SUPPRESSOR GENE P-53 TUMOR MOLECULAR DUE TO EXPOSURE TO IONIZING RADIATION. *Cell cycle is controlled by a number of genes that forming a network where the alteration of function in one of these genes will affect to all of the system. Normal cells have a number of intrinsic mechanisms that involve molecular “gatekeeper” in order to protect them from rapid uncontrolled proliferation. The formation and proliferation of tumor occurred when specific protein that controlling cell proliferation altered its function and expression or both. One of tumor suppressor genes closely related to cell cycles control is p53 and current attractive model of carcinogenesis showed that p53 gene is the major target of radiation. This gene could induce growth arrest and or cell suicide (apoptosis) after deoxyribonucleic acid (DNA) damage induced by a mutagen such as ionizing radiation. The mutant of this gene was found in more than 50% of human cancer. This paper described the role of p53 gene as vital protector of human cell from cancer and its alterations due to ionizing radiation exposure.*

Keywords: p53, tumor suppressor gene, mutation, apoptosis, growth arrest, ionizing radiation

PENDAHULUAN

Panjang total genome manusia adalah sekitar 3 juta kilobasa yang tersebar pada 22 autosome dan 2 kromosom seks. Jumlah gen dalam tubuh manusia berkisar antara 50.000 dan 100.000, namun menurut perhitungan berdasarkan kandungan CpG island (salah satu bagian gen yang banyak mengalami perubahan), jumlah gen dalam tubuh manusia sekitar 80.000 buah.¹ Berdasarkan laporan oleh Celera Genomics² dan Human Genome Project³

yang dipublikasi tahun 2001, diperkirakan jumlah gen yang mengatur seluruh proses yang terjadi dalam tubuh manusia berkisar antara 26.000 dan 40.000 dengan variasi ukuran mulai dari yang terpendek (2 kb) sampai yang sangat panjang (hingga 2.000 kb). Dari jumlah gen tersebut, lebih dari 6.980 gen telah dapat diketahui lokasinya dalam kromosom termasuk organisasi deretnya, sifat dan fungsi gen didalamnya, serta penyakit-penyakit yang berhubungan dengan mutasi gen tersebut. Di samping itu lebih dari 1.100 penyakit klinis telah

dipetakan pada masing-masing kromosomnya.⁴ Jumlah gen yang besar tersebut dapat dibagi menjadi dua kelompok utama yakni onkogen dan gen penekan tumor. Salah satu gen penekan tumor adalah *p53* yang paling banyak menjadi tema penelitian kanker dan karsinogenesis manusia baik yang diinduksi oleh senyawa kimia maupun radiasi pengion dan non pengion. Gen *p53* mengkode protein TP53 yang berfungsi sebagai faktor transkripsi tetramerik yang ditemukan pada tingkat yang sangat rendah pada sel yang tidak mengalami *stress*.

Selama masa hidupnya, sel normal senantiasa terkena paparan berbagai tekanan (*stress*) endogen dan eksogen yang dapat merubah karakter normalnya yang melibatkan perubahan genetik. Perubahan genetik yang dapat menyebabkan mutasi sangat membahayakan sel karena akan dapat diwariskan ke sel keturunannya dan mengarah ke pembentukan neoplasia.⁵ Setelah terjadi *stress*, berbagai jalur dilakukan menuju ke arah modifikasi pasca-translasional protein dan stabilisasinya. Akumulasi ini mengaktifkan transkripsi sejumlah besar gen yang terlibat dalam berbagai aktivitas di dalam sel meliputi penghambatan siklus sel dan apoptosis yang bergantung pada konteks selular, besarnya luka, atau parameter lain yang belum diketahui.

Mutasi *p53* adalah perubahan genetik yang paling umum ditemukan pada kanker manusia,⁶ dan fungsi *p53* hilang secara tidak langsung baik oleh eksklusi inti, interaksi dengan protein virus seperti pada kanker serviks, ataupun melalui interaksinya dengan overekspresi protein *mdm2*. Pada melanoma, proses apoptotik dapat diinduksi oleh *p53* untuk merespon pemberian senyawa kemoterapi yang dipengaruhi oleh perubahan pada gen *Apaf* yakni *acting downstream* gen *p53*. Sel jaringan pasien sindrom klinis Li-Fraumeni diketahui membawa satu alel mutan *p53* dan hanya membutuhkan “satu pukulan” untuk menonaktifkan alel kedua.

Dari uraian tersebut jelas bahwa *p53* memiliki peran yang sangat penting dalam menjaga keutuhan suatu sel. Dalam paragraf-paragraf berikut akan diuraikan lebih jauh mengenai fungsi dan peranan *p53* terutama hubungannya dengan radiasi pengion.

SIKLUS SEL DAN APOPTOSIS

Siklus replikasi sel dibagi menjadi 4 fase yakni *gap* (*G*₁), sintesis (*S*), *G*₂ dan mitosis (*M*). Replikasi DNA berlangsung pada fase *S* dan pemisahan mitotik *sister chromatid* berlangsung pada fase *M*. Fase *S* dan *M* adalah fase yang paling sensitif terhadap berbagai macam faktor. Oleh karena itu bila terkena suatu faktor misalnya paparan radiasi, sel biasanya melakukan “*arrest*” pada fase *G*₁ atau

*G*₂. Hanya setelah perbaikan DNA selesai, pembelahan sel akan memasuki fase berikutnya. Bila sel mengalami kerusakan yang besar, mereka akan mengaktifkan apoptosis (kematian terprogram).⁷ Apoptosis merupakan suatu proses aktif yakni kematian sel melalui digesti enzimatis oleh dirinya sendiri dan mekanisme yang efisien untuk mengeliminasi sel yang tidak diperlukan dan mungkin berbahaya bagi tubuh sehingga dapat menyelamatkan organisme.^{8,9}

Apoptosis adalah program bunuh diri intraseluler yang dilaksanakan dengan cara mengaktifkan caspase (suatu keluarga sistein protease). Dua jalur utama apoptotik adalah jalur intrinsik meliputi pemberian kode yang memicu proses *mitokondria-dependent* pelepasan sitokrom *c* dan mengaktifkan caspase-9, dan jalur ekstrinsik yang meliputi pengaktifan reseptor kematian (*death receptor*, DR) seperti *Fas* (reseptor *tumor necrotic factor* (TNF)), DR4 dan DR5. Interaksi dengan ligan yang sesuai akan mengarah ke transduksi sinyal yang diawali dengan peliputan molekul yang berhubungan dengan DR seperti *Fas-associated death domain* (FADD) dan berikutnya mengaktifkan caspase-8. Caspase ini kemudian mengkatalis sederet proses proteolitik yang menghasilkan perubahan biokimia dan morfologi khas yang berhubungan dengan apoptosis.¹⁰ Apoptosis juga merupakan proses aktif dengan menginduksi gen seperti *BAX* dan ekspresi antigen *Fas* maupun represi/penekanan simultan gen seperti *BCL2*.¹¹ Gen *p53* berperan dalam pengaturan siklus sel dengan mengontrol sejumlah gen termasuk gen untuk apoptosis jika kerusakannya berat. Rekonstitusi jalur apoptosis oleh *p53* dapat terjadi dengan mentransfer gen *p53 wild type* rekombinan pada sel kanker yang mengekspresi *p53 null* atau mutan.

GEN PENEKAN TUMOR

Gen penekan tumor diperlukan untuk mempertahankan pembelahan sel tetap terkontrol. Bagaikan rem sebuah mobil yang mengendalikan laju/kecepatan, gen penekan tumor yang berfungsi normal akan mengontrol siklus perkembangan biakan sel, replikasi DNA dan pembelahan sel. Bila tidak berfungsi dengan baik maka perkembangan biakan sel tidak dapat terkendali dan menimbulkan kanker. Gen penekan tumor tidak saja diyakini sebagai protein yang diperlukan sebagai alat deteksi kerusakan DNA, tetapi ternyata memiliki fungsi yang lebih luas setelah terjadinya penekanan seluler seperti aktivasi onkogen atau hipoksia.¹²

Keberadaan gen penekan tumor diprediksi dari dua studi yang terpisah. Yang pertama, hasil analisis waktu timbul (*onset*) retinoblastoma hereditas yang menunjukkan bahwa kedua alel gen *Rb* diperlukan untuk pembentukan tumor ini yang menandakan

bahwa fungsi normal gen Rb adalah menekan pembentukan tumor retinoblastoma. Yang kedua berasal dari studi kultur jaringan dimana penambahan sel normal ke dalam sel kanker dapat meniadakan fenotip ganas sel kanker tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa gen penekan tumor dalam sel normal menekan sel kanker. Fungsi gen ini sekarang merupakan subyek berbagai studi yang intensif.¹³ Gen penekan tumor telah menjadi topik

utama penelitian kanker karena umumnya termutasi pada kanker manusia dan spektrum mutasinya memiliki peranan dalam etiologi dan patogenesis molekuler neoplasia. Deteksi ketidak normalannya pun memiliki implikasi diagnostik, prognostik dan terapeutik. Beberapa contoh gen penekan tumor, lokasi dan fungsinya serta kanker yang berhubungan erat dengannya disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Contoh beberapa gen penekan tumor, lokasi, fungsi, jenis mutasi dan gejala yang terlibat dalam kanker manusia.¹⁶

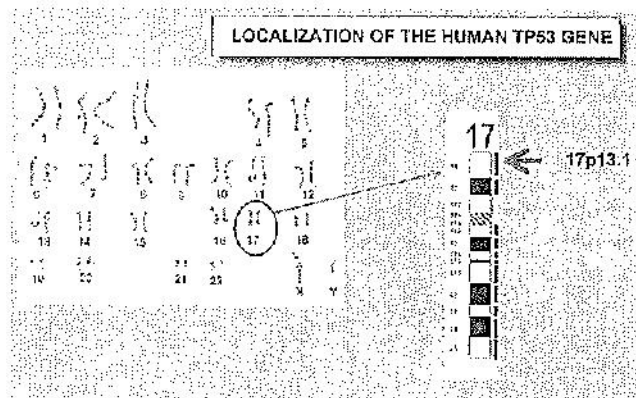
Gen	Lokasi	Fungsi	Jenis mutasi somatik	Gejala/neoplasma
<i>RB1</i>	13q14	Modulator faktor transkripsi	Delesi dan nonsense	Retinoblastoma/ Osteosarkoma
<i>p53</i>	17p13.1	Faktor transkripsi	Missense	Li-fraumeni /karsinoma payudara dan adrenal, sarkoma, leukemia, dan tumor otak
<i>WT1</i>	11p13	Faktor transkripsi	Missense	Tumor Wilm
<i>NF2</i>	22q	Molekul adhesi sel	Delesi dan nonsense	Neurofibromatosis/ tumor syaraf
<i>APC</i>	5q21	Molekul adhesi sel	Delesi dan nonsense	FAP / karsinoma usus, tiroid, lambung

Salah satu gen penekan kanker adalah gen *p53* yang merupakan pelindung siklus sel. Bila sel terluka, *p53* dalam inti memicu sel untuk melakukan "arrest" pada perbatasan G₁/S dengan menginduksi penghambat CDK (*cyclin D kinase*) dan sistem perbaikan DNA terlebih dahulu menghilangkan luka tersebut sebelum sel memasuki fase S tanpa adanya DNA yang terluka. Program "arrest" dan apoptosis ini tergantung pada lingkungan fisiologik ataupun jenis sel. Oleh karena itu kehilangan fungsi gen *p53* ini merupakan penyebab munculnya malignansi. Inaktivasi gen *p53* ini biasanya terjadi dalam dua tahap yakni inaktivasi pada satu alel oleh mutasi titik atau delesi kecil dan berikutnya adalah kehilangan alel normal oleh delesi segmen kromosom. Inaktivasi alel pertama dapat terjadi pada sel somatik maupun sel germ.¹⁴ Gen ini juga disebut "guardian of the cell". Beberapa jenis virus terlibat dalam proses perubahan fungsi *p53* dengan mengkode onkoprotein yang berikatan dengan protein ini. Sel yang tidak memiliki *p53* menunjukkan ketidak stabilan genom dan memperbesar karsinogenesis.^{15, 16}

Gen penekan tumor *p53* adalah protein yang mempunyai berat molekul 53 kilodalton (kD) dan pertama kali ditemukan pada 1979.¹⁷ Gen *p53* yang merupakan faktor transkripsi tersebut berada pada

kromosom manusia 17p13.1, terdiri dari 393 asam amino, 11 exon, dan mempunyai panjang 20 kilobasa (Gambar 1). Representasi skemalik *p53* selengkapnya diperlihatkan dalam Gambar 2. Gen ini diberi gelar "molecule of the year" pada tahun 1993 oleh majalah *Science*.¹⁸ Gen ini juga terbukti mempertinggi radioresistensi suatu sel.¹⁹ Penelitian lain membuktikan bahwa pemberian *p53* ke dalam sel kanker atau *cell line* yang telah kehilangan fungsi gen *p53* endogen akan memperkecil tumorigenesis, sebaliknya mutan *p53* memperbesar proses pembentukan tumor.²⁰⁻²² Protein *p53* dalam bentuk aktif atau stabil mengkode pengaktif transkripsi yang targetnya dapat meliputi gen-gen yang mengatur kestabilan genomik, respon selular pada luka DNA dan progresi siklus sel. Contoh gen-gen tersebut adalah *WAF1*, *GADD45* dan *MDM2*. Di samping stabilisasi, aktivitas trans-aktivasi *p53* juga diatur oleh fosforilasi residu amino-ujung.²³

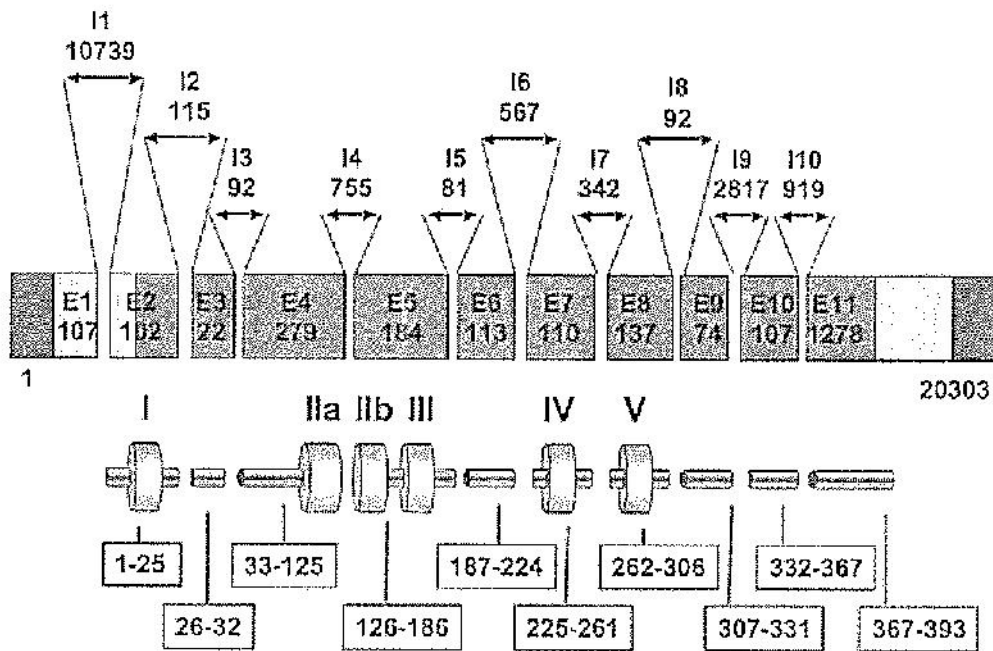
Untuk menjalankan fungsinya, *p53* mengikat DNA dalam bentuk yang spesifik sehingga memungkinkan *p53* mengaktifkan transkripsi gen sasaran. Bagian tengah protein tersebut (residu asam amino 102-292) adalah deret spesifik daerah



Gambar 1. Gen TP53 berada di kromosom 17 (lengan pendek, 17p13), suatu daerah yang seringkali hilang pada kanker manusia

DNA-binding, dimana mutasi *p53* spontan berada pada daerah ini dan secara langsung atau tidak langsung mempengaruhi interaksi *p53* dengan DNA. Residu asam amino yang paling banyak mengalami mutasi berada pada atau dekat antarmuka (*interface*) DNA-protein.²¹ Produk gen *MDM2* berikatan dengan *p53* dan berlawanan

dengan fungsi transaktivasi *p53*. Amplifikasi gen *MDM2* terjadi pada beberapa jenis kanker seperti payudara dan leukemia limfoblastik. Diyakini fungsi normal *MDM2* adalah membatasi lamanya "arrest" yang diinduksi oleh *p53*.²⁵ Beberapa mekanisme inaktivasi fungsi gen *p53* dalam kanker manusia dirangkum dalam Tabel 2.



Gambar 2. Representasi skematik molekul *p53*

Protein *p53* manusia terdiri dari daerah-daerah fungsional, *evolutionarily conserved* dan mutasi *hotspot*. Organisasi gen *p53* pada manusia : 22 000 bp; 11 exon (biru) mengkode 2.2 Kb mRNA. Translasi berawal pada exon 2. Ukuran exon dan intron diperlihatkan dalam bp.²⁵

Gen *p53* adalah gen penekan tumor pertama yang diidentifikasi dalam sel kanker. Pada awalnya diyakini sebagai suatu onkogen (pemercepat siklus

sel) tetapi bukti-bukti genetik yang ditemukan sesudahnya menunjukkan bahwa gen ini termasuk gen penekan tumor. Jejaring kerja *p53* secara normal berada dalam keadaan "off" atau tidak aktif. Keadaan ini akan menjadi "on" (aktif) jika sel mengalami stress atau terluka. Di samping itu protein *p53* tidak berfungsi dengan baik dalam berbagai macam tumor manusia dimana sekitar separo-nya diakibatkan langsung oleh mutasi.

Sebagian gen yang lain menjadi tidak aktif secara tidak langsung melalui pengikatan pada protein virus atau sebagai akibat perubahan gen yang produknya berinteraksi dengan *p53* atau penerjemahan informasi yang menuju ke atau berasal dari *p53*.²⁵

Tabel 2. Beberapa mekanisme inaktivasi fungsi gen *p53* dalam kanker manusia.^[11]

Mekanisme inaktivasi <i>p53</i>	Jenis tumor	Efek inaktivasi
Mutasi perubahan asam amino pada <i>DNA binding domain</i>	Usus, payudara, paru, kantung kencing, otak, pancreas, lambung, kerongkongan, dll.	Menghalangi <i>p53</i> dari <i>binding</i> pada deret DNA spesifik dan mengaktifkan gen didekatnya
Delesi <i>carboxy-terminal domain</i>	Tumor yang jarang pada berbagai bagian tubuh	Menghalangi pembentukan tetramer <i>p53</i>
Penggandaan gen MDM2 dalam genome	Sarkoma, otak	Ekstra MDM2 menstimulasi degradasi <i>p53</i>
Infeksi virus	Leher rahim, hati, limfoma	Produk onkogen virus bergabung dan menon-aktifkan <i>p53</i> dalam sel, pada beberapa kasus memicu degradasi <i>p53</i>
Delesi gen <i>p14^{ARF}</i>	Payudara, otak, paru, dll	Kegagalan menghambat MDM2 dan menahan degradasi <i>p53</i> tetap terkendali
Mis-lokasi <i>p53</i> pada sitoplasma, diluar inti	Payudara, neuroblastoma	Kegagalan fungsi <i>p53</i> (<i>p53</i> berfungsi hanya dalam inti)

Lebih dari 30 tahun terakhir, data mutasi *p53* telah terkumpul. Analisis mutasi *p53* yang berhubungan dengan pajanan berbagai macam senyawa karsinogen juga telah dibahas dalam banyak jurnal termasuk hubungan antara mutasi *p53* dengan gambaran klinis seperti respon pengobatan kanker maupun daya tahan hidup sel. Implikasi *p53* pada apoptosis yang diinduksi oleh berbagai

agensia yang digunakan untuk terapi kanker seperti radioterapi maupun kemoterapi menunjukkan bahwa inaktivasi *p53* diduga berhubungan dengan resistensi pengobatan. Meskipun model selular dan hewan menunjukkan hasil yang jelas mengenai hubungan ini, namun data klinisnya masih terdapat kontroversi. Keadaan ini diperberat oleh penemuan bahwa mutan *p53* sangat heterogen dalam hal kehilangan fungsi, dan mengarah ke berbagai macam fenotip yang mungkin spesifik untuk setiap sel. Di samping itu, *p53* ini tidak hanya melindungi suatu organ atau sekelompok sel tertentu saja tetapi juga setiap sel tubuh dari kelainan. Para peneliti telah mempelajari jenis dan frekuensi munculnya tumor yang terjadi secara spontan maupun akibat radiasi pengion dan menganalisis perubahan molekuler yang terjadi.

Kemampuan teknik *gene targeting* yang menghilangkan gen spesifik atau merubah nukleotida tunggal telah memungkinkan ahli biologi untuk melakukan manipulasi genome mencit dan mengembangkan model kanker yang lebih akurat. Salah satunya dengan menggunakan hewan percobaan seperti mencit *p53KO*. Mencit yang tidak memiliki *p53* ini tampak normal tetapi sangat mudah menderita kanker. Hasil penelitian Baskar dkk.^[26] menunjukkan bahwa mencit kekurangan satu atau kedua alel gen *p53* sangat mudah menderita tumor spontan terutama leukemia pada mencit *null* dengan umur <12 bulan dan osteosarkoma pada *heterozygote* pada umur ~30 bulan. Separa dari mencit *heterozygous* menderita sarkoma, dan separo yang lain menderita tumor paru-paru dan hati, dan leukemia yang frekuensinya rendah dan terjadi pada umur ~40 bulan. Iradiasi sangat nyata memperpendek umur mencit *heterozygote*.

Peneliti lain menemukan bahwa mencit dengan dua *null* alel *germ line p53 (homozygote)* tumbuh normal tetapi sangat mudah mengidap tumor pada umur muda. Mencit dengan hanya satu alel (*heterozygote*) juga mudah menderita tumor tetapi waktu timbulnya tidak secepat *homozygote*.^[27] Bernstein dkk.^[28] telah membuat *cell lines* dari mencit transgenik yang membawa klon genomik dari gen *p53* yang mengalami mutasi di daerah *coding*. Mencit tersebut dapat mengekspresi dengan tingkat tinggi *p53* mutan pada berbagai macam jaringan osteosarkoma, adenokarsinoma, kanker paru-paru, dan limfoma. Bertambahnya kejadian tumor diduga disebabkan karena efek negatif dominan protein transgenik yang tak aktif fungsinya yang menghambat protein *p53 wild type* endogen. Penelitian lain yang dilakukan oleh Donehower dkk.^[16] membuktikan bahwa penggabungan *p53 wild type* ke dalam *cell lines* yang telah kehilangan fungsi *p53* endogen dapat menyebabkan *growth arrest* atau menginduksi proses kematian sel atau apoptosis. Lee dkk.²⁹ juga telah berhasil membuat

cell lines dari mencit transgenik yang membawa klon genomik dari mutan *p53*. Ekspresi yang tinggi mutan gen *p53* ini ditemukan pada berbagai macam jaringan osteosarkoma, adenokarsinoma, kanker paru-paru, dan limfoma. Bertambahnya kejadian tumor pada mencit ini diduga disebabkan karena efek negatif dominan protein transgenik yang tak berfungsi secara aktif sehingga menghambat fungsi protein *p53 wild type* endogen.

Terapi gen *p53* juga cukup menjanjikan dalam percobaan klinis. Sejumlah peneliti telah menguji terapi gen *p53* menggunakan retrovirus (vector adenovirus rekombinan) sebagai pembawa *p53 wild type* untuk pengobatan kanker leher rahim³⁰, payudara,³¹ paru-paru³², hati,³³ dan kandung kemih.³⁴ Wen SF dkk,³⁵ misalnya, dengan menggunakan teknik PCR kuantitatif dan RT-PCR serta PCR *in situ* telah berhasil mengidentifikasi adanya transfer dan ekspresi gen *p53* dalam biopsi tumor kandungan menggunakan adenovirus rAd-p53SCH 58500 yang berarti ada kemajuan baru dalam penggunaan gen ini untuk terapi kanker.

KANKER

Seperti telah kita ketahui bahwa tubuh manusia tersusun oleh bermilyar-milyar sel. Setiap kehidupan diawali dari hanya satu sel yang kemudian membelah menjadi dua, kemudian empat, lalu delapan dan seterusnya. Selanjutnya beberapa sel tersebut berubah menjadi mata, sementara sel yang lain menjadi kulit, jantung, otak dst. Setelah mereka membentuk organ, sel berhenti membelah kecuali untuk mengganti sel yang rusak atau akibat luka. Dengan kata lain, sel sehat mengetahui kapan mereka harus membelah dan juga kapan mereka harus berhenti melipatganda.⁴

Kanker merupakan masalah paling utama dalam bidang kedokteran dan merupakan salah satu dari 10 penyebab kematian utama di dunia serta merupakan penyakit keganasan yang bisa mengakibatkan kematian pada penderitanya karena sel kanker merusak sel lain. Sel kanker adalah sel normal yang mengalami mutasi/perubahan genetik dan tumbuh tanpa terkoordinasi dengan sel-sel tubuh lain. Proses pembentukan kanker (karsinogenesis) merupakan kejadian somatik dan sejak lama diduga disebabkan karena akumulasi perubahan genetik dan epigenetik yang menyebabkan perubahan pengaturan normal kontrol molekuler perkembang biakan sel. Perubahan genetik tersebut dapat berupa aktivasi proto-onkogen dan atau inaktivasi gen penekan tumor yang dapat memicu tumorigenesis dan memperbesar progresinya. Banyak sekali percobaan (bahkan sampai jutaan) telah dilakukan untuk mempelajari karakteristik suatu kanker dengan menggunakan hewan percobaan seperti tikus, mencit, anjing, domba, bahkan organisme bersel

tunggal, dll.³⁵

Sel kanker yang tak mampu berinteraksi secara sinkron dengan lingkungan dan membelah tanpa kendali bersaing dengan sel normal dalam memperoleh bahan makanan dari tubuh dan oksigen. Tumor dapat menggantikan jaringan sehat dan terkadang menyebar ke bagian lain dari tubuh yakni suatu proses pemendekan umur yang lazim disebut metastasis. Potensi metastasis ini diperbesar oleh perubahan genetik yang lain. Jika tidak diobati, kebanyakan kanker mengarah ke pesakitan dan bahkan kematian. Kanker muncul melalui perubahan genetik rangkap/ganda dalam sel induk dari organ tubuh. Sebagian perubahan yang tidak dapat dihapuskan akan terus menumpuk bersamaan dengan bertambahnya umur dan tidak dapat dihindari, akan tetapi predisposisi genetik, faktor lingkungan dan yang paling banyak yakni gaya hidup adalah factor-faktor yang penting. Beberapa orang lahir dengan mutasi tertentu dalam DNA-nya yang dapat mengarah ke kanker. Sebagai contoh, seorang wanita lahir dengan mutasi pada gen yang disebut *BRCA1* akan membentuk kanker payudara atau rahim jauh lebih banyak daripada wanita yang tidak mempunyai mutasi demikian. Kebiasaan sosial juga dapat ikut berperan dalam pembentukan kanker. Sinar matahari dapat menyebabkan mutasi pada sel kulit. Orang dengan kulit terang dari Eropa yang pindah ke daerah dengan banyak matahari (tropis) seperti Australia sangat rentan terhadap kanker kulit disebabkan karena paparan sinar matahari yang berlebihan.³⁶ Sel kanker berbeda dari sel normal hanya pada sifat biologi molekulernya yang khas. Berbagai studi telah mempelajari sifat ini yakni pada anomali sistem transduksi sinyal seluler yang berhubungan dengan kontrol perkembangan sel seperti reseptor dari faktor pertumbuhan atau penghambatan kontak antar sel, transmisi signal intraseluler, dan transfer signal pada gen pengontrol pertumbuhan.

Karsinogen eksogen (dari luar) dan proses biologik endogen dapat menyebabkan mutasi delesi, insersi atau substitusi basa baik transisi maupun transvers. Mekanisme endogen kerusakan DNA yang telah diketahui dengan baik adalah fenomena deaminasi 5-metilsitosin. Metilasi DNA adalah merupakan mekanisme epigenetik yang melibatkan pengaturan ekspresi suatu gen. Residu sitosin dan 5-metilsitosin masing-masing dapat secara spontan dideaminasi menjadi urasil dan timin yang jika tidak diperbaiki akan menyebabkan mutasi transisi G:C→A:T. Mutasi ini paling banyak terjadi pada dinukleotida CpG (sitosin diikuti oleh guanin) yang seringkali mengalami metilasi. Studi spektrum mutasi menyatakan adanya corak khas perubahan DNA yang diinduksi oleh mutagen endogen dan eksogen tertentu dalam gen yang berhubungan dengan kanker. Dan ternyata gen *p53* menunjukkan mutasi yang spesifik untuk sejumlah karsinogen.

Makan makanan yang mengandung sejumlah besar aflatoxin B1 berhubungan dengan transversi G:C→T:A dan substitusi serin pada residu 249 pada karsinoma hati; pajanan radiasi UV berhubungan dengan mutasi transisi pada dipirimidin; merokok secara positif berhubungan dengan transversi G:C→T:A pada kanker paru. Akhir-akhir ini juga telah dilakukan studi spektrum mutasi p53 pada kanker paru penambang uranium yang menemukan mutasi spesifik (delesi) pada 7 pasien kanker namun tidak ditemukan mutasi pada gen *ras*.³⁷

Perubahan protein p53 yang disebabkan oleh mutasi missense dan hilangnya p53 akibat mutasi non-sense atau pergeseran rangka (*frameshift*) menyebabkan ekspansi klonal lebih lanjut sel praneoplastik dan neoplastik. Potensi mutasi missense untuk menghilangkan fungsi penekan tumor dan mengaktifkan onkogen yakni mentransform sel dengan dua mekanisme, adalah satu penyebab banyaknya mutasi p53 pada kanker manusia. Lebih dari 10.000 jenis mutasi p53 yang berhubungan dengan tumor telah ditemukan dalam berbagai organisme mulai dari manusia sampai kepiting (*clam*). Dan tak terelakkan lagi selain penelitian ini sangat bermanfaat dalam perkembangan obat anti tumor tetapi juga ditemui adanya ketidakpastian dan sejumlah kontroversi.

RESPON P53 DALAM KARSINOGENESIS RADIASI

Ketika radiasi pengion diserap oleh jaringan tubuh maka terjadi penyerapan foton dan pemberian energi untuk menghasilkan elektron cepat yang dapat merusak secara langsung DNA atau secara tidak langsung melalui mediasi radikal bebas terutama hidroksil (OH) yang berdifusi dan menghasilkan patahan DNA. Patahan yang terjadi hanya pada satu untai DNA dapat dengan mudah diperbaiki menggunakan untai pasangannya sebagai *template* (umpan). Namun jika patahan terjadi pada kedua untai dengan jarak yang terpisah jauh maka masing-masing akan mudah diperbaiki karena kedua untai akan diperbaiki secara terpisah. Di lain pihak, jika patahan pada kedua untai berdekatan atau terpisah hanya oleh beberapa pasang basa, maka akan menyebabkan *double strand breaks* (DSB). Telah diyakini bahwa DSB ini merupakan dasar-dasar efek biologik radiasi paling penting meliputi pembunuhan sel, mutagenesis atau mentransformasi sel somatik menjadi ganas. Jika DSB terjadi pada dua kromosom pra-replikasi yang terpisah, maka mereka akan membentuk disentrik dan fragmen asentrik. Mereka juga dapat bergabung menjadi translokasi simetris yang tidak bersifat letal akan tetapi mengaktifkan suatu onkogen.³⁸

Model atraktif saat ini menyatakan bahwa gen p53 merupakan salah satu target utama radiasi pengion. Karena sel kanker adalah monoklon, maka

hanya satu sel yang akan mengarah ke pembentukan kanker yang berkembang tidak normal dan lepas dari batas mekanisme pertahanan sel. Jika DNA terluka, maka signal p53 menghentikan pembelahan seluler dan memberikan waktu bagi sel untuk memperbaikinya. Dalam hal ini, p53 mengontrol sensitivitas radiasi selular, artinya p53 membantu sel yang terkena pajanan radiasi untuk tetap bertahan hidup. Inisiasi saja tidak akan menyebabkan tumor, tetapi jika diikuti pemberian promotor seperti minyak kroton maka tumor dapat muncul. Sebagai contoh, kulit mencit yang diiradiasi sinar beta satu kali tidak menyebabkan tumor. Akan tetapi jika dioleskan minyak kroton setelah 200 hari pasca radiasi pun tumor akan muncul. Percobaan ini menunjukkan bahwa radiasi pengion adalah inisiator yang dapat bertahan lama dalam kulit mencit.³⁹

Peranan relatif mutasi titik dan pengaturan kembali genom dalam mutagenesis akibat radiasi pengion sejak lama telah merupakan tema yang menarik. Meskipun radiasi pengion adalah mutagen yang pertama, namun masih sedikit pengetahuan mengenai mekanisme molekuler mutagenesis akibat radiasi pada sel mamalia. Tampaknya mekanisme yang lebih mendasar masih diperlukan untuk mengestimasi risiko dengan lebih rasional. Dua studi telah mencatat analisis molekuler gen p53 pada kanker paru pekerja tambang uranium. Mutasi missense p53 sering muncul pada kedua studi tersebut. Mutasi hotspot (16 dari 30 mutasi) pada kodon 249, AGG→ATG (arginin→metionin) teranati pada sampel penambang di Colorado Plateau yang menerima pajanan radon. Tiga mutasi kodon 249(met) terjadi pada kanker paru dari bukan perokok mengimplikasikan adanya karsinogen bukan tembakau. Karena penambang tersebut juga terkena pajanan berat pada karsinogen lain dalam penambangan maka hipotesis bahwa radon bertanggung jawab pada substitusi basa spesifik yang memerlukan pengujian lebih lanjut. Penelitian mutasi p53 yang terjadi pada kanker paru dari 9 korban selamat bom atom di Hiroshima yang tidak merokok dibandingkan dengan 8 yang tidak terkena pajanan menunjukkan tidak adanya perbedaan prevalensi atau spektrum mutasi. Studi yang lebih besar dan variasi kanker yang berhubungan radiasi akan memungkinkan untuk mendapatkan data yang lebih akurat secara statistik mengenai mutagenesis akibat radiasi pada kanker manusia.

KESIMPULAN

Kanker yang menjadi momok mengerikan adalah sekelompok keadaan patologik heterogen dimana sel membelah secara tidak normal dan gagal untuk berdiferensiasi serta menyerang jaringan di sekelilingnya. Ada ratusan jenis kanker yang berasal dari hampir setiap jenis sel dalam organisme

mamalia. Suatu hipotesis menyatakan bahwa jalur molekuler yang dimediasi *p53* yang mengontrol pertumbuhan sel tidak berfungsi sebagaimana mestinya pada berbagai jenis kanker, apapun heterogenitas biologiknya. Hal ini akan memberikan pengertian mendasar untuk mengetahui, menangani, dan mencegah penyakit kanker. Salah satunya adalah menyibak fenomena pada gen *p53* yang terlibat langsung atau tidak langsung dalam sebagian besar malignansi manusia termasuk mengetahui fungsi biokimia *p53* dan efek mutasinya. Masih diperlukan penelitian untuk mengidentifikasi gen yang berdekatan pada *p53-binding site* yang diatur oleh *p53* dan kemungkinan ikut mengontrol perkembangan sel. Sejauh ini diketahui bahwa *p53 wild type* tidak hanya dapat mempengaruhi ekspresi gen melalui aktivasi transkripsinya tetapi juga menon-aktifkan gen pemicu pertumbuhan tak terkendali.^{40,41} Radiasi pengion sebenarnya hanya menyebabkan sedikit mutasi pada onkogen dan gen penekan tumor jika diberikan satu kali. Namun jika diberikan berulang-ulang akan menyebabkan mutasi pada gen *p53* baik berupa delesi, insersi maupun substitusi basa. Hal yang lebih menarik adalah bahwa protein *p53* dapat diinduksi dalam berbagai organ mencit yang diiradiasi dengan dosis rendah, sedangkan sel manusia pembawa sifat kanker dan penyakit hereditas yang sensitif terhadap radiasi seperti AT tidak merespon induksi *p53* oleh radiasi. Dengan demikian peranan *p53* dalam karsinogenesis radiasi menjadi penting untuk diklarifikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Morton NE, Parameters of the human genome, *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 7474-6.
- Graig Venter J, Adam MP, Myers EW et al. The sequence of the human genome, *Science* 2001; 291: 1304-51.
- International Human Genome Sequencing Consortium, Initial sequencing and analysis of the human genome, *Nature* 2001; 409: 860-921.
- McKusick, V.A., On-line Mendelian inheritance in man (OMIM) National Center for Biotechnology Information, Nat Inst of Health, Bethesda, 2000.
- Levine AJ. *p53*, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 1997; 88:323-31.
- Soussi T dan Beroud C. Significance of TP53 mutations in human cancer: a critical analysis of mutations at CpG dinucleotides. *Human Mutation* 2003; 21:192-200.
- Wyllie AH, Kerr JFR and Currie AR. Cell death: significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 1980; 68: 251-306.
- William GT. Programmed cell death: apoptosis and oncogenesis. *Cell* 1991; 65: 1097-8.
- Gilbert S. *Developmental biology*. 3-rd ed. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts, 1991.
- Newmeyer DD, Ferguson MS. Mitochondrial releasing power for life and unleashing the machineries of death. *Cell* 2003; 112: 481-90.
- Smith ML, Fornace AJ, Jr. Mammalian DNA damage-inducible genes associated with growth arrest and apoptosis. *Mutation Research* 1996; 340:109-24.
- Vousden K. H. *p53: death star*. *Cell*, 103: 691-694, 2000.
- Hendrick L, Cho KR, Vogelstein. Cell adhesion molecules as tumor suppressors. *Trends Cell Biol* 1993; 3: 36-41.
- Parada LF, Tabin C, Shih CJ, Weinberg RA. Human EJ bladder carcinoma oncogene is homologue of Harvey sarcoma virus ras gene. *Nature* 1982; 297: 474-8.
- Livingston, L. R. et al. Altered cell cycle arrest and gene amplification potential accompany loss of wild-type *p53*. *Cell* 70, 923-935, 1992.
- Donehower LA, Harvey M, Slagle BL, McArthur MJ, Montgomery CA Jr., Butel J, and Bradley A., Mice deficient for *p53* are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumors, *Nature* 1992; 356:215-21.
- Lane DP, Crawford LV, T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells, *Nature*, 278, 261-263, 1979.
- Culotta F, Koshland DE Jr, *p53* sweeps through cancer research, *Science* 262, 1958, 1993.
- Bartek J and Lukas J. Are all cancer genes equal?. *Nature* 2001; 411:1001-2.
- Finlay CA, Hinds PW, Levine AJ. The *p53* proto-oncogene can act as a suppressor of transformation, *Cell* 1989; 57:1083-93.
- Lehman TA, Reddel R, Pfeifer AMA, Spillare E, Kaighn E, Weston A, Gerwin BI and Harris CC. Oncogenes and tumor-suppressor genes, *Env. Health. Persp.* 1991; 93:133-44.
- Lowe SW, Schmitt EM, Smith SW, Osborne BA, Jacks T. *p53* is required for radiation-induced apoptosis in mouse thymocytes, *Nature* 1993; 362:847-9.
- Grossovsky AJ, De Boer JG, De Jong PJ, Drobetsky EA, Glickman BW. Base substitution, frameshift, and small deletions constitute ionizing radiation-induced point mutations in mammalian cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988; 85:185-8.
- Chen C-Y, Oliner JD, Zhan Q, Fornace AJ Jr., Vogelstein B, Kastan MB. Interaction between *p53* and MDM2 in mammalian cell cycle checkpoint pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:2684-8.
- Mayr GA, Reed M, Wang P, Wang Y, Schwedes JF, Tegmeyer P. Serine phosphorylation in the NH2 terminus of *p53* facilitates transactivation. *Cancer Res* 1995; 55: 2410-7.

26. Baskar R, Ryo H, Nakajima H, Hongyo T, Li LY, Syaifudin M, Si XE, Nomura T. Spontaneous and radiation-induced tumorigenesis in p53-deficient mice. International Congress Series 2002, 1236:115-118.
27. Hurstling S, Perkins S, Donehower L, Davis B. Cancer prevention studies in p53-deficient mice. Toxicol. Pathol. 29, 137-141, 2001.
28. Bernstein SE. Acute radiosensitivity in mice of differing W genotype, Science, 10;137, 428-429, 1962.
29. Lee JM, Bernstein A. p53 mutations increased resistance to ionizing radiation, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1993; 90:5742-6.
30. Wen SF, Mahavni V, Quijano E, , et al. Assessment of p53 gene transfer and biological activities in a clinical study of adenovirus-p53 gene therapy for recurrent ovarian cancer. Cancer Gene Therapy 2003; 10: 224-38.
31. Dummer R, Bergh J, Karlsoson T, et al. Biological activity and safety of adenoviral vector-expressed wild-type p53 after intratumoral injection in melanoma and breast cancer patients with p53-overexpressing tumors. Cancer Gene Ther 2000; 7: 1069-76.
32. Schuler M, Rochlitz C, Horowitz JA, et al. A phase I study of adenovirus mediated wild type p53 gene therapy in patients with advanced non-small cell lung cancer. Hum Gene Ther 1998; 15: 1750-8.
33. Ring E, Nonaka-Wong S, Horowitz JA, et al. Gene therapy of colorectal liver metastases using a recombinant adenovirus encoding wt p53 (SCH 58500) via hepatic artery infusion : a phase I study. Abstract ASCO, 1998.
34. Kuball J, Wen SF, Leissner J, et al. Successful adenovirus-mediated wild-type p53 gene transfer in patients with bladder cancer by intravesical vector instillation. J Clin Oncol 2002; 20: 957-65.
35. Kondo S. Health effects of low-level radiation, Kinki University Press, Osaka, Japan and Medical Physics Publishing, Madison USA, 1993.
36. Sankaranarayanan K, Chakraborty, Cancer predisposition, radiosensitivity and the risk of radiation-induced cancer I. Background, Radiat. Res., 1995, 143:121-43.
37. Vahakangas KH, Samet, J.M., Mercalf R.A., et.al. Mutations of p53 and ras genes in radon-associated lung cancer from uranium miners. The Lancet 1992; 339:576-80.
38. Hall EJ. Molecular biology in radiation therapy: the potential impact of recombinant technology on clinical practice, Int J Radiation Oncology Biol Phys 1994; 30: 1019-28.
39. Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, Harris CC. Mutation in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis, Cancer Res. 1994; 54:4855-78.
40. Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. Nature 2000; 408:307-10.
41. Vogelstein B, Kinzler KW. p53 function and dysfunction. Cell 1992; 70:523-6