

PERAN MITOKONDRIA DALAM APOPTOSIS

Maimun Zulhaidah A*, Cholid Tri Tjahjono**
 *Lab Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Unibraw
 **Lab Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Unibraw

ABSTRACT

Apoptosis is a form of programmed physiologic cell death that is morphologically and biochemically distinct from necrosis, that is spontaneous and irregular process. Many key events in apoptosis involve mitochondria where this organella releases proapoptotic proteins/molecules that play important role in activating apoptotic cascade. Three mechanism how mitochondria plays roles in apoptosis: by causing electron transport and energy metabolism disturbance which are early depiction of cell death; by releasing proteins, includes cytochrome c (is released due to death stimuli) that is triggers caspase activation; and by changing cellular oxidation-reduction potential that involves the role of superoxide anion which is abundant in this organella.

Key words: Mitochondria, Apoptosis

ABSTRAK

Apoptosis merupakan bentuk kematian fisiologis sel yang terprogram dimana secara morfologis dan biokimiawi berbeda dengan nekrosis, yang merupakan proses spontan dan tak terregulasi. Berbagai peristiwa kunci di dalam apoptosis melibatkan mitokondria dimana organella ini melepaskan protein-protein / molekul proapoptotik yang berperan di dalam mengaktifkan cascade apoptotik. Tiga mekanisme bagaimana mitokondria berperan di dalam apoptosis adalah, dengan menyebabkan gangguan transpor elektron dna metabolisme energi yang merupakan gambaran awal kematian sel; melepaskan protein-protein, antara lain sitokrom c (dilepaskan akibat adanya stimuli kematian), yang memicu aktivasi kaspase; dan dengan mengubah potensial oksidasi-reduksi seluler yang melibatkan peran anion superoksida yang banyak terdapat di dalam organella ini.

Kata kunci: Mitokondria, Apoptosis

PENDAHULUAN

Mitokondria merupakan salah satu organella sel eukariotik yang kompleks, yang berperan penting di dalam mengontrol kehidupan dan kematian sel (1). Mitokondria mempunyai fisiologi yang unik, yang memelihara integritas vaskuler dan fungsi normal transduksi energi (2). Selain penting di dalam proses metabolisme yang menghasilkan sumber energi ATP, baru-baru ini ditemukan bukti-bukti bahwa mitokondria berperan di dalam regulasi apoptosis pada banyak jenis sel (3,4).

Apoptosis merupakan bentuk kematian fisiologis sel yang terprogram yang secara morfologis dan biokimiawi berbeda dengan nekrosis (5,6) yang merupakan proses spontan dan tak terregulasi (6). Berbagai peristiwa kunci di dalam apoptosis melibatkan mitokondria, antara lain pelepasan aktivator-aktivator kaspase, perubahan-perubahan oksidasi-reduksi seluler, dan peran protein-protein Bcl-2 (1).

Apoptosis telah lama dikenal sebagai regulator penting mekanisme-mekanisme seluler vital yang diperlukan untuk kehidupan (6). Regulasi apoptosis yang abnormal dapat menyebabkan terjadinya kelainan-kelainan seperti keganasan (7,8), peningkatan apoptosis limfosit T CD4+ pada infeksi HIV (6), atrofi atau degenerasi jaringan (7,8), penyakit kardiiovaskuler (8), dan berperan penting di dalam patogenesis penyakit infeksi paru (6).

MITOKONDRIA: Struktur dan Fungsi

Hampir semua sel eukariotik mempunyai mitokondria, kecuali beberapa jenis sel yang tidak aktif mengadakan metabolisme seperti sel-sel darah merah hewan tingkat tinggi dan manusia, dan beberapa jamur dan protozoa anaerobik. Jumlah organella ini di dalam sel bervariasi dari 1 (beberapa sel alga dan protozoa) sampai ribuan (sel hepar), bahkan ratusan ribu (9).

Mitokondria biasanya berbentuk silinder panjang dan kaku (9,10) dengan diameter 0,5 sampai 1 μm , mirip dengan bakteri. Mitokondria merupakan organella yang mobil dan plastik, dapat berubah bentuk secara konstan, mengadakan fusi satu sama lain, dan kemudian terpisah lagi (10). Mitokondria dapat tumbuh memanjang, menunjukkan bahwa mitokondria sangat dinamik dan fleksibel (9).

Sebagian ATP seluler disintesa dengan oksidasi fosforilasi, dimana bentuk-bentuk energi kimiawi yang berbeda yang berasal dari makanan dan simpanan tubuh ditransduksi dengan fosforilasi oksidatif menjadi ATP. Di dalam mitokondria terletak kompleks enzim yang menggabungkan oksidasi substrat ke sintesa ATP. Kompartemen aqueos internal mitokondria, matriks, mengandung enzim-enzim siklus asam trikarboksilat Krebs.

Membran bagian dalam mengandung *anion carriers* yang bertanggungjawab terhadap *shuttling* substrat-substrat metabolik

antara matriks dan sitoplasma. Membran ini juga mengandung *cation carriers* dan kanal-kanal yang meregulasi volume mitokondria dan matriks kalsium. Enzim-enzim transpor vektorial yang berperan di dalam oksidasi substrat, transpor elektron, dan sintesis ATP semuanya merupakan protein membran bagian dalam.

Sebagaimana halnya organela yang dibungkus membran, mitokondria mempunyai fisiologi transpor sendiri. Sistem transporna ini dioperasikan berdasarkan teori kemiosmotik, yaitu mekanisme di mana oksidasi substrat digabungkan ke sintesa ATP. Teori ini terdiri dari 4 postulat (2):

1. Membran bagian dalam mengandung enzim-enzim transpor elektron yang diorientasikan secara vektorial sehingga hidrolisis ATP akan mendorong proton ke luar melewati membran. Energi oksidasi substrat dengan demikian disimpan sebagai gradien potensial elektrokimiawi proton, yang disebut sebagai *proton-motive force*.
2. Membran bagian dalam mengandung F_1F_0 -ATPase, yang juga diorientasikan secara vektorial sehingga energi hidrolisis ATP akan mendorong proton ke luar melalui membran bagian dalam. ATP-ase reversibel, sehingga proton masuk melalui ATP-ase dengan *proton-motive force* akan menyebabkan sintesis ATP.
3. Membran bagian dalam harus mempunyai permeabilitas difusif rendah terhadap proton dan ion secara umum. Jika tidak, kebocoran ion akan menyebabkan *short-circuit* baterai-baterai *proton-motive*, dan ATP tidak akan disintesa.
4. Membran bagian dalam harus mengandung *anion-exchange carriers* untuk memungkinkan substrat mencapai enzim-enzimnya di dalam matriks, dan harus mengandung *cation-exchange carriers* untuk memindahkan/mengeluarkan kation-kation yang masuk matriks dengan difusi di bawah gradien listrik yang sangat besar yang disebabkan oleh pemompaan proton keluar (11).

APOPTOSIS

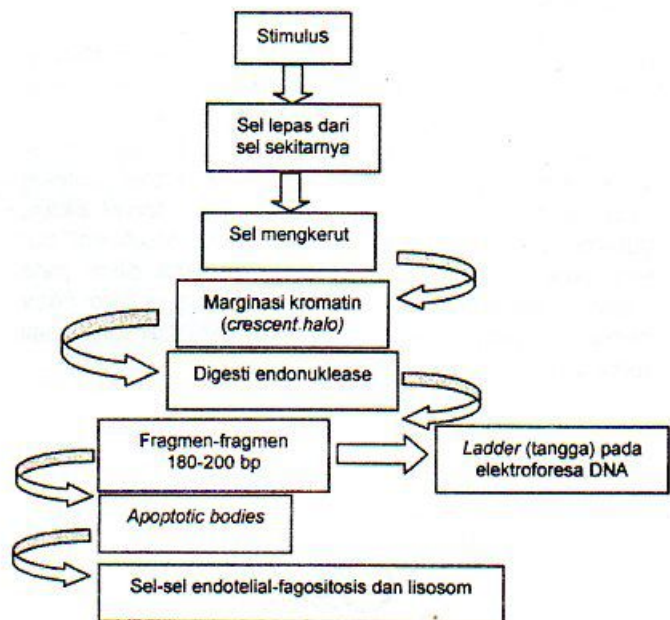
Pada tiga dekade terakhir, dua bentuk kematian sel yang berbeda, nekrosis dan apoptosis, telah didefinisikan berdasarkan mekanisme, urutan peristiwa, biokimia, dan morfologi (8). Apoptosis merupakan program kematian sel yang dipicu oleh sinyal-sinyal fisiologis atau abnormal (11,12). Apoptosis atau kematian sel yang terprogram (*programmed cell death*) penting bagi perkembangan, regulasi seluler (8) dan pemeliharaan jaringan (13).

Apoptosis merupakan mekanisme kematian sel yang terprogram, aktif, dan sangat selektif yang memungkinkan pembuangan / pembersihan sel yang berlebihan atau banyak mengalami kerusakan. Berbagai stimuli yang berbeda dapat merangsang terjadinya apoptosis, antara lain: kerusakan DNA, kerusakan intraseluler, toksin, dan sinyal-sinyal ekstraseluler. Berbeda dengan nekrosis, nekrosis meliputi perubahan-perubahan morfologis akibat digesti enzimatik sel, gangguan membran seluler, dan denaturasi protein-protein yang menyertai kematian sel (8).

Morfologi Apoptosis

Salah satu dari tahap yang paling awal dari sel pada jaringan yang berkomitmen untuk mati adalah berhenti

berkomunikasi dengan sel-sel sekitarnya (11). Perubahan-perubahan sel apoptotik yang paling awal adalah: penyusutan sel dan kondensasi sitoplasma (Gambar 1)(6) mungkin sebagai respon terhadap *cross-linking protein* dan hilangnya air (11). Inti menjadi piknotik, dan kromatin basofilik menepi ke bagian perifer, memberikan gambaran *crescent halo* (6,8), yang merupakan tanda morfologis apoptosis. Diduga bahwa perubahan-perubahan inti ini merupakan akibat aktivasi endonuklease yang tergantung $-Ca^{2+}$ dan $-Mg^{2+}$ (11). Endonuklease memotong DNA inti pada rentang 180 sampai 200 pasang basa (6) yang dapat terdeteksi sebagai gambaran "tangga" yang khas pada gel elektroforesis (6,11). Simultan dengan perubahan-perubahan ini, volume sel menurun, dan kepadatan sel meningkat (8). Organela mempertahankan ultrastruktur normalnya kecuali retikulum endoplasmik yang menjadi sedikit dilatasi. Karakteristik apoptosis yang lain adalah peningkatan aktifitas permukaan sel, dimana membran plasma menjadi berkerut dan bergelembung (*blebbed*) (11). Akhirnya, aktifitas ini memisahkan sel menjadi sejumlah fragmen terikat membran dalam berbagai ukuran, yang disebut sebagai *apoptotic bodies*. Fragmen-fragmen ini dapat mengandung hanya sitoplasma atau fragmen-fragmen inti dan organela-organela lain. Integritas membran *apoptotic bodies* tetap ada sebelum difagosit oleh makrofag atau, paling sering oleh sel-sel sekitarnya yang sehat. Membran plasma yang utuh yang mencegah kontak sitoplasma dengan sistem imun nampaknya merupakan penjelasan tidak adanya reaksi inflamasi pada apoptosis (8,11).



Gambar 1: Perubahan morfologis sel apoptosis (6)

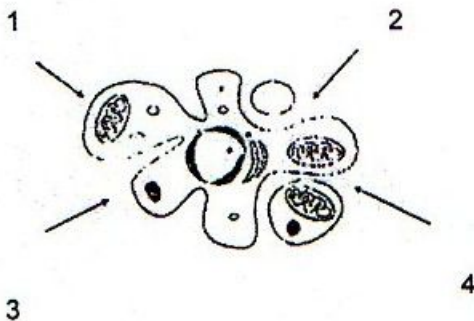
Kerr pertama kali menjelaskan dua jenis kematian sel yang berbeda secara morfologis, yaitu apoptosis dan nekrosis, berdasarkan pada perubahan-perubahan pada lisosom jaringan hepar yang iskemik (Tabel 1) (8). Berbeda dengan apoptosis, sel yang nekrosis memicu reaksi peradangan yang sangat kuat karena hilangnya integritas membran plasma sebagai *barrier* selektif (11).

Tabel 1: Perbedaan apoptosis dan nekrosis (6,8)

	Apoptosis	Nekrosis
Morfologi	Volume berkurang, kondensasi kromatin, organela utuh	Peningkatan volume, inti utuh sampai terakhir, organela terganggu
Membran plasma	Tetap utuh	Mengalami kerusakan di awal proses
Kerusakan DNA	Awal, gambaran internukleosomal	Akhir, kerusakan DNA acak
Mekanisme kerusakan DNA	Gen diaktifkan, endonuklease	Injury acak, penurunan ATP
Reaksi jaringan	Tak ada peradangan, fagositosis	Terdapat respon peradangan
Kalsium	Influks sedang	Influks berlebihan
Regulasi	Diregulasi oleh gen	Tak diregulasi

Regulasi dan Signaling

Terdapat empat tahap di dalam apoptosis: pertama, inisiasi atau rangsangan untuk kematian sel, kedua kematian sel yang terprogram (*programmed cell death*) aktif jika tahap pertama irreversibel, selanjutnya fagositosis bahan seluler yang mati, dan yang terakhir mekanisme inhibisi apoptosis. Inisiasi apoptosis dapat merupakan akibat dari stimuli multipel, termasuk panas, toksin (8), radikal bebas, *growth factor withdrawl*, sitokin, glukokortikoid, radiasi (8,11), hilangnya *matrix attachment*, dan *nitric oxide* (8). Penginduksi apoptosis ini dapat dilihat pada gambar 2. Stimuli ini bekerja bersama-sama dengan faktor-faktor intrinsik lain yang menentukan potensial sel untuk mengalami apoptosis (8).



Gambar 2: Penginduksi apoptosis. Pengelompokannya berdasarkan mekanisme yang sama di dalam menginduksi kematian sel (11)

Keterangan gambar:

1. *Plasma membrane receptors*
 - $TNF\alpha$
 - Fas
 - *Low affinity NGF* (p75)
 - Glutamate (NMDA)
2. *Stress*
 - *Starvation*
 - ROS
 - *Growth factors withdrawn*
3. *Calcium homeostasis*
 - Glucocorticoid receptor
 - Thapsigargin
 - Ionomycin
4. *DNA damage*
 - *UV light*
 - P53
 - Etoposide

Jenis sel dan kondisi-kondisi basal sel, antara lain siklus sel dan diferensiasi, sangat mempengaruhi kemungkinan apakah sel mengalami apoptosis. Banyak gen di dalam sistem kompleks regulasi apoptosis juga mengontrol siklus dan diferensiasi sel (8). Beberapa stimulator atau inhibitor utama apoptosis antara lain $TNF-\alpha$, protease-protease intraseluler seperti anggota keluarga kaspase, atau protein-protein yang berperan di dalam siklus sel seperti p53. Regulator-regulator proapoptotik dan antiapoptotik ini masing-masing berperan khusus di dalam *cascade* kompleks *programmed cell death* (6). Pada Tabel 2 dapat dilihat regulator-regulator tersebut.

Tabel 2: Beberapa regulator genetik dan biokimiawi utama apoptosis (8)

Regulator proapoptotik

Fas
Kaspase (keluarga *interleukin-converting enzyme protease*)
p53
Bax
Ceramide
NO
Atrial natriuretic peptide
C-type natriuretic peptide
Peningkatan kalsium intraseluler

Regulator antiapoptotik

bcl-2
Angiotensin II
Endotelin-1

Protein-protein famili Bcl-2

Selain melalui mekanisme PTPC, permeabilisasi membran (luar) dapat dilakukan oleh protein-protein famili Bcl-2 proapoptotik (seperti Bax atau Bid), tanpa menginduksi hilangnya $\Delta\Psi_m$ dengan segera. Bax dan Bak dapat dihambat oleh inhibitor-inhibitor PTPC CsA dan BA. Proapoptotic signaling tersebut berinteraksi dengan Bax menyebabkan pelepasan sitokrom c, ini kemudian mengaktifasi kaspase 9 dan dengan demikian kaspase 3 (16,17).

Pada induksi apoptosis, beberapa anggota Bcl-2 family proapoptotik dapat mengadakan translokasi dari sitosol (Bax, Bid, dan Bad) atau dari mikrotubuli (Bim) ke mitokondria, dimana protein-protein ini bergabung ke dalam membran luar dan dapat mengalami perubahan konformasional. Mekanisme translokasi Bax tidak jelas, tetapi translokasi Bid mungkin melibatkan defosforilasinya, menyebabkan pelepasan dari protein 14-3-3 sitosolik. Bax dan Bak menyebabkan permeabilisasi membran mitokondria yang dapat dihambat oleh inhibitor-inhibitor PTPC CsA dan BA. Proapoptotik signaling juga dapat menyebabkan inaktivasi anggota famili Bcl-2 yang antiapoptotik (15).

Kaspase

Kaspase yang pertamakali ditemukan, *cytokine processing-enzyme*, disebut sebagai *interleukin-1 β -converting enzyme* (ICE atau kaspase-1) (5,18). Normalnya, enzim-enzim ini terdapat dalam bentuk inaktif (*proform*) (5,18,19). Aktifasinya memerlukan pemotongan proteolitik pada tempat-tempat khusus, dan pada kebanyakan keadaan, tempat-tempat ini merupakan substrat bagi dirinya sendiri. Sehingga, kematian dikontrol oleh *cascade* protease yang bekerja pada satu sama lain (19).

Aktifasi kaspase berperan penting di dalam apoptosis. Terdapat dua jalur aktifasi kaspase: jalur *death receptor* permukaan sel dan *mitochondria-initiated pathway*. Pada jalur pertama, aktifasi kaspase 8 merupakan peristiwa penting yang meneruskan *death signal* (5). Kaspase 8 aktif dapat mengaktifkan *downstream*

kaspase dengan memotong langsung atau tak langsung Bid dan menginduksi pelepasan sitokrom c dari mitokondria (5,15). Jalur yang kedua, aktifasi kaspase dipicu oleh pembentukan kompleks Apaf-1/ sitokrom c multimerik yang berfungsi penuh di dalam merekrut dan mengaktifkan prokaspase-9. Kaspase 9 kemudian akan memotong dan mengaktifkan *downstream* kaspase seperti kaspase -3, -6, dan -7. Jalur ini diregulasi pada beberapa tahap, termasuk pelepasan sitokrom c dari mitokondria, pengikatan dan hidrolisis dATP/ATP oleh Apaf-1, dan inhibisi aktifasi kaspase oleh protein-protein yang merupakan inhibitor apoptosis (IAP) (Gambar 3) (5).

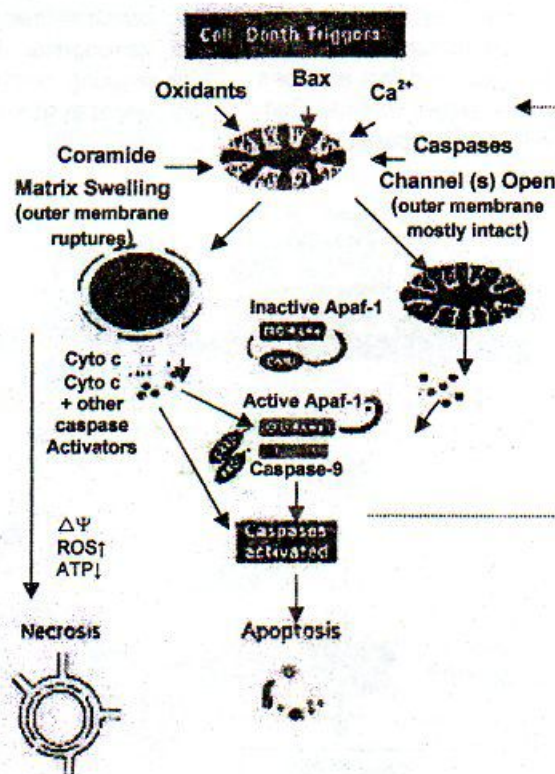
MITOKONDRIA DI DALAM APOPTOSIS

Mekanisme Mitokondria Memicu Kematian Sel

Dalam beberapa tahun belakangan ini, peran penting mitokondria di dalam mengontrol apoptosis diteliti secara ekstensif (6). Mitokondria berperan di dalam apoptosis, dengan melepaskan protein-protein (molekul proapoptotik) yang berperan penting di dalam mengaktifkan *cascade* apoptotik (4,12).

Terdapat empat mekanisme bagaimana organela ini menyebabkan apoptosis, dan efeknya mungkin saling berkaitan, antara lain:

1. Gangguan transpor elektron dan metabolisme energi (fosforilasi oksidatif dan produksi ATP)



Gambar 3: Aktifasi kaspase oleh mitokondria (5)

Gangguan transpor elektron telah dikenal sebagai gambaran awal kematian sel. Radiasi γ menginduksi apoptosis pada timosit dan gangguan pada rantai transpor elektron, mungkin pada tahap sitokrom b-cl / sitokrom c. *Ceramide* yang merupakan *second messenger* yang terlibat di dalam *apoptosis signaling* mengganggu transpor elektron pada tahap yang sama di dalam sel dan mitokondria yang diisolasi. Ligasi Fas juga menyebabkan gangguan di dalam fungsi sitokrom c pada transpor elektron (1).

Salah satu konsekuensi hilangnya transpor elektron adalah turunnya produksi ATP. Meskipun seringkali penurunan tersebut lebih banyak terjadi pada proses apoptosis yang relatif lebih lanjut. Tetapi ATP nampaknya diperlukan untuk peristiwa-peristiwa *downstream* di dalam apoptosis. Sehingga, meskipun tak adanya produksi ATP dapat membunuh sel, tetapi keadaan ini bukan merupakan induksi apoptosis (1).

2. Pelepasan protein-protein yang memicu aktivasi protease-protease famili kaspase.

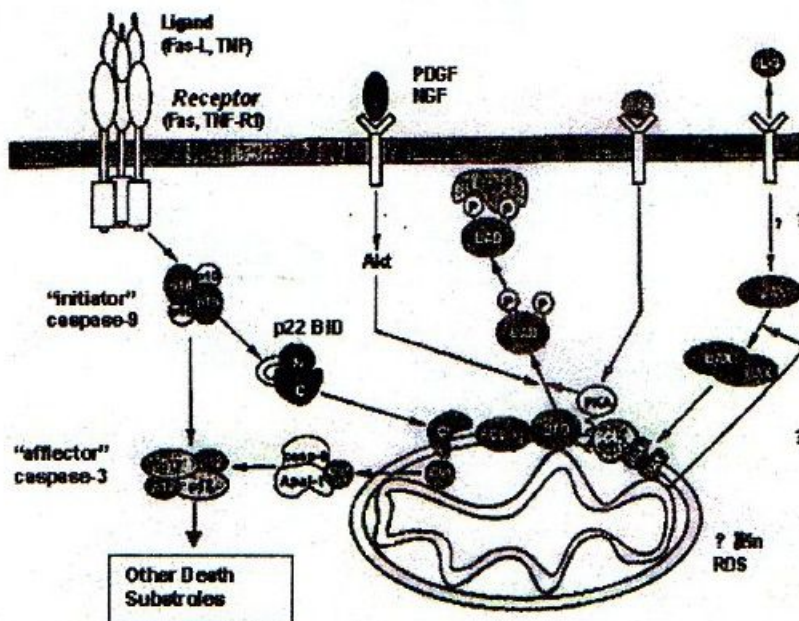
Peran mitokondria di dalam apoptosis didapatkan dari penelitian-penelitian dengan sistem *cell-free*, dimana kondensasi inti dan fragmentasi DNA yang dihambat oleh Bcl-2 secara spontan ditemukan tergantung adanya mitokondria (1). Pada percobaan dengan *cell-free system* yang berasal dari oosit *Xenopus*, ditunjukkan bahwa selain sitosol, mitokondria diperlukan untuk menginduksi perubahan-perubahan di dalam kromatin inti yang merupakan ciri khas apoptosis (4).

Mitokondria melepaskan protein yang mengaktifkan kaspase 3, suatu protease yang mengawali *cascade* peristiwa-peristiwa yang khas di dalam apoptosis. Ditemukan bahwa ternyata protein yang mengaktifkan kaspase tersebut adalah sitokrom c, yang fungsi normalnya adalah sebagai pembawa elektron di dalam rantai respirasi (4). Pelepasan sitokrom c di dalam sitoplasma merupakan peristiwa awal di dalam apoptosis dan dapat dihambat oleh adanya Bcl-2, seperti Bax dan Bad, merupakan proapoptotik dan meningkatkan pelepasan sitokrom c dari mitokondria (4).

Setelah berbagai sinyal kematian di atas, molekul-molekul proapoptotik seringkali translokasi ke dalam mitokondria di mana molekul-molekul antiapoptotik berada. *Downstream* sinyal-sinyal kematian (*death signals*) ini terdapat efek dramatik pada fungsi mitokondria. Peningkatan dimerisasi atau ekspresi Bax atau Bak yang *inducible* mengakibatkan perubahan potensial membran mitokondria ($\Delta\Psi_m$), produksi spesies oksigen reaktif, dan pada keadaan tertentu pelepasan sitokrom c, yang mengaktifkan *downstream* program kaspase. Ekspresi p15 tBID yang *inducible* pada sel-sel mempunyai efek yang mirip.

Pada umumnya, ekspresi Bel-2 atau Bcl-X_L yang berlebihan akan melawan efek-efek ini (12). Kompleksnya proses ini tidak mencegah pemotongan dan penargetan mitokondrial tBID di dalam respon terhadap TNF α / Fas tetapi mencegah pelepasan sitokrom c (1,12). Meskipun demikian, kerusakan yang lain terhadap mitokondria tetap ada dan banyak tipe sel akan tetap mati (12).

Pelepasan sitokrom c berkaitan dengan pembukaan MPTP (*mitochondrial permeability transition pore*). Ini akan menyebabkan pembengkakan mitokondria, kerusakan membran luar dan pelepasan protein-protein intermembran termasuk sitokrom c pada beberapa sel, apoptosis yang diinduksi oleh adanya sitokin atau eliminasi faktor-faktor pertumbuhan nampaknya independen terhadap MPTP dan tidak berkaitan dengan *mitochondrial uncoupling*. Pada keadaan-keadaan ini terdapat bukti bahwa anggota-anggota famili proapoptotik Bcl-2 seperti Bax, Bid, dan Bad direlokasikan ke dalam mitokondria sebagai akibat aktivasi protein kinase yang diperantarai-reseptor, fosfatase dan kaspase. Mekanisme molekuler protein-protein ini yang kemudian menginduksi pelepasan sitokrom c tetap tidak jelas, kemungkinan dengan menginduksi secara langsung atau tidak langsung, pembentukan kanal membran luar yang spesifik bagi pelepasan sitokrom c (4).



Gambar 4: Model apoptosis yang melibatkan peran mitokondria (12)

Sitokrom c yang dilepaskan setelah berbagai stimuli kematian akan mengaktifkan Apaf-1, yang pada gilirannya mengaktifkan kaspase -9 dan -3 (Gambar 4). Pada beberapa jenis sel sitokrom c tidak dilepaskan tetapi mengalami perubahan konformasional yang tetap memungkinkan aktivasi Apaf-1 pada membran mitokondria (12). Akibat dari pelepasan sitokrom c tergantung pada jenis sel. Pada sel-sel di mana sitokrom c tersedia dalam jumlah yang berlebihan, kaspase dapat diaktifkan dan sitokrom c yang cukup tetap diikat pada sitokrom b-c1 dan sitokrom c oksidase oleh *binding site*-nya yang berafinitas tinggi untuk memelihara transpor elektron. Pada keadaan ini, konsumsi oksigen dan produksi ATP dapat terus berlangsung tidak berkurang sementara itu kaspase melepaskan serangannya pada substrat-substrat sitosolik dan inti, yang mengakibatkan apoptosis. Sebagai alternatif, di dalam sel-sel yang mengandung inhibitor kaspase endogen dalam jumlah besar, pelepasan sitokrom c dapat gagal menginduksi apoptosis yang tergantung kaspase dan pada akhirnya malahan hilangnya transpor rantai elektron dapat mendorong sel menuju kematian nekrosis (1).

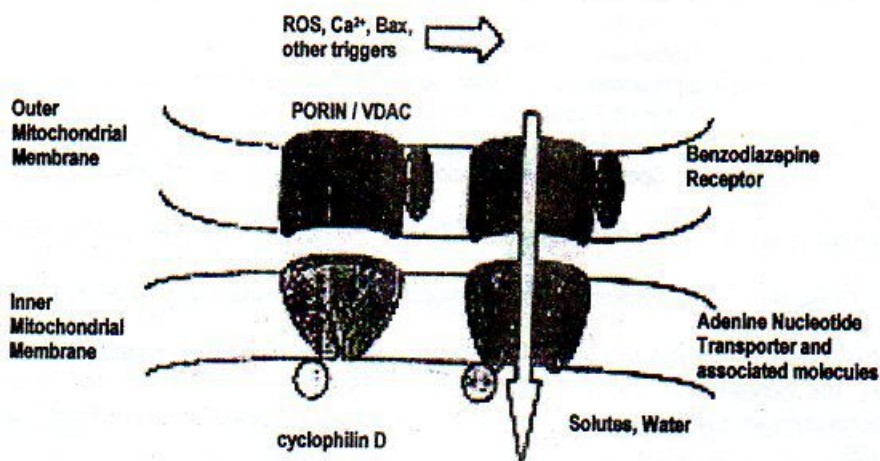
3. Perubahan potensial oksidasi-reduksi seluler

Mitokondria merupakan sumber utama produksi anion superoksida di dalam sel. Selama transfer elektron-elektron ke oksigen molekuler, diperkirakan 1 sampai 5% elektron di dalam rantai respirasi yang kehilangan arah, sebagian besar berperan di dalam pembentukan O_2^- . Oleh karena itu segala sesuatu yang menurunkan efisiensi *coupling* transpor rantai elektron dapat meningkatkan produksi superoksida. Superoksida dan peroksidasi lipid meningkat selama apoptosis yang diinduksi oleh stimuli myriad. Bagaimanapun, pembentukan ROS merupakan peristiwa yang relatif akhir, terjadi setelah sel-sel telah mulai pada proses aktivasi kaspase (1).

4. Permeabilisasi membran mitokondrial

Pada banyak peristiwa apoptosis, potensial *inner transmembran mitokondrial* ($\Delta\Psi_m$) kolaps, menunjukkan terbukanya kanal *conductance* yang besar (MPTP) (Gambar 5) (1). Mitokondria memiliki sejumlah *PT pore* (*permeability transmembrane pore*); terbukanya *mitochondrial PT pore* dan gangguan potensial transmembran mitokondrial merupakan peristiwa-peristiwa awal yang penting di dalam *programmed cell death* (6). Struktur dan komposisi *PT pore* tetap hanya sebagian yang dipahami (1). Karakteristik kompleks *PT pore* (PTPC, *PT pore complex*) ditandai adanya protein-protein membran dalam (1,6), seperti *adenine nucleotide translocator* (ANT) (1), dan protein-protein membran luar (1,6), seperti *porin* (*voltage dependent anion channel*; VDAC) (1), yang bekerja bersama-sama, nampaknya pada *contact site* membran dalam dan luar (1), dan membentuk kanal yang hanya dapat dilalui oleh molekul-molekul $\leq 1,5$ kD (1,6,14).

Mekanisme permeabilisasi membran mitokondrial tidak sepenuhnya dipahami. Beberapa peneliti memberikan hipotesis bahwa molekul-molekul proapoptotik famili Bcl-2 diselipkan pada membran luar dimana molekul-molekul ini mengalami oligomerisasi dan membentuk pori-pori yang dapat ditembus sitokrom c secara otonom, tidak memerlukan interaksi dengan protein-protein membran mitokondrial yang lain. Permeabilisasi membran (terbukanya *PT pore*) yang diinduksi-Bax ini dihambat oleh siklosporin A (CsA), (mengikat siklofilin D, yang dikaitkan dengan ANT) dan *bongkreikic acid* (BA) yang juga menghambat ANT (1). Jadi kedua bahan ini merupakan inhibitor pembentukan *PT pore* (atau *megachannel*).



- Dissipation of $\Delta\Psi_m$
- Matrix swelling
- Outer membrane disruption and cytochrome c release

Gambar 5: Mitochondrial PT pore (1)

Adenine nucleotide translocator, terget BA, merupakan protein membran bagian dalam yang paling banyak. Protein ini mempunyai dua fungsi: fungsi vital ATP/ADP sebagai *carrier* dan fungsi sebagai *lethal pore* (15). ANT berinteraksi dengan VDAC pada membran luar juga dengan protein *soluble* matriks mitokondria, siklofilin D. ANT dan/atau VDAC pada berinteraksi secara fisik dengan Bcl-2 dan Bax, *peripheral benzodiazepin receptor* (PBR)(1).

Sifat PTPC yang menarik adalah bahwa permeabilisasi membran mitokondria bagian dalam dan/atau luar membahayakan keseimbangan bioenergetik sel (misal: dapat menimbulkan oksidasi NADPH dan glutation, penurunan ATP, dan hilangnya $\Delta\Psi_m$) dan mempengaruhi homeostasis ion-ion intraseluler (misalnya dengan melepaskan Ca^{2+} dari matriks). Menariknya, semua perubahan ini sendiri meningkatkan probabilitas pembukaan PTPC. Ini mempunyai 2 implikasi penting, pertama, akibat terbukanya PTPC sendiri menyokong terbukanya PTPC di dalam *self-amplification loop* yang mengkoordinasi respon letak di antara mitokondria di dalam sel-sel yang sama. Kedua, ini menunjukkan bahwa hasil akhir terbukanya PTPC adalah *ansamble stereotip* perubahan-

perubahan biokimiawi, yang tidak tergantung pada stimulus yang mengawali, merupakan *cascade* transduksi sinyal proapoptotik spesifik atau kerusakan non-spesifik pada tingkat energi atau redoks (15).

KESIMPULAN

Apoptosis merupakan kematian sel fisiologis yang diperlukan oleh organisme-organisme multiseluler untuk perkembangan dan regulasi seluler. Peran mitokondria sebagai sensor stress dan *executioner* diperlukan untuk memelihara proses apoptosis. Berbagai mekanisme bagaimana organela ini menimbulkan kematian sel seperti yang telah dikemukakan di atas, menunjukkan bahwa pada banyak sel mitokondria memegang peranan penting di dalam apoptosis, baik pada tahap awal maupun pada tahap yang lebih lanjut. Sehingga, adanya kelainan pada mitokondria dapat mengakibatkan terjadinya disregulasi apoptosis yang pada gilirannya dapat menimbulkan berbagai kelainan seperti penyakit kardiovaskuler, atrofi atau degenerasi jaringan, keganasan, infeksi paru dan infeksi HIV dimana pada penyakit ini terdapat peningkatan apoptosis sel-sel CD4+.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Green and Reed., Mitochondria and Apoptosis. Science. 28 Agustus 1998: 281: 1309 – 1312.
- Garlid., Physiology of Mitochondria. In Sperelakis: Cell Physiology, Source Book. Second edition. Academic Press. London, Sydney, New York. 1998: 111,117
- Peachman, Lyles, and Bass., Mitochondria in Eosinophils: Functional Role in Apoptosis but not Respiration. PNAS. 13 Februari 2001: 98(4): 1717
- Halestrap., Mitochondria and Cell Death. Execution through a Pore. The Biochemist. 22 April 2000: 22: 19-24
- Budihardjo, et al., Biochemical Pathways of Caspase Activation During Apoptosis. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 1999: 15: 270-285
- Behnia, Robertson, and Martin., Lung Infection: Role of Apoptosis in Host Defense and Pathogenesis of Disease. Chest. 6 Juni 2000: 117: 1771-1777
- Lowe and Lin., Apoptosis in Cencer. Carcinogenesis. 2000: 21(3): 485-495
- Best et al., Apoptosis: Basic Concepts and Implications in Coronary Artery Disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1999: 19: 14-22
- Wolfe., Molecular and Cellular Biology. Wadsworth Publishing Company. California. 1993: 347
- Alberts, et al., Molecular Biologi of The Cell. Third edition. Garland Publishing Inc. New York & London. 1994: 655-658
- Guerrero and Manuel, Arias., Apoptosis in: Sperelakis: Cell Physiology, Source Book. Second edition. Academic Press. London, Sydney, New York. 1998: 1031-1041
- Gross, McDonnell, and Korsmeyer., BCL-2 Family Members and The Mitochondria in Apoptosis. Genes and Development. 1999: 13: 1899-1911
- Gross, et al., Enforced Dimerization of BAX Results in Its Translocation, Mitochondrial Dysfunction and Apoptosis. The EMBO Journal. 1998: 17(14): 3878-3879, 3884
- Eskes, et al., Bax-induced Cytochrome C Release From Mitochondria Is Dependent of The Permeability Transition Pore But Highly Dependent on Mg^{2+} Ions. The Journal of Cell Biology. 1998: 143(1): 217-218
- Constantini, et al., Mitochondrion as a Novel Target of Anticancer Chemotherapy. Journal of The National Cancer Institute. 5 Juli 2000: 92(13): 1042 – 1053
- Doran and Halestrap., Cytochrome c Release from Isolated Rat Liver Mitochondria Can Occur Independently of Outer Membrane Rupture: Possible Role of Contact Sites. Biochem J. 2000: 343
- Zhao, et al., Activation of Pro-death Bcl-2 Family Proteins and Mitochondria Apoptosis Pathway in $TNF\alpha$ -induced Liver Injury. JBC. 21 Mei 2001: 3-5
- Thornberry and Lazebnik., Caspases: Enemies Within. Science. 1998: 281: 1312-1313
- Schwartz., Cell Death and The Caspase Cascade. Circulation. 1998: 97: 227