



APOPTOSIS: MEKANISME MOLEKULER KEMATIAN SEL
(Tinjauan Pustaka)

APOPTOSIS: MOLECULAR MECHANISMS OF CELLULAR DEATH
(Literature Review)

Liza Meutia Sari

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Syiah Kuala
Correspondence email to: lizameutiasari@unsyiah.ac.id

Abstrak

Apoptosis merupakan proses aktif yang diatur dengan sangat baik yang ditandai oleh perubahan morfologis dan biokimia. Signifikansi dalam memahami rangkaian mekanisme apoptosis ini mutlak dibutuhkan karena apoptosis merupakan gabungan komponen baik dalam proses fisiologis maupun patologis. Apoptosis dapat distimulasi oleh kondisi fisiologis dan patologis serta memegang peranan penting dalam menjaga homeostasis normal dan patogenesis beberapa penyakit. Sinyal untuk apoptosis terjadi melalui jalur caspase dependen dan independen yang diawali oleh kejadian yang memicunya dari dalam sel atau dari luar sel melalui ikatan reseptor kematian. Tinjauan pustaka ini bertujuan untuk menyediakan pandangan yang berkaitan dengan apoptosis, karakteristik morfologis dan biokimia, serta mekanismenya.

Kata Kunci: Apoptosis, reseptor kematian, mitokondria, caspase

Abstract

Apoptosis is considered as a tightly regulated active process signified by specific morphological and biochemical. The significance of understanding the apoptosis cascade mechanism is imperative as apoptosis being component of both physiological and pathological process. Apoptosis can be stimulated by both physiological and pathological conditions and hence play a role in maintenance of normal homeostasis and in pathogenesis of several diseases. Signaling for apoptosis occurs via caspase dependent and independent pathways that are initiated either from triggering events within the cell or from outside the cell by ligation of death receptors. Present review aims to provide an overview regarding apoptosis, its morphological and biochemical characteristics, and its mechanism.

Keyword: Apoptosis, death reseptor, mitochondria, caspase

PENDAHULUAN

Kata apoptosis berasal dari bahasa Yunani yang berarti gugurnya kelopak bunga atau daun dari pohon.¹ Istilah ini pertama kali dikenalkan oleh Kerr, Wyllie, dan Currie tahun 1972 untuk menggambarkan kematian sel yang terprogram atau lebih dikenal dengan *Programmed Cell Death (PCD)*.² Kematian sel, khususnya apoptosis merupakan salah satu proses yang penting karena apoptosis tidak hanya menggambarkan patogenesis suatu penyakit, namun juga dapat memberikan petunjuk cara pengobatan penyakit.³ Penyebab apoptosis terbagi atas dua, yakni penyebab fisiologis, seperti pada perkembangan embrionik saat pembentukan jaringan, involusi fisiologis seperti luruhnya endometrium saat menstruasi, kehancuran sel epitel normal yang diiringi penggantian proliferasi sel kulit baru, involusi kelenjar timus saat usia kanak-kanak.^{3,4} Penyebab patologis diantaranya obat anti kanker, *graft versus host disease*, kematian sel CD-4 dalam *Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS)*, virus yang memicu kematian sel seperti Hepatitis B atau C, radiasi, hipoksia, degenerasi sel seperti Alzheimer dan Parkinson, serta kematian sel akibat infark miokardium.^{3,4}

Perubahan Morfologis dan Kimia dalam Apoptosis

Perubahan morfologis yang terjadi saat apoptosis adalah kondensasi kromatin dan fragmentasi nuklear di dalam inti sel diiringi pengurangan volume sel (piknosis), dan retraksi pseudopoda.⁵ Tahap awal apoptosis, kromatin pecah, namun membran sel masih utuh (karioheksis). Tahap akhir apoptosis, terjadi penonjolan membran, modifikasi ultrastruktural organel sitoplasma, dan integritas membran hilang.⁵ Biasanya sel-sel fagosit seperti sel epitel, makrofag, dan fibroblas akan memakan sel apoptosis sebelum badan apoptotik terbentuk. Sel apoptosis yang tidak difagosit seperti dalam proses kultur sel di laboratorium, maka akan mengalami degradasi yang mirip nekrosis sehingga disebut nekrosis sekunder.⁵

Tiga ciri utama perubahan biokimia dalam apoptosis, yakni aktivasi caspase, pecahnya DNA dan protein, dan perubahan pada membran sehingga dapat dikenali oleh sel-sel fagosit.⁶

Tahap awal apoptosis ditandai ekspresi *Phosphatidylserine (PS)* yang terlempar keluar dari lapisan dalam ke lapisan luar membran sel. Badan apoptotik yang terbentuk di akhir apoptosis menyebabkan sel mati ini dapat dikenali oleh makrofag tanpa dilepaskannya komponen pro-inflamatori selular. Pemecahan DNA membentuk 50 hingga 300 kilobasa bagian.⁶ Tahap akhir apoptosis menimbulkan pemecahan DNA internukleosomal menjadi oligonukleosom dari 80 hingga 200 pasangan dasar oleh endonuklease.⁶ Gambaran khas apoptosis lain adalah aktivasi caspase.⁶ Huruf “c” atau Cys dari caspase menunjukkan protease sistein, sedangkan “aspase” berarti bagian unik enzim yang membelah pada terminal C pada residu Asp.⁶ Aktivasi caspase menyebabkan keluarnya protein vital selular dan memecah perancah nuklear serta kerangka dinding sel. Regulator apoptosis yang lain adalah anggota famili Bcl-2.⁶ Saat ini ada 18 anggota famili Bcl-2 yang telah diidentifikasi, dan dibagi ke dalam dua grup berdasarkan strukturnya.⁷ Anggota grup pertama diwakili oleh Bcl-2 dan Bcl-xL yang berfungsi sebagai protein anti-apoptosis.⁷ Anggota grup kedua diwakili oleh subfamili Bax dan Bcl-2 associated killer (Bak), serta subfamili *a novel BH3 domain-only death agonist* (Bid) dan *the Bcl-2 associated death molecule* (Bad), sebagai protein pro-apoptosis.^{6,7}

Mekanisme apoptosis sangat kompleks dan rumit. Secara garis besar apoptosis dibagi menjadi empat tahap, yakni adanya sinyal kematian (penginduksi apoptosis) yang bersifat fisiologis (hormon dan sitokin), biologis (virus, bakteri, parasit), kimia (obat), atau fisik (radiasi dan toksin).⁸ Tahap kedua adalah tahap integrasi atau pengaturan (transduksi signal, induksi gen apoptosis yang berhubungan), selanjutnya adalah tahap pelaksanaan apoptosis yakni terjadi perubahan morfologi dan kimia (degradasi DNA, pembongkaran sel, pembentukan badan apoptotik).⁸ Tahap terakhir adalah tahap fagositosis atau eliminasi oleh makrofag, dendritik atau sel yang berdekatan dengan sel apoptosis.⁸ Peristiwa apoptosis melibatkan adanya pepadatan inti sel, pepadatan dan pembagian sitoplasma ke dalam selaput ikat badan apoptotik, dan kerusakan kromosom ke dalam fragmen yang berisi berbagai nukleosom.

Target protein pada umumnya melibatkan protein lain, suatu DNA endonuklease.⁸ Ketika protein target pecah, DNAase bebas untuk berpindah tempat ke inti dan mulai pelaksanaan. Perubahan dalam apoptosis terjadi ketika caspase-3 membelah gelsolin, yakni suatu protein pemelihara morfologi sel. Gelsolin akan membelah actin filamen di dalam sel. Protein yang lain diperlukan untuk membentuk badan apoptotik adalah *p21-activated kinase 2 (PAK-2)*. Kinase ini diaktifkan oleh caspase-3 dengan proteolisis terbatas. Caspase-3 juga berfungsi untuk membelah sitokeratin terutama *cytokeratin 18 (CK18)*, dimana epitop baru pada *CK18* tampak dominan saat apoptosis awal.⁹

Jalur Caspase Dependen (Jalur Ekstrinsik dan Intrinsik)

Apoptosis dipicu oleh berbagai jalur sinyal dan diatur oleh ligan ekstrinsik dan intrinsik yang kompleks.¹⁰ Terdapat dua jalur apoptosis utama yakni melibatkan fungsi caspase dan tanpa caspase. Mitokondria bertindak sebagai *crosstalk organelles* yakni organel yang berperan pada kedua jalur apoptosis yang berbeda tersebut. Jalur apoptosis terbagi dua yaitu caspase dependen dan independen.¹⁰ Sinyal apoptosis jalur caspase dependen bisa terjadi secara intraseluler dan ekstraseluler.¹⁰ Jalur ekstrinsik (ekstraseluler) diinisiasi stimulasi reseptor kematian sedangkan jalur intrinsik diinisiasi oleh pelepasan faktor sinyal dari mitokondria dalam sel.¹⁰

Apoptosis jalur ekstrinsik dimulai dari adanya pelepasan molekul sinyal disebut ligan, oleh sel lain bukan berasal dari sel yang akan mengalami apoptosis.¹⁰ Ligan tersebut berikatan dengan reseptor kematian yang terletak pada transmembran sel target yang menginduksi apoptosis.¹⁰ Reseptor kematian yang terletak di permukaan sel adalah famili reseptor *Tumor Necrosis Factor (TNF)*, yang meliputi *TNF-R1*, *CD 95 (Fas)*, dan *TNF-Related apoptosis inducing ligand (TRAIL)-R1* dan *R2*. Ligan yang berikatan dengan reseptor tersebut mengakibatkan caspase inisiator 8 membentuk trimer dengan adaptor protein *FADD*.

Reseptor *CD 95*, *TRAIL-R1* dan *R2* terikat dengan *FADD*, sedangkan *TNF-R1* terikat secara tidak langsung dengan molekul adaptor lain,

yaitu *TNF-Reseptor Associated Death Domain (TRADD)*. Kompleks yang terbentuk antara ligan-reseptor dan reseptor kematian *FADD* disebut *DISC*.¹⁰ Kompleks ini akan menginisiasi pro caspase-8 yang mengaktifkan caspase eksekutor.¹⁰

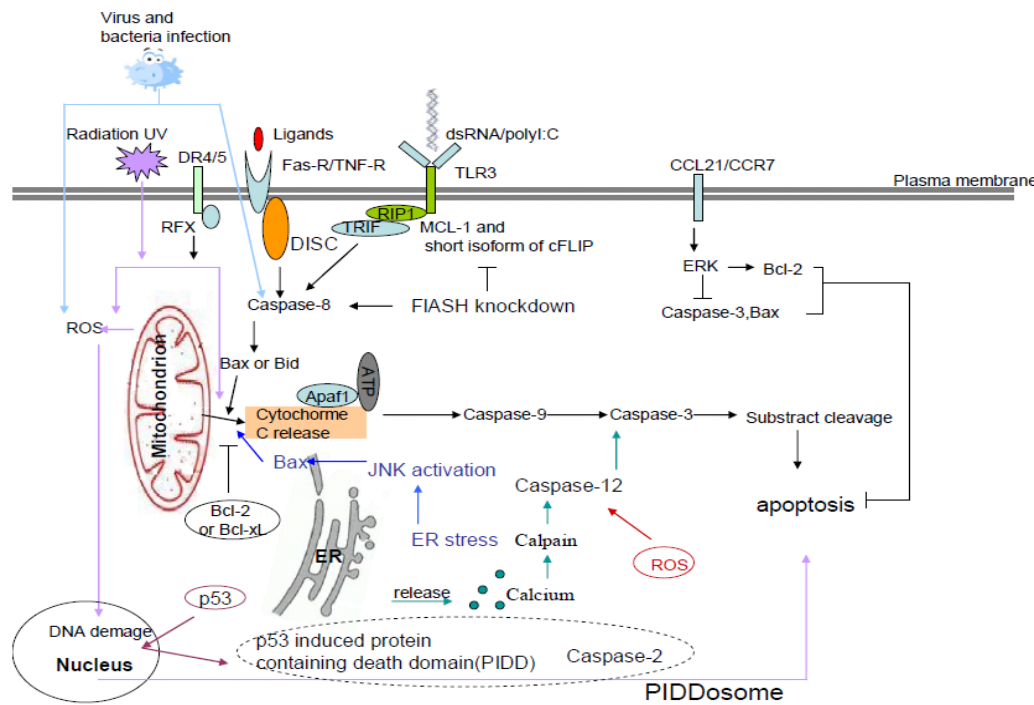
Caspase-8 bekerja dengan cara memotong anggota famili Bcl-2 yaitu Bid.^{11, 12} Bid yang terpotong pada bagian ujungnya akan menginduksi insersi Bax ke dalam membran mitokondria dan melepaskan molekul proapoptotik seperti sitokrom c, *Samc/Diablo*, *Apoptotic Inducing Factor (AIF)*, dan *omi/Htr2*.¹¹ Adanya dATP akan terbentuk kompleks antara sitokrom c, *Apaf-1*, dan caspase-9 yang disebut apoptosom. Caspase-9 akan mengaktifkan aliran procaspase-3.¹¹ Protein caspase-3 yang aktif memecah berbagai macam substrat, diantaranya enzim perbaikan DNA seperti *poly-ADP Ribose Polymerase (PARP)*, dan DNA protein kinase yaitu protein struktural seluler dan nukleus, termasuk aparatus mitotik inti, lamina nukleus, dan aktin serta endonuklease, seperti *Inhibitor Caspase-Activated Deoxyribonuklease (ICAD)* dan konstituen seluler lainnya.¹¹

Caspase-3 juga mempunyai kemampuan untuk mengaktifkan caspase lainnya, seperti procaspase-6 dan 7 yang memberikan amplifikasi terhadap kerusakan seluler.⁸ Adanya stres seluler meningkatkan ekspresi dari protein p53 yang mengakibatkan terjadinya *G₁ arrest* atau apoptosis.⁸ Anggota dari *Apoptosis Stimulating Protein p53 (ASPP)* yaitu *ASPP 1* dan *ASPP 2* secara spesifik menstimulasi fungsi transaktivasi p53 pada promotor gen pro-apoptotik seperti Bax dan *p53 inducible gene 3 (PIG 3)*, tapi tidak pada promotor gen yang menyebabkan hambatan siklus sel, yaitu p21 dan mdm2.⁸

Stres mitokondria yang menginduksi apoptosis jalur intrinsik disebabkan oleh senyawa kimia atau kehilangan faktor pertumbuhan, sehingga menyebabkan gangguan pada mitokondria dan terjadi pelepasan sitokrom c dari intermembran mitokondria.¹¹ Sitokrom c adalah suatu heme protein yang bertindak sebagai suatu pembawa elektron dalam fosforilasi oksidasi mitokondria, pemberhenti elektron sitokrom c oksidase, keluar intermembran dan mengikat protein sitoplasmik yang disebut *Apaf-1*. Protein ini

akan mengaktifkan inisiator caspase-9 di sitoplasma.⁸ Protein ini keluar dari mitokondria setelah terjadi perubahan potensiasi elektrokimia di membrane yang menyebabkan terbukanya suatu kanal yang nonspesifik dalam membran yang permeabel, terdiri atas dua protein selaput bagian dalam yakni *Adenine Nucleotide Translocator (ANT)* dan protein bagian luar yakni porin; *Voltage Dependent Anion Channel (VDAC)*. Protein ini bertindak bersama-sama, pada sisi luar dan sisi dalam terjadi kontak. Saluran ini dapat dilewati zat yang memiliki

bobot molekular kurang dari 1500. Perubahan pada gradien proton menyebabkan oksidasi dan fosforilasi di mitokondria dan perubahan ion menyebabkan pembengkakan matriks. Sisi bagian dalam sangat kusut dan memiliki luas permukaan jauh lebih besar dibanding selaput yang luar, bengkak pada matriks mengarah rusaknya sisi luar, sehingga sitokrom c dan *Apaf-1* keluar masuk sitoplasma. Jalur ini biasa diaktifkan dalam respon stimulus letal yang lain seperti perusakan *DNA*, stress oksidatif, dan hipoksia.



Gambar 1. Jalur Caspase Dependen (Ekstrinsik dan Intrinsik). Mitokondria dan organel nukleus memegang peranan penting dalam tipe apoptosis ini. Organel ini dapat menghubungkan sinyal yang berbeda untuk aktivasi caspase sehingga terjadi perubahan pada senyawa oksigen reaktif, sitokrom c, dan membran potensial mitokondria. Selain jalur mitokondria, ligan eksternal juga dapat mengaktifkan *ERK* yang dilanjutkan dengan rangkaian aktifitas caspase.¹

Mitokondria mengandung faktor proapoptosis seperti sitokrom c dan *AIF*. Keduanya merupakan substrat yang berbahaya, akan tetapi tersimpan aman dalam mitokondria. Saat keduanya dilepaskan ke sitoplasma, protein ini dapat mengaktifkan jalur aktivasi caspase.¹¹ Pelepasan tersebut diatur oleh famili Bcl-2 yang terikat dengan mitokondria, yaitu Bax dan Bad. Sitokrom c berperan sebagai pembawa elektron yang larut dalam air dalam fosforilasi oksidatif mitokondria.¹¹ Bila terjadi kumparan elektron

melalui sitokrom c oksidase atau kompleks IV, adanya perubahan kekuatan ion menyebabkan terjadinya gelombang matriks. Saat membran dalam mitokondria memiliki permeabilitas permukaan yang lebih luas dibanding membran luar maka gelombang matriks menyebabkan pori-pori permeabilitas bagian dalam membran nonspesifik menjadi terbuka sehingga sitokrom c keluar ke sitoplasma.¹¹⁰ Sitokrom c yang keluar ke sitoplasma kemudian berikatan dengan *Apaf-1* membentuk *Caspase Recruitment Domain*

(CARD). Beberapa CARD bergabung membentuk kompleks apoptosom kemudian mengikat pro-caspase-9 dan mengaktifkannya menjadi caspase-9 (caspase inisiator).¹¹

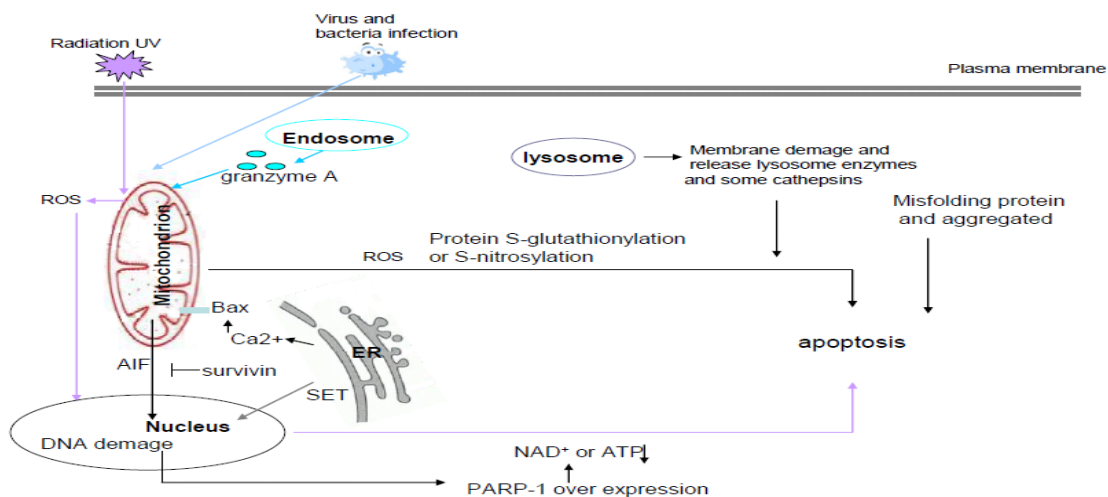
Caspase-9 ini akan mengaktifasi procaspase-3 menjadi caspase-3 yang merupakan caspase efektor yang melaksanakan apoptosis.¹¹

Keseimbangan kerja caspase dipertahankan dengan adanya hambatan caspase berasal dari famili *inhibitor apoptosis* (IAPs) seperti survivin, *cIAP-1*, *cIAP-2*, *ILP-2*, *XIAP*, *livin*, *BIRC*, dan *NAIP*.⁸ Famili IAPs dapat menghambat caspase inisiator dan eksekutor melalui beberapa proses yang berbeda.¹³ Aksi caspase-8 diatur oleh *FADD-like ICE (FLICE)-inhibitory protein (FLIPs)*.^{13, 14} Protein ini dapat mengikat *FADD* dan caspase-8 melalui interaksi

sejenis sehingga dapat menghambat caspase-8 untuk membentuk *DISC*.¹⁴ Mekanisme jalur ekstrinsik dan intrinsik tampak dalam Gambar 1.

Jalur Caspase Independen

Selain jalur caspase dependen, apoptosis juga dapat dipicu tanpa melalui aktivitas caspase, yakni jalur caspase independen. Jalur caspase dependen diawali dengan sejumlah ligan akan merangsang perubahan potensial membran mitokondria yang akan meningkatkan produksi radikal bebas. Radikal bebas akan merangsang pengeluaran caspase sehingga terjadi apoptosis. Jalur caspase dependen, caspase tidak berperan banyak, namun kerusakan mitokondria disebabkan oleh enzim dapat menghasilkan radikal bebas.



Gambar 2. **Jalur Caspase Independen.**¹ Tipe apoptosis ini tidak melibatkan anggota famili caspase dan tidak dapat dihambat oleh inhibitor caspase. Beberapa komponen sel seperti *AIF*, spesies oksigen reaktif, Ca^{2+} , *ATP*, modifikasi dan *misfolding* protein, serta kerusakan *DNA* dapat memicu apoptosis caspase independen.¹

Literatur menyebutkan bahwa *Granzyme A* (*GzmA*) dapat menginduksi secara langsung peningkatan senyawa oksigen reaktif dan kerusakan mitokondria jalur caspase independen.¹⁵ Target khusus *GzmA* adalah 270–420 kDa *endoplasmic reticulum (ER)-associated complex* yang mengandung *GzmA-activated DNase NM23-H1* atau kompleks *SET*. Walaupun fungsi normal kompleks *SET* ini belum diketahui dengan jelas, namun kandungan proteinnya berhubungan dengan tumorigenesis. Kompleks *SET* akan berpindah ke nukleus dan

menyebabkan kerusakan *DNA*.¹⁶ Faktor pro-apoptosis yang paling penting dalam jalur ini adalah *AIF*, yang dilepaskan oleh mitokondria dan menyebabkan kerusakan *DNA* dalam nukleus.¹⁶ Pelepasan *AIF* oleh mitokondria dipengaruhi juga oleh aktivasi *PARP-1* akibat senyawa oksigen reaktif. Ini membuktikan senyawa oksigen reaktif berperan pada jalur caspase dependen dan independen.¹⁶ Selain *AIF*, proses glutathionilasi dan nitrosilasi menghambat beberapa grup thiol dan mempengaruhi fungsi protein menyebabkan apoptosis. Mekanisme

jalur caspase independen terlihat pada Gambar 2. Hingga kini mekanisme apoptosis caspase independen masih belum jelas diketahui. Beberapa peneliti telah menemukan bahwa AIF; ROS, dan ligan lainnya mampu menstimulasi tipe kematian sel ini, jalur sinyal ini masih tahap fenomena dan mekanisme yang lebih terperinci masih terus diteliti. Apapun bentuk apoptosisnya, kematian sel jenis ini memiliki fungsi yang penting dalam pertumbuhan sel, proliferasi, dan kematian pada beberapa spesies.

SIMPULAN

Apoptosis merupakan fenomena yang masih terus diteliti, memegang peranan penting dalam homeostasis organisme multiseluler serta dapat mengatasi penyakit, namun malfungsi proses apoptosis akan menimbulkan penyakit seperti kanker, neurodegeneratif, dan autoimun. Rangkaian molekuler ini melibatkan dua jalur yakni caspase dependen (ekstrinsik dan intrinsik) serta caspase independen. neurodegeneratif, dan autoimun. Hingga kini mekanisme apoptosis dan implikasinya untuk tujuan pengobatan penyakit masih terus diteliti.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hongmei Z. *Extrinsic and Intrinsic Apoptosis Signal Pathway in Apoptosis And Medicine*. 2012; Edited Volume:3-23
2. Lawen A. *Apoptosis—An Introduction*. *Bio Essays*. 2003;25(9):888-96
3. Mohan H. *Textbook of Pathology*. 5th ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers; 2010
4. Fink SL, Cookson BT. Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infect Immun*. 2005;73(4):1907-16
5. Kroemer G, El-Deiry WS, Golstein P, Peter ME, Vaux D, et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death. *Cell Death Differ*. 2005;12:1463-67
6. O'Brien MA, Kirby R. Apoptosis: a review of pro-apoptotic and antiapoptotic pathways and dysregulation in disease. *J Vet Emerg Crit Care* 2008;18(6):572-85
7. Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer* 2002;2:647-56
8. Rastogi RP, Richa, dan Sinha RP. Apoptosis: Molecular mechanism and pathogenicity. *EXCLI Journal* 2009;8:155-81
9. Vermes I, Haanen C, dan Reutelingsperger. Flowcytometry of apoptotic cell death. *J Immunol Methods* 2000;243:167-90
10. Kuntz S, Wenzel U, Daniel H. Comparative analysis of the effects of flavonoids on proliferation, cytotoxicity, and apoptosis in human colon cancer cell lines. *Eur J Nutr* 1999;38:133-42
11. Wong R. Apoptosis in cancer: From pathogenesis to treatment. *J Exp Clin Canc Res* 2011;30(87):1-14
12. Fulda S, Meyer E, Debatin KM. Inhibition of TRAIL-induced apoptosis by Bcl-2 overexpression. *Oncogen* 2000; 21:2283-94
13. Deveraux QL, Roy N, Stennicke HR, Van Arsdale T, Zhou Q, et al. IAPs block apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome c by direct inhibition of distinct caspases. *EMBO J* 1998;17:2215-23
14. Thome M, Schneider P, Hofmann K, Fickenscher H, Meinel E, et al. Viral FLICE-inhibitory proteins (FLIPs) prevent apoptosis induced by death receptors. *Nature* 1997;386:517-21
15. Denis M, Zhu P dan Judy L. *GranzymeA,Induces Caspase-Independent Mitochondrial Damage, a Required First Step for Apoptosis Immunity* 2005;22(3):355-7
16. Dencic MS, Poljarevic J, Vilimanovich U. Cyclohexyl Analogues of Ethylenediamine Dipropionic Acid Induce Caspase-Independent Mitochondrial Apoptosis in Human Leukemic Cells. *Chem Res Toxicol* 2012;25(4):931-39.