

IMPLIKASI KLINIS MUTASI GEN *TRANSKETOLASE - LIKE 1* PADA PENYAKIT KANKER

oleh:
Siufui Hendrawan¹

ABSTRACT

Clinical Implications of Transketolase-like 1 Gene Mutation on Cancer

Transketolase is an enzyme that catalyzes the conversion of aldose and ketose sugars in the pentose phosphate pathway. Up to now have been successfully identified three types of transketolase genes (TKT, TKTL1, and TKTL2) and a mutation (an internal deletion) of transketolase-like gene 1 (TKTL1). Mutations of the TKTL1 gene will cause the loss of a number of amino acid residues on the encoded proteins. Although TKTL1 proteins synthesized still have transketolase enzyme activity, but this mutant enzyme has different characteristics than the conventional transketolase enzyme. Changes in activity of this enzyme give clinical implications in cancer. In cancer, expression of TKTL1 gene is increased both at the mRNA or protein level. TKTL1 enzyme elevations are associated with changes in glucose metabolism in patients with cancer. In cancer cells, glucose will be broken down anaerobic into lactate via the pentose phosphate pathway although the oxygen is available. So the breakdown of glucose by the TKTL1 enzyme in cancer cells are oxygen-independent (modified pentose-phosphate pathway). This alternative glucose metabolism is highly beneficial for carcinogenesis. So TKTL1 enzyme plays an important role in tumor cell growth. Inhibition of this enzyme proved could suppress cancer cell proliferation. TKTL1 can be a relevant target for cancer therapeutic intervention.

Key words: TKTL1, internal deletions, modified pentose-phosphate pathway, carcinogenesis

ABSTRAK

Implikasi Klinis Mutasi Gen *Transketolase-like 1* pada Penyakit Kanker

Transketolase adalah enzim yang mengkatalisis konversi gula ketosa dan aldosa pada jalur pentosa fosfat. Sampai saat ini telah berhasil diidentifikasi tiga jenis gen transketolase (TKT, TKTL1, dan TKTL2) serta adanya mutasi (delesi internal) pada gen *transketolase-like 1* (TKTL1). Mutasi pada gen TKTL1 ini akan menyebabkan hilangnya sejumlah residu asam amino pada protein yang disandinya. Meski protein TKTL1 yang disintesis tetap memiliki aktivitas enzim transketolase, namun enzim mutan ini memiliki karakteristik yang berbeda dari enzim transketolase konvensional. Perubahan aktivitas enzim ini memberikan implikasi klinis pada penyakit kanker. Pada kanker terjadi peningkatan ekspresi gen TKTL1, baik pada tingkat mRNA maupun protein. Peningkatan enzim TKTL1 ini dikaitkan dengan perubahan metabolisme glukosa pada penderita kanker. Pada sel kanker, glukosa akan dipecah secara anaerob menjadi laktat lewat jalur pentosa fosfat meski tersedia oksigen. Jadi pemecahan glukosa oleh enzim TKTL1 pada sel kanker bersifat oksigen independen (*modified pentosa-phosphate pathway*). Metabolisme alternatif glukosa ini sangat menguntungkan bagi karsinogenesis. Jadi enzim TKTL1 berperan penting pada pertumbuhan sel tumor. Penghambatan enzim ini terbukti dapat menekan proliferasi sel kanker. TKTL1 dapat menjadi target yang relevan bagi intervensi terapeutik kanker.

Kata-kata kunci: TKTL1, delesi internal, *modified pentosa-phosphate pathway*, karsinogenesis

PENDAHULUAN

Kanker adalah penyakit yang didasari oleh adanya perubahan pada gen yang mengontrol pertumbuhan dan kematian sel. Gangguan fungsi gen ini mengakibatkan pertumbuhan yang tidak terkendali serta defek pada apoptosis atau kematian sel terprogram. Namun, perubahan gen pada sel kanker ini bukan menjadi penyebab agresivitas sel kanker. Bentuk agresif pada sel kanker ditandai dengan pertumbuhan yang invasif dan metastasis. Biasanya penderita kanker tidak meninggal akibat tumor primer yang dideritanya, tapi akibat perubahan metabolisme yang dipicu oleh pertumbuhan yang masif selama metastasis kanker. Sehingga secara klinis penting untuk mendeteksi dan menangani bentuk agresif dari kanker.¹

Bentuk yang paling agresif dari kanker ditandai dengan ambilan glukosa yang sangat tinggi (20-30 kali dari sel normal). Uniknya, sel kanker tidak memecah glukosa menjadi CO₂ dan air seperti pada sel normal tapi mengubah glukosa menjadi laktat secara anaerob. Pemecahan

glukosa lewat glikolisis Embden-Meyerhoff dan jalan pentosa fosfat akan menghasilkan laktat pada kondisi anaerob. Biasanya jaringan seperti otot akan menjalankan oksidasi lengkap glukosa bila tersedia oksigen, namun sel tumor tidak. Glukosa tetap dipecah menjadi laktat meski tersedia oksigen (efek Warburg). Tingginya pemakaian glukosa serta produksi laktat yang berlebihan pada sel kanker pertama kali dikemukakan oleh Otto Warburg 80 tahun lalu. Namun penyebabnya masih merupakan teka teki. Baru belakangan teka teki ini mulai tersingkap sejalan dengan kemajuan di bidang genomik dan proteomik.¹

Penemuan terakhir telah berhasil mengkarakterisasi tiga jenis gen transketolase pada genom manusia, dan mendeteksi kadar enzim *transketolase-like 1* (TKTL1) yang tinggi pada sel kanker. Enzim TKTL1 inilah yang kemudian dikaitkan dengan pemecahan glukosa menjadi laktat secara anaerob lewat jalan pentosa fosfat meski tersedia oksigen. Akibatnya terjadi metabolisme gula yang tidak lazim pada sel kanker invasif. Metabolisme alternatif glukosa

¹ Bagian Biologi Molekular dan Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara

(dr. Siufui Hendrawan M.Biomed)

Correspondence to:

dr. Siufui Hendrawan, M.Biomed., Department of Biology Molecular and Chemistry, Faculty of Medicine, Tarumanagara University, Jl. S. Parman No. 1, Jakarta 11440.

ini diajukan sebagai modifikasi jalan Pentosa-Fosfat ("*modified*" *Pentose-Phosphate pathway*).¹⁻² Penemuan jalur metabolisme baru ini membuka pengertian yang lebih mendalam tentang mengapa sel tumor terus memecah glukosa menjadi laktat meski tersedia oksigen dan meningkatkan jalan anaerob ini apabila jalan ini bukan penghasil energi yang efisien? Bagaimana tumor agresif dapat bertahan hidup dalam kondisi dimana sel normal biasanya akan mati? Bahkan dapat terus bertumbuh secara invasif dalam kondisi anaerob? Makalah ini akan menguraikan mutasi dan ekspresi gen TKTL1 dan pengaruh *transketolase-like 1* pada metabolisme glukosa.

MUTASI DAN EKSPRESI GEN TKTL1

Sampai sekarang ini satu gen transketolase (TKT) dan dua gen *transketolase-like* (TKTL1 dan TKTL2) telah berhasil diidentifikasi dalam genom manusia. TKT dan TKTL1 memiliki struktur gen yang hampir sama. Sedangkan gen TKTL2 tidak memiliki intron. TKT dan TKTL2 memiliki sekuens transkrip yang homolog sampai ekson 3. Sedangkan transkrip TKTL1 tidak memiliki ekson 3. Hal ini diduga akibat adanya mutasi berupa delesi internal pada gen TKTL1. Coy *dkk.*, telah berhasil mengkarakterisasi mutasi yang berkaitan dengan ekson yang hilang ini. Mereka mendeteksi adanya sebuah kodon stop pada sekuens DNA yang diduga mengkode ekson ini. Namun gen TKTL1 yang lebih pendek ini tetap dapat mengkode protein *transketolase-like*. Dalam penelitian berikutnya, tingkat ekspresi ketiga famili gen ini diukur dengan menggunakan real-time PCR pada berbagai jaringan normal manusia. Hasilnya didapatkan tingkat ekspresi yang berbeda untuk ketiga jenis gen transketolase ini.

Tingkat ekspresi gen TKT rata-rata jauh lebih tinggi (60-1000 kali) dibandingkan dengan gen TKTL1 dan TKTL2. Sedangkan tingkat ekspresi gen TKTL1 dan TKTL2 lebih bersifat *tissue-specific* dan jauh lebih bervariasi pada masing-masing jaringan. Ekspresi gen TKTL1 yang tinggi ditemukan pada testis, timus, dan retina.²⁻³

Untuk mengevaluasi peran ketiga gen transketolase pada penyakit kanker, peneliti menganalisa tingkat ekspresi ketiga anggota keluarga gen transketolase ini pada sel kanker. Dalam penelitian ditemukan bahwa pada keganasan, gen TKTL1 yang terletak pada Xq28 ini mengalami aktivasi.⁴⁻⁵ Tampak peningkatan regulasi (*upregulated*) TKTL1 di tingkat mRNA, sedang pada TKT dan TKTL2 tidak. Peningkatan ekspresi gen TKTL1 pada tingkat mRNA ini ternyata juga diikuti oleh peningkatan ekspresi pada tingkat protein. Bila pada sel epitel normal tidak ditemukan ekspresi protein TKTL1 maka pada karsinoma epitelial didapatkan ekspresi TKTL1 yang tinggi.²

Coy *JF dkk.*, juga telah berhasil mengisolasi protein TKTL1 dari jaringan dan mendeteksi beberapa protein isoform TKTL1 yang berbeda. Berbeda dengan gen TKT, gen TKTL1 ternyata mengkode berbagai transkrip yang berbeda dan spesifik untuk masing-masing jaringan, mulai dari transkrip lengkap (*full length*) sampai transkrip yang lebih pendek untuk protein isoform yang lebih kecil. Hal ini dibuktikan dengan menggunakan teknik elektroforesis didapatkan 4-5 macam protein isoform TKTL1 mulai dari yang berukuran 40 kDa sampai 75 kDa. Protein isoform TKTL1 dapat berbentuk homodimer ataupun heterodimer dengan protein transketolase lainnya. Protein TKTL1, yang utama terdapat pada sitoplasma ini,

ternyata memiliki aktivitas enzim transketolase. Namun enzim TKTL1 ini memiliki sifat dan kinetik enzim yang berbeda dari TKT. Keunikan properti enzim TKTL1 dan keberadaan protein isoform yang lebih kecil inilah yang dapat menjelaskan perubahan reaksi enzimatik transketolase pada metabolisme glukosa.²

MODIFIED PENTOSA-PHOSPHATE PATHWAY

Otto Warburg, 80 tahun yang lalu, telah menyatakan bahwa pada sel kanker akan terjadi metabolisme glukosa lewat jalur pentosa fosfat. Hal ini yang ditandai dengan pemecahan glukosa secara anaerob menghasilkan laktat dalam jumlah besar meski dalam kondisi tersedia oksigen (efek Warburg).⁶ Penggunaan *positron emission tomography (PET) imaging technology* belakangan ini juga memperlihatkan kelainan metabolisme glukosa pada penderita kanker seperti yang diungkapkan teori Warburg.⁷⁻⁸ Pada jaringan normal akan terjadi pemecahan glukosa secara aerob, lewat jalan glikolisis, bila tersedia oksigen (Gambar: 1). Namun mengapa pada sel kanker tidak demikian? Anomali metabolisme glukosa pada sel kanker ini kemudian dikaitkan dengan mutasi yang terjadi pada gen TKTL1. Adanya over-ekspresi gen TKTL1, yang mengalami internal delesi, pada sel kanker menyebabkan protein (enzim) yang disintesis menjadi berkurang 38 residu asam amino. Hal inilah yang diduga mempengaruhi aktivitas enzim lewat *modified pentosa-phosphate pathway*. Enzim transketolase konvensional akan bekerja mengkatalis reaksi dua-substrat, yaitu xilulosa 5-fosfat (X5P) dan ribosa 5-fosfat (R5P), dengan menggunakan ketosa sebagai donor substrat dan aldosa sebagai akseptor substrat. Sedangkan kerja enzim

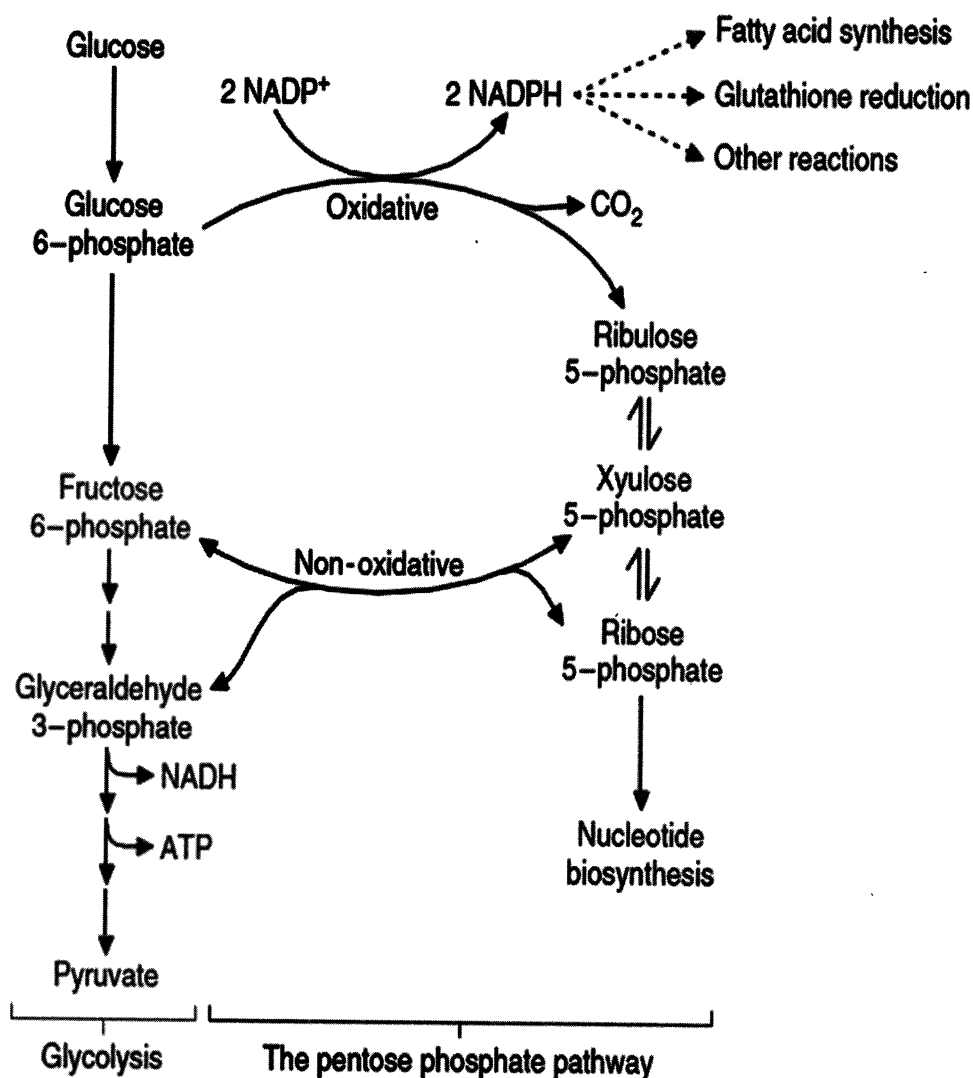
TKTL1 adalah mengkatalisis reaksi satu-substrat, dengan menggunakan substrat X5P sebagai sumber karbon satu-satunya. Enzim mutan ini dapat memecah dua buah X5P menjadi gliseraldehid 3-fosfat (GAP) dan eritrolosa. Akibat reaksi satu substrat ini akan dihasilkan banyak GAP untuk memasuki jalan glikolisis. Melalui metabolisme X5P oleh enzim TKTL1 ini juga akan dihasilkan banyak asetil-KoA. Dengan demikian, jalur modifikasi pentosa fosfat ini merupakan jalan penghasil energi yang bahkan lebih baik dibandingkan dengan jalan pentosa fosfat konvensional⁹ (Gambar: 2).

Asetil-KoA yang tinggi ini akan menjadi komponen dasar bagi biosintesis asam lemak dan kolesterol. Biosintesis dua senyawa ini akan mengalami peningkatan pada sel kanker invasif.¹⁰ Selain itu, kelebihan asetil-KoA juga dapat dioksidasi pada kondisi aerob lewat siklus asam sitrat dan rantai pernapasan sebagai suplai energi bagi pertumbuhan sel kanker. Tingginya kadar GAP dapat menekan jalannya reaksi pada glikolisis Embden-Meyerhof sehingga hanya sedikit piruvat yang dihasilkan dari glukosa lewat jalur ini.¹¹ Itulah sebabnya aktivitas jalur glikolisis pada sel kanker sangat menurun. Lebih jauh lagi, kadar GAP yang tinggi juga berakibat pada jalan pintas glikolisis yang seringkali kita lupakan. GAP dapat dikonversi menjadi Dihidroksiaseton-P (DHAP), dan DHAP dapat diubah menjadi metilglioksal serta lebih lanjut menjadi D-laktat dan piruvat¹² (Gambar: 2). Itulah sebabnya, sintesis metilglioksal pada sel kanker cukup tinggi. Sintesis metilglioksal bergantung pada peningkatan kadar DHAP dan penurunan aktivitas gliserol 3-P dehidrogenase, enzim lain yang juga memecah DHAP. Namun meski sintesis metilglioksal cukup tinggi pada sel

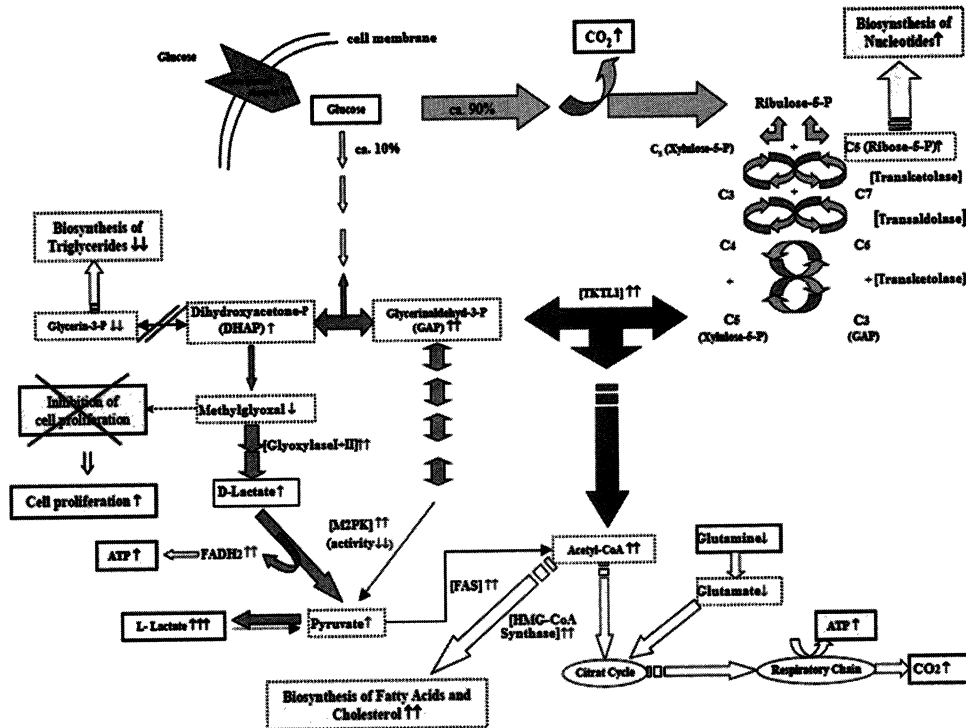
kanker tapi karena terjadi peningkatan aktivitas glioksilase, enzim pemecah metilglioksal, maka kadar metilglioksal akan menjadi rendah. Padahal, metilglioksal berperan sebagai sitotoksin yang poten dan dikenal mampu menghambat proliferasi sel. Akibat pemecahan berlebihan dari metilglioksal akan menyebabkan sel kanker menjadi agresif¹³ (Gambar: 2).

Lebih lanjut, penurunan aktivitas gliserol 3-P dehidrogenase pada

sel kanker akan menyebabkan deplesi gliserol 3-fosfat. Seperti dikatakan oleh *Howard dkk.*, pada kanker stadium akhir tidak terdapat lagi sintesis triasilgliserol dari gliserol 3-P akibat deplesi total dari metabolit ini. Ditambah dengan proses oksidasi β yang juga tidak berjalan lagi maka sel tumor akan sangat tergantung pada energi dari glukosa.¹²



Gambar:1. Metabolisme glukosa pada sel normal manusia.¹⁴



Gambar: 2. Metabolisme glukosa pada sel tumor invasif.²

PERAN TKTL1 DALAM KARSINOGENESIS

Peningkatan regulasi TKTL1 akan memberikan keuntungan pada tumor. Analisis yang dilakukan terhadap gen TKTL1 mengindikasikan adanya hubungan antara protein TKTL1 dengan tipe metabolisme tertentu (efek Warburg). Tipe metabolisme ini semakin mendapat perhatian karena merupakan langkah penting pada karsinogenesis.¹⁵⁻¹⁶ Aktivitas enzim transketolase pada jalur pentosa fosfat ini sangat berpengaruh pada pertumbuhan sel tumor. Lebih dari 85% ribosa untuk sintesis asam nukleat pada sel kanker berasal dari fase nonoksidatif jalur pentosa fosfat.¹⁷ Reaksi pada jalur pentosa fosfat memungkinkan perubahan glukosa menjadi ribosa untuk sintesis DNA dan RNA. Enzim trans-ketolase berperan pada sintesis

ribosa dengan memakai glukosa sebagai sumber karbon. Reaksi pada jalan ini juga menghasilkan NADPH sebagai agen pereduksi bagi biosintesis asam lemak dan kolesterol untuk pertumbuhan sel tumor. Ditambah reaksi yang dikontrol oleh enzim transketolase ini memungkinkan pemecahan glukosa secara anaerob lewat jalur pentosa fosfat. Seperti yang kita ketahui, kondisi anaerob seringkali ditemukan pada lesi tumor. Dengan adanya peningkatan regulasi enzim transketolase pada sel tumor, pemecahan glukosa menjadi bersifat oksigen independen. Dengan demikian tumor dengan peningkatan enzim TKTL1 dapat beradaptasi untuk tumbuh tanpa oksigen. Dengan peningkatan TKTL1, sel tumor dapat menggunakan glukosa dalam jumlah besar untuk pertumbuhannya. Sel tumor akan mendapatkan keuntungan bila kadar glukosa darah

meningkat. Akan terjadi pemakaian glukosa secara besar-besaran oleh sel tumor invasif. Glukosa akan habis dipakai, sedangkan sel normal yang "kelaparan" akan memakai cadangan lemak dan protein dalam tubuh.² Baik peningkatan pemakaian glukosa maupun peningkatan produksi laktat dapat digunakan sebagai marker prognosis yang buruk pada penderita kanker.¹⁸ Jadi jika peningkatan enzim TKTL1 ini memegang peranan yang begitu penting bagi pertumbuhan tumor, maka penghambatan enzim ini akan berdampak pula pada penekanan proliferasi tumor. Penggunaan inhibitor transketolase pada tumor telah terbukti mampu menekan proliferasi sel tumor secara dramatis.¹⁹ Penemuan ini membuat TKTL1 menjadi target yang relevan bagi terapi kanker. Penghambatan aktivitas enzim TKTL1 ini dapat dilakukan dengan menggunakan kofaktor analog (oksitiamin), substrat analog, inhibitor komponen kecil (Genistein²⁰; AVEMAR²¹) maupun melalui deplesi substrat. Karena enzim TKTL1 memerlukan tiamin sebagai kofaktor, maka aktivitas enzim dapat ditingkatkan dengan pemakaian tiamin dan dihambat oleh analog

tiamin.¹⁹

Diet rendah glukosa dan kaya asam lemak dan protein juga dianjurkan untuk menekan pertumbuhan tumor. Diet ketogenik ini akan menghentikan suplai energi bagi sel tumor sehingga menghambat proliferasi sel tumor.²²

PENUTUP

Pada sel tumor didapatkan peningkatan aktivasi gen *transketolase-like 1* (TKTL1). Peningkatan regulasi gen ini terjadi baik pada tingkat mRNA maupun protein. Akibat mutasi pada gen ini, protein yang disintesis dari gen ini memiliki aktivitas enzim transketolase yang unik. Peningkatan enzim ini akan memacu pemakaian glukosa secara anaerob meski pada kondisi tersedia oksigen. Hal ini terjadi lewat *modified pentosa phosphate pathway*. Kemampuan sel kanker untuk memecah glukosa secara oksigen independen ini akan membawa banyak keuntungan bagi pertumbuhan sel kanker. Keterkaitan enzim TKTL1 dengan pertumbuhan sel kanker menjadikannya relevan sebagai target terapi kanker.

DAFTAR PUSTAKA

1. Coy JF, Wilde J. Immunohistochemical detection of TKTL1: a druggable tumour marker. *CLI Des* 2005;22423:18-19.
2. Coy JF, Dressler D, Wilde J, Schubert P. Mutation in the transketolase-like gene TKTL1 : clinical implications for neurodegenerative disease, diabetes and cancer. *Clin. Lab.* 2005; 51:257-73.
3. Coy JF, Dübel S, Kioschis P, Thomas K, Micklem G, Delius H, Poustka A. Molecular cloning of tissue-specific transcripts of a transketolase-related gene: complication for the evolution of new vertebrate genes. *Genomic* 1996; 32:309-16.
4. Glinsky GV, Ivanova YA, Glinskii AB. Common malignancy-associated regions of transcriptional activation (MARTA) in human prostate, breast, ovarian, and colon cancers are targets for DNA amplifications. *Cancer Lett.* 2003; 201: 67-77.
5. Glinsky GV, Krones-Herzig A, Glinskii AB. Malignancy-associated regions of transcriptional activation: gene expression profiling identifies common chromosomal regions of recurrent transcriptional in human prostate, breast, ovarian, and colon cancers. *Neoplasia* 2003; 5:218-28.

6. Warburg O, posener K, Negelein E. Über den Stoffwechsel der Carcinomzelle. *Biochem Z* 1924; 152: 309-44.
7. Downey RJ, Akhurst T, Gonen M, Vincent A, Bains MS, Larson S, et al. Preoperative F-18 fluorodeoxyglucose-positron emission tomography maximal standardized uptake value predicts survival after lung cancer resection. *J Clin. Oncol* 2004; 22:3255-60.
8. Kumar R, Mavi A, Bural G, Alavi A. Fluorodeoxyglucose-PET in the management of malignant melanoma. *Radiol Clin North Am* 2005; 43: 23-33.
9. Bykova IA, Solovjeva ON, Meshalkina LE, Kovina MV, Kochetov GA. One-substrate transketolase-catalyzed reaction. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 280: 845-7.
10. Medes G, Thomas A, Weinhouse S. Metabolism of neoplastic tissue. IV. A study of lipid synthesis in neoplastic tissue slices in vitro. *Cancer Res* 1953; 13: 27-9.
11. Mazurek S, Luftner D, Wechsel HW, Schneider J, Eigenbrodt E. Tumor M2-PK: A marker of the tumor metabolism (Chapter 47 from *Tumor Markers: Physiology, Pathobiology, Technology and Clinical Applications*; Diamandis EP et al. Edts., AACR Press 2002; 471-75.
12. Howard BV, Morris HP, Bailey JM. Ether-lipids, a-glycerol phosphate dehydrogenase, and growth rate in tumors and cultured cells. *Cancer es* 1972; 32: 1523-38.
13. Yildiz D. Inhibition of tumor growth by replacing glutathione with N-acetyl-L-cysteine. *Med Hypotheses* 2004; 63:80-2.
14. Smith CM, Marks AD, and Lieberman MA. Marks' Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach, 2nd edition. New York: Lippincott Williams and Wilkins. 2005:528.
15. Garber K. Energy boost : the Warburg effect return in a new theory of cancer. *J natl Cancer Inst* 2004; 96:1805-6.
16. Gatenby HG, Katz J. The distribution of ¹⁴C in the hexose phosphates and the effect of recycling in the pentose cycle. *J Biol Chem* 1958; 233: 1279-82.
17. Boros LG, Puigjaner J, Cascante M, Lee W-NP, Brandes JL, Bassilian S, et al. Oxythiamine and dehydroepiandrosterone inhibit the nonoxidative synthesis of ribose and tumor cell proliferation. *Cancer Res* 1997; 57: 4242-48.
18. Walenta S, Schroeder T, Meller-Klieser W. Lactate in solid malignant tumors: potential basis of a metabolic classification in clinical oncology. *Curr Med Chem* 2004; 11: 2195-204.
19. Rais B, Comin B, Puigjaner J, Brandes JL, Creppy E, Saboureau D, et al. Oxythiamine and dehydroepiandrosterone induce a G1 phase cycle arrest in Ehrlich's tumor cells through inhibition of the pentose cycle. *FEBS Lett* 199; 456: 113-8.
20. Boros LG, Bassilian S, Lim S, Lee W-NP. Genistein inhibits nonoxidative ribose synthesis in MIA pancreatic adenocarcinoma cells: a new mechanism of controlling tumor growth. *Pancreas* 2001; 22: 1-7.
21. Boros LG, Lapis K, Szende B, Tomoskozi-Farkas R, Balogh A, Boren J, et al. Wheat germ extract decreases glucose uptake and RNA ribose formation but increase fatty acid synthesis in MIA pancreatic adenocarcinoma cells. *Pancreas* 2001; 23: 141-47.
22. Nebeling LC, Miralsi F, Shurin SB, Lerner E. Effects of ketogenic diet on tumor metabolism and nutritional status in pediatric oncology patients: two case reports. *J Am Coll Nutr* 1995; 14: 202-8.