

SITOGLOBIN: ANGGOTA BARU KELUARGA GLOBIN VERTEBRATA

oleh:
Sri Widia A Jusman¹

ABSTRACT

Cytoglobin: A New Member Of Globin Family In Vertebrate

Cytoglobin (Cygb) is a recently new member of globin family in vertebrate. The three other types of globins have been known such as hemoglobin (Hb), which transports oxygen in erythrocytes; myoglobin (Mb) which transports and stores oxygen in muscle tissue; and neuroglobin (Ngb) which is found in nerve tissue with function remain not well understood. The structure of Cygb showed similarities with the other globins protein. Both Cygb and Ngb are hexacoordinated globins, unlike Hb and Mb which are pentacoordinate globins. Although the structure is already known, the function of Cygb is still unclear. It has been proposed that Cygb play role in facilitation of oxygen diffusion; protecting cells against oxidative stress by scavenges reactive oxygen species, such as nitric oxide, hydrogen peroxide, peroxynitrite; and oxygen supply for hydroxylation reaction of proline residues in collagen synthesis. Expression of Cygb is up-regulated in hypoxic condition via hypoxia-inducible factor-1 α and is related with oxidative stress. Overexpression of Cygb in rat hepatic stellate cells protects liver tissue from fibrosis. Hypermethylation of promoter gene of Cygb related to carcinogenesis of esophagus and lung tissue, hence it is proposed that Cygb is a candidate of tumor suppressor protein. But, up-regulation of Cygb in glioblastoma multiforme is related with survival of the tumor cells.

Key words: globin family, cytoglobin, ROS scavenger, oxidative stress, tumor suppressor-protein

ABSTRAK

Sitoglobin: Anggota Baru Keluarga Globin Vertebrata

Sitoglobin (Cygb) merupakan anggota baru keluarga protein globin yang baru-baru ini ditemukan pada vertebrata. Globin lainnya yang telah diketahui adalah hemoglobin (Hb), yang mengangkut oksigen di dalam sel darah merah; mioglobin (Mb) yang mentransport dan menyimpan oksigen di dalam jaringan otot; dan neuroglobin (Ngb) yang ditemukan di dalam jaringan saraf dengan fungsi yang belum banyak diketahui. Struktur Cygb menunjukkan kemiripan dengan protein globin lainnya. Baik Cygb maupun Ngb merupakan globin dengan heksakoordinasi, berbeda dengan Hb dan Mb yang merupakan globin pentakoordinasi. Walaupun struktur Cygb telah diketahui sepenuhnya, akan tetapi fungsinya masih belum banyak diketahui. Diduga Cygb berperan pada difusi oksigen, melindungi sel terhadap stres oksidatif karena memusnahkan senyawa oksigen reaktif, seperti NO, H₂O₂, ONOO⁻; serta pada suplai oksigen untuk hidroksilasi residu prolin pada sintesis kolagen. Ekspresi Cygb mengalami pengaturan naik (*up-regulated*) pada keadaan hipoksia melalui hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) dan berhubungan dengan keadaan stress oksidatif. Overekspresi Cygb pada sel stellate hati dapat melindungi jaringan hati terhadap fibrosis. Hipermetilasi promotor gen Cygb berhubungan dengan terjadinya keganasan esofagus dan paru, dan diduga merupakan protein supresor tumor. Akan tetapi, pengaturan naik Cygb pada glioblastoma multiforme menyebabkan daya tahan sel kanker.

Kata-kata kunci: keluarga globin, sitoglobin, pemusnah ROS, stress oksidatif, protein supresor tumor

PENDAHULUAN

Sitoglobin (Cygb) merupakan anggota baru keluarga protein globin, setelah ditemukannya protein globin yang lain seperti hemoglobin (Hb), mioglobin (Mb) dan neuroglobin (Ngb). Protein Cygb diekspresikan di seluruh jaringan mamalia.^{1,2,3} Protein globin umumnya berperan pada respirasi, dapat mengikat O₂ secara reversibel melalui atom besi yang terdapat di tengah cincin porfirin yang terikat padanya. Hemoglobin merupakan tetramer, terdapat di dalam eritrosit, berfungsi mengangkut O₂ dari paru ke jaringan, dan CO₂ pada arah sebaliknya. Mioglobin berbentuk monomer ditemukan di otot jantung dan otot skelet, berfungsi untuk penyimpanan O₂ dan memfasilitasi difusi O₂ ke mitokondria, serta mengubah radikal NO menjadi nitrat, melalui reaksi.⁴ Neuroglobin banyak ditemukan di jaringan saraf dan retina¹ dan dapat memusnahkan peroksinitrit membentuk Fe(II) NO.⁵ Sehingga Mb dan Ngb selain berperan dalam pemaafasan sel, juga berperan sebagai pemusnah radikal bebas. Cygb mempunyai 40% kesamaan susunan asam amino dengan

Mb,⁵ sehingga kemungkinan Cygb juga mempunyai fungsi yang sama dengan Mb, berkenaan dengan fungsi penyimpanan O₂ dan pemusnah senyawa oksigen / nitrogen reaktif (*reactive oxygen species, ROS/ reactive nitrogen species, RNOS*).

Ditemukannya Cygb di dalam inti sel oleh Geuens,¹ menimbulkan dugaan bahwa Cygb berperan dalam transkripsi gen. Akan tetapi, peneliti lain menemukan Cygb di sitoplasma *fibroblast*, *chondroblasts*, *osteoblasts* dan *hepatic stellate cells* (HSCs).^{3,6} Di jaringan saraf sentral dan perifer, Cygb diekspresikan di sitoplasma dan nukleus.³ Perbedaan ekspresi ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan fungsi Cygb di masing-masing jaringan.

PROTEIN GLOBIN

Protein globin merupakan keluarga hemoprotein yang berperan pada respirasi, dapat mengikat O₂ secara reversibel melalui atom besi yang terdapat di tengah cincin porfirin yang terikat padanya. Pada umumnya globin berperan dalam menyediakan O₂ untuk metabolisme aerob dan beberapa di antaranya

¹ Bagian Biokimia dan Biologi Molekular, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (dr. Sri Widia A Jusman)

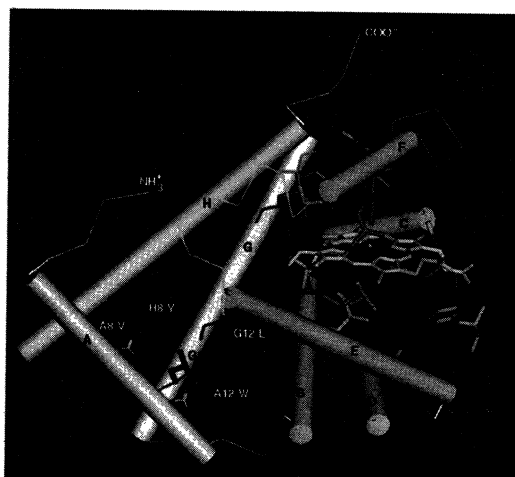
Correspondence to:

dr. Sri Widia A. Jusman,
Department of Biochemistry
& Molecular Biology
Faculty of Medicine
University of Indonesia.
Email:sriwidiaaj@yahoo.com

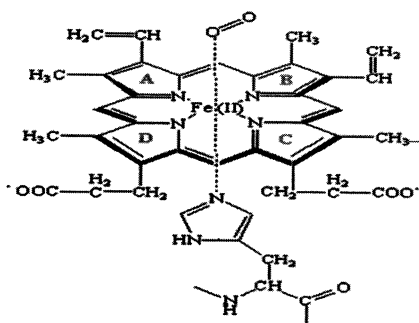
juga berperan sebagai enzim dalam reaksi oksidasi-reduksi.⁷ Rantai polipeptida globin terdiri dari ± 150 asam amino yang membentuk 8 segmen heliks- α (segmen A, B, C, D, E, F, G dan H) dan tersusun menjadi struktur lipatan berlapis yang khas, yaitu 3 heliks di atas 3 heliks (*3-over 3 α -helical sandwich structure*) (Gambar: 1).⁸ Lipatan globin ini dilestarikan pada semua anggota keluarga protein globin, kecuali pada globin terpancung yang hanya terdiri dari 4 heliks- α .⁹

Globin mengandung gugus prostetik hem (Fe-protoporfirin IX) yang dapat mengikat ligan gas seperti O_2 ,

CO dan NO. Secara filogenetik, globin merupakan molekul yang secara evolusi dipertahankan sebagai mekanisme adaptasi makhluk hidup terhadap lingkungan karena ditemukan mulai dari bakteri, tanaman, invertebrata dan vertebrata. Atom besi yang terdapat di tengah cincin porfirin mempunyai 6 ikatan koordinasi, 4 di antaranya mengikat 4 atom nitrogen yang terdapat pada bidang datar porfirin, sedangkan ikatan koordinasi ke-5 berinteraksi dengan residu histidin ke-8 pada segmen F (hisF8, histidin proksimal) dan ikatan koordinasi ke-6 dapat mengikat oksigen bila atom besi berada dalam bentuk fero (Gambar: 2).¹⁰



Gambar:1. Lipatan globin. Kuning-gugus hem; hijau-residu yang berikatan dengan hem; biru-residu yang dilestarikan; merah-residu nonfungsional.⁸

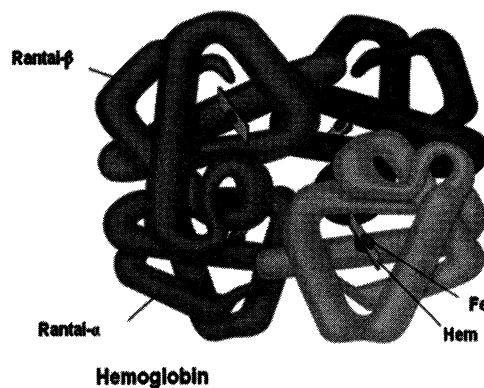


Gambar : 2. Cincin porfirin hem dan 6 ikatan koordinasi Fe.³²

Sumber : (diunduh dari chemed.chem.purdue.edu/biochem/blood3.html, 20/10/09).

Pada manusia dan vertebrata ditemukan empat jenis globin yang berbeda struktur, distribusi dan fungsinya, yaitu hemoglobin (Hb), mioglobin (Mb), neuroglobin (Ngb) dan sitoglobin (Cygb).¹¹⁻¹⁵ Hemoglobin merupakan heterotetramer (Gambar:3), terdapat di dalam eritrosit dan berfungsi mengangkut O₂ dari paru ke dalam jaringan melalui sirkulasi.^{14,15} Penelitian terakhir menunjukkan bahwa hemoglobin juga

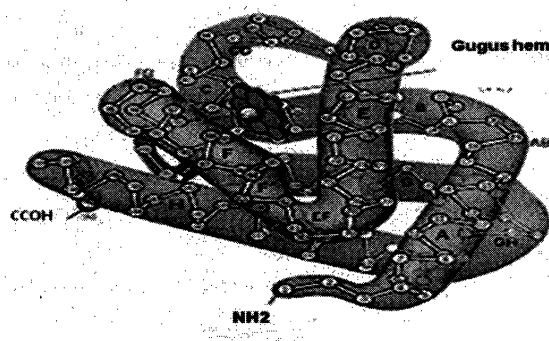
mempunyai sifat dapat mengikat NO pada ke-adaaan stres oksidatif. Terdapat bukti-bukti bahwa Hb dapat berikatan dengan NO,¹¹ yaitu: 1). Flavohemoglobin, yaitu Hb yang terdapat pada jamur dan bakteri dapat memusnahkan NO yang terbentuk *pada respiratory burst*; 2). *Mycobacterium tuberculosis* mengandung Hb terpancung (*truncated Hb, tr Hb*) yang dapat berikatan dengan NO.



Gambar: 3. Struktur hemoglobin.³³

Sumber: modifikasi dari <http://themedicalbiochemistrypage.org/>.

Mioglobin, merupakan monomer (Gambar: 4) dan terdapat dalam otot lurik dan otot jantung dan berperan sebagai bufer O₂, memfasilitasi difusi O₂ ke mitokondria dan juga berperan dalam memusnahkan NO yang toksik di jaringan jantung.^{16, 17}



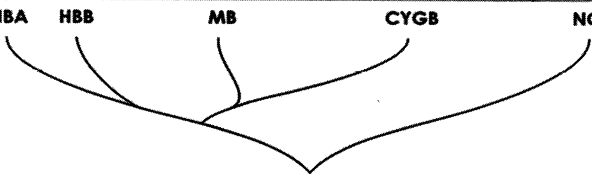
Gambar: 4. Struktur mioglobin.³⁴

Sumber: modifikasi dari <http://asbury.leeds.ac.uk/>

Neuroglobin, adalah protein globin yang juga belum lama ditemukan, terutama terdapat di jaringan saraf, otak dan retina.¹¹⁻¹³ Ngb analog dengan Mb, merupakan monomer. Gen untuk Ngb pada manusia dan tikus mengkode protein yang terdiri dari 151 asam amino dengan BM 17.000 yang 94 % identik. Walaupun Ngb termasuk ke dalam keluarga globin, akan tetapi kesamaan asam amino antara Ngb dengan Mb hanya 21 % identik, sedangkan dengan Hb 25 % identik.¹² Ini berarti bahwa terdapat perbedaan fungsi antara Ngb dengan Hb dan Mb. Ekspresi Ngb

terutama pada lobus frontalis, nukleus subtalamik dan talamus. Globin dalam jaringan saraf juga ditemukan pada invertebrata seperti annelida, moluska dan nematoda. Ngb mungkin berperan melindungi neuron pada keadaan hipoksia.¹⁸

Sitoglobin, merupakan globin yang ditemukan di semua jaringan oleh karena itu disebut juga histoglobin (Hgb).^{11,12} Fungsi Cygb seperti juga Ngb sejauh ini masih banyak belum diketahui. Karakteristik ke empat protein globin vertebrata ditampilkan pada Gambar: 5.

	hemoglobin	myoglobin	cytoglobin	neuroglobin
				
expression sites	red blood cells	skeletal muscle heart smooth muscle	fibroblast cell lineage liver stellate cells CNS/PNS	neurons (CNS,PNS) retina endocrine tissue fish gills
Fe-atom coordination	penta	penta	hexa	hexa
oxygen affinity ($P_{50}(O_2)$ in torr)	26	1	1	1
gene location (human)	α -cluster 16p13 β -cluster 11p15	22q13	14q24	17q25
locus link	(α) 83587 (β) 64162	4151	114757	58157
phylogeny				

Gambar: 5. Karakteristik protein globin vertebrata.⁹

SITOGLOBIN

Sitoglobin, bersama-sama dengan neuroglobin merupakan anggota baru dari keluarga protein globin vertebrata. Pada awalnya Cygb diidentifikasi oleh Kawada pada tahun 2001, ketika melakukan analisis proteomik, sebagai hemoprotein yang diekspresikan secara mencolok pada sel *stellate* hati (*hepatic stellate cells*, HSC) yang ter-

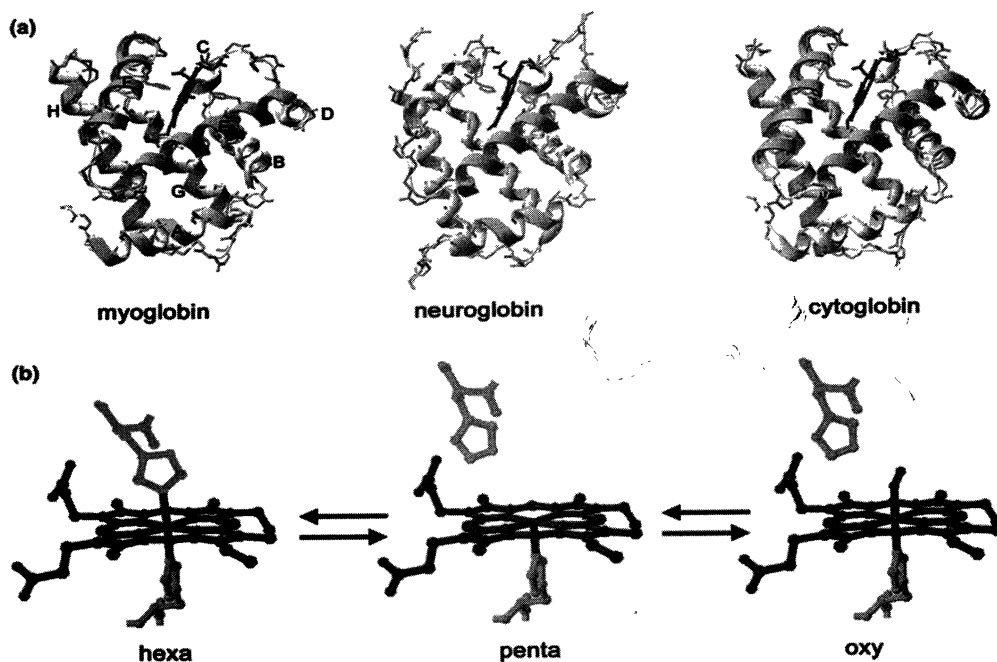
aktivasi, oleh karena itu disebut sebagai *stellate cell activation-associated protein* (STAP).⁶ Ternyata STAP identik dengan Cygb dan tidak diekspresikan di dalam sel hati yang lain. Disebut juga sebagai histoglobin (Hgb) karena ternyata, tidak seperti Hb, Mb dan Ngb, globin ini diekspresikan di semua jaringan dan organ. Pada eksperimen menggunakan teknik *Western blotting* dan *Northern blot-*

ting, ditemukan bahwa mRNA Cygb ditemukan di berbagai jaringan. Penelitian dengan menggunakan PCR kuantitatif, menunjukkan bahwa Cygb mengalami pengaturan naik (*up-regulation*) pada keadaan hipoksia.³

Analisis filogenetik menunjukkan bahwa Cygb berdekatan dengan Mb, berbeda dengan Ngb dan Hb dan berasal dari asal usul yang sama lebih dari 450 juta tahun yang lalu.^{3,13} Cygb mempunyai 3 intron seperti semua globin heksakoordinat, yang terdapat pada posisi B12-2 dan G7-0 yang dilestarikan, dan intron ketiga pada posisi H36-2. Tiga intron ini menunjukkan bahwa globin heksakoordinat secara evolusi lebih awal dari pada globin pentakoordinat. Kemungkinan Cygb merupakan bentuk antara pada evolusi globin heksakoordinat seperti Ngb dan Hb tumbuh-tumbuhan dengan globin pentakoordinat.¹¹

STRUKTUR SITOGLOBIN

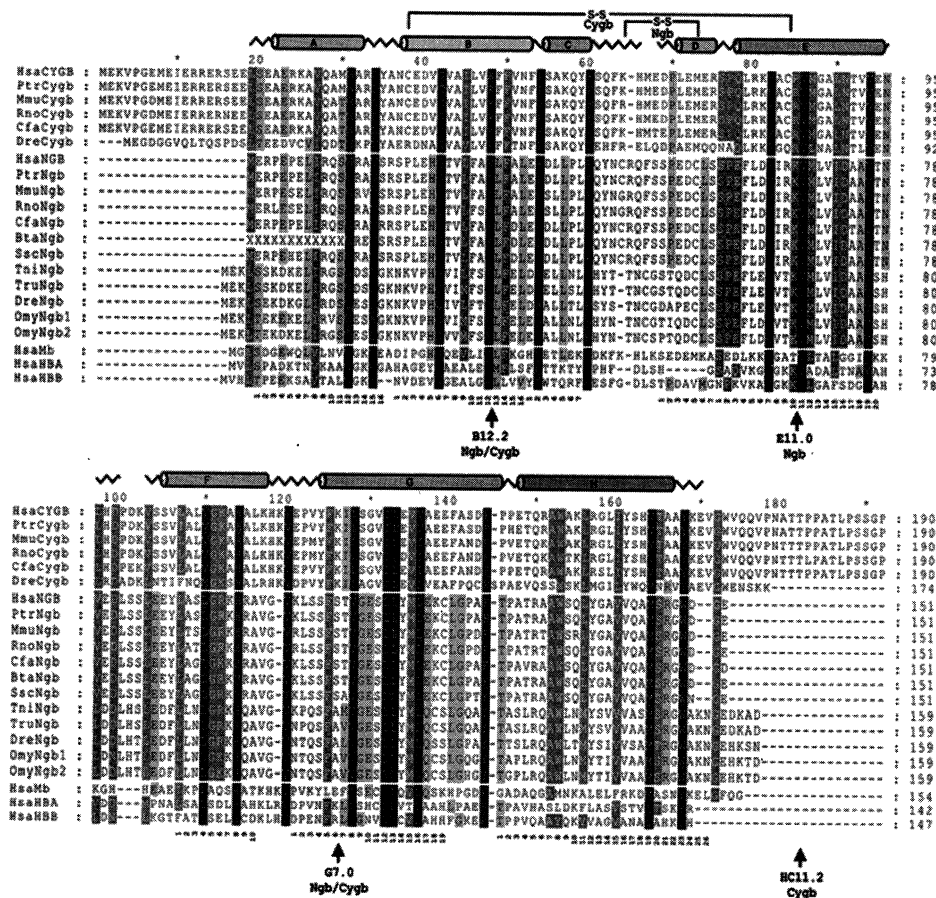
Seperti Ngb dan Hb dari tumbuh-tumbuhan, Cygb merupakan globin dengan 6 ikatan koordinasi (*hexacoordinate globin*), berbeda dengan Hb dan Mb yang merupakan *pentacoordinate globin* (Gambar 8). Sebelum ditemukannya Cygb dan Ngb, globin dengan heksakoordinasi selama ini diketahui hanya terdapat pada Hb tumbuh-tumbuhan, Hb invertebrata dan Hb bakteri dan tidak pada vertebrata. Pada globin dengan heksakoordinasi, ligan ke-6 dari Fe-hem adalah HisE7 baik dalam bentuk fero (Fe^{2+}) maupun feri (Fe^{3+}). O₂ dan CO dapat melepaskan ligan endogen tersebut sehingga terbentuk derivat oksigen dan karbonmonoksida secara reversibel.⁹



Gambar: 8 (a). Struktur 3-D Mb, Ngb dan Cygb manusia (Lipatan globin heliks- α ditandai dengan huruf A-H yang dilestarikan pada ke-3 protein globin); (b). Gambar skematis heksakoordinasi. Keseimbangan antara heksa dan pentakoordinasi berperan (*rate limiting step*) dalam pengikatan ligan dari Cygb dan Ngb. Warna merah: gugus hem; warna hijau: histidin; warna biru: ligan)⁹

Cygb mamalia menunjukkan susunan asam amino yang sangat conserved. Cygb manusia dan tikus hanya berbeda 4,7 % asam amino, dan residu yang penting untuk aktivitas yaitu PheCD1, HisE7 dan HisE8 dipertahankan. Cygb mamalia meru-

pakan globin terpanjang dibandingkan dengan globin lainnya, terdiri dari 190 asam amino, sedangkan globin lainnya hanya terdiri dari 140-150 asam amino. Hal ini disebabkan oleh lebih banyaknya 20 asam amino pada ujung N dan ujung C (Gambar: 9).⁹



Gambar: 9. Urutan asam amino Cygb dan Ngb dari berbagai spesies vertebrata dibandingkan dengan rantai Hb α , Hb β dan Mb. Asam amino yang berwarna gelap menunjukkan residu yang dilestarikan. Residu Cys pada Cygb dan Ngb kemungkinan berikatan membentuk ikatan disulfida. Posisi intron dalam gen Cygb dan Ngb ditunjukkan oleh tanda panah (B12.2 menunjukkan intron terdapat pada posisi 2 dan 3 dari kodon ke-12 heliks B). Singkatan spesies: Has, *Homo sapiens*; Ptr, *Pan troglodytes*; Mmu, *Mus musculus*; Rno, *Rattus norvegicus*; Cfa, *Canis familiaris*; Bta, *Bos taurus*; Ssc, *Sus scrofa*; Tni, *Tetraodon nigroviridis*; Tru, *Takifugu rubripes*; Dre, *Danio rerio* and Omy, *Onchorhynchus mykiss*.⁹

Asam amino yang membentuk kantung hem pada Cygb lebih mirip dengan Mb dari pada dengan Ngb. Sebagai contoh, residu E6 dari kantung hem distal pada Cygb dan Mb adalah Lys, sedangkan pada Ngb

adalah Asp; posisi F9 yang berdekatan dengan His proksimal pada Ngb mengandung residu polar, berbeda dengan residu rantai alifatik yang non-polar pada Cygb dan Mb. Kemiripan struktur primer kantung hem antara

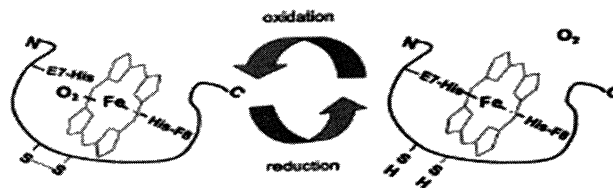
Cygb dan Mb sangat menarik, terutama dalam konteks afinitas terhadap O_2 dan CO .¹¹

KOOPERATIVITAS SITOGLOBIN DALAM PENGIKATAN O_2 .

Cygb menunjukkan kooperativitas (positif) dan penghambatan (negatif) pada interaksi hem-hem dalam mengikat O_2 , yang berarti pengikatan O_2 oleh satu molekul hem akan meningkatkan atau menurunkan afinitas hem yang lain, seperti juga ditunjukkan oleh Hb. Dengan kristalografi sinar-X, Cygb merupakan suatu dimer. Interaksi antara kedua subunit terjadi antara heliks B dan H dan pada sudut BC. Satu hem dari dimer berada dalam bentuk heksakoordinasi sementara

hem yang lain terdapat dalam bentuk pentakoordinasi.⁵

Dalam bentuk heksakoordinat, oksigen sulit berdisosiasi dari hem, sehingga kemungkinan peran Cygb bukan sebagai transport oksigen, seperti Hb. Untuk membuat ikatan ini terlepas diperlukan perubahan konformasi rantai globin.¹⁹ Peran membuka situs katalitik ini dipengaruhi oleh oksidator yaitu NAD^+ . Setelah sistein (HS-SH) mengalami oksidasi menjadi sistin (S-S), maka ikatan histidin E7 lepas dari atom Fe gugus hem dan dengan cepat ligan akan terikat pada Fe yang memiliki karakteristik menutup dan membuka (Gambar 10). Untuk melepaskan oksigen dari Fe gugus hem diperlukan reduktor kuat seperti $NADH + H^+$.

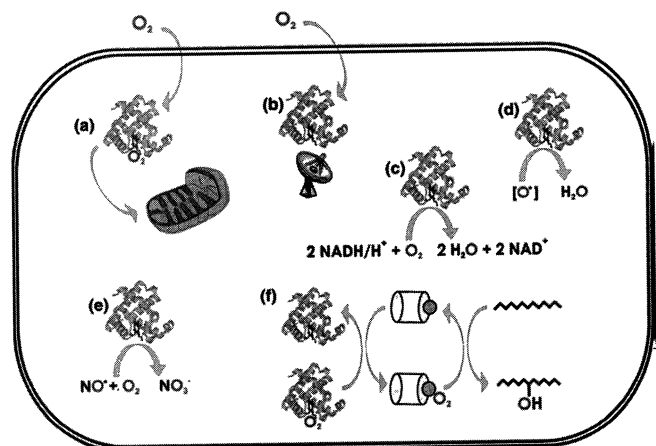


Gambar: 10. Model Alosterik Pengikatan Oksigen oleh Cygb.¹⁹

KEMUNGKINAN PERAN SITOGLOBIN

Peran Cygb dalam metabolisme belum banyak diketahui. Cygb, seperti

Mb diduga berperan untuk mensuplai O_2 ke mitokondria.^{3,21} Fungsi protein globin di dalam sel ditunjukkan pada Gambar: 11.



Gambar: 11. Fungsi hipotetis globin intrasel. (Warna hijau: molekul globin; warna coklat: gugus hem; warna merah: ligan O_2 ; warna merah muda: mitokondria; warna kuning: enzim yang memerlukan O_2).⁹

Kemungkinan fungsi Cygb:

- (1). Sitoglobin, seperti Mb diduga berperan untuk mensuplai O_2 ke mitokondria.^{3,21,22}
- (2). Di samping itu Cygb, seperti Ngb juga diduga berperan sebagai protein regulator yang mengindera perubahan kadar O_2 , berperan dalam jalur transduksi sinyal yang memodulasi aktivitas protein regulator sebagai respons terhadap perubahan kadar O_2 . Diduga terjadi perubahan konformasi dari kantung hem dari globin heksa-koordinasi pada waktu pengikatan ligan yang memicu sinyal untuk regulasi.^{14,23}
- (3). Bertindak sebagai oksidase terminal menghasilkan NAD untuk mempertahankan glikolisis dan pembentukan ATP pada keadaan hipoksia, seperti pada Hb jagung.²⁴
- (4). Cygb diduga juga melindungi sel terhadap ROS atau RNS.^{3,14}
- (5). Mempunyai aktivitas dioksigenase, seperti Mb pada sel otot mamalia, mengubah NO menjadi nitrat.¹⁷
- (6). Mensuplai O_2 bagi enzim sitoplasma yang memerlukan O_2 .⁹

Eksresi Cygb dapat diaktifkan oleh faktor transkripsi seperti: Anti protein-1 (AP-1), *Nuclear factor of activated T cell* (NFAT) dan *Hypoxia-inducible factor-1* (HIF-1) yang mempunyai kemampuan mengikat daerah upstream dari Cygb yang diduga sebagai promotor Cygb, dan meningkat pada kondisi hipoksia. Hambatan terhadap aktivitas NFAT dan AP-1 juga terbukti menghambat ekspresi Cygb.²

Dalam hati tikus Cygb/STAP terdapat dalam sel stellate hati (HCS) dan meningkat bila sel ini mengalami aktivasi pada fibrosis hati. *Growth factor* seperti PDGF, TGF- α , TGF- β serta ROS dan peroksida lipid diduga dapat memicu pengaktifan sel *stellate*.⁶ *Fibroblast-like cells* yang mengandung

vitamin A juga ditemukan di parenkim berbagai jaringan ekstrahepatik dan diduga berperan pada fibrogenesis di berbagai organ.²¹ STAP mempunyai aktivitas peroksidase terhadap H_2O_2 dan peroksida lipid.⁶ Cygb ditemukan dalam sitoplasma fibroblast, kondroblas, osteoblas dan sel *stellate* hati dan diduga berhubungan dengan sintesis kolagen.¹⁵ Fungsi Cygb pada sintesis kolagen sesuai dengan fakta bahwa ekspresi Cygb tinggi pada kondroblas, osteoblas yang aktif mensekresi kolagen sedangkan osteosit dan kondrosit yang tidak mensintesis kolagen menunjukkan ekspresi Cygb yang rendah.³ Kemungkinan lain Cygb berperan pada suplai O_2 untuk reaksi hidroksilasi pada sintesis kolagen.⁶ Cygb juga ditemukan di otak dan jaringan saraf perifer, walaupun tidak ditemukan sintesis kolagen di jaringan ini. Berbeda dengan *fibroblast-like cells*, Cygb dalam neuron terdapat selain di sitoplasma juga di dalam inti. Oleh karena itu, fungsi Cygb di dalam neuron mungkin berbeda dengan di dalam *fibroblast-like cells*. Adanya globin dalam inti analog dengan Hb pada tumbuh-tumbuhan. Cygb mungkin berinteraksi dengan suatu protein yang berperan dalam regulasi transkripsi gen.¹ Di pihak lain, Cygb mungkin berperan dalam ROS (NO) *signaling pathway*.³ Ekspresi Cygb tampaknya mengalami pengaturan naik pada keadaan hipoksia di otak, otot skelet, hati dan jantung. Mekanisme induksi oleh Cygb diregulasi melalui *hypoxia inducible factor* (HIF-1) yang mengatur berbagai *hypoxia inducible genes*.^{3,5}

Oleh karena kadarnya yang rendah rendah in vivo, Cygb kemungkinan berperan pada reaksi yang memerlukan O_2 yang tidak melibatkan mitokondria. Reaksi-reaksi ini di antaranya adalah reaksi hidroksilasi Pro pada sintesis kolagen, hidroksilasi Pro

dan Asn pada hidroksilasi *hypoxia-inducible factor* (HIF- α). Kedua hidroksilase ini terdapat di inti dan sitoplasma, sesuai dengan lokalisasi ekspresi dari Cygb dan yang mengalami *up-regulated* pada keadaan hipoksia.⁵

Sitoglobin juga ternyata dapat mengalami pengaturan naik oleh H₂O₂ pada sel N₂ Neuroblastoma. Penghambatan ekspresi Cygb dengan menggunakan siRNA ternyata dapat menyebabkan kematian sel. Oleh karena itu diduga, Cygb mengalami induksi pada keadaan stres oksidatif dan melindungi terhadap kematian sel.²⁵ Overekspresi Cygb pada sel *stellate* hati tikus, *in vitro* maupun *in vivo* menunjukkan perlindungan sel hati dari fibrosis akibat kerusakan hati yang diinduksi radikal bebas.²⁶ Penelitian terhadap neuroglobin dan sitoglobin pada mencit membuktikan adanya hubungan dengan pemusnahan senyawa oksigen reaktif.²⁷

Down-regulation ekspresi gen Cygb yang berlokasi pada kromosom 17q25, ternyata berhubungan dengan terjadinya keganasan esofagus (tilosis) pada manusia, walaupun belum jelas mekanismenya.^{28,29} Akan tetapi pengaturan naik Cygb pada hipoksia yang menyertai keganasan sel glioblastoma multiforme (GBM) *in vivo* dan *in vitro*, menyebabkan sel kanker bertahan hidup.³⁰ Jusman menemukan bahwa ekspresi mRNA Cygb di hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik, lebih tinggi pada hipoksia hari pertama, kemudian menurun

seiring dengan lamanya hipoksia pada hari ke-3, ke-7 dan ke-14, sebanding dengan ekspresi mRNA HIF-1 α . Akan tetapi protein Cygb menunjukkan kadar paling tinggi pada hari ke-14 hipoksia yang mungkin disebabkan oleh stabilitas protein Cygb.³¹ Hal ini mendukung dugaan bahwa Cygb berperan melindungi sel hati terhadap stres oksidatif akibat hipoksia.

KESIMPULAN

Cygb bersama-sama dengan Ngb merupakan globin vertebrata yang mempunyai hem dengan 6 ikatan koordinasi. Struktur Cygb mirip dengan globin lainnya, terdiri dari 8 lipatan heliks- α , akan tetapi terdapat dalam bentuk dimer. Analisis filogenetik menunjukkan kekerabatan yang dekat dengan Mb. Walaupun struktur Cygb telah diketahui, akan tetapi fungsinya belum diketahui dengan jelas. Cygb terdapat di seluruh jaringan dan organ vertebrata, dan terdapat pada *fibroblast-like cells*, yang berperan pada sintesis kolagen. Cygb ditemukan di dalam sitoplasma dan juga inti. Ekspresi Cygb dipengaruhi oleh HIF- α , suatu faktor transkripsi yang mengatur sintesis berbagai protein pada keadaan hipoksia. Cygb diduga berperan sebagai radikal *scavenger* seperti NO dan ROS lainnya, sehingga dapat mencegah stres oksidatif; mencegah fibrosis; serta berperan sebagai protein supresor tumor didalam sel.

DAFTAR PUSTAKA

1. Geuens E, Brouns I, Flamez D, Dewilde S, Timmermans JP, Moens L. A Globin in the Nucleus!. J. Biol. Chem. . 2003; 278: 33; 30417-20.
2. Singh S, Manda SW, Sikder D, Birrer MJ, Rothermel BA, Garry DJ, Mammen PPA. Calcineurin Activates Cytoglobin Transcription in Hypoxic Myocytes. J. Biol. Chem. 2009; 284: 10409-21.
3. Schmidt, M et al. Cytoglobin is a respiratory protein in connective tissue and neurons, which is up-regulated by hypoxia. J. Biol. Chem. 2003; 279: 8063-9.

4. Doorslaer SV, Dewilde S, Kiger L, Nistor SV, Goovaerts E, Marden MC, ect. Nitric Oxide Binding Properties of Neuroglobin. *J. Biol Chem.* 2003; 278 : 4919–25.
5. Fago A, Hundahl C, Dewilde S, Gilany K, Moens L, Weber RE. Allosteric regulation and temperature dependence of oxygen binding in human neuroglobin and cytoglobin. Molecular mechanism and physiological significance. *J Biol Chem* . 2004; 279: 44417-26.
6. Kawada, N et al. Characterzation of a stellate cell activation-associated protein (STAP) with peroxidase activity found in rat hepatic stellate cells. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 25318-23.
7. Hardison, R C. A brief history of hemoglobins: Plant, animal, protist and bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1996; 93: 5675-9.
8. Ptitsyn OB, Ting KLH. Non-functional conserved residues in globins and their possible role as folding nucleus. *J. Mol. Biol.* 1996; 291: 671-82.
9. Hankeln T, Ebner B, Gerlach F, Haberkamp M, Laufs TL, Roesner A, Schmidt M, Weich B, Wystub S, Saaler-Reinhardt S, Reuss S, Bolognesi M, De Sanctis D, Marden MC, Kiger L, Moens L, Dewilde M, Nevo E, Avivi a, Weber RE, Fago A, Burmester T. Neuroglobin and cytoglobin in search of their role in the vertebrate globin family. *J. Inorg. Biochem.* 2005; 99:110-19.
10. Stryer L. *Biochemistry* 4th ed. New York: WH Freeman & Company; 2000.
11. Trent III JT, Hargrove MS. A ubiquitously expressed human hexacoordinate hemoglobin. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 19538-45.
12. Burmester, T et al.. A vertebrate globin expressed in the brain. *Nature.* 2000; 407, 520-23.
13. Burmester T, Ebner B, Weich B, Hankeln T. Cytoglobin: A novel globin type ubiquitously expressed in vertebrate tissues. *Mol. Biol. Evol.* 2002; 19: 416-21.
14. Pesce et al. Neuroglobin and cytoglobin. Fresh blood for the vertebrate family. *EMBO reports.* 2002; 3: 1146-51.
15. Ascenzi P, Bocedi A, de Sanctis D, Pesce A, Bolognesi M, Marden MC, Dewilde S, Moens L, Hankeln T, Burmester T. Neuroglobin and cytoglobin. Two new entries in the hemoglobin superfamily. *Biochemistry and Molecular Biology Education.* 2004; 32: 5; 305-13.
16. Brunori, M. Nitric oxide moves myoglobin centre stage. *Trends Biochem. Sci.* 2001; 26, 209-10.
17. Flogel, U et al. Myoglobin: A scavenger of bioactive NO. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2001; 98, 735-40.
18. Sun, Y et al. Neuroglobin is up-regulated by and protects neurons from hypoxic-ischemic injury. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2001; 98, 15306-15311.
19. Hamdane D, Kiger L, Dewilde S, Green BN, Pesce A, Uzan J, Burmester T, Hankeln Y, Bolognesi M, Moens L, Marden MC. The Redox State of the Cell Regulates the Ligand Binding Affinity of Human Neuroglobin and Cytoglobin. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 51713–21.
20. Guo X, Philipsen S, Tan-Un KC. Study of the hypoxia-dependent regulation of human CYGB gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007; 364: 145-50.
21. Nakatani, K et al. Cytoglobin / STAP, its unique localization in splanchnic fibroblast-like cells and function in organ fibrogenesis. *Lab. Invest.* 2004; 84; 91-101.
22. Wittenberg BA, Wittenberg JB. Transport of oxygen in muscle. *Annu Rev Physiol.* 1989; 51: 857–78.
23. Freitas TAK, Saito JA, Hou S, Alam M. Globin-coupled sensors, protoglobins and the last universal common ancestor. *J. Inorg Bioch.* 2005; 99: 23-33.
24. Sowa AW, Duff SMG, Guy PA, Hill RD. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998; 10317-21.
25. Li D, Chen XQ, Li WJ, Yang YH, Wang JZ, Yu ACH. Cytoglobin up-regulated by hydrogen peroxide plays a protective role in oxidative stress. *Neurochem Res.* 2007; 3: 1375-80.
26. Xu R, Harrison PM, Chen M, Li L, Tsui L, Fung PCW, Cheung PT, Wang G, Li H, Diao Y, Krissansen GW, Xu S, Farzaneh F. Cytoglobin overexpression protects against damage-induced fibrosis. *Mol. Ther.* 2006; 13: 1093-9.

27. Fordel E, Thijs L, Moens L, Dewilde S. Neuroglobin and cytoglobin expression in mice. evidence for a correlation with reactive oxygen species scavenging. *FEBS J.* 2007; 274: 1312-7.
28. McDonald FE, Liloglou T, Xinarianos G, Hill L, Rowbottom L, Langan JE, Ellis A, Shaw JM, Field JK, Risk JM. Down-regulation of the cytoglobin gene, located on 17q25, in Tylosis with oesophageal cancer (TOC): Evidence for trans-allele repression. *Human Mol. Genetics.* 2006; 15(8): 1271-7.
29. Shaw RJ, Liloglou T, Rogers SN, Brown JS, Vaughan ED, Lowe D, Field JK, Risk JM. Promoter methylation of P16, RAR β , E-Cadherin, cyclin A1 and cytoglobin in oral cancer: Quantitative evaluation using pyrosequencing. *British J. Cancer.* 2006; 94:561-8.
30. Emara M, Turner AR, Allalunis-Turner J. Hypoxic regulation of cytoglobin and neuroglobin expression in human normal and tumor tissues. *Cancer Cell Int.* 2010; 10:33.
31. Jusman SWA. Respons jaringan hati terhadap hipoksia sistemik kronik: Analisis regulasi ekspresi gen sitoglobin oleh Hypoxia-inducible factor 1- α . Disertasi Doktor. Program Doktor Ilmu Biomedik FKUI. 2010.
32. <http://chemed.chem.purdue.edu>, diunduh 20/10/09
33. <http://themedicalbiochemistrypage.org>, diunduh 20/10/09
34. <http://asbury.leeds.ac.uk>, diunduh 20/10/09