

## **EROSI TELOMER PADA *CELLULAR SENESENCE***

**Risti Sifa' Fadhilah**  
**ristisifa@apps.ipb.ac.id**

### **Pendahuluan**

Telomer adalah bagian ujung kromosom yang berfungsi sebagai penutup/*cap* untuk menjaga agar antar kromosom tidak saling bergandengan dan menghindari dan melindungi bagian ujung kromosom dari kerusakan dan untuk menjaga kestabilannya.. Telomer tersusun dari urutan basa-basa nukleotida dengan motif tertentu yang berulang-ulang ratusan hingga ribuan kali. Pada manusia, motif telomer yang berulang adalah TTAGGG. Selain nukleotida yang menyusun untai DNA telomer, terdapat pula berbagai protein yang bersama-sama menjalankan fungsi telomer. Untuk memelihara telomer, diperlukan enzim khusus yang disebut telomerase.

Telomer berfungsi untuk menjaga keutuhan genom (materi genetik) selama perkembangan sel. Telomer ini akan memendek setiap kali sel membelah dan pada panjang tertentu, sel akan berhenti membelah, atau yang disebut sel yang menua yang selanjutnya akan mati. Sel-sel germinal (sel sperma dan sel telur), kromosomnya memiliki telomer yang normal panjang untuk persiapan kehidupan jangka panjang. Sedang sel-sel somatik telomernya sudah mengalami pemendekan, dan akan terus memendek selama perkembangan sel.

Pentingnya telomer khususnya dalam biologi ditunjukkan pada diperolehnya penghargaan Nobel pada bidang tersebut. Hermann Muller memenangkan penghargaan Nobel pada tahun 1946 dan juga merupakan yang pertama memperkenalkan istilah telomer (diambil dari bahasa Yunani, *telos* yang berarti 'ujung' dan *meros* yang berarti 'bagian'). Pada tahun 1983, Barbara McClintock memenangkan penghargaan Nobel atas penelitiannya mengenai studi sitologis pada struktur ujung pada kromosom jagung dan mengajukan hipotesis *breakage-fusion-bridge*. Thomas Cech memenangkan penghargaan Nobel pada tahun 1989 pada bidang kimia oleh penemuan karakteristik RNA katalitik, yang membawa kepada penemuan komponen telomer. Pada tahun 2009, Elizabeth Blackburn, Carol Greider dan Jack Szostak memenangkan penghargaan Nobel dalam penelitiannya mengenai telomer pada organisme unisel tetrahymena dan penemuan telomerase.

Berdasarkan uraian di atas, telomer memiliki peran penting dalam menjaga stabilitas genom, mendukung keutuhan materi genetik, dan memastikan kelangsungan pembelahan sel yang terkontrol. Namun, pemendekan telomer yang terjadi secara progresif setiap kali sel membelah dapat memicu kondisi *cellular senescence*, yaitu keadaan di mana sel kehilangan kemampuan untuk membelah dan berfungsi optimal. Proses ini, yang dikenal sebagai erosi telomer, menjadi mekanisme penting dalam mencegah proliferasi sel yang tidak terkontrol, tetapi juga berkontribusi pada penuaan dan perkembangan penyakit degeneratif. Oleh karena itu, studi lebih lanjut tentang hubungan antara erosi telomer, *cellular senescence*, dan keterlibatan telomerase sangat penting dalam memahami mekanisme penuaan dan pengembangan terapi untuk penyakit terkait usia.

### **Struktur dan Fungsi Telomer**

Telomer adalah bagian ujung kromosom yang berfungsi untuk menjaga agar antar kromosom tidak saling bergandengan. Selain itu telomer juga berfungsi untuk menjaga keutuhan genom (materi genetik) selama perkembangan sel. Telomer ini akan memendek setiap kali sel membelah dan pada panjang tertentu, sel akan berhenti membelah, atau yang disebut sel yang menua yang selanjutnya akan mati. Sel-sel germinal (sel sperma dan sel telur), kromosomnya memiliki telomer yang normal panjang untuk persiapan kehidupan jangka panjang. Sedangkan sel-sel somatik telomernya sudah mengalami pemendekan, dan akan terus memendek selama perkembangan sel.

Ketika sel bereplikasi, maka sel anak (*daughter cell*) akan menerima satu set gen yang lengkap sehingga sel anak hasil pembelahan tersebut memiliki kode genetik yang sama persis dengan sel inangnya. Bila terdapat beberapa unit gen yang hilang, maka sel tersebut akan mengalami gangguan fungsi dan bahkan bisa sampai mati. Terdapat satu daerah di bagian ujung kromosom (telomer) yang tidak disalin sehingga telomer akan bertambah pendek pada setiap sel anak, akibatnya akan mengancam kehidupan dan proses replikasi sel, oleh karena itu pada telomer terdapat subunit DNA yang harus tetap dibuat salinan-nya agar panjang kromosom tetap dan sel dapat bertahan untuk terus mengalami mitosis. Keadaan ini disebut sebagai *end replication problem* dan dapat diatasi oleh enzim telomerase.

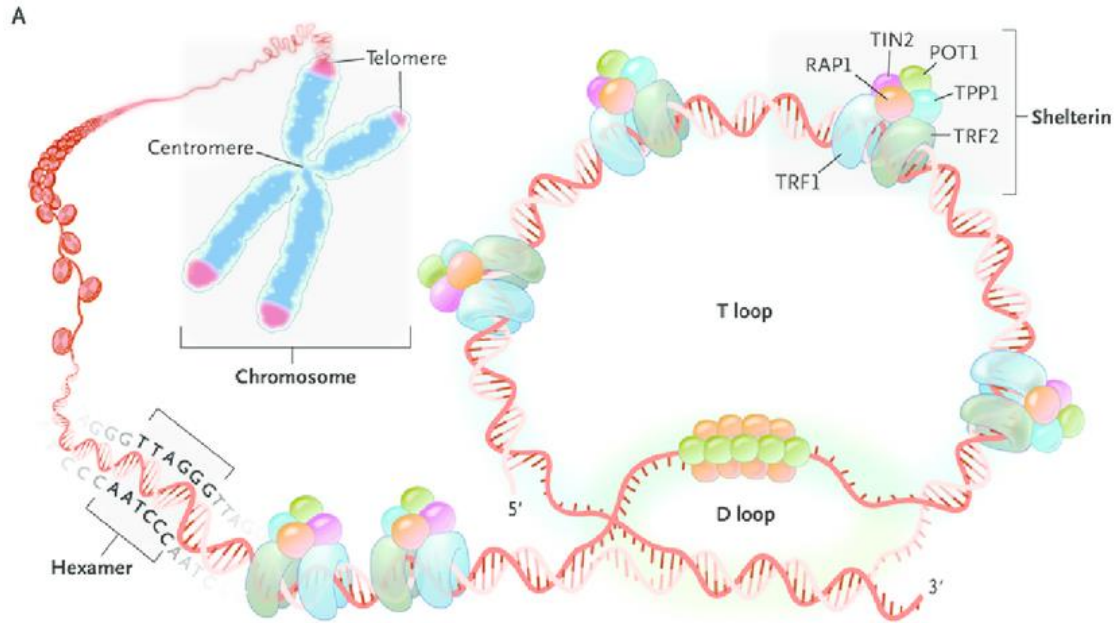
Awal mula saat kromosom bereplikasi, terjadi pembelahan *double helix* DNA, masing-masing rantai (*template*) akan membentuk salinan DNA bagi kromosom turunannya dengan

bantuan enzim DNA *polymerase*. Namun demikian, terdapat celah/*gap* pada bagian ujung kromosom turunannya yang tidak diisi oleh nukleotida, sehingga terdapat pemendekan pada ujung kromosom turunannya. Enzim telomerase mengatasi hal tersebut dengan membuat rantai DNA tambahan yang terdiri dari urutan nukleotida yang berulang, yang merupakan subunit telomer. Tambahan tersebut dibuat sebelum proses replikasi berlangsung, yang menyebabkan ujung kromosom (telomer) akan memiliki panjang yang tetap sama dengan kromosom inangnya.

Telomer merupakan segmen DNA yang terletak pada bagian terminal kromosom sel eukariot. Telomer tersusun atas urutan nukleotida yang spesifik, yang pada manusia urutannya adalah TTAGGG yang berulang ratusan bahkan ribuan kali, sehingga rumus umum struktur nukleotida telomer adalah (TTAGGG)<sup>n</sup>. T, A dan G menunjukkan nukleotida yang berisi basa timin, adenin dan guanin. Pada manusia, pada unit dasarnya terdapat 2.000 pengulangan. Dalam satu organisme pada jenis sel yang berbeda, jumlah pengulangan nukleotidanyapun berbeda. Panjang telomer juga bervariasi pada beberapa spesies mamalia. Telomer mencit dan tikus berukuran sebesar 150 kb, lebih panjang dari telomer manusia, yaitu 12 -15 kb.

Selain melindungi DNA dari kerusakan, telomer berperan penting pada replikasi DNA sehingga telomer berperan dalam mempertahankan kestabilan kromosom pada setiap pembelahan sel. Keutuhan telomer dijaga oleh enzim telomerase yaitu *ribonucleoprotein DNA polymerase* yang berperan dalam proses elongasi telomer di dalam sel eukariot.

Untuk memperkuat perlindungan kromosom, telomer mengikat protein shelterin untuk menstabilkan dan mencegah kromosom dari fusi. Bentuk struktur T-loop di ujung kromosom dengan pengulangan 3' menggantung ke belakang untuk tertanam di bagian untai ganda kromosom. Proses ini dimediasi oleh protein pengulangan telomer TRF1 dan TRF2 yang termasuk dalam fungsi kompleks protein shelterin untuk melindungi ujung kromosom dan pemeliharaan telomer. T-loop menghasilkan struktur beruntai tiga pada titik penyisipan dan membentuk loop kecil yang disebut D-loop. TRF2 diklasifikasikan sebagai protein pengikat telomer beruntai ganda yang terletak di persimpangan D-loop, sedangkan TRF1 terletak di bagian telomer beruntai ganda. Ekspresi berlebihan dari garis sel TRF2 negatif yang dominan akan memengaruhi bagian telomer tunggal dan menyebabkan aktivasi jalur apoptosis p53.



Gambar 1. Struktur telomer

## Enzim Telomerase

Enzim telomerase pertama kali ditemukan oleh peneliti ketika mereka mengetahui bahwa panjang telomer berbeda-beda antara organisme satu dengan lainnya, bahkan antara satu sel dengan sel lainnya pada satu organisme. Bentuk yang tepat dari enzim ini bisa berbeda antara satu spesies dengan yang lainnya, tetapi masing-masing versi memiliki *template* RNA spesifik untuk membentuk subunit telomer yang baru. Telomerase pada sel normal paling banyak ditemukan pada sel-sel reproduksi karena sel-sel tersebut mempunyai daya proliferasi tidak terbatas.

Aktivitas telomerase juga ditemukan pada sel limfosit dan sel hepar. Aktivitas telomerase dapat dideteksi hampir di semua jaringan pada masa pertumbuhan, tetapi aktivitas telomerase direpresi hampir pada semua sel dewasa. Pada sel somatik normal terjadi pemendekan telomer, termasuk *stem cell* yang ditujukan untuk pembaharuan sel, sehingga pada sel somatik terdapat suatu program yang dinamakan proses penuaan/menua (*aging*).

## **Validitas Pemendekan Telomer sebagai Penanda Penuaan Seluler**

### *Dasar teori Telomer*

Penanda terbaik penuaan seluler harus memberikan wawasan tentang akar penyebab penuaan. Teori Telomer menganggap pemendekan telomer menjadi pemicu utama penuaan. Teori terkemuka lainnya adalah teori stres oksidatif (atau teori mitokondria), pesaing utama teori telomer. Ahli dari kedua teori tersebut menyadari pentingnya pemendekan telomer sebagai bukti yang tidak tergoyahkan untuk mendukung teori telomer. Pemendekan telomer adalah penanda terbaik penuaan seluler, dan dengan demikian, teori telomer menjelaskan penuaan secara lebih unggul.

Salah satu argumen kuat terhadap teori telomer didasarkan pada perbedaan panjang telomer dalam berbagai jaringan organisme yang sama dan varians yang sangat besar di antara organisme pada usia yang sama. Memang, panjang telomer, seperti banyak parameter berkelanjutan lainnya, mungkin tidak menunjukkan informasi spesifik ketika dipertimbangkan sendiri, tetapi dapat memberikan wawasan jika dianalisis dalam kombinasi dengan faktor-faktor lain. Memang, panjang telomer “mirip” dengan tinggi manusia, yang seolah-olah hanya digunakan sebagai satu parameter nyaris tidak bisa memberi tahu kita apa pun tentang usia orang yang hadir, ketika itu bisa memberi tahu kita banyak jika kita mengikuti orang ini di sepanjang kehidupan.

### *Panjang telomer mencerminkan aktivitas proliferasi yang berubah seiring bertambahnya usia*

Panjang telomer mencerminkan kemampuan proliferasi sel, yang berubah seiring waktu. Terlihat bahwa telomer dalam jaringan somatik yang sangat berproliferasi, seperti fibroblast manusia, leukosit, dan adiposit lebih pendek daripada di dalam sel-sel jaringan proliferasi tingkat rendah atau tidak.

Hal yang sama diamati pada sel induk. Karena sel berkembang biak selama ontogenesis pada tingkat yang bervariasi yang melayani kebutuhan yang berbeda, masuk akal untuk berharap bahwa pemendekan telomer terjadi pada tingkat yang lebih cepat pada usia lebih awal dan melambat pada usia dewasa. Memang, sel induk hematopoietik terbukti mereplikasi sekitar 42 kali per tahun pada bayi baru lahir dengan kehilangan telomer 1,2 kb sampai mencapai usia tiga dan 0,7 kali dan 0,5 kb per tahun masing-masing hingga usia 13.

Seperti disebutkan sebelumnya, panjang telomer awal dapat bervariasi antar individu, sementara tingkat pemendekan telomer mencerminkan kelelahan replikasi selama penuaan. Pada mamalia, telomer dipersingkat dengan kecepatan yang sama di semua jaringan organisme tertentu yang sama; seorang individu dengan telomer yang awalnya lebih panjang memiliki panjang telomer rata-rata di seluruh jaringan somatik dibandingkan dengan organisme pada usia yang sama.

### *Pemendekan telomer terkait usia*

Literatur yang membahas hubungan antara panjang telomer dan risiko terkait patologi terkait usia dan harapan hidup tidak konsisten. Beberapa penelitian tidak menemukan korelasi yang signifikan antara panjang telomer rata-rata dan risiko kematian pada orang tua. Sebaliknya, banyak penelitian telah menunjukkan ketergantungan panjang telomer pada usia: panjang telomer rata-rata lebih pendek dalam sel-sel tua daripada dalam sel-sel kelompok usia yang lebih muda dan juga lebih pendek untuk pria daripada wanita.

Namun demikian, panjang telomer antara individu-individu dari usia tertentu dapat sangat bervariasi. Telah disarankan bahwa panjang telomer adalah karakteristik individu. Selain itu, panjang telomer dapat diubah secara dinamis sepanjang masa hidup individu sebagai respons terhadap faktor lingkungan dan stres.

Sementara data kontroversial ini tampaknya bertentangan dengan teori telomer, data tersebut tidak sedramatis atau mengejutkan ketika mengamatinya pada tingkat jaringan. Jumlah sel dengan telomer yang terpendek secara krusial dapat dipertimbangkan dalam jaringan atau organ tertentu sebagai keseluruhan sistem daripada hanya mempertimbangkan panjang telomer rata-rata secara keseluruhan; sel-sel dalam jaringan tidak menghabiskan potensi proliferasi secara simultan. Sementara beberapa sel membelah, yang lain dalam kondisi non-membelah dengan kemampuan aktif untuk mendukung potensi proliferasi jaringan. Ketika satu sel menghabiskan kemampuan proliferasi, sel-sel lain kemudian dapat direkrut. Semakin banyak sel mengalami penangkapan siklus sel yang ireversibel, semakin sedikit potensi proliferasi jaringan.

Selain itu, telomer terpendek (dan bukan panjang telomer rata-rata) di antara 256 telomer (4 telomer pada setiap kromosom), mengubah sel menjadi penuaan. Mekanisme di balik penangkapan replikasi pada pemendekan telomer mirip dengan jalur pensinyalan kerusakan-DNA

di mana ukuran cacat DNA lebih dahsyat daripada yang lain. Dengan demikian, untuk mempertimbangkan potensi telomer dari jaringan, perlu untuk menentukan dan mengevaluasi jumlah telomer terpendek daripada panjang telomer rata-rata.

Potensi dan aktivitas proliferasi bergantung pada fungsi jaringan dan intensitas kehilangan telomer. Kondisi stres yang memaksa organ atau jaringan untuk membuang potensi proliferasi dapat menyebabkan timbulnya penuaan dini, yang mencerminkan panjang telomer. Jelas bahwa tidak perlu bagi semua sel dari jaringan tertentu untuk menjalani penangkapan siklus yang ireversibel sekaligus. Setelah jumlah sel yang cukup mengalami kondisi tua, jaringan tidak dapat berfungsi pada tingkat yang sama dan siklus setan penuaan dimulai. Setelah itu sel dan jaringan tidak dapat melakukan fungsi dengan benar dalam lingkungan ekstraseluler yang penuh stres yang mengonsumsi potensi proliferasi jaringan. Namun demikian, korelasi yang kuat ditemukan antara rata-rata panjang telomer dalam kehidupan awal dan umur, dan bahkan antara panjang telomer rata-rata dan umur ayah jika diwarisi oleh keturunan perempuan pada manusia.

#### *Penyakit terkait usia*

Pemendekan telomer dan menipisnya potensi proliferasi sel mungkin cukup untuk menyebabkan timbulnya banyak penyakit yang terkait dengan penuaan. Penelitian yang menyelidiki biologi telomer telah menunjukkan bahwa telomer dan protein yang berhubungan dengan telomer memainkan peran penting dalam proses penuaan dan erosi telomer yang cepat dikaitkan dengan penyakit metabolik dan inflamasi yang terkait dengan penuaan. Banyak gangguan neurodegeneratif telah terbukti memiliki kematian sel dini. Karena pemendekan telomer berhubungan dengan penuaan seluler prematur, panjang telomer mungkin merupakan penanda efektif patologi seluler pada penyakit neurologis; khususnya, telah dibuktikan dalam demensia, penyakit Huntington, dan ataksia telangiectasia. Dari penelitian ini, panjang telomer terpendek dikaitkan dengan penyakit Huntington. Selain itu, korelasi terbalik dengan panjang telomer ditunjukkan untuk pengembangan penyakit kardiovaskular, gagal ginjal, berbagai kanker, penyakit Alzheimer, dan penyakit Parkinson. Dalam kebanyakan kasus, hubungan langsung antara pemendekan telomer dan tingkat stres oksidatif yang tinggi diamati pada subjek dengan penyakit ini.

Menariknya, beberapa penelitian berisi data tentang pengamatan jangka panjang pada pria yang awalnya sehat dan termasuk waktu onset penyakit. Satu kelompok riset yang memantau

panjang telomer individu selama 15 tahun menunjukkan proporsi responden yang mengidap diabetes tipe 2 atau kanker. Kedua penyakit terbukti secara signifikan lebih mungkin terjadi pada pasien dengan panjang telomer awal yang lebih pendek. Juga telah ditunjukkan dalam studi longitudinal bahwa pemendekan telomer sering disertai dengan penurunan kekuatan otot dan penurunan berat badan. Mengurangi panjang telomer mungkin merupakan indikasi jalur biologis yang dibagi antara gangguan yang berkontribusi pada penuaan seluler. Sangat mungkin bahwa pemendekan ini dikaitkan tidak hanya dengan penuaan replikasi yang dipercepat, tetapi juga dengan kegagalan proses perbaikan telomer.

### *Sindrom telomer pendek*

Studi-studi dari berbagai penyakit terkait panjang telomer, dan penuaan dini bertindak sebagai konformasi yang mencolok dari validitas panjang telomer sebagai penanda penuaan seluler. Progeria atau penuaan dini, atau sindrom telomer pendek termasuk penyakit genetik yang berhubungan dengan telomer pendek dan penuaan dini. Secara khusus, penyakit-penyakit ini termasuk sindrom Hutchinson-Gilford, Dyskeratosis bawaan (juga disebut sebagai sindrom Zinsser-Cole-Engman), ataxia-telangiectasia (atau sindrom Louis-Bar), Hoyeraal-Hreidarsson, dan sindrom Revesz. Semua sindrom ini ditandai dengan telomer yang diperpendek secara dramatis serta penuaan replikasi dini dengan penurunan batas Hayflick dalam kultur sel pasien dan fenotipe penuaan, yang berkembang jauh lebih awal pada pasien tersebut daripada pada individu yang sehat. Ada korelasi yang jelas antara panjang telomer yang terkena dampak dan penuaan pada progeria.

Sebagian besar peneliti mendefinisikan penuaan sebagai penurunan terus-menerus progresif fungsi fisiologis dengan penurunan tingkat kelangsungan hidup (peningkatan risiko kematian dalam penuaan demografis) dan kemampuan reproduksi. Semua sindrom yang disebutkan sebelumnya dicirikan oleh penurunan fungsi organ dan jaringan yang progresif seiring usia, fungsi reproduksi, peningkatan risiko kematian, dan kecenderungan terhadap keganasan - yang semuanya merupakan gejala fenotipik dari penuaan manusia. Lebih lanjut, pemendekan telomer yang diamati pada sindrom-sindrom ini bukan hanya gejala penyakit tetapi juga penyebabnya.



### *Keterkaitan dengan penanda penuaan seluler lainnya*

Semua penanda penuaan seluler, termasuk pemendekan telomer, memiliki keterbatasan; sementara beberapa penanda mungkin informatif dalam kondisi tertentu, itu mungkin tidak selalu terjadi dalam keadaan lain. Penanda terbaik, bagaimanapun, harus mengatasi kondisi *in vivo* dan *in vitro*, berlaku untuk berbagai jaringan dan spesies, dan menunjukkan konsistensi dan tumpang tindih dengan spidol terpercaya lainnya. Pemendekan Telomer memenuhi persyaratan ini dan berbagi tren yang serupa dengan mayoritas dari berbagai penanda seluler terkait penuaan lainnya.

#### *a. Senescence-related $\beta$ -galactosidase dan pemendekan telomer*

Senescence terkait peningkatan aktivitas dan ekspresi lisosomal hidrolase  $\beta$ -galaktosidase tetap menjadi penanda paling populer dari penuaan seluler, terutama penuaan replikatif, karena kegunaannya. Aktivitas enzim  $\beta$ -galaktosidase dalam sel normal (muda) dapat dideteksi menggunakan 5-bromo-4-chloro-3-indolyl  $\beta$ -D-galactopyranoside (X-Gal) pada pH 4; aktivitas enzim (atau isoform) dalam sel-sel tua, bagaimanapun, diamati pada pH 6 dan disebut senescence-related  $\beta$ -galactosidase (SA- $\beta$ gal). Peningkatan aktivitas dan ekspresi  $\beta$ -galactosidase ketika penuaan berlanjut ditunjukkan secara *in vitro* untuk beberapa spesies dan tipe sel. Namun demikian, universalitas atau keandalan senescence-terkait  $\beta$ -galactosidase sebagai penanda penuaan tetap. Studi sel dengan lisosomal  $\beta$ -galaktosidase yang rusak menunjukkan bahwa  $\beta$ -galaktosidase tidak memicu penuaan seluler dan hanya menyertai perubahan penuaan. Namun, input  $\beta$ -galaktosidase tampaknya berkorelasi dengan perubahan telomer. Jumlah sel bernoda  $\beta$ -galaktosidase ditemukan sebagai fungsi tingkat penggandaan populasi (PDL) pada sel epitel pigmen retina manusia; sementara secara bersamaan panjang telomer, yang diamati pada tahap 12 PDL dan dalam kultur lama 57 PDL, menyusut masing-masing dari 10 kb ke 4 kb.

#### *b. Fokus heterokromatin yang berkaitan dengan penuaan dan pemendekan telomer*

Pemendekan telomer berkorelasi dengan fokus heterochromatin senescence-related (SAHF), yang merupakan domain heterochromatin fakultatif yang terkait dengan penangkapan siklus sel yang ireversibel dan terakumulasi dalam sel tua. Secara struktural, SAHF berisi domain heterochromatin diam yang terdiri dari lisin 9 di-atau tri-teretilasi dari histone H3 (H3K9Me<sub>2</sub> / 3), varian H2A histone (macroH2A), dan protein heterokromatin protein 1 (HP1). SAHF bukanlah penanda universal dari sel-sel penuaan, tetapi itu adalah penanda tua dan bergantung pada jaringan

dan spesies. Pembentukan SAHF dapat bersifat stokastik dan diprogram secara spontan; dapat diinduksi dalam sel tua dengan onkogen, agen toksik, atau pemendekan telomer.

*c. Histone  $\gamma$ -H2AX dan pemendekan telomer*

Satu SAHF biasanya dianggap secara terpisah untuk menunjukkan sel tua karena kekhususannya. Histone  $\gamma$ -H2AX (histone pengganti) difosforilasi pada terminal-C serine-139 dari H2AX histone. Ini adalah penanda paling umum kedua dari penuaan seluler setelah SA- $\beta$ gal. Histone  $\gamma$ -H2AX adalah penanda paling sensitif dari istirahat DNA untai ganda (DSB) dan pemendekan telomer. Jumlah fokus  $\gamma$ -H2AX meningkat pada sel yang rusak dan tua di sebagian besar jaringan dan spesies, baik in vivo dan in vitro. Korelasi dengan pemendekan telomer diperkuat oleh akumulasi fokus  $\gamma$ -H2AX dalam sel donor yang lebih tua dan pasien dengan progeria.

Fokus  $\gamma$ -H2AX memiliki korelasi kuat dengan pemendekan telomere replikasi. Seperti 53BP1, ia membentuk fokus yang disebabkan oleh disfungsi telomer. Ketika beberapa fokus dari tipe ini diekspresikan dalam sel (diamati pada fibroblast dan sel epitel), penangkapan replikasi seluler yang bergantung p53 telah diinduksi. Dalam kasus khusus ini, penanda ini memiliki hubungan kuat dengan teori telomer.

Di sisi lain, beberapa studi dari penanda ini telah menyumbangkan bukti yang dapat mendukung teori oksidatif; khusus, hasil menunjukkan bahwa kerusakan DNA (termasuk DSB) menumpuk selama penuaan, menurut teori oksidatif. Setiap DSB tunggal ditandai oleh fokus  $\gamma$ -A2SAX, penanda yang sangat sensitif, selama semua fase siklus sel.

Dengan demikian,  $\gamma$ -H2AX juga dapat menjadi penanda efektif pemendekan telomer. Namun,  $\gamma$ -H2AX mungkin bukan penanda unggul penuaan seluler karena kurangnya spesifisitas. Hasil percobaan telah menunjukkan bahwa fokus  $\gamma$ -H2AX berkolokasi dengan faktor perbaikan DSB (seperti Rad51, BRCA1, Mre11, Rad50, dan Nbs1) dan berpartisipasi dalam perbaikan DSB. Oleh karena itu, kita dapat menyimpulkan bahwa jumlah fokus  $\gamma$ -H2AX dapat dikurangi setelah perbaikan DSB. Memang, telah dilaporkan bahwa pembentukan fokus yang disebabkan oleh disfungsi-telomer yang disertai dengan  $\gamma$ -H2AX adalah reversibel dan jumlah fokus yang disebabkan oleh disfungsi-telomer dapat dikurangi selama fase G1 awal dari siklus sel. Dengan demikian, fokus  $\gamma$ -H2AX mencerminkan - tidak hanya DSB ireversibel yang bergantung pada usia

(termasuk pemendekan telomer) - tetapi juga akumulasi temporal dari DSB, yang mungkin merupakan hasil dari radiasi pengion besar-besaran (1 Gy radiasi pengion, sekitar  $2 \times 10^6$  bp) DDBs, memicu fosforilasi sekitar 1% dari H2AX). Oleh karena itu,  $\gamma$ -H2AX dapat menyesatkan dalam kasus di mana ada risiko tinggi radiasi pengion dan beberapa kasus mungkin menunjukkan ketidaksesuaian dengan penanda tua lainnya. Histone  $\gamma$ -H2AX sebagai penanda potensial penuaan seluler menggabungkan dua teori penuaan utama. Penanda ini dapat menyertai pemendekan telomer tetapi tidak boleh dianggap sebagai penanda yang berdiri sendiri dari penuaan seluler.

#### *d. Modifikasi epigenetik dan pemendekan Telomer*

Metilasi DNA dan histones adalah penanda penuaan seluler dan berkontribusi pada teori utama penuaan lainnya: teori pembungkaman gen. Metilasi histone di wilayah telomer dan demetilasi subunit katalitik manusia telomerase (hTERT) keduanya memainkan peran penting dalam mempertahankan heterokromatin, pembungkaman transkripsi pada telomer, dan inaktivasi telomerase. Namun, satu faktor yang berkontribusi terhadap nilai pemendekan telomer sebagai penanda adalah korelasi yang diamati antara metilasi DNA dan panjang telomer.

#### *e. Protein pengikat p53 dan pemendekan Telomer*

Penanda tradisional lain dari proses perbaikan DNA adalah ekspresi protein p53-binding 1 (53BP1). Dinamika 53BP1 sebagai respons terhadap kerusakan DNA pada umumnya bertepatan dengan  $\gamma$ -H2AX dan sering dilokalisasi dalam zona istirahat beruntai ganda DNA. Fosforilasi 53BP1 pada residu serin pada posisi 1219 (S1219) terjadi sebagai respons terhadap kerusakan DNA, termasuk pemendekan telomer. Munculnya 53BP1 di hadapan pemendekan telomer adalah penanda andal lainnya dari sel-sel penuaan, yang kembali membuktikan validitas pemendekan telomer sebagai penanda penuaan seluler.

#### *f. Badan nuklir leukemia promyelocytic (PML-NBs) dan pemendekan Telomer*

Peningkatan jumlah sel nuklir leukemia promyelocytic nuklir (PML-NB) adalah penanda lain dari penuaan seluler dan dapat diinduksi selama penuaan dini. Dengan tidak adanya telomerase, telomer dapat memanjang melalui mekanisme alternatif pemanjangan telomer, yang semakin kuat dengan adanya PML-NB. Di sisi lain, pembentukan PML-NB di telomer menginduksi pengelompokan telomer dan mempromosikan penuaan dini yang diinduksi oleh RAS.

Namun, pemendekan telomer dan PML-NB memiliki tumpang tindih yang luas dan keduanya mungkin efektif sebagai penanda penuaan seluler.

## **Pemendekan Telomer dan Apoptosis**

Kromosom mamalia mempunyai struktur khusus pada ujung setiap lengannya yang disebut telomer, terdiri dari sekuens pendek DNA nontranskripsional berulang dan diduga dapat mencegah terjadinya aberasi kromosom tertentu. Panjang telomer sel-sel darah manusia memendek secara proporsional sesuai dengan usia. Sel-sel kelenjar dan jaringan fetus diketahui mempunyai telomer yang lebih panjang dibandingkan jaringan somatik orang dewasa, sedangkan sel-sel tumor kolon mempunyai telomer yang lebih pendek daripada mukosa kolon normal. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemendekan telomer dapat dikaitkan dengan usia.

Teori Batasan Hayflick menyatakan bahwa sel-sel manusia dan binatang mempunyai kapasitas replikasi terbatas dan diinterpretasikan sebagai ekspresi penentuan menua tingkat sel. Hal tersebut mempunyai implikasi adanya mekanisme perhitungan di dalam sel, dan mekanisme ini dikendalikan oleh pemendekan telomer pada setiap putaran replikasi DNA. Akumulasi pemendekan telomer pada sel punca dan sel limfosit dapat berkontribusi terhadap usia makhluk hidup, dalam hal ini manusia. Pemendekan telomer terjadi bervariasi pada setiap jaringan, spesies dan individu pada tingkat umur yang sama.

Pemendekan telomer pada sel-sel somatik normal yang membelah dapat dijadikan sebagai replikometer yang menentukan berapa kali satu sel normal dapat membelah. Saat jumlah kritis atau ambang pengulangan sekuens DNA (TTAGGG) telomer dicapai, sel tersebut akan berhenti membelah dan selanjutnya mengalami suatu proses yang disebut *cellular senescence*. Sebagai contoh dari pengamatan jangka panjang, fibroblas manusia dewasa normal pada kultur sel memiliki rentang waktu hidup tertentu; kemudian fibroblas berhenti membelah dan menjadi menua kira-kira setelah 50 kali penggandaan. Fibroblas neonatus mengalami sekitar 65 kali penggandaan sebelum berhenti membelah.

Stabilitas dan viabilitas kromosom memerlukan fungsi telomer yang baik. Gangguan fungsi telomer dapat disebabkan oleh pemendekan telomer atau adanya mutasi protein telomer yang dapat mengakibatkan peningkatan apoptosis. Sebaliknya, apoptosis yang diakibatkan oleh

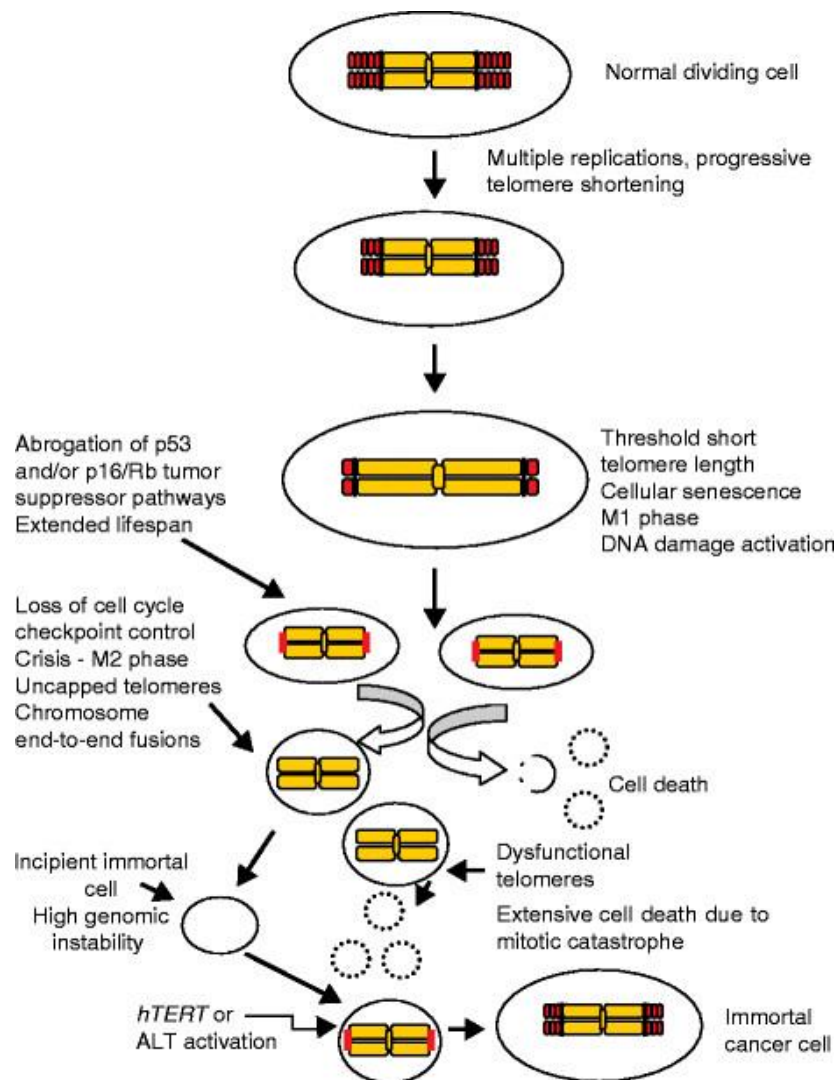
adanya kerusakan DNA dapat memicu terjadinya pemendekan telomer. Sel yang mengalami apoptosis akibat kerusakan DNA menunjukkan pemendekan telomer yang dramatis dibandingkan dengan sel yang tidak mengalami apoptosis. Lebih lanjut, pemendekan telomer tidak memerlukan aktivasi caspase-3 dan dapat secara langsung diinduksi oleh depolarisasi membran mitokondria. Pemendekan telomer merupakan salah satu peristiwa awal terjadinya kerusakan DNA yang disebabkan oleh apoptosis. Pada sel-sel kanker terjadi pemendekan telomer, peningkatan aktivitas telomerase dan peningkatan stres oksidatif. Peningkatan stres oksidatif bertanggung jawab terhadap percepatan pemendekan telomer. Telomer dapat menjadi sensor kunci pada kejadian apoptosis yang disebabkan oleh peningkatan stres oksidatif. Senyawa yang berpotensi sebagai inhibitor telomerase dapat meningkatkan apoptosis sel kanker dalam upaya pencegahan dan pengobatan sel kanker.

### **Telomerase dan Penuaan**

Penuaan merupakan suatu proses multifaktorial yang sangat kompleks. Dari sembilan tanda tentatif yang diusulkan untuk penuaan mamalia hanya ketidakstabilan genom yang dapat dengan jelas berkorelasi dengan gesekan telomer. Sebagian besar penelitian dilakukan untuk menjawab pertanyaan apakah mengaktifkan telomerase atau TERT meremajakan sel dan jaringan dilakukan dengan menggunakan hewan coba mencit. Untuk memberikan 'bukti prinsip', Spain National Cancer Research Center yang dipimpin oleh Maria Blasco menguji efek terapi gen TERT pada model tikus dengan vektor AAV dari tropisme luas yang mengekspresikan tikus TERT, dengan hasil peningkatan masa hidup 24% pada tikus 1 tahun dan 13% pada tikus 2 tahun, dan yang penting, tikus yang diobati dengan telomerase tidak mengalami kanker lebih banyak daripada tikus kontrol yang tidak diobati. Studi lain juga menggunakan tikus yang direkayasa untuk mengurangi aktivitas telomerase tetapi dapat diaktifkan kembali oleh senyawa yang disebut 4-hydroxytamoxifen (4-OHT). Setelah telomerase diaktifkan kembali oleh 4-OHT, berbagai kerusakan jaringan dibalik. Dengan semakin banyak bukti (setidaknya dalam model tikus) dari efek menguntungkan TERT dalam menunda atau bahkan membalikkan penuaan, tidak dapat dihindari bahwa tren saat ini adalah untuk mengembangkan intervensi terapeutik terhadap penuaan dengan jumlah aktivasi TERT yang terkendali. Dengan semakin banyaknya bukti (setidaknya dalam model tikus) dari efek menguntungkan TERT dalam menunda atau bahkan membalikkan

penuaan, tidak dapat dihindari bahwa tren saat ini adalah untuk mengembangkan intervensi terapeutik terhadap penuaan dengan jumlah aktivasi TERT yang terkendali.

Telomer melindungi ujung-ujung kromosom dari menjalani fusi dan rekombinasi dengan menutupi DNA telomerik dengan tutup pelindung protein shelterin, mencegah ujung-ujungnya dikenali oleh jalur pengawasan kerusakan DNA. Pemendekan telomer adalah konsekuensi alami dari pembelahan sel karena "masalah replikasi akhir" di mana sintesis DNA strand yang tertinggal tidak dapat diselesaikan sampai akhir, dan peningkatan pembelahan sel menyebabkan telomer yang dipersingkat secara kritis yang menghasilkan respons kerusakan DNA yang memicu respons seluler yang memicu seluler penuaan. Dalam sel-sel yang menjalani penuaan replikasi, jalur p53 dan p16-RB sering diaktifkan yang pada dasarnya menyebabkan pertumbuhan yang tidak dapat dibalikkan. Sel yang mendapatkan perubahan onkogenik tambahan (kehilangan p53) dapat memintas penuaan dan terus membelah sampai beberapa telomer yang dipersingkat secara kritis memulai krisis, periode peningkatan fusi end-to-end kromosom dan kematian sel yang luas. Hanya sel manusia yang langka (satu dari 105 hingga 107) yang dapat menggunakan mekanisme untuk memintas krisis dan menjadi abadi. Ini hampir secara universal dilakukan dengan upregulation atau reaktivasi telomerase. Jalur keabadian negatif negatif telomerase yang jarang, disebut ALT (pemanjangan alternatif telomer), melibatkan rekombinasi DNA untuk mempertahankan telomer.



Gambar 2. Krisis dan Penuaan Sel

## Penutup

Telomer adalah segmen ujung DNA kromosom sel eukariot, yang berfungsi menjaga kestabilan kromosom. Panjang telomer juga dikaitkan dengan perkembangan sel kanker yang diperlihatkan dengan meningkatnya aktivitas telomerase pada selsel kanker. Aktivitas telomerase pada suatu sel/jaringan dapat digunakan sebagai alat diagnosis pada beberapa jenis sel kanker dan juga bisa membantu dalam menentukan prognosis. Pemendekan telomer pada setiap siklus replikasi

berhubungan dengan proses menua sel. Pada sel somatik orang dewasa telomernya lebih pendek daripada sel/ jaringan fetus.

Pemendekan telomer yang terjadi secara progresif pada setiap siklus replikasi DNA berperan penting dalam proses *cellular senescence*, di mana sel kehilangan kemampuan untuk membelah lebih lanjut. Kondisi ini berfungsi sebagai mekanisme protektif untuk mencegah pertumbuhan sel yang tidak terkendali, seperti pada kanker. Namun, erosi telomer juga memiliki implikasi pada penuaan jaringan dan perkembangan penyakit degeneratif. Oleh karena itu, pemahaman lebih mendalam mengenai hubungan antara pemendekan telomer, *cellular senescence*, dan aktivitas telomerase menjadi kunci dalam mengembangkan strategi diagnostik dan terapeutik untuk penyakit terkait penuaan dan kanker.

## Daftar Pustaka

1. Artandi SE and DePinho RA. Telomeres and telomerase in cancer. *Carcinogenesis* 2010;3(1):9-18.
2. Bernadotte A, Mikhelson VM, Spivak IM. Markers of cellular senescence. Telomere shortening as a marker of cellular senescence. *Aging (Albany NY)*. 2016;8(1):3–11.
3. Blackburn EH. Telomeres and telomerase: their mechanisms of action and the effects of altering their functions. *FEBS Letters*. 2005;859–862.
4. Hayashi MT. Telomere biology in aging and cancer: early history and perspective. *Genes Genet*. 2017;92:107-18.
5. Hayflick L. Biology of Aging: review. *Austr J Ageing (Suppl)* 1998;17(1): 29-32.
6. Ong KS, Liem ZST, Setiawan B. Roles of telomeres and telomerase in aging. *CDK-275* 2019;46(4):287-290.
7. Purwaningsih E. Telomer, Aging dan Karsinogenesis. *Jur Ked YARSI* 2010;18(2):137-143.
8. Ratnawati H. Enzim Telomerase dan Karsinogenesis. *JKM* 2002;2(1): 39-50