

Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Fungsi pVHL dalam Proses Onkogenesis

Dewi Jantika Djuarna
Endah Zuraidah
Departemen Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran
Universitas Indonesia

ABSTRAK

Gen VHL akan mengalami mutasi *germline* yang menyebabkan terjadinya penyakit VHL. Gen ini mengkode protein von hippel-lindau (pVHL), merupakan suatu protein supresor tumor yang bekerja pada berbagai kadar oksigen dan keganasan. pVHL dalam keadaan normoksia akan menghambat pertumbuhan sel-sel tumor sehingga tidak terjadi keganasan. Pada saat hipoksia pVHL gagal berikatan dengan HIF-1 α yang meningkatkan kadar HIF-1 α sehingga mengaktifkan gen-gen seperti, *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *transforming growth factor- α* (TGF- α), *glucose transporter-1* (Glut-1), *platelet derived growth factor- β* (PDGF- β), *erythropoietin* (EPO), *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1), yang akan mengaktifkan terjadinya pertumbuhan berbagai tumor pada beberapa sistem organ.

Kata kunci: protein von hippel lindau, mutasi *germline*, normoksia, hipoksia.

PENDAHULUAN

Penyakit Von Hippel Lindau (VHL) adalah sindroma neoplasia hereditas, yang ditandai adanya perkembangan tumor jinak dan ganas pada berbagai sistem organ. Fenomena penyakit VHL ditandai adanya hemangioblastoma yang terjadi di sistem saraf pusat, terutama pada serebelum dan *spinal cord*, hemangioblastoma pada retina, feokromo-sitoma dan berbagai kelainan yang timbul di ginjal, termasuk kista ginjal dan karsinoma sel ginjal (*clear cell renal cell carcinoma*).¹ Penyakit ini diturunkan secara autosomal dominan. Angka kejadian dalam populasi sekitar 1 dalam 36.000 kelahiran hidup. Lebih dari 90% terjadi pada pasien usia 65 tahun.²

Sindroma VHL ditemukan oleh Eugen Von Hippel Lindau (seorang ahli mata) tahun 1904 yang melakukan penelitian pada hemangioblastoma retina *familial*, dan Arvid Lindau (seorang ahli saraf) yang melakukan penelitian pada hemangioblastoma hereditas tahun 1927.³ Penyakit VHL terjadi akibat adanya mutasi *germline* pada gen VHL. Gen ini pertama kali ditemukan pada tahun 1993.⁴ Penemuan karakteristik gen VHL dalam regulasi respon sel terhadap hipoksia, merupakan contoh utama bagaimana penemuan ilmu dasar (*Basic science*) dapat menciptakan suatu pengobatan penyakit pada manusia.⁵ Gen VHL adalah gen supresor tumor yang terletak pada lengan pendek kromosom 3 (3p25-26).⁴ Gen ini memiliki tiga exon yang mengkode protein VHL.⁴ Protein VHL (pVHL) adalah protein supresor tumor yang terletak di dalam inti sel atau sitoplasma.⁶ Protein tersebut membentuk suatu kompleks dengan protein lain termasuk elongin B, elongin C, dan Cullin 2 (Cul 2), menjadi kompleks VCB-Cul 2.^{7,8}

Kompleks protein ini menentukan terjadinya proteolisis *ubiquitin-dependent* dari protein sel besar. Pada kadar oksigen normal kompleks VCB-Cul 2 mengikat *Hypoxia inducible factor 1 α* dan 2 α (HIF-1 α dan HIF- 2 α) untuk mendegradasi protein.

HIF sub-unit alpha didegradasi dengan cepat melalui proteasome pada kondisi normal, tapi stabil pada kondisi hipoksia.⁹

Tujuan penulisan tinjauan pustaka ini untuk mempelajari peranan protein VHL (pVHL) pada berbagai level oksigen dan keganasan.

Protein Von Hippel Lindau (pVHL)

Gen VHL memiliki tiga exon yang mengkode protein VHL.⁴ Gen ini mengkode protein VHL yang mengandung 213 asam amino dengan berat molekul 24-30 kDa (pVHL30).¹⁰ Protein VHL mengandung 2 domain utama yaitu domain α yang berinteraksi langsung dengan elongin C, dan domain β berinteraksi dengan substrat target.¹¹ Protein VHL banyak terdapat pada jaringan normal manusia.¹² Pada embrio manusia pVHL ditemukan pada 3 lapisan germ, ekspresi kuat ditemukan pada sistem saraf pusat, ginjal, testis dan paru.¹³ Protein VHL bersama protein lainnya mengontrol pertumbuhan sel, pada saat pVHL tidak aktif maka akan terjadi pertumbuhan tumor.¹⁴

Peranan pVHL pada Normoksia

Protein VHL pada sel yang berada dalam keadaan normoksia menyebabkan terjadinya degradasi sub unit HIF-1 α dari HIF-1. Sub unit HIF-1 α akan disintesis dan didegradasi, yang pada level rendah akan terakumulasi di dalam sel, dan fungsi faktor transkripsi HIF-1 menjadi tidak aktif. HIF-1 disusun oleh dua sub unit penting yaitu HIF-1 α dan HIF-1 β , yang dibutuhkan untuk pengaktifan faktor transkripsi. Pada kondisi ini, enzim *prolin hydroxylase* berhasil mengoksidasi dua residu prolin dari HIF-1 α , yang akan merubah satu atau keduanya menjadi residu *hydroxyproline* (Hyp). Hyp ini menyebabkan HIF-1 α berikatan dengan pVHL, bersama dengan 2 protein lain melalui proses ubiquitilasi menyebabkan degradasi (Gambar 2).¹⁶

Peran pVHL pada Hipoksia

Hipoksia didefinisikan sebagai berkurangnya kadar O₂ ($\leq 2\%$). Hipoksia dapat terjadi pada berbagai kondisi patologik, termasuk stroke, iskemi jaringan, inflamasi dan pertumbuhan tumor padat.¹⁷

Hipoksia akut menghambat proliferasi sel melalui *mediating cell differentiation, quiescence*, dan apoptosis atau nekrosis. Sebaliknya hipoksia kronik menginduksi proli-

ferasi sel dengan merangsang respon adaptif melalui aktivasi HIF-1 α .^{18,19}

Pada keadaan hipoksia *proline hydroxylase* gagal mengoksidasi dua prolin dari HIF-1 α , pVHL gagal berikatan dengan HIF-1 α , HIF-1 α melepaskan ubiquitilasi dan levelnya meningkat dengan cepat. HIF-1 α membentuk heterodimer dengan HIF-1 β , dan faktor transkripsi heterodimer tersebut mengaktifkan gen-gen penting, seperti gen VEGF yang berperan dalam *angiogenesis*; gen Epo untuk terjadinya *erythropoiesis*; gen Glut-1 gen untuk transpor glukosa ke dalam sel dan PAI-1.¹⁶

Peran pVHL pada Keganasan

Protein VHL sebagai protein supresor tumor bersama protein lainnya mengontrol pertumbuhan sel, pada saat pVHL tidak aktif maka akan terjadi pertumbuhan tumor.¹⁴ Hilangnya fungsi protein VHL dapat merusak fungsi tumor supresor secara tidak langsung melalui *HIF-mediated effect* atau secara langsung melalui *VHL-mediated effect*, atau dapat melalui keduanya. Beberapa efek protein supresor tumor berasal dari degradasi HIF. Pada kondisi normal, HIF dapat mengatur sel berespon terhadap hipoksia.¹

Jika Fungsi pVHL tidak ada HIF akan menstimulasi *angiogenesis* dan akan meningkatkan level VEGF atau PDGF- β atau keduanya, yang berperan penting untuk proliferasi dari sel endotel dan perisit. Hal tersebut menjelaskan tentang tingginya vaskularisasi pada tumor berkaitan dengan penyakit VHL, khususnya hemangioblastoma dan karsinoma sel ginjal. Permeabilitas vaskular yang tinggi dari pembuluh darah tumor disebabkan oleh peningkatan level VEGF, pada kelainan ini juga dapat terjadi edema peritumor dan kista.¹

Mekanisme lain dari gangguan fungsi pVHL melalui *HIF-mediated carcinogenesis* adalah adanya produksi TGF- α berlebih. Sebagai faktor mitogenik potensial, peningkatan TGF- α dapat menstimulasi ekspresi berlebih dari reseptor faktor pertumbuhan epidermal (*receptors for TGF- α*).²⁰

Mekanisme lain dari tumorigenesis yang disebabkan oleh tidak adanya protein VHL, HIF independen, termasuk siklus sel normal yang terganggu, dapat meningkatkan angiogenesis dan abnormalitas di dalam matriks ekstraseluler. Ketidakmampuan meninggalkan siklus sel normal (menuju fase Go) terlihat pada sel yang tidak memiliki protein VHL²¹ Hal tersebut

terjadi pada awal proses tumorigenesis. Selanjutnya, mutasi protein dapat meningkatkan ekspresi VEGF melalui transkripsi dan regulasi post-translasi yang salah.²² Mutasi tersebut dapat memperbesar angiogenik melalui pembuluh darah tumor. Meskipun sel tanpa protein VHL dapat mensekresi fibronectin, sel tersebut tidak dapat membentuk matriks ekstraseluler fibronectin, yang berperan dalam karsinogenesis.⁶ *HIF-mediated*, *VHL* protein-mediated, dan efek yang tidak diketahui dari hilangnya protein VHL, dapat berinteraksi untuk membentuk berbagai tumor pada penyakit ini.¹

Mutasi *germline* gen VHL 100 persen ditemukan pada individu yang memiliki riwayat keluarga lebih dari 1 orang terkena penyakit VHL, atau pada pasien VHL sporadik.²³ Terdapat penemuan yang menerangkan mengenai inaktivasi somatik dari gen VHL terjadi secara sporadik pada hemangioblastoma sistem saraf pusat dan karsinoma sel ginjal.^{24,25}

Penyakit VHL terbagi dalam empat tipe. Tipe 1 tidak terdapat feokromositoma. Mutasi yang terjadi pada pasien ini adalah *loss of function* pada puncak pVHL atau tidak ada pVHL. Pasien dengan tipe 2 terdapat feokromositoma dan terbagi dalam beberapa subtype yaitu tipe 2A (risiko rendah) dan tipe 2B (risiko tinggi) dari kasus *renal cell carcinoma*, dan tipe 2C hanya memiliki feokromositoma. Pada penyakit VHL tipe 1, *missense mutation* umumnya ditemukan pada domain β dari pVHL dan menyebabkan hilangnya fungsi protein VHL. Pada tipe 2A dan 2B mutasi menghambat salah satu dari dua ikatan antara ikatan elongin C dengan domain α dari pVHL dan antara ikatan target protein dengan domain β dari pVHL, sehingga protein tidak dapat didegradasi. Sebaliknya tipe 2C berkaitan erat dengan *missense mutation* spesifik, khususnya pada domain- α (Tabel 1).²⁶

Diagnosa Klinik pVHL

Diagnosa klinik sindroma VHL dikonfirmasi dengan analisa DNA, yaitu analisa mutasi gen VHL. Kriteria yang memenuhi syarat untuk dilakukan analisa DNA sebagai berikut, 1) seorang pasien dengan penyakit VHL dan atau merupakan generasi pertama dari anggota keluarga, 2) seseorang yang berasal dari keluarga yang teridentifikasi mengalami mutasi *germline* gen VHL, 3) pasien suspek penyakit VHL dengan, a. Tumor multisentrik pada satu organ, b. Tumor bilateral, c. Adanya dua sistem

organ yang terkena, d. Penderita VHL dengan tumor pada usia muda (<50 tahun untuk kasus hemangioblastoma dan feokromositoma; <30 tahun untuk kasus karsinoma sel ginjal), 4) pasien berasal dari keluarga dengan hemangioblastoma, karsinoma sel ginjal, atau hanya feokromositoma.²⁷

Table 1. Characteristics of different types of VHL disease.

Type of VHL disease	VHL mutation type	Molecular defect	Clinical manifestation
Type 1	Loss of VHL or a mutation that affects protein folding	Upregulation of HIF- α and HIF target genes	<ul style="list-style-type: none"> •Haemangioblastomas •Diminished risk of pheochromocytoma •Renal-cell carcinoma
Type 2A	VHL missense mutation	Upregulation of HIF- α and HIF target genes	<ul style="list-style-type: none"> •Haemangioblastomas •Pheochromocytoma •Low risk of renal-cell carcinoma
Type 2B	VHL missense mutation	Upregulation of HIF- α and HIF target genes	<ul style="list-style-type: none"> •Haemangioblastomas •Pheochromocytoma •High risk of renal-cell carcinoma
Type 2C	VHL missense mutation	pVHL retains ability to degrade HIF- α ; decreased binding to fibronectin-fibronectin-matrix-assembly defect	Pheochromocytoma only

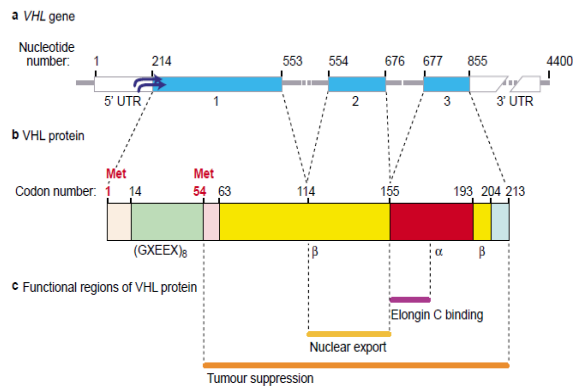
RINGKASAN

Protein VHL adalah protein supresor tumor yang mempunyai fungsi untuk menghambat pertumbuhan tumor. Dengan adanya mutasi *germline* gen VHL menyebabkan terjadinya sindroma VHL hereditas yang akan menyebabkan pertumbuhan tumor jinak dan ganas pada berbagai sistem organ. Protein VHL dapat berfungsi aktif pada saat normoksia dan pada saat hipoksia fungsi pVHL terhambat sehingga menimbulkan keganasan.

DAFTAR PUSTAKA

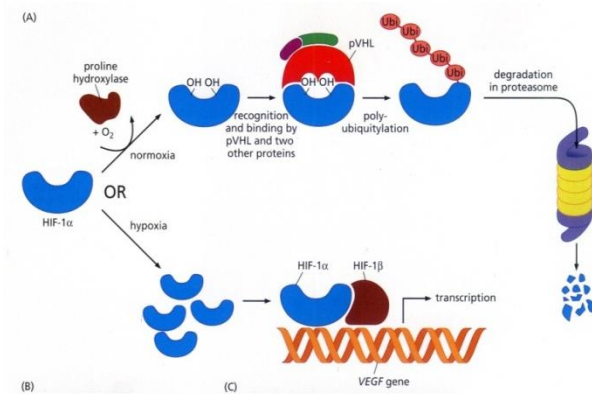
1. Lonser R, Glenn G, Walther M, Chew Y, Libutti K, Linehan W, *et al.* Von Hippel-Lindau. *Lancet*. 2003; 361: 2059-67.
2. Joseph A, Blansfield M, Steven K, Libutti M, FACS. Von Hippel-Lindau Disease. *Science*. 2003: 359-67.
3. Zhiyong D, Peter G, Shansan Bai, Zhehui F, Meng G, Wendy Si, *et al.* Agents that stabilize mutated von hippel lindau (VHL) protein: Result of a high throughput screen to identify compounds that modulate VHL proteostasis. *J Biomol Screening*. 2012; XX: 1-9.
4. Latif F, Tory K, Gnarra J, Yao M, Duh F., Orcutt M., *et al.* Identification of the von hippel lindau disease tumor suppressor gene. *Science*. 1993; 260: 1317-20.
5. Peter E Clark , Michael S Cookson, M. The von Hippel-Lindau Gene. *Cancer* 2008; 113: 1768-78.
6. Ohh m, Yauch R., Lonergan K, Whaley J, Louis D, Gavin B, *et al.* The von hippel lindau tumor suppressor protein is required for proper assembly of an extracellular fibronectin matrix. *Mol Cell*. 1998; 1: 959-68.
7. Duan D, Pausgee A, Burgess W, Aso T, Chen D, Garrett K, *et al.* Inhibition of transcription elongation by the VHL tumor suppressor protein. *Science*. 1995; 269: 1402-6.
8. Pause A, Lee S, Worrell R, Chen D, Linehan W, Klausner R, *et al.* The von hippel lindau tumor suppressor gene product forms a stable complex with human CUL-2, a member of the Cdc53 family of proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997; 94: 2156-61.
9. Maxwell P, Wiesner M, Chang G, Clifford S, Vaux E, Cockman M, *et al.* The tumor suppressor protein VHL targets hypoxia nducible factors for oxygen dependent proteolysis. *Nature*. 1999; 399: 271-5.
10. Lliopoulous O, Kibel A, Gray S. Tumor supressor by the human von hippel lindau gene product. *Nat Med*. 1995; 1: 822-6.
11. Stebbins C Kaelin W, Pavletich N. Structure of the VHL-Elongin C- Elongin B complex: implications for VHL tumor suppressor function. *Science*. 1999; 284: 455-61.
12. Los M, Jansen G, Kaelin W, Lips C, Bilham G, Vaest E. *Lab Invest*. 1996; 75: 231-8.
13. Richards F, Schofield P, Fleming S, Maher E. Expression of the von hippel lindau disease tumor suppressor gene during human embryogenesis. *Hum Mol Genet*. 1996; 5: 639-44.
14. Liu W, Eckert D, Brown J, Gnarra J. Hypoxia and cell cycle regulation of the von hippel lindau tumor suppressor. *Oncogene*. 2011; 30: 21-30.
15. Reference available at: <http://www.ermm.cbcu.cam.ac.uk>. Diakses pada 9 maret 2013.
16. Weinberg A. Robert. *The Biology of Cancer*. Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC New York. 2007: p.241.
17. Semenza G. Involvement of oxygen-sensing pathways in physiologic and pathologic erythropoiesis. *Blood*. 2009; 114: 2015-9.
18. Chi J, wang Z, Nuyten D, Rodriguez E, Schaner M, Salim A, *et al.* Gene expression programs in response to hypoxia: cell type specificity and prognostic significance in human cancers. *Plos Med*. 2006; 3: e.47.
19. Lendahl U, Lee K, Yang H, Poellinger L. Generating specificity and diversity in the transcriptional response to hypoxia. *Nat Rev Genet*. 2009; 10: 821-32.
20. Kondo K Klco J, Nakamura E, Lechpammer M, Kaelin W. Inhibition of HIF is necessary for tumor suppressor by the von hippel lindau protein. *Cancer Cell*. 2002; 1: 237-46.
21. Pause A, Lee S, Lonergans K, Klausner R. The VHL tumor suppressor gene is required for cell cycle exit upon serum withdrawal. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998; 95: 993-8.
22. Gnarra J, Klausner R, Zhou S, Merrill M, Wagner J, Krumm A, *et al.* Post transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor mRNA by the product of the VHL tumor suppressor gene. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93: 10589-94.
23. Stolle C, Glenn G, Zbar B, Humphrey J, Choyke P, Walther M, *et al.* Improved detection of germline mutations in the VHL tumor suppressor gene. *Hum Mutant*. 1998; 12: 417-23.
24. Oberstrass J, Reifemberger G, Reifemberger J, Wechsler W, Collins V. Mutation of the VHL tumor suppressor gene in capillary hemangioblastoma of the central nervous system. *J Pathol*. 1996; 79: 151-6.

Daftar Pustaka bersambung ke halaman 29

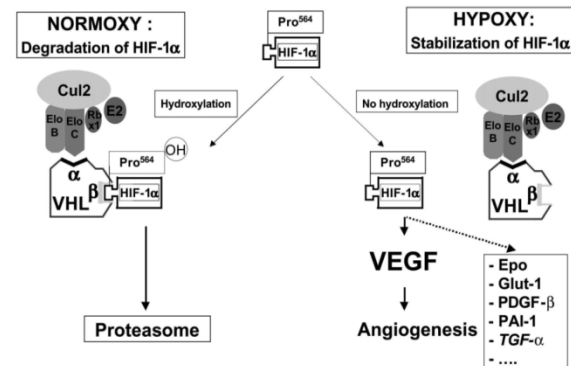


von Hippel—Lindau (*VHL*) gene and protein structure and function

Gambar 1. Gen VHL dan struktur serta fungsi protein VHL¹⁵



Gambar 2. Regulasi HIF-1 dengan pVHL¹⁶



Gambar 3. Ubiquitination HIF-1α dengan pVHL.²⁰

Lanjutan Daftar Pustaka

25. Gallou C, Joly D, Staroz F, Martin N, Tarlet G, Droz D, *et al.* Mutation of the VHL gene in sporadic renal cell carcinoma definition of a risk factor for VHL patients to develop an RCC. *Hum Mutant.* 1999; 13: 464-75.
26. William G.Kaelin, Jr. Molecular Basis of The VHL Hereditary Cancer Syndrome. *Cancer.* 2002; 2: 673-80.
27. Hes FJ, Van der luyt RB. Von hippel-lindau disease: protocols for diagnosis and periodical clinical monitoring national von hippel-lindau disease working group. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2000; 144: 505-9.