

Perubahan Epigenetik pada Keganasan Hematolimfoid

Defi Nurlia Erdian, Maria
Francisca Ham, Endah
Zuraidah

Department Patologi Anatomik,
Fakultas Kedokteran, Universitas
Indonesia

Rumah Sakit Dr. Cipto
Mangunkusumo
Jakarta

Penulis korespondensi: Dra. Endah
Zuraidah, S.Si, M.Epid
Department Patologi Anatomik,
Fakultas Kedokteran, Universitas
Indonesia
Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo
Jl. Salemba Raya No. 6, Jakarta
e-mail: mariafranciscaham@gmail.com,
defi.erdian@gmail.com,
endahzrahman@gmail

ABSTRAK

Ekspresi gen dapat dimodulasi melalui berbagai macam cara, terutama melalui pengaturan transkripsi.¹ Perbedaan jenis sel dalam transkripsi DNA dan translasi DNA bergantung pada faktor epigenetik.² Perubahan pada epigenetik ini merupakan *hallmark of cancer*.³ Keganasan hematolimfoid, merupakan salah satu yang cukup banyak terjadi di Indonesia, diantaranya limfoma non-hodgkin dan leukemia.⁴ Pada AML perubahan epigenetik pada metilasi DNA terutama pada enzim DNMT3A dan TET2, sedangkan modifikasi histon dapat melalui perubahan langsung modifikasi histon, perekutan HDAC dan karena adanya metilasi DNA. Pada ALL hipermetilasi TSG dan demetilasi TET2 yang menyebabkan *silencing* gen. Selain itu pada ALL terjadi overekspresi microRNA yang menyebabkan oncomiRNA. Limfoma sel B, diantaranya DLBCL, MCL dan FL juga mengalami perubahan epigenetik yang menyebabkan *silencing* gen. *Epstein barr virus* pada NKTCL dapat mempengaruhi perubahan epigenetik melalui miRNA yaitu LMP1. Tidak hanya metilasi DNA, modifikasi histon dan miRNA, perubahan epigenetik pada NKTCL juga dipengaruhi oleh ekspresi berlebih dari lncRNA. *Hodgkin lymphoma* tipe klasik juga menunjukkan perubahan epigenetik pada hipermetilasi DNA yang signifikan pada CpG island dan ekspresi berlebih dari HDAC. Penyimpangan epigenetik yang bersifat reversibel ini memunculkan bidang terapi epigenetik yang menarik untuk diketahui.³ Adapun dengan mengetahui mekanisme epigenetik didapatkan terapi kanker yang spesifik dan memperkaya pengetahuan mengenai epigenetik pada keganasan hematolimfoid.

Keywords: Epigenetik, Hematolimfoid, Limfoma.

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit pada gen, pada tingkat sel yang bermanifestasi dalam perubahan ekspresi gen. Ekspresi gen dapat dimodulasi melalui berbagai macam cara, terutama melalui pengaturan transkripsi.¹ Gen manusia mengandung sekitar 3,2 miliar pasang basa DNA. Di dalam gen, terdapat sekitar 20.000 gen penyandi protein, sekitar 1,5% dari gen. Berbagai protein ini berfungsi sebagai enzim, komponen struktural, dan berbagai sinyal molekul yang digunakan dalam regulasi sel di dalam tubuh.² Meskipun sebenarnya semua sel mengandung materi genetik yang sama, sel memiliki kemampuan berdiferensiasi untuk menjadi struktur dan fungsi yang berbeda. Secara jelas, jenis sel yang bervariasi, dibedakan oleh ekspresi gen yang spesifik. Perbedaan jenis sel tersebut dalam transkripsi DNA dan translasi DNA bergantung pada faktor epigenetik.²

Mekanisme epigenetik sendiri penting untuk perkembangan normal dan pemeliharaan pola ekspresi gen yang spesifik pada jaringan. Gangguan pada proses epigenetik dapat menyebabkan perubahan fungsi gen dan transformasi sel menjadi ganas. Perubahan pada epigenetik ini merupakan hallmark of cancer.³ Meskipun dahulu kanker dianggap sebagai penyakit genetik, namun kemajuan perkembangan pada bidang epigenetik kanker menunjukkan adanya pemrograman ulang yang ekstensif dari setiap komponen epigenetik pada kanker termasuk diantaranya metilasi DNA, modifikasi histon, posisi nukleosom, dan RNA non-coding, khususnya ekspresi microRNA. Penyimpangan epigenetik yang bersifat reversibel ini menyebabkan munculnya bidang terapi epigenetik yang menarik untuk diketahui lebih lanjut.³

Keganasan hematolimfoid, merupakan salah satu keganasan yang cukup banyak terjadi di Indonesia dan di dunia, diantaranya limfoma non-hodgkin dan leukemia. Insidensi kanker limfoma non-hodgkin dan leukemia di Indonesia menempati urutan ke 7 dan ke 9 kanker terbanyak, sedangkan di Dunia kanker limfoma non-hodgkin dan leukemia menempati urutan 9 dan 11.^{4,6} Selain itu temuan epigenetik pada keganasan hematolimfoid yang bervariasi dan perkembangan terapi yang mulai banyak menargetkan pada perubahan epigenetik sehingga hal ini menarik untuk dibahas lebih lanjut.

1. Epigenetik

Pengurutan gen manusia dimulai pada abad ke 21 yang mewakili pencapaian dari ilmu biomedis. Munculnya informasi ini mengungkapkan bahwa tingkat kompleksitas yang menakjubkan jauh melampaui dari urutan gen. Inovasi yang sangat potensial ini menjelaskan patogenesis penyakit dan mendorong penemuan terapi dan menginspirasi para ilmuan dan publik.²

1.1. Struktur Kromatin

Kromatin merupakan salah satu target terapi kanker yang pertama kali diidentifikasi, saat ini perkembangan obat kanker terutama menargetkan pada perubahan kromatin.⁵ Gen manusia mengandung sekitar 3,2 miliar pasang basa DNA. Di dalam gen, terdapat sekitar 20.000 gen penyandi protein, yaitu sekitar 1,5% dari gen.² DNA manusia berada pada nukleus dalam sel yang terdiri dari 46 kromosom. Kromosom terbuat dari kromatin yang terdiri dari

untai DNA (60%) yang berasosiasi dengan RNA (5%) dan protein (35%). Sangat mengherankan karena panjang DNA di nukleus lebih dari 1 meter. Diperlukan teknik level tinggi untuk mengatur DNA dengan rapi agar cukup di dalam nukleus sel dan untuk pengaturan saat transkripsi dan replikasi. Pengaturan paling sederhana atau primer pada kromatin adalah membungkus DNA di sekitar "kumparan" protein yang disebut sebagai "beads on a string". Beads diumpamakan sebagai nukleosom yang mengandung 146 base pairs (bp) DNA yang dibungkus 1,7 kali disekitar inti protein histon. Inti histon merupakan oktomer dari histon, mengandung 2 kopi histon H2A, H2B, H3 dan H4. Setiap histon mengandung domain untuk histon-histon dan histon-DNA dan NH2-terminal kaya lisin dan COOH-terminal "tail" domain yang dapat menjadi modifikasi post translasi (contoh. asetilasi, metilasi atau fosforilasi). Histon H1 merupakan histon penaut dan mengikat DNA yang terletak di luar inti. Sepuluh hingga enam puluh pasang basa DNA memisahkan beads.¹

Terdapat 5 kelas utama protein non-koding fungsional pada urutan gen yaitu:²

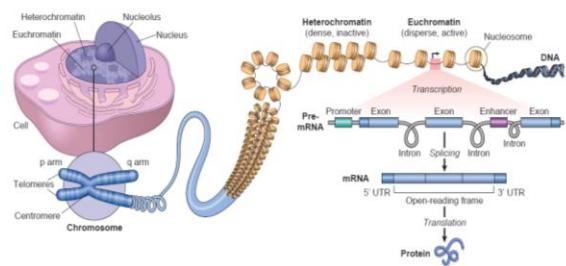
1.1.1. Regio promoter dan enhancer yang menyediakan tempat ikatan untuk faktor transkripsi.

1.1.2. Tempat ikatan untuk faktor yang mengatur dan memelihara struktur kromatin.

1.1.3. Noncoding regulatory RNAs. Sekitar 60% gen ditranskripsikan menjadi RNA dan tidak pernah ditranslasikan namun, berfungsi meregulasi ekspresi gen melalui mekanisme yang bervariasi. Diantaranya microRNAs (miRNAs) dan long noncoding RNAs (lncRNAs).

1.1.4. Mobile genetik elements (contoh. Transposon), ini merupakan "jumping genes" yang dapat bergerak di sekitar gen selama evolusi, sehingga ada dalam nomor kopi dan posisi, bahkan diantara spesies yang berkerabat dekat. Meskipun terlibat dalam regulasi gen dan kromatin, fungsi dari gen ini masih belum ditetapkan.

1.1.5. Struktur regio khusus DNA, telomer (ujung komosom) dan sentromer (pengait kromosom). Komponen utama sentromer dikenal juga sebagai DNA satelit. DNA satelit penting untuk pemeliharaan heterokromatin.



Gambar 1. Regulasi DNA pada mikroskop cahaya.²

Pada gambar 1 merupakan gambaran nukleus dan DNA pada mikroskop cahaya. Material genetik pada nukleus menjadi tersebar, ini menunjukkan eukromatin yang aktif transkripsi dan padat, sedangkan heterokromatin dengan transkripsi tidak aktif. Kromatin secara mekanik juga dapat tersambung dengan membran nukleus, sehingga gangguan pada membran dapat mempengaruhi transkripsi. Kromosom dapat terlihat selama mitosis. Kromosom disusun oleh kromatin yang berpasangan yang terhubung melalui sentromer (bertugas untuk membentuk kompleks protein kinetochore yang mengatur segregasi kromosom metafase). Telomer merupakan urutan nukleotida yang berulang yang menutup ujung kromatin dan memungkinkan replikasi kromosom berulang tanpa adanya kerusakan gen di ujungnya. Bagian kromatin pendek "p" (petite) dan bagian panjang "q" (huruf alfabet setelahnya). Serat kromatin individu terdiri dari serangkaian nukleosom, DNA melilit inti histon oktamer, dengan nukleosom terhubung melalui DNA penghubung (DNA linker). Promoter merupakan bagian non-coding DNA dimana dimulai transkripsi gen. Enhancer dapat memodulasi ekspresi gen pada jarak 100 kb atau lebih dengan mengulang kembali ke promotor dan merekrut faktor tambahan yang mendorong ekspresi pre-messenger RNA (mRNA). Intron disambung keluar dari mRNA untuk menghasilkan pesan akhir yang diterjemahkan menjadi protein, tanpa 3', untranslated region (UTR), dan 5' UTR.²

Kromatin memiliki peranan yang penting sebagai rangka dari struktur. Tingkat pematatan atau relaksasi kromatin menentukan DNA dalam posisi kromatin untuk ditranskripsikan, kromatin yang "highly compact" tidak dapat ditranskripsikan, kromatin yang rileks dapat melakukan transkripsi.¹ Banyak polimorfisme genetik yang berhubungan dengan penyakit berlokasi pada bagian non-coding protein dari gen. Sehingga regulasi variasi gen penting

untuk mengetahui penyebab penyakit daripada perubahan struktur pada protein spesifik. Lebih mengejutkan lagi bahwa urutan gen pada dua individu dapat sangat mirip dengan DNA identik lebih dari 99,5%. Sehingga variasi individu, termasuk kerentanan terhadap penyakit, dan rangsangan lingkungan, dikode dalam DNA kurang dari 0,5% (sekitar 15 juta bp). Dua bentuk variasi DNA yang lazim pada gen manusia adalah single nucleotide polymorphisms (SNPs) dan copy number variations (CNVs).²

1.2. Regulasi Epigenetik pada Transkripsi

Epigenetik mengacu pada informasi yang diwariskan yang dikode oleh modifikasi dari komponen gen dan kromatin. Modifikasi ini menyebabkan efek pada struktur dan bentuk kromatin dan regulasi transkripsi. Perubahan epigenetik pada ekspresi gen tidak menyebabkan perubahan pada urutan nukleotida pada DNA sehingga bukan mutase genetik. Perubahan epigenetik yang stabil penting selama diferensiasi sel normal. Sebagai contoh, stem sel dipelihara dalam keadaan stem sel oleh gen epigenetik silencing yang penting pada diferensiasi (diferensiasi ekspresi gen membuat suatu tipe sel berbeda dari yang lain). Terdapat dua tipe mekanisme epigenetik yaitu modifikasi histon dan metilasi DNA. Keduanya dapat didapat atau diwariskan dan mempengaruhi aktivitas transkripsi dengan mengatur faktor transkripsi sesuai dengan urutan nukleotida pada gen promoters. Penting untuk diingat bahwa semua proses epigenetik bekerja sama untuk meregulasi pembukaan atau penutupan kromatin dan meregulasi faktor transkripsi dan mekanisme epigenetik.¹

Modifikasi post translasi dari lisin-rich N-terminal pada ekor histon diantaranya asetilasi, metilasi, ubiquitinasi, fosforilasi dan sumoliasi. Terlepas dari keberagaman ini, modifikasi histon dan regulasi enzim sangat spesifik pada protein histon yang dimodifikasi, residu yang terkena efek, dan pengaturan pada epigenome sangat spesifik, bahkan nomenklatur menjelaskan modifikasinya. Sebagai contoh, H3K9ac mengindikasikan adanya grup asetil (ac) yang ditambahkan pada asam amino lisin (K), pada posisi ke-9 dari residu histon H3. Enzim yang mengatur modifikasi epigenetik post translasi pada histon telah dikategorikan menjadi writers, erasers, readers, dan movers. Beberapa enzim yang termasuk pada writers yaitu DNA methyltransferase (DNMTs), histon lisin methyltransferase (KMTs) dan histon

acetyltransferase (HATs). Sedangkan histon lysin demethylase (KMDs) dan histon deacetylases (HDACs) termasuk pada erasers. Bromodomain dan kromodoain merupakan enzim yang membaca residu asetilasi dan metilasi dan termasuk dalam enzim readers. Untuk enzim movers contohnya adalah kromatin remodeling protein yang memindahkan nukleosom dan mengizinkan transkripsi.⁵

1.3. Pengaturan His-ton

Protein histon merupakan subjek yang dapat dimodifikasi menjadi bervariasi setelah translasi melalui asetilasi, metilasi, fosforilasi, ubiquitinasi. Kode histon menentukan pola modifikasi yang spesifik dari histon dan mengatur secara molekular aktivitas transkripsi.¹ Meskipun seluruh sel di dalam tubuh memiliki komposisi genetik yang sama, diferensiasi sel mebedakan struktur dan fungsi ekspresi gen yang spesifik. Perbedaan yang spesifik pada transkripsi dan translasi tergantung faktor epigenetik yang dapat dikonseptualisasikan sebagai berikut:²

1.3.1. Histon dan faktor modifikasi. Nukleosom terdiri dari segmen DNA panjang 147 bp yang melilit struktur inti dari molekul protein rendah yang disebut histon. Kompleks DNA-histon yang dihasilkan menyerupai serangkaian manik-manik yang digabungkan dengan DNA linkers.²

1.3.2. Histon tidak bersifat statis, namun merupakan struktur yang sangat dinamis yang diregulasi oleh protein nuclear host. Sehingga kompleks remodeling kromatin dapat mereposisi nukleosom pada DNA, mengekspos atau mengaburkan regulasi gen misalnya promoters. "Chromatin writer" kompleks yang dapat membawa lebih dari 70 modifikasi histon yang berbeda, secara umum dicatat sebagai "marks". Seperti perubahan pada metilasi, asetilasi atau fosforilasi asam amino dengan histon. Gen yang di transkripsi (aktif) pada eukromatin berasosiasi dengan histon marks sehingga membuat DNA dapat diakses oleh RNA polimerase. Gen yang tidak aktif memiliki histon marks yang memungkinkan pemasatan DNA menjadi heterokromatin. Histon marks bersifat reversible selama aktivitas "chromatin erasers". Protein lain berfungsi sebagai "chromatin readers" berikatan dengan histon yang secara khusus meregulasi ekspresi gen.²

1.3.3. Metilasi histon. Baik lisin dan arginin dapat dimetilasi oleh enzim writers spesifik, residu metilasi lisin histon memandu aktivasi transkripsi atau sebaliknya.²

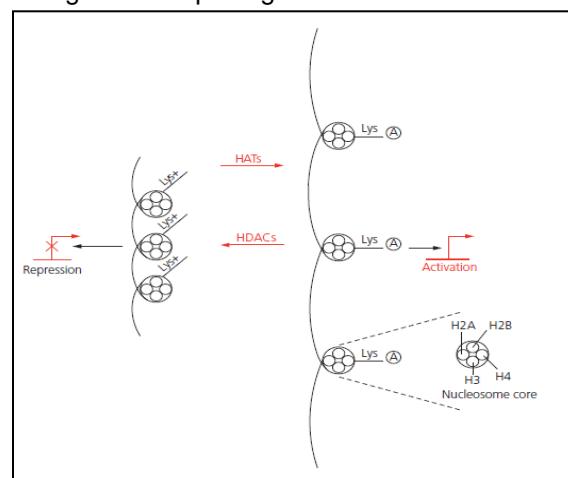
1.3.4. Asetilasi histon. Residu lisin dasetilasi oleh histon asetyltransferase (HATs), modifikasi ini membuka kromatin dan meningkatkan transkripsi. Perubahan ini dapat dikembalikan seperti semula melalui histon deasetilase (HDACs) menyebabkan pemasatan kromatin seperti pada gambar 2.2 HATs spesifik untuk lisin pada ekor histon dan protein non histon, termasuk faktor transkripsi (E3F dan p53). Asetilasi histon membuka kromatin dan meningkatkan transkripsi dan pemanjangan oleh RNA polymerase II. HDACs menghapus grup asetyl dan mengembalikan ion positif pada residu lisin pada ekor histon sehingga terjadi stabilisasi pemasatan kromatin seperti pada gambar 2.¹

1.3.5. Pola asetilasi histon, mengubah struktur kromatin dan ekspresi gen. Asetilasi bertindak sebagai sinyal untuk merekrut atau menolak faktor modifikasi kromatin.

1.3.6. Fosforilasi histon. Residu serin dapat dimodifikasi oleh fosforilasi, bergantung pada residu yang spesifik, DNA dapat dibuka untuk transkripsi atau dipadatkan kembali menjadi tidak aktif.²

1.3.7. Metilasi DNA. Level tinggi dari metilasi DNA adalah regulasi elemen gen yang menghasilkan transcriptional silencing. Seperti pada modifikasi histon, metilasi DNA diregulasi oleh metiltransferase, enzim demetilasi dan metilasi-DNA-binding protein.²

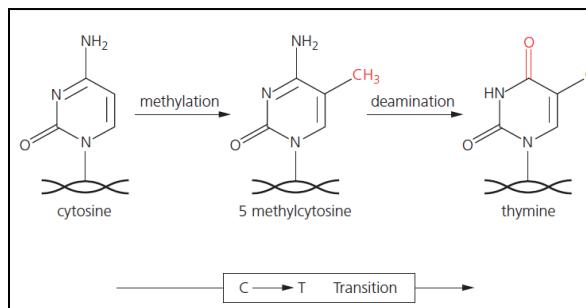
1.3.8. Pengaturan faktor kromatin. Jauh lebih sedikit diketahui mengenai protein ini, dipercaya berikatan dengan bagian non-coding dan mengontrol pengulangan DNA, sehingga meregulasi enhancer dan promoters yang mengontrol ekspresi gen.²



Gambar 2. Modifikasi histon.

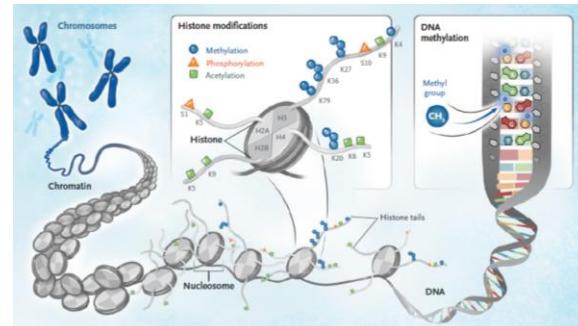
1.4. Metilasi DNA

Mekanisme epigenetik lain yang berefek pada regulasi transkripsi adalah metilasi DNA. Metilasi DNA merupakan penambahan grup asetil pada posisi 5 sitosin. Sekitar 3-4% seluruh sitosin pada DNA dimetilasi. Metilasi hanya terjadi pada nukleotida sitosin yang terletak pada 5' guanin nukleotida (CpGs). Metil sitosin mengalami deaminasi secara spontan dan menghasilkan transisi C menjadi T. Klaster CpG disebut "CpG islands" berlokasi pada bagian promoter, sekitar 50% pada gen manusia. Secara umum CpG islands ditemukan pada promoter gen yang tidak mengalami metilasi pada jaringan normal dan transkripsi mungkin dapat terjadi. Metilasi sitosin banyak ditemukan terutama pada urutan yang berulang dan pada CpG islands yang ditemukan di area promoter gen yang tertekan seperti kromosom-X (gen yang tidak aktif), gen yang dicetak, dan gen spesifik pada beberapa jaringan. Pada kasus ini metilasi merupakan sinyal yang diwariskan yang terkait dengan pemadatan kromatin dan mempertahankan "gen silencing".¹



Gambar 3. Deaminasi spontan dari metilsitosin menyebabkan transisi C-T.

Pada gambar 3, DNA metiltransferase (DNMTs) memediasi penambahan grup metil dari metil karier, S-adenosil-metionin. Terdapat tiga metiltransferase yang telah diketahui yaitu DNMT1, DNMT3a dan DNMT3b. DNMT1 mengkonversi hemi-metilasi DNA menjadi full metilasi DNA selama replikasi. Mekanisme ini menyebabkan pola metilasi yang diwariskan. Telah dikemukakan bahwa mekanisme yang menghasilkan metilasi dalam gen silencing adalah dengan merekrut protein methyl binding domain (MBD) yang akan berinteraksi dengan HDAC dan remodeling enzim-kromatin. Sehingga regulasi transkripsi epigenetik mencakup metilasi, kromatin-remodeling enzim, dan modifikasi histon.¹



Gambar 4. Kromatin dengan modifikasi histon dan metilasi DNA.

2. Pengaturan Epigenetik pada Karsinogenesis

Pengaturan yang salah pada “epigenetic silencing” berperan penting pada pengaturan kanker. Program epigenetik yang abnormal membuat sejumlah besar gen tidak aktif. Suatu epigenetik dapat menyebabkan epigenetik lainnya, yang mengarahkan terjadinya perubahan gen dalam jumlah besar dan menyebabkan ketidakstabilan genetik. Penelitian terbaru memperkirakan terdapat ratusan epigenetik silencing yang ada pada individu dengan tumor. Mutasi dapat menyebabkan enzim tidak berfungsi yang merupakan komponen penting pada regulasi epigenetik, ditambah lagi dengan epigenetik silencing sehingga menjadi “second hit” yang menyebabkan tumor supresor gen tidak aktif.¹

2.1. Modifikasi Histon dan Kanker

Perubahan pada aktivitas HAT atau HDAC telah diamati pada beberapa kanker. Menariknya satu gen EP300 (yang mengkode HAT) ditemukan mengalami mutasi pada kanker epithelial. Urutan genetik pada DNA tumor dari limfoma telah diidentifikasi sering mengalami mutasi pada histon hingga modifikasi gen yang menyebabkan terjadi perubahan epigenetik dan berperan penting pada perkembangan limfoma. Akut promielositik leukemia (AML) memiliki karakteristik translokasi kromosom yang memproduksi fusi protein yaitu PML-RAR. Fusi protein ini menahan DNA binding domain dan ligan binding domain dari RAR sebagai tambahan pada urutan PML. PML-RAR mengundang HDAC menuju promoter RAR gen target dan menekan ekspresi dari gen ini. Sedikitnya aktivasi gen RAR menyebabkan blokade diferensiasi yang merupakan karakteristik leukemia.¹

2.2. Metilasi dan Kanker

Perubahan pada metilasi DNA telah diakui dan banyak penelitian telah fokus pada hipermetilasi yang diamati secara normal pada CPG island yang tidak termetilasi dari promoter gen. Pembungkaman gen pada metilasi DNA penting pada mekanisme karsinogenesis dimana gen yang terlibat dalam supresi tumor di nonaktifkan. Tidak aktifnya ekspresi gen karena metilasi pada area promoter telah banyak diamati. Misalnya pada kanker payudara yang rentan mengalami perubahan gen, BRCA1 merupakan paling sering mengalami mutasi pada kanker payudara yang diturunkan. Hipermetilasi berhubungan dengan inaktivasi BRCA1 pada kanker payudara yang tidak diturunkan.¹

Pengetahuan mengenai kompleksitas kromatin dan pengaturan dalam onkogenesis telah meningkat, ribuan gen kanker diurutkan dan mutasi ditemukan pada pengaturan epigenetik. Namun, mutasi saja tidak selalu memiliki konsekuensi fungsional, juga tidak dapat menjadi target terapi epigenetik. Mutasi protein modifikasi dapat menimbulkan onkogenik driver atau ketidakmampuan tumor supresor gen atau mungkin passenger mutation. Seiring berjalananya waktu, meningkatnya jumlah mutasi telah divalidasi penting dalam terjadinya kanker. Meskipun mutasi pada pengaturan epigenetik menghasilkan penambahan atau perubahan fungsi, mayoritas mutasi mengganggu konformasi atau membuat area stop baru pada kodon yang menghasilkan kehilangan fungsi. Fusi gen dan perubahan ekspresi gen menambah kompleksitas mutasi. Maka penting untuk pengaturan epigenetik yang baik, dengan tempat yang tepat dan waktu yang tepat. Pengaturan yang terlalu banyak atau terlalu sedikit akan menyebabkan onkogen.

3. Epigenetik pada Kanker Hematolimfoid

3.1. AML (Acute Myeloid Leukemia)

Acute Myeloid Leukemia atau Leukemia Mieloid Akut ditandai dengan proliferasi yang tidak terkontrol dari klonal neoplasma sel prekursor hematopoiesis, yang mengganggu hematopoiesis normal dan menyebabkan kegagalan sumsum tulang. Analisis molekuler dan sitogenetik telah digunakan dalam mendefinisikan defek pada genetik.

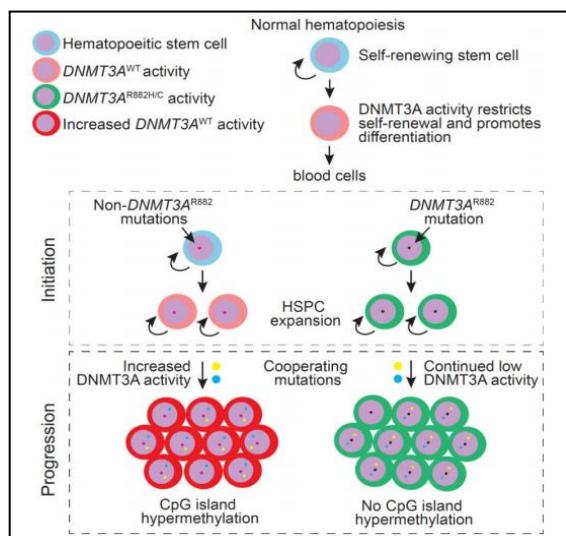
AML menyumbang sekitar 90% dari seluruh leukemia akut pada dewasa dan 15-20% pada anak-anak. Myelodisplastic syndrome (MDS) dan myeloproliferative neoplasma (MPN) dapat menjadi progresif menjadi AML.⁶ Gen AML memiliki mutasi lebih sedikit dibandingkan dengan kanker lain yang ditemukan pada usia dewasa, dengan rata-rata sekitar 13 mutasi pada AML.⁷

Beberapa dekade penelitian mengungkapkan bahwa modifikasi DNA dan kromatin memainkan peran penting dalam mengontrol transkripsi, stabilitas kromosom, perbaikan DNA, dan replikasi DNA. Informasi epigenetik dapat dipertahankan selama replikasi dan pada kasus tertentu dapat diwariskan. Epigenetik pada AML difasilitasi oleh faktor primer yaitu metilasi DNA dan modifikasi histon.⁶

3.1.1. Metilasi DNA AML

Ketika hipometilasi berhubungan dengan ketidakstabilan genetik *in vitro* dan berperan pada karsinogenesis, penyimpangan hipermetilasi DNA berkontribusi pada karsinogenesis melalui silencing pada TSG. Hipermetilasi promoter TSG banyak ditemukan pada AML. Hipermetilasi TSG pada patogenesis AML berhubungan dengan prognosis buruk pada AML.⁶ Perubahan DNMT3A sering terjadi pada awal mutasi. Mutasi pada DNMT3A diidentifikasi lebih dari 20% pasien AML dengan DNMT3A r882. Pola hipermetilasi pada wild-type DNMT3A AML merupakan konsekuensi progresi pada AML seperti pada gambar 5.⁸

Perubahan molekuler lain yang potensial menyebabkan hipermetilasi pada DNA yaitu pada TET2 yang juga umum terjadi pada AML. Dengan katalisis, pada tahap pertama demetilasi mengkonversi metilsitosin menjadi hidroksimetil sitosin, keluarga TET menghapus protein terbalik, metilasi sitosin dikatalis oleh DNMT1, 3A, dan 3B, menghalangi demetilasi dan menyebabkan penyimpangan hipermetilasi DNA.⁹ Perubahan mutasi juga umum terjadi pada Clonal Hematopoiesis of Intermediate Potential (CHIP). CHIP mencakup pada perubahan klon, terjadi sekitar 10% pada usia tua lebih dari 65 tahun, dan berhubungan dengan kanker hematologi dan penyakit arteri koronaria.¹⁰



Gambar 5. Ilustrasi hipermetilasi CpG Island yang dimediasi oleh DNMT3A pada AML.⁸

Mutasi pada siklus enzim asam trikarboksil (TCA), berimplikasi secara tidak langsung pada modifikasi epigenetik yang mengarah pada DNA dan hipermetilasi histon. Mutasi pada R123 pada isositrat dehydrogenase 1 (IDH1) dan R172 pada isositrat dehydrogenase 2 (IDH2) merubah aktivitas enzim dan mengahsilkan produk yang istimewa dari onkometabolit isositrat 2-hidroksiglutarat (2-HG) sampai aketoglutarat.¹¹ Inhibisi aktivitas enzim pada TET oleh 2-HG menyebabkan peningkatan metilasi lisin histon. Pada pengamatan yang sama akumulasi suksinat dan fumarate terjadi dengan suksinat dehydrogenase dan fumarate hydratase yang mengalami kehilangan fungsi mutasi. Mutasi pada DNMT3A, TET2, IDH1, dan IDH2 ditemukan sekitar 28%, 14%, 9% dan 10% pada kasus AML dengan pola mutasi yang sama, yang dijelaskan pada angioimmunoblastic subtipo of peripheral T cell lymphoma (AITL).⁵

Selain dari epigenetik sendiri, mutasi genetik pada fusi PML-RAR (translokasi (15;17)) memiliki pengaruh pada regulasi epigenetik. PML-RAR merupakan patognomonik pada leukemia promielositik akut dan subtipo AML dengan karakteristik respon rate yang tinggi pada terapi pemberian all-trans retinoic acid (ATRA) atau arsenic trioxide (ATO). Diketahui bahwa hasil fusi PML-RAR mempengaruhi aktivitas DNA metiltransferase (DNMTs), yaitu dapat menginduksi hipermetilasi pada target PML-RAR, terutama pada RAR β .¹²

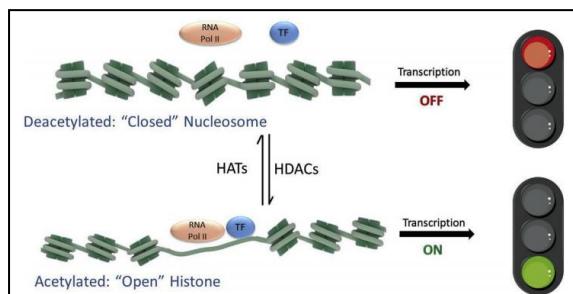
Terapi pada DNA metilasi menggunakan DNMT inhibitor seperti azactidin

dan decitabine telah dikembangkan dan diterima sebelum kompleksitas pola metilasi dapat dibedakan. Kedua obat tersebut merupakan antimetabolit yang menghambat aktivitas DNMT termasuk hipometilasi pada DNA. Dengan respon terapi 16% sampai 17% pada pasien dengan sindrom mielodisplastik dan 20% sampai 40% pada pasien dengan AML. Terdapat dua obat dengan target mutasi titik pada gen mengkode IDH1 dan IDH2 yang telah diterima oleh Food and Drug Administration (FDA) yaitu enasidenib dengan target IDH2 dan ivosidenib pada IDH1 pada tahun 2017 dan 2018. Ini merupakan penerimaan terapi pada onkometabolit yang pertama. Kedua obat tersebut menurunkan level 2-HG pada darah. Respon terapi pada AML dengan mutasi IDH2 sekitar 38,8%.^{13,14}

3.1.2. Modifikasi Histon

Histon dapat berubah pada AML melalui beberapa mekanisme umum diantaranya perubahan epigenetik langsung pada modifikasi histon, perekruit HDAC oleh mutasi protein atau fusi protein, dan perekruit HDAC oleh metilasi DNA.⁶

Perubahan pada epigenetik dapat terjadi langsung melalui modifikasi histon. MLL merupakan metiltransferase histon (dikenal juga sebagai HRX atau ALL1) pada kromosom 11q23 sering mengalami fusi dengan gen lain yang menyebabkan leukogenesis melalui modulasi kromatin. N-terminal dari fragmen MLL mengandung DNA binding site dan domain represi transkripsi. Domain represi mengandung 2 subdomain yang berbeda, satu domain mengandung homolog DNA metiltransferase yang mengundang kompleks represor termasuk grup protein polycomb seperti HPC2, Bmil, dan koresesor CtBP. Repressor domain yang lainnya akan mengundang HDAC1 dan HDAC2. Fragmen N-terminal MLL juga mengandung plant homeodomain (PHD) zinc finger yang termasuk dalam regulasi transkripsi dan remodeling aktivitas kromatin melalui interaksi Cyp33 yang dikenal sebagai supresor transkripsi HoxA9 dan HoxC8. Fungsi penting MLL adalah pemeliharaan ekspresi HoxA9 dan HoxC8 oleh regio binding promoter dan menjaga kromatin yang terbuka untuk transkripsi. C-terminal dari MLL mengandung domain aktivasi transkripsi yang berikatan pada HAT, CBP.⁶



Gambar 6. Kontrol epigenetik pada ekspresi gen.

Selain itu domain SET C-terminal memiliki histon H3 lysin 4 (H3K4)-spesifik dengan aktivitas histon metiltransferase (HTM) dan trimetilasi dari H3K4 yang berhubungan dengan aktivasi transkripsi. Secara umum protein chimeric MLL yang berbeda mengandung DNA-binding site dan MT domain pada N-terminal, tetapi tidak memiliki SET domain. Diperkirakan melalui hal ini ekspresi gen Hox tidak terpelihara dengan tepat dalam pembaharuan diri, yang menyebabkan leukemogenesis. Histon asetiltransferase, CBP secara langsung menganggu translokasi kromosom pada AML menyebabkan fusi onkogen faktor transkripsi. Translokasi kromosom yang jarang di amati pada AML t (8;16) (p1;p13) menghasilkan fusi protein CBP dengan gen MOZ (monositic leukemia zinc finger). Fusi menghasilkan delesi kecil pada N-terminal asam amino 266 dari CBP, menyisakan sebagian molekulnya utuh. Menariknya gen MOZ diduga memiliki domain asetiltransferase yang mempertahankan fusi MOZ-CBP. Efek leukemogenik tidak hanya dari gangguan pada fungsi CBP, namun juga fusi protein menghasilkan penyimpangan regulasi dalam mengundang CBP kepada gen MOZ promoter yang menyebakan ekspresi gen abnormal.⁶

Histon asetiltransferase yang lain, p300 telah ditemukan mengalami fusi pada gen MLL pada pasien AML yang mengalami translokasi di (11;22) (q23;q13). Hasil fusi ini mempertahankan molekul p300. Diduga dasar dari leukemogenesis dari t(11;22)-AML merupakan ketidakmampuan p300 meregulasi siklus sel dan diferensiasi setelah fusi dengan MLL.⁶

Selain itu perubahan genetik dapat menyebabkan abnormalitas dalam perekutan dari modifikasi histon. Translokasi yang sering pada AML menghasilkan fusi protein yang berefek pada transkripsi gen oleh rekrutmen HAT/HDAC. Sebagai contoh translokasi pada

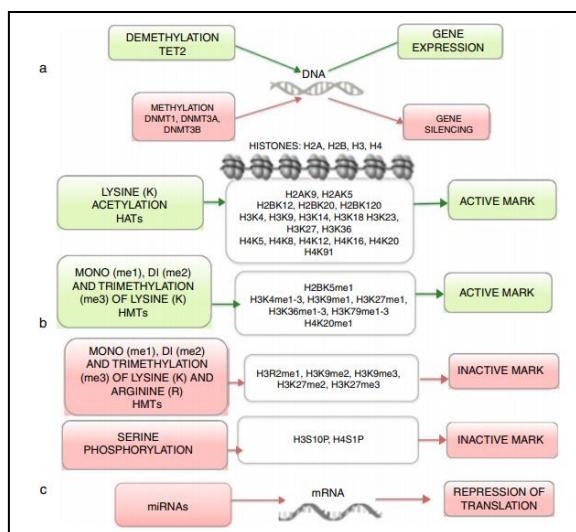
gen AML1 (yang dikenal sebagai RUNX1 atau CNFA2) pada t(8;21) (q22;q22), menghasilkan fusi dengan gen lain, pada kasus ini ETO. N-terminal dari AML1 berikatan dengan regio promoter dari targetnya misalnya IL3, GM-CSF, dan MPO. C-terminal dari AML1 secara normal berinteraksi dengan ko-aktivator kompleks yang mengandung p300 yang memiliki aktivitas HAT dan akan menghasilkan asetilasi histon dan aktivasi transkripsi. Pada AML dengan translokasi AML1/ETO, N-terminal dari AML1 di pelihara dan dapat berinteraksi dengan DNA, namun binding site p300 pada C-terminal diganti oleh ETO, yang selanjutnya menarik kompleks korepressor yang mengandung N-Cor/Sin3/HDACs sebagai pengganti HAT, hal ini menghasilkan represi transkripsi dan blokade diferensiasi mieloid. Gen lain yang dapat berikatan dengan AML1 seperti TEL dan MTG16 juga memediasi represi transkripsi.⁶

Sama halnya dengan AML inversi (16) menyebabkan represi transkripsi AML1 dan supresi diferensiasi myeloid.⁶ Inversi pada kromosom 16 inv(16) menyebabkan fusi gen core-binding faktor subunit beta (CBFB) kepada gen myosin heavy chain 11 (MYH11) yang menghasilkan fusi gen CBFB-MYH11 dan menyababkan ekspresi fusi protein CBFB-SMMHC. Fusi protein CBFB-SMMHC menginisiasi leukemogenesis juga terlihat pada tikus model. Inversi kromosom 16 menghasilkan deasetilasi histon 8 (HDAC8) yang memediasi deasetilasi protein p53. Ekspresi HDAC8 pada AML secara signifikan meningkat dibandingkan dengan hematopoiesis dan inhibisi pada HDAC8 mengurangi inv(16) pada AML, menurunkan proliferasi, dan menginduksi apoptosis pada AML. Selain itu mekanisme epigenetik pada disregulasi sub tipe inv(16) menunjukan bahwa inv(16) pada AML cenderung menyebabkan fenotif hipometilasi relative, dengan Sebagian besar hipometilasi ini terjadi pada onkogen meningioma 1 (MN1).¹²

Selain melalui perubahan langsung pada modifikasi histon dan mutasi genetik, modifikasi histon juga dapat terjadi melalui metilasi DNA. Metilasi pada tempat CpG menjadi trigger ikatan metil-binding protein kepada DNA, yang menarik histon deasetilasi dan histon metilasi. Hal ini menyebabkan H3K9 deasetilasi dan metilasi, seperti pada demetilasi dari H3K4.⁶

3.2. Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL)

ALL merupakan kanker tersering pada anak, telah diketahui bahwa terjadi perubahan genetik yang merupakan dasar penyebab pada ALL. Perubahan genetik saja tidak menyebabkan perkembangan kanker, diperlukan perubahan tambahan misalnya modifikasi epigenetik. Misalnya perubahan pada metilasi DNA, modifikasi histon dan regulasi RNA non-coding yang diidentifikasi pada ALL. Hipermetilasi DNA pada regio promoter merupakan modifikasi epigenetik yang paling sering ditemukan pada ALL. Modifikasi ini menyebabkan silencing pada TSG dan mengarahkan terjadinya leukemogenesis. Perubahan pada remodeling protein histon juga ditemukan pada ALL seperti overekspresi enzim histon deasetilase, asetyltransferase dan metiltransferase. ALL juga menunjukkan perubahan ekspresi pada miRNA dan sebagai konsekuensinya menyebabkan modifikasi ekspresi pada gen target. Seluruh modifikasi genetik ini merupakan kunci terjadinya transformasi keganasan yang menyebabkan disregulasi pada onkogen seperti BLK, WNT5B dan WISP1 dan TSG seperti FHIT, CDKN2A, CDKN2B, dan TP53 yang sangat penting pada proses seluler.¹⁵



Gambar 7. Tingkatan regulasi epigenetik. a. DNA metilasi. b. Modifikasi histon. c. Regulasi oleh RNA non-coding.

ALL mempengaruhi turunan dari limfosit B dan T yang terjadi pada dewasa dan anak-anak. Sekitar 85% ALL pada anak merupakan tipe prekursor B (ALL-B). Perubahan paling

sering pada ALL anak merupakan hiperploid dan translokasi. Translokasi t(12;21) (p13;22) menghasilkan fusi gen ETV6-RUNX1 sekitar 20-25%, translokasi t(1;19) (q23;p13) menyebabkan fusi gen TCF-PBX1 sekitar 5-6%, dan translokasi t(9;22) (q34;q11) menyebabkan fusi gen BCR-ABL1 sekitar 3% dari seluruh kasus ALL. Translokasi gen MLL (KMT2A) sekitar 3% pada usia 2-5 tahun dan 80% pada usia dibawah 1 tahun.¹⁵

3.2.1. Metilasi DNA

Modifikasi termasuk pada penambahan grup metil pada 5 karbon sitosin DNA pada CpG island. Enzim yang bertanggung jawab pada penambahan grup metil ini merupakan DNA metiltransferase (DNMTs). Sebaliknya, demetilasi DNA oleh enzim TET2 (ten-eleven-translocation2) mengkatalisis dan mengkonversi 5-methylcytosine ke 5-hidroxy-methylcytosine.¹⁵ Sejumlah penelitian telah menetapkan bahwa gangguan pada metilasi merupakan dasar perkembangan ALL baik ALL-B dan ALL-T pada anak dan dewasa. Penyimpangan metilasi dan ekspresi terutama hipermetilasi yang simultan pada beberapa gen di definisikan sebagai "fenotif mutilator". Perubahan ini menyebabkan pembungkaman gen dan merupakan karakteristik ALL dan tipe lain leukemia pada anak dan dewasa.¹⁵

Beberapa gen yang mengalami hipermetilasi telah ditemukan pada pasien dengan ALL. Beberapa gen yang termasuk diantaranya TP73, FHIT, MME (CD10), TET2, sFRP2, EFNA5, ESR1, THBS2, CDKN1A (p21), ABCB1, EPHB4, CDKN2B (p15), CDKN2A (p16), SYK, DAPK1, BRINP1 (DBC1), ABL1, PTEN, sFRP5, BNIP3, MYOD1, CALCA (calcitonin), CDKN1C (p57), DKK3, WIF1, LATS2, EFNB2, PPP1R13B (ASPP1), THBS1, CDH1, TP53 dan HCK. Ketika terjadi penyimpangan metilasi pada kanker, biasanya menghasilkan hipermetilasi pada TSG. Hal ini akan menyebabkan gangguan pada jalur molekuler seperti apoptosis, jalur perbaikan DNA, cek poin pada siklus sel dan diferensiasi sel.¹⁵ CpG yang mengalami hipermetilasi meningkatkan regulasi gen pada transkripsi seperti NANOG, OKT4, SOX2 dan REST. Gen ini diketahui berfungsi dalam regulasi protein grup polycomb dan telah diidentifikasi sebagai target untuk hipermetilasi pada tumor solid, leukemia, dan limfoma.¹⁶

Pengaturan ulang MLL pada leukemia infant merupakan subtipen yang spesifik pada ALL yang menunjukkan hipermetilasi pada

promotor yang berbeda. Selain itu derajat hipermetilasi berkorelasi dengan risiko kekambuhan pada bayi yang membawa translokasi t (4;11) atau t(11;19). Pada penelitian lain, pengaturan ulang MLL pada bayi diketahui terlibat dalam proses onkogenesis dan progresi dari tumor (DAPK1, CCR6, HRK, LIFR dan FHIT) dimetilasi secara berbeda yang berperan dalam leukemogenesis ALL yang diatur ulang oleh MLL. Demikian juga empat dari lima gen yang mengalami hipermetilasi dan pembungkaman bisa jadi diekspresikan kembali secara *in vitro* ketika DNMTi dan mendapatkan kembali peran fungsionalnya sehingga poin ini menjadi potensial pada terapi epigenetik dalam pengobatan leukemia bayi.¹⁶

ALL yang mengalami kekambuhan biasanya sangat agresif dan terutama resisten terhadap obat. Telah diketahui banyak regulator pada jalur Wnt yang mengalami hipermetilasi dan down regulation saat terjadi kekambuhan termasuk aktivitas inhibitor β -catenin/TCF/LEF, sama halnya juga APC, WT1, cadherins (CDH1, CDH11) dan gen SOX (SOX2, SOX8, SOX11, SOX21).¹⁶

3.2.2. Modifikasi Histon

Modifikasi histon dan DNA metilasi terlibat dalam menjadi penyebab dan progresi kanker. Mutasi pada enzim modifikasi histon menyebabkan kehilangan atau penambahan fungsi. Khususnya penghilangan asetilasi bermuatan positif pada histon, akan menurunkan interaksi grup fosfat pada DNA (bermuatan negatif) dengan porsi N-terminal dari histon (bermuatan positif). Selanjutnya akan merelaksasi kromatin dan meningkatkan aktivitas transkripsi. Enzim HDAC termasuk HDAC1, HDAC11 dan sirtuin. Pengurangan pada asetilasi histon karena overekspresi dari enzim HDAC umumnya terjadi pada beragam tumor termasuk leukemia.¹⁵

Pada ALL anak overekspresi histon deasetilase seperti HDAC1, HDAC2, HDAC3, HDAC6, HDAC7 dan HDAC8 telah diidentifikasi. Terutama overekspresi HDAC2 dan HDAC5 pada ALL-B telah dilaporkan, dimana pada ALL-T banyak terdapat ekspresi dari HDAC1, HDAC4 dan HDAC5. Selanjutnya asetilasi pada H4 histon digunakan sebagai tanda prognosis dan diagnosis pada kasus relaps. Pada dewasa peningkatan level H4 asetilasi berkorelasi dengan peningkatan kesintasan. Sebagai tambahan ETV6-RUNX1 telah dilaporkan dalam merekrut HDAC pada ALL-B, induksi remodeling kromatin dan menghentikan transkripsi gen

tertentu secara normal diaktifkan oleh RUNX1. Meskipun tidak seluruh jalur dan proses sel yang mengalami perubahan pada HDAC telah diidentifikasi pada ALL anak, diantaranya yang terlibat pada proses transkripsi (HDAC1, HDAC3, HDAC4, HDAC6, HDAC7, HDAC8, HDAC9), regulasi siklus sel (HDAC1, HDAC2, HDAC3, HDAC4, HDAC6, HDAC7), apoptosis (HDAC1, HDAC2, HDAC3, HDAC6, HDAC7) dan p53 (HDAC2) dan jalur pesinyalan (HDAC1, HDAC3, HDAC7).¹⁵

Perubahan HAT pada ALL juga diidentifikasi, HAT yang utama termasuk GNAT MYST dan keluarga CBP/p300. Beberapa protein ini terlibat dalam penyusunan ulang kromosom yang mengarahkan terjadinya transformasi leukemia melalui perubahan asetilasi histon dan berefek pada ekspresi gen. HAT yang telah diidentifikasi mengalami overekspresi pada ALL-B diantaranya KAT7, KAT2A, CREBBP (CBP atau KAT3A) dan KAT6B. Modifikasi ini berasosiasi dengan proses sel seperti regulasi transkripsi, proliferasi dan apoptosis. Sebagai tambahan telah diamati bahwa asetilase KAT2A dan stabilisasi oncoprotein TCF-PBX1 terlibat pada ALL. Selain itu telah ditemukan bahwa mutasi gen CREBBP menyebabkan deregulasi transkripsi pada target gen dan berasosiasi kekambuhan pada ALL-B.¹⁵ HMT pada ALL yang banyak dipelajari yaitu MLL, yang memetilasi lisin 4 dari histon H3 (H3K4), yang merupakan tanda terbukanya kromatin sehingga dapat terjadi transkripsi. MLL meregulasi transkripsi melalui perekutan protein HAT seperti CBP dan MOF. Gen HOXA merupakan bagian utama dari multiple target MLL. MLL membentuk penyusunan kembali lebih dari 85 gen yang berbeda, yang memandu pembentukan protein chimeric. MLL oncoprotein menyebabkan penyimpangan aktivasi target gen melalui mekanisme yang berbeda. Sebagai contoh chimeric protein MLL-AF4 merubah regulasi gen targetnya melalui perekutan kompleks regulasi epigenetik seperti SEC dan DOT1 (H3K79 metiltransferase). Disregulasi ini menyebabkan transformasi leukemia pada gen MEIS1, RUNX1, FLT3, MYC, BCL2, dan PROM1 yang merupakan target MLL-AF4. Selain itu MLL ditemukan mengalami fusi terhadap protein HAT seperti CREBBP dan EP300 yang menyebabkan ekspresi pada target gennya.¹⁵

3.2.3. Perubahan pada MicroRNA (miRNA)

MicroRNA merupakan bentuk lain dari regulasi epigenetik. Merupakan RNA pendek

terdiri dari 18-25 nukleotida yang berperan dalam inhibisi translasi pada target mRNA melalui interaksinya dengan 3'UTR. Regulasi ekspresi gen oleh miRNA merupakan proses biologis umum, lebih dari 60% mRNA dapat dirgulasi oleh miRNA. miRNA terlibat pada proses biologis yang penting termasuk pertumbuhan, perkembangan sel, metabolisme, proliferasi, differensiasi dan apoptosis. Pada kanker telah diamati bahwa miRNA berpartisipasi pada proses onkogenesis (oncomiRNA), TSG dan supresor metastasis atau aktivator. miRNA dapat diregulasi oleh metilasi DNA dan modifikasi histon.¹⁵

Beberapa proses biologis diregulasi oleh miRNA termasuk pada hematopoiesis normal dan malignansi. Perubahan ekspresi pada miRNA telah diidentifikasi pada ALL-B dan ALL-T baik pada anak maupun dewasa. Profil ekspresi miRNA telah digunakan dalam diagnosis, klasifikasi dan prognosis ALL. Pada ALL anak-anak overekspresi dari miR222, miR339, miR142-3p, miR128a, miR128b, miR34a, miR146, miR142, miR181, dan penurunan ekspresi miR140, miR143, miR451, miR373, miR100, miR196b telah dilaporkan dan dibandingkan dengan kondisi normal. Pada subtype hyperploid, overekspresi miR198, miR222, miR223, miRNA511 dan miRNA708 telah dideteksi, sedangkan subtype ETV6-RUNX1 overekspresi pada miR99a, miR100, miR125b, miR383 and miR708. ALL dengan subtype penyusunan ulang MLL memiliki karakteristik overekspresi miR196B dan low ekspresi miR128b dan miR221.¹⁵

3.3. Limfoma Sel B

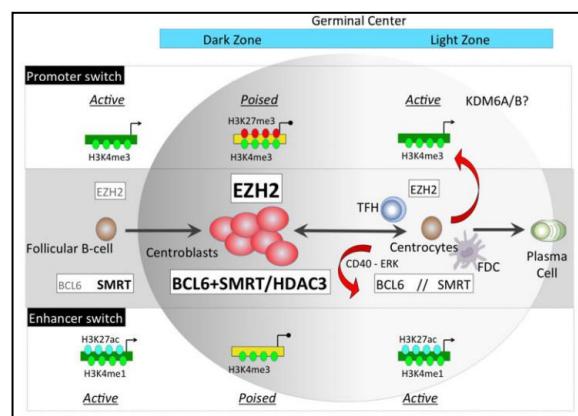
Deregulasi ekspresi gen dapat merupakan suatu hallmark of cancer, hal ini diamati pada limfoma sel B. Pola ekspresi merefleksikan jalur gen yang bervariasi yang didefinisikan fenotif sel. Sebagai contoh pada activated B-cell (ABC) type diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) adanya NF κ B mengindikasikan adanya aktivasi konstitutif dan ketergantungan biologis pada jalur ini.¹⁷ Patogenesis DLBCL sangat berkaitan dengan gangguan pada mekanisme epigenetik. Germinal center (GC) sel B pada DLBCL rentan terhadap ketidakstabilan pada sitosin pada pola metilasi. DLBCL mewarisi ketidakstabilan ini dan memunculkan heterogenitas epigenetik yang beragam. Heterogenitas yang tinggi terkait dengan klinis yang buruk. Mutasi somatik pada modifikasi protein histon juga merupakan hallmark DLBCL. Mutasi somatik menganggu

penggantian epigenetik yang mengontrol fenotif GC dan mengunci onkogenik GC sel B yang menghasilkan transformasi keganasan.¹⁸

Fenotif tipe sel berbeda ditentukan oleh epigenetik. Komponen utama dalam epigenetik adalah modifikasi sitosin, modifikasi histon, dan molekul RNA non-coding. Perubahan epigenetik dapat terjadi pada sel B inaktif menjadi aktif membentuk sentrum germinativum, kemudian epigenetik menghentikan reaksi GC dan menginduksi sel memori atau sel plasma berdiferensiasi. Gangguan pada epigenetik GC merupakan mekanisme penting pada pathogenesis DLBCL.¹⁸

3.3.1. Penyimpangan metilasi DNA

Perubahan epigenetik pada promoter sel B GC diantaranya metilasi DNA. Metilasi DNA pada promoter gen yang kaya CpG berhubungan dengan pembungkaman transkripsi, sedangkan metilasi sitosin pada gen terkait dengan aktivasi gen. Pada sel B GC, kehilangan metilasi DNA sering terjadi pada area promoter yang merupakan bagian fungsional dan binding site faktor transkripsi. Penyimpangan metilasi DNA pada regio promoter merupakan patogenesis DLBCL. Metilasi DNA pada binding site faktor transkripsi menghasilkan aktivasi transkripsi atau sebaliknya represi. Sebagai contoh metilasi sitosin pada residu spesifik intron pertama dari lokus BCL6 menganggu ikatan CTCF sehingga menyebabkan aktivasi transkripsi BCL6 pada sel limfoma karena kehilangan efek represi dari CTCF.¹⁹



Gambar 8. Perubahan epigenetik pada pengaturan fenotif GC.

Hipermetilasi pada regulasi gen berkaitan dengan pembungkaman gen dan hipometilasi berkaitan dengan ekspresi gen. Hipermetilasi pada regio yang kaya CpG di

intron pertama dari BCL6 telah dilaporkan mempertahankan tingkat ekspresi BCL6 yang tinggi karena blokade pengikatan regulator negatif pada lokus ini (CTCF). Penelitian pada metilasi DNA menunjukkan bahwa distribusi metilasi sitosin terganggu pada limfoma dibandingkan dengan sel B normal dan metilasi promoter umumnya berkorelasi terbalik dengan ekspresi gen. Dari hasil beberapa penelitian penyimpangan metilasi gen pada limfoma diketahui sebagai target PRC2 kompleks polycomb (termasuk EZH2) pada sel stem embrional.¹⁷

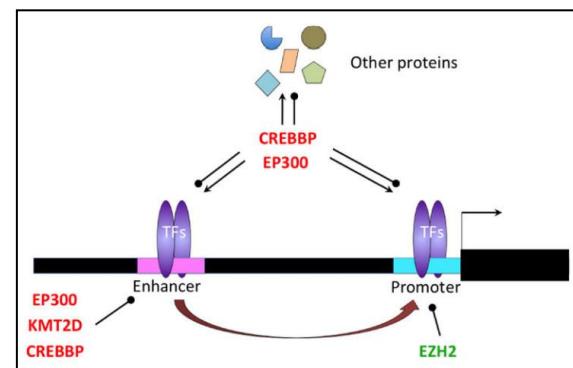
Pada penilaian profil metilasi pada DLBCL diketahui bahwa target gen EZH2 pada sel B mengalami hipermetilasi yang menyebabkan terjadinya kerusakan epigenetik pada limfoma dengan terjadinya pemisahan PRC2 dan metilasi sitosin pada sel B normal. Hal ini belum diketahui apakah merupakan mutasi dari EZH2 dan MLL namun menarik untuk dipertimbangkan bahwa gangguan dalam struktur kromatin dapat menyebabkan kesalahan lokasi metilasi sitosin dan menyebabkan penyimpangan pembungkaman epigenetik. Teori lain menyebutkan metilasi gen PRC2 pada limfoma merepresentasikan kejadian onkogenik selama perkembangan awal limfoid.²⁰

Patogenesis DLBCL juga berhubungan dengan reaksi pada GC terhadap respon imun humoral. Aktivasi sel T, kemudian diikuti sel B istirahat, merupakan dua jalur maturasi yang berbeda. Sebagian sel B segera mengalami peralihan kelas immunoglobulin dan berdiferensiasi menjadi plasma sel dengan afinitas rendah. Sebagian sel B lainnya bermigrasi ke folikel limfoid menjadi sentroblas dan membentuk GC zona gelap. Sentroblas berukuran lebih besar dibandingkan dengan sel B istirahat dengan nukleus irregular dan kromatin yang jarang. Sentroblas akan berproliferasi dengan cepat, pada hipermutasi somatik lokus immunoglobulin dan toleransi pada stress replikasi, ketidakstabilan genetik, pemrograman ulang metabolism dan stress lainnya. Mutasi somatik pada sentroblas memungkinkan transformasi keganasan.²¹

Bivalensi pada promoter gen merupakan tahapan penting untuk sel B istirahat berubah menjadi fenotif sel B GC dan EZH2. Sentroblas menunjukkan EZH2 yang menonjol, yang merupakan histon metiltransferase yang memediasi mono H3K27 dan di metilasi menjadi H3K27 trimetilasi (H3K27me3). EZH2

merupakan komponen enzim polycomb repressor complex 2 (PRC2), dan PRC2 dibutuhkan sebagai subunit EED dan SUZ12 untuk aktivitas enzimatiknya. PRC2 juga dibutuhkan untuk regulasi sel B GC. Deposisi dari H3K27me3 pada gen promoter menginduksi epigenetik silencing transkripsi yang kemudian akan merekrut PRC1 (menginduksi pemasaran kromatin dan mensupresi aktivitas RNA polymerase II). Masih banyak mekanisme aksi EZH2 dalam sel B GC yang belum terjawab. Sebagai contoh EZH2 tidak secara langsung berikatan dengan kromatin dan belum diketahui bagaimana EZH2 direkrut pada target gen GC. Pada beragam tipe sel menunjukkan EZH2 direkrut oleh lncRNA. Petunjuk lain pada pertanyaan ini adalah BCL6 yang merupakan repressor transkripsi dibutuhkan pada pembentukan GC, berikatan dengan EZH2 lalu menginduksi domain kromatin bivalen.²²

Mutasi somatik juga dapat mempengaruhi pengaturan epigenetik pada patogenesis DLBCL. Mutasi somatik mengubah protein epigenetik merupakan hallmark DLBCL. Mutasi pengubah epigenetik terdistribusi luas pada limfoma, hal ini mengindikasikan terjadinya pada tahapan awal limfomagenesis. Diantaranya yang paling sering mengalami mutasi mengubah epigenetik pada DLBCL adalah EZH2, EP300, CREBBP dan KMT2D (dikenal juga sebagai MLL4 atau MLL2).¹⁸



Gambar 9. Efek mutasi somatik pada enzim modifikasi histon.

Menurut Beguelin et al, mutasi pada EZH2 terjadi sekitar 21,7% pada pasien dengan GCB tipe DLBCL namun tidak pada ABC-DLBCL. Mutasi ini biasanya heterozigot dan efek utamanya pada residu tirosin 641, dengan presentasi lebih sedikit berefek pada alanin 682 atau 692, dengan semuanya berlokasi pada domain SET kalatik EZH2. Pada EZH2 wild type memediasi mono dan di metilasi H3K27, mutan

Y641 EZH2 menambahkan ketiga grup metil pada H3K27. Hal ini menghasilkan akumulasi masif dari H2K27m3 pada mutan Y641 pada sel DLBCL. Efek ini membutuhkan kerjasama biokemikal antara wild type dan Y641 mutan protein EZH2, hal ini juga menjelaskan mengapa mutasi EZH2 Y641 (dan alanin 682/692) bersifat heterozigot.²³

Knockin mutan Y641 EZH2 pada sel B GC menginduksi hyperplasia masif GC akanya melalui dua efek dari pemeliharaan proliferasi sentroblas dan bloking pada diferensiasi akhir. Hal ini menyebabkan akumulasi H3K27me3 dan sangat sesuai dengan pembungkaman kromatin bivalen pada promoter sebagai target gen EZH2. Selanjutnya ekspresi mutan Y641 EZH2 bekerjasama dengan onkogen seperti BCL2 dan MYC untuk akselerasi limfomagenesis.¹⁸

Berdasarkan penelitian Jiang et al, mutasi EZH2 juga terjadi pada 12% pasien dengan follicular lymphoma (FL), seperti pada DLBCL yang berasal dari GC sel B. EZH2 tidak pernah mengalami mutasi pada ABC-DLBCL hal ini mungkin karena EZH2 represi exit sentrum germinativum yang sama dari CD40 dan NFkB yang merupakan fenotif unik dari ABC-DLBCL.¹⁸

EP300 dan CREBBP merupakan anggota KAT3 yang merupakan keluarga HAT. Substrat utamanya yang penting adalah H3K18 dan H3K27 memberikan asetilasi serentak pada dua residu lisin yang mengurangi Ep300 Crebbp pada fibroblast mencit. Mutasi pada kedua gen tersebut sering terjadi pada DLBCL. Mutasi somatik pada EP300 pertama kali diidentifikasi pada DLBCL cell line dan menunjukkan terjadi pada sekitar 5-10% kasus DLBCL. Mutasi biasanya heterozigot dan menghasilkan pemotongan atau gangguan pada domain HAT. Sekitar 5% DLBCL mengandung delesi monoalel pada lokus EP300. Pemotongan EP300 memfasilitasi pertumbuhan limfoma pada cell line dan menganggu aktivitas transkripsi REL. EP300 merupakan target gen BCL6 dan ekspresi dominan negatif EP300 atau EP300 inhibitor dapat menyelamatkan sel DLBCL dari penarikan BCL6. Sehingga EP300 berfungsi sebagai tumor supresor protein pada DLBCL. Menarik untuk dibahas bahwa mekanisme EP300 kehilangan fungsi berkontribusi pada limfomagenesis yaitu dengan memperkuat represi melalui kompleks BCL6-SMRT. EP300 memediasi penambahan asetilasi H3K27 dan berkompetisi dengan kompleks BCL6-SMRT, hal ini masuk akal bahwa kehilangan fungsinya akan menginggalkan kompleks BCL6-SMRT-

HDAC3 sehingga terjadi ketidakseimbangan modifikasi histon kearah deasetilasi. Oleh karena itu mutasi pada EP300 menyebabkan gangguan perubahan epigenetik pada sel B GC, mencegah pengertian transkripsi BCL6.¹⁸

Mutasi somatik pada CREBBP, merupakan protein HAT dengan struktur yang mirip dengan EP300 lebih sering terjadi sekitar 18-35% pada kasus DLBCL. Sekitar setengah dari mutasi ini merupakan nonsense mutation, frameshift insertion, deletion base pairs dan varian splicing. Sama dengan EP300 mutasi ini bersifat heterozigot. Sekitar 11% DLBCL merupakan delesi monoalel lokus CREBBP. Untuk mekanisme CREBBP meningkatkan BCL6 masih belum jelas. Namun CREBBP dan EP300 mungkin mengasetilasi lebih dari lebih dari 1000 protein non histon. Sebagai contoh, pada penelitian in vitro kehilangan aktivitas CREBBP dan EP300 HAT menganggu asetilasi TP53 dan BCL6.²⁴

KMT2D merupakan histon metiltransferase yang berfungsi memediasi H3K4 monometilasi untuk mengatur penambahan gen dan memediasi aktivasi epigenetik pada ekspresi gen. KMT2D membentuk kompleks KMT2C dan H3K27 demetilase UTX. Mutasi somatik KMT2D dan UTX pada germline menyebabkan sindrom kabuki kongenital dengan gambaran kecacatan intelektual, perawakan pendek dan manifestasi lainnya. Somatik missense dan nonsense mutation KMT2D terjadi sekitar 23-27% pada pasien DLBCL dan pada banyak kasus merupakan heterozigot. Mutasi pada KMT2D menghasilkan hilangnya fungsi atau dominan negatif pada sel B. Walaupun KMT2D diekspreksikan pada folikular limfoma dan sel B GC, namun regulasi hal ini belum dapat dideskripsikan. KMT2D dan UTX berhubungan dengan proliferasi sel dan invasi pada tumor solid. Hal ini mungkin karena KMT2D membentuk bagian tambahan dari mekanisme penting selama perkembangan sel B, termasuk proliferasi sel dan migrasi sel B.²⁵

Metilasi DNA dapat digunakan dalam klasifikasi subtipen limfoma. Metilasi DNA yang terintegrasi dan profil ekspresi gen pada DLBCL dapat diidentifikasi untuk membedakan metilasi pada ABC dan GBC pada DLBCL yang mengindikasikan adanya perbedaan secara epigenetik. perbedaan metilasi gen pada ABC dan GBC DLBCL terutama pada TNF α /sitokin pada jalur metilasi dengan akurasi mencapai 92%. Pada studi lain perbandingan profil

metilasi DNA dalam membedakan mediastinal gray zone lymphoma dengan PMBL dan Hodgkin limfoma mengungkapkan sedikit perbedaan metilasi gen yang terkait dengan masing-masing subtipen. Meskipun memerlukan penilaian lanjutan, diagnosis berdasarkan morfologi sulit untuk membedakan limfoma dapat ditingkatkan dengan menggunakan biomarker DNA metilasi.¹⁷

Mantle cell lymphoma (MCL) menunjukkan 2 kali lebih banyak penyimpangan hipometilasi sebagai hipermetilasi lokus, mengindikasikan bahwa kehilangan penyimpangan metilasi merupakan dominan terjadi pada penyakit ini. Banyak gen terpengaruh oleh penyimpangan metilasi DNA di sekitar NFκB dan HDAC1. Ekspresi gen berkorelasi sebaliknya dengan metilasi pada lebih dari 1400 lokus. CD37, merupakan hipometilasi yang menyimpang dan overekspresei gen pada MCL, diekspresikan oleh permukaan sel MCL. Terapi antibody CD37-SMIP membunuh sel MCL dengan target gen hipometilasi pada terapi MCL. Sebaliknya, beberapa tumor supresor termasuk CDKN2b, HOXD8, MLF1 dan PCDH8 mengalami hipermetilasi dan pembungkaman pada MCL.¹⁷

3.3.2. Modifikasi Histon

Ketidakseimbangan metilasi histon merupakan kunci limfomagenesis. EZH2 merupakan komponen histon metiltransferase dari Polycomb Repression Complex 2 (PRC2) yang memetilasi histon 3 lisin 27 (H3K27). EZH2 memegang peranan penting pada program pengaturan pluripoten dan pembaharuan sel stem embrionik. Selama awal perkembangan sel B, EZH2 diperlukan untuk rekombinasi VDJ dan mengalami down regulasi pada sel B matur namun diekspresikan kembali setelah aktivasi sel T dependen pada germinal center (GC) sel B. Pada GC sel B, EZH2 berikatan dengan gen pada diferensiasi dan supresi perkembangan sel dan proliferasi sel seperti CDKN1A, CDKN1B dan CDKN2A. Banyak sel B merupakan target EZH2 (contoh pada jalur gen TGFβ) berbeda dengan sel embrioniknya. Dengan adanya pembungkaman epigenetik dan supresi jalur EZH2 mungkin memfasilitasi kemunculan mutasi genetik pada tahap ini yang kemudian dapat berkembang menjadi neoplasma. DLBCL dan FL merupakan turunan dari sel GC. EZH2 sering diekspresikan pada DLBCL dimana biasanya mengalami represi pada target gen sel B.¹⁷

Analisis dengan menggunakan next generation sequencing pada FL diidentifikasi

mutasi somatis yang heterozygot pada ekson 15 EZH2, penggantian dengan tirosin 641 (Y641) dengan residu histidin. Residu Y641 bereplikasi pada EZH2 SET (katalik) domain, memberikan efek pada aktivitas enzim dan aktivitas histon. pada wild type EZH2 mengkatalis H3K27 mono dan dimetilasi.¹⁷

3.4. Natural Killer/T-cell Lymphoma (NKTCL)

NKTCL merupakan keganasan yang agresif yang biasanya ada pada saluran pencernaan bagian atas. NKTCL menunjukkan keberagaman insidensi berdasarkan geografi dan dengan karakteristik infeksi Epstein barr virus (EBV). Insidensi NKTCL sekitar 10% pada limfoma sel T perifer. Penyimpangan epigenetik mungkin menyebabkan disregulasi pada ekspresi gen yang merupakan hallmark of cancer. Hipermetilasi promoter merupakan mekanisme umum yang menyebabkan inaktivasi TSG.²⁶

Infeksi EBV pada NKTCL memegang peranan penting pada patogenesis, EBV mengkode gen LMP1 ditunjukkan pada regulasi ekspresi PDL1 pada NK sel dan tingginya ekspresi PDL1 pada serum terkait dengan prognosis buruk dan respon rendah terhadap terapi. EBV akan mengintegrasikan pada gen NKTCL, akan menyebabkan kerusakan gen NHEJ1 host. EBV mengkode LMP1 onkoprotein dan mempromosikan progresi siklus sel, mencegah apoptosis melalui aktivasi jalur NFκB atau jalur PI3K/AKT. Banyak NKTCL merupakan NK sel origin dan biasanya berada pada hidung dan saluran cerna bagian atas. Adanya akumulasi penyimpangan epigenetik diduga merupakan patogenesis abnormalitas gen pada NKTCL.²⁶

3.4.1. Metilasi DNA

Hipermetilasi promoter terkait CpG island merupakan mekanisme down regulasi TSG pada beberapa kanker. Sejumlah TSG mengalami pembungkaman epigenetik melalui promoter terkait CpG island yang mengalami hipermetilasi pada NKTCL. Terdapat 5 TSG pada regio promoter yang mengalami metilasi yaitu (P73, hMLH1, p16, p15, dan RARβ). Telah diamati TSG mengalami hipermetilasi yang signifikan pada promoter pada pasien NKTCL, dengan gen P73 paling sering mengalami hipermetilasi (94%). p73 memiliki asam amino yang mirip dengan p53 yang dapat menginduksi apoptosis. Sangat menarik untuk dievaluasi pada pembungkaman transkripsi P73 pada NKTCL. Pada studi lain menunjukkan analisis komprehensif pada DLG1 di NKTCL dan tipe

lain limfoma dengan sekitar 77% terjadi metilasi pada NKTCL. DLG1 meningkatkan transkripsi pada NKTCL. Metilasi promoter PCDH10 (protocadherin 10) menyebabkan pembungkaman pada 100% keganasan NK sel, dan sekitar 20% pada NKTCL. Selain itu metilasi pada promoter CpG menyebabkan silencing DLEC1 sekitar 67% pada NK sel dan 75% pada NKTCL. Adanya pembungkaman DLEC1 diduga menginduksi siklus sel G1 istirahat dan menginhibisi formasi koloni pada hepatoselular karsinoma.²⁶

Pembungkaman epigenetik DAPK1 dan PTPN6 (SHP1) pada keganasan NK sel dan NKTCL. DAPK1 merupakan pro apoptotic serin/threonine kinase, yang merupakan target transkripsi p53. TET2, merupakan enzim katalis hidroksilase yang medemetilasi 5-metilsitosin pada DNA, telah diidentifikasi mengalami pembungkaman epigenetik karena hipermetilasi pada promoter. Selain itu metilasi dan pembungkaman transkripsi TET1 terjadi pada banyak karsinoma dan limfoma, termasuk pada NKTCL. Sekitar 95 pembungkaman secara epigenetik telah diidentifikasi pada NKTCL.²⁶

Penelitian dengan NGS mengungkapkan mutasi somatik pada regulasi gen pada epigenetik termasuk ARID1A, ASXL3, CREBBP, KMT2D (MLL2), KMD6A, EP300 dan TET2 pada NKTCL. Aktivitas p53 dapat diregulasi oleh EP300 yang memediasi asetilasi sebagai respon pada kerusakan DNA. Sehingga penyimpangan genetik pada EP300 berkontribusi pada NKTCL. Mirip dengan EP300, CREBBP merupakan histon asetil transferase keduanya dapat mengatur transkripsi melalui mekanisme berbeda.²⁶

3.4.2. Modifikasi Histon

Gen MLL2 atau KT2D atau MLL4 mengkode histon metiltransferase yang memetilasi lisin-4 dari histon H3 (H3K4), modifikasi ini terkait dengan kromatin yang aktif transkripsi. MLL diekspresikan pada jaringan manusia dan penting untuk pertumbuhan selama fase embriogenik. Protein ini mengandung 2 klaster plant homeotic domains (PHDs), yang ditambahkan pada domain N-terminal dan secara enzimatik aktif pada c-terminal SET domain. Klaster kedua PHDs mengenali ekor H4 dan mungkin memetilasi MLL2 yang dikatalis dalam nukleosom.

3.4.3. Non koding RNA pada NKTCL

Non koding RNA termasuk RNA rantai panjang atau rantai pendek yang meregulasi ekspresi gen melalui mekanisme yang beragam.

miR-155 merupakan onkogen miRNA menunjukkan overekspresi dan promosi limfomagenesis pada DLBCL dan anaplastic large cell lymphoma (ALCL). Pada beberapa penelitian lain menunjukkan miR-155 juga overekspresi pada NKTCL. miR-155. Beberapa penelitian berfokus pada meneliti EBV yang mengkode miRNA dan pathogenesis NKTCL. Salah satu penelitian menunjukkan miRNA yang diekspresikan EBV (BART9 miRNA), diekspresikan secara berlebihan pada NKTCL dan mendukung pertumbuhan sel melalui peningkatan LMP1, onkogen yang dikode EBV. EBV mengkode miRNA, EBV-miR-BHRF1-2 menginhibisi PRDM1 melalui targetnya pada regio 3'UTR pada limfoblastoid. Mekanisme epigenetik pembungkaman PRDM1 selama EBV limfomagenesis. Ekspresi protein PRDM1 diinhibisi oleh EBV yang mengkode miRNA pada NKTCL.²⁶

Non koding RNA rantai panjang (lncRNA) memodulasi ekspresi gen menggunakan mekanisme yang berbeda dengan miRNA. Seperti miRNA, lncRNA memiliki fungsi penting dengan hallmark of cancer yang berbeda (melawan kematian sel, replikasi immortal). Namun penelitian mengenai patogenesis NKTCL dengan lncRNA masih sedikit. Hasil penelitian menunjukkan 166 lncRNA dan 66 lncRNA overekspresi signifikan dan underekspresi pada pasien NKTCL. ZFAS1 merupakan salah satu lncRNA yang mengalami overekspresi yang telah diidentifikasi. ZFAS1 atau kesalahan regulasi lncRNA menyebabkan tumorigenesis pada NK sel.²⁶

3.5. Hodgkin Limfoma Klasik (cHL)

Merupakan tumor ganas yang berasal dari sel B. Menurut data statistik kanker sekitar 8000 kasus baru Hodgkin limfoma di United States. Hodgkin limfoma dibagi menjadi 2 tipe menurut klasifikasi WHO yaitu klasik Hodgkin limfoma dan nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma (NLPHL) dengan subtipenya nodular sclerosis, mixed cellularity, lymphocyte rich, dan lymphocyte depleted HL. Fenotip keganasan pada cHL diregulasi melalui genetik dan mekanisme epigenetik. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa gen pengkode NFkBIA yaitu protein IkBα mengalami mutasi pada 15% sel Hodgkin Reed Sternberg (HRS). LMP1 yang diekspresikan oleh EBV meningkat 40% pada sel HRS, subunit NFkB gen REL mengalami amplifikasi dan CD40L bereaksi dengan CD40 pada membran sel. Hal tersebut dapat terjadi pada aktivasi NFkB yang abnormal. Meskipun

sel dan molekul teknik genetik telah berkembang dengan cepat pada beberapa tahun terakhir, kelainan abnormalitas yang spesifik pada driver gen karsinogenik belum ditemukan pada cHL. Pada gen HRS menunjukkan penataan ulang yang sama seperti pada sel B normal, namun ekspresi penanda sel B mengalami down regulasi pada membran sel, sehingga dapat dikonfirmasi bahwa HRS merupakan sel maligna yang berasal dari limfosit B. Hal ini mungkin dapat terjadi karena kelainan pada perubahan epigenetik yang menyebabkan hilangnya penanda pada sel B.²⁷

Selain itu pembungkaman epigenetik dapat melalui protein polycomb group (PcG). Pada manusia protein PcG 2 fungsional dan biological yang berbeda yaitu multinumerik polycomb repressive complex yang disebut PRC1 dan PRC2. PRC2 menginisiasi represi transkripsi melalui trimetilasi histon H3 lisin 27 (H3K27), sedangkan PRC1 memelihara kondisi represi. Kompleks PcG memegang peranan penting pada perkembangan sel B dan reaksi sentrum germinativum, dan peningkatan atau penurunan aktivitas protein PcG berkontribusi pada limfomagenesis. cHL merupakan neoplasma limfoid monoclonal yang berasal dari sel B sentrum germinativum. Kunci dalam membedakan cHL dengan limfoma sel B adalah tidak adanya penanda limfoma sel B pada sel HRS (CD19, CD20, CD79b).²⁸

3.5.1. Abnormal Metilasi DNA pada cHL

Metilasi DNA memiliki peranan penting pada aktivitas gen dan transkripsi. Dalam tumorigenesis, CpG island pada TSG mengalami hipermetilasi, sebagai hasil perubahan struktur kromosom dan pembungkaman ekspresi gen. Pada beberapa TSG mengalami inaktivasi oleh adanya hipermetilasi promoter pada limfoma. Dibandingkan dengan limfosit B normal, terjadi peningkatan metilasi yang signifikan pada 383 CpG island pada cHL. Pada CpG island, promoter gen CD79 β , BOB1, dan SYK mengalami hipermetilasi, hilangnya fenotif sel B yang terjadi pada sel HRS terkait pembungkaman gen yang disebabkan oleh metilasi pada gen tersebut.²⁹

Tidak seperti pada mutasi genetik, epigenetik misal pada penyimpangan metilasi DNA pada tumor bersifat reversible dan beberapa TSG dapat dikembalikan dengan demetilasi pada tumor atau lesi pra kanker. Sehingga regimen demetilasi dapat digunakan untuk terapi tumor maligna.²⁷

3.5.2. Asetilasi Histon pada cHL

Replikasi DNA atau transkripsi pada sel eukariot tergantung pada kompleks struktur histon DNA. Modifikasi histon diatur oleh keseimbangan antara enzim HAT dan HDAC. HAT dan HDAC juga dapat memodifikasi beberapa protein non-histon seperti HSP90, HIF-1 dan p53. Family GNAT terdapat empat member yaitu GCN5, HAT1, PCAF dan ATF2; CBP/p300; family MYST mencakup TIP60, MOZ, MORF, HBO1 dan MOF; family koaktivasi molekul steroid reseptor (SRC) mencakup NCOA1, NCOA2, dan NCOA3; dan HAT lainnya mencakup TAF1 (TAFII250), CLOCK dan TFIIC. Setiap HAT mengandung subunit katalitik dan protein-protein yang diakui subunit yang mengkatalisis dari histon asetilasi DNA. CBP mengalami mutasi pada cHL, dapat berupa mutasi nonsense dan atau deletion. Mutasi missense juga dapat dideteksi pada p300. Namun mutasi yang terjadi pada cHL ini belum dapat dijelaskan lebih lanjut. Secara teori mutasi pada HAT menyebabkan abnormal pada fungsi HAT dan terjadi promosi pertumbuhan sel tumor.²⁷

HDAC memiliki family yang terdiri dari 18 isoform dan dibagi menjadi 4 kelas yang terdiri dari kelas I (HDAC1, 2, 3, dan 8), kelas II (HDAC4, 5, 6, 7, 9, dan 10), kelas III (terdiri dari 7 sirtuins) dan kelas IV (HDAC11). Kelas III (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD-dependent) berperan dalam regulasi proses seluler seperti kesintasan, penuaan, respon stress dan metabolisme. Kelas I, II, IV (zinc-dependent type) terkait keberagaman malignansi pada tumor solid dan hematologi. HDAC sering mengalami overekspresi pada cHL, namun mutasi genetik jarang terjadi. HDAC kelas I mengalami overekspresi pada cHL dan sel HRS tumor jaringan. Selain itu HDAC4 sering overekspresi dan HDAC 7,9, dan 10 juga overekspresi melalui mekanisme yang berbeda. Sebagai tambahan HD-LM2 pada cHL, HDAC6 mengalami overekspresi sedangkan pada tumor jaringan lain tidak atau mengalami ekspresi yang rendah. HDAC11 diekspresikan pada cHL cell lines dan tidak diekspresikan pada sampel cHL jaringan. Pada studi lain menunjukkan HDAC1, HDAC3, dan HDAC11 diekspresikan signifikan pada sel HRS, dimana HDAC diekspresikan rendah.²⁷

RINGKASAN

1. Mutasi genetic saja tidak langsung menyebabkan keganasan, ditambah dengan adanya penyimpangan epigenetic → keganasan.
2. Perubahan epigenetic tidak menyebabkan perubahan urutan nukleotida DNA.
3. Epigenetik mengatur ekspresi gen.
4. Perubahan epigenetic → epigenetic silencing.
5. Penting untuk selanjutnya dipelajari agar mendapatkan terapi kanker yang lebih spesifik.
6. Perubahan epigenetic dapat terjadi melalui metilasi DNA, modifikasi histon, perubahan pada microRNA dan longRNA.
7. Pada AML sering terjadi metilasi DNA dan dapat disertai modifikasi histon.
8. Pada ALL metilasi DNA sering terjadi pada TSG dan CpG island dan modifikasi histon terutama melalui perubahan HDAC. Selain itu uniknya pada ALL terjadi overekspresi dari miRNA.
9. Beberapa subtype limfoma sel B juga dapat mengalami perubahan epigenetic diantaranya DLBCL, MCL dan FL.
10. Natural Killer T Cell Lymphoma mengalami perubahan epigenetic melalui mekanisme metilasi DNA, modifikasi histon, miRNA dan lncRNA. Selain itu infeksi EBV pada keganasan ini berkontribusi menyebabkan perubahan epigenetic.
11. Perubahan epigenetic pada Hodgkin limfoma tipe klasik terutama terjadinya hipermetilasi yang signifikan pada CpG island di area promoter gen.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pecorino L. Molecular Biology of Cancer Mechanism, Targets, and Therapeutics. Third Edit. Oxford University Press; 2012.
2. Kumar, Vinay. Abbas, Abul K. Aster JC. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Ninth Edit. Elsevier; 2015.
3. Sharma S, Kelly TK, Jones PA. Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis*. 2009;31(1):27-36. doi:10.1093/carcin/bgp220
4. Country-specific I, Method N, Country-specific M. IARC-Epidemiologi Kanker Indonesia. 2020;256:1-2.
5. Bates SE. Epigenetic Therapies for Cancer. *N Engl J Med*. 2020;383(7):650-663. doi:10.1056/nejmra1805035
6. Liu X liang, Liu H qiu, Li J, Mao C ying, He J ting, Zhao X. Role of epigenetic in leukemia: From mechanism to therapy. *Chem Biol Interact*. 2020;317(January). doi:10.1016/j.cbi.2020.108963
7. Ley TJ. Genomic and Epigenomic Landscapes of Adult De Novo Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2013;368(22):2059-2074. doi:10.1056/nejmoa1301689
8. Spencer, DH. Russler-Germain, DA. Ketkar S et al. CpG Island hypermethylation mediated by DNMT3A is consequence of AML progression. *Physiol Behav*. 2018;176(1):139-148. doi:10.1016/j.cell.2017.01.021.CpG
9. Valle V Della, Ph D, James C, et al. Mutation in TET2 in Myeloid Cancers. Published online 2012.
10. Jaiswal S, Natarajan P, Silver AJ, et al. Clonal Hematopoiesis and Risk of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*. 2017;377(2):111-121. doi:10.1056/nejmoa1701719
11. Ward, PS. Jay P. WD et al. The Common Feature of Leukemia-Associated IDH1 and IDH2 mutations is a Neomorphic Enzyme Activity Converting Alpha-ketoglutarate to 2-hydroxyglutarate Cancer Cell. *Bone*. 2011;23(1):1-7. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.110.956839
12. Mason CE. Epigenetic Modifications in Acute Myeloid Leukemia: Prognosis, Treatment, and Heterogeneity. 2019;(March). doi:10.3389/fgene.2019.00133
13. DiNardo CD, Stein EM, de Botton S, et al. Durable Remissions with Ivosidenib in IDH1 -Mutated Relapsed or Refractory AML. *N Engl J Med*. 2018;378(25):2386-2398. doi:10.1056/nejmoa1716984
14. Stein EM, DiNardo CD, Fathi AT, et al. Molecular remission and response patterns in patients with mutant-IDH2 acute myeloid leukemia treated with enasidenib. *Blood*. 2019;133(7):676-687. doi:10.1182/blood-2018-08-869008
15. Navarrete-Meneses M del P, Pérez-Vera P. Epigenetic alterations in acute lymphoblastic leukemia. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2017;74(4):243-264. doi:10.1016/j.bmhimx.2017.02.005
16. Burke MJ, Bhatla T. Epigenetic modifications in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Front Pediatr*.

- 2014;2(MAY):1-7.
doi:10.3389/fped.2014.00042
17. Shakhnovich R, Melnick A. Epigenetics and B-cell lymphoma. *Curr Opin Hematol.* 2011;18(4):293-299.
doi:10.1097/MOH.0b013e32834788cf
18. Jiang Y, Melnick A. The Epigenetic Basis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Semin Hematol.* 2015;52(2):86-96.
doi:10.1053/j.seminhematol.2015.01.003
19. Lai AY, Fatemi M, Dhasarathy A, et al. DNA methylation prevents CTCF-mediated silencing of the oncogene BCL6 in B cell lymphomas. *J Exp Med.* 2010;207(9):1939-1950. doi:10.1084/jem.20100204
20. Martín-Subero JI, Kreuz M, Bibikova M, et al. New insights into the biology and origin of mature aggressive B-cell lymphomas by combined epigenomic, genomic, and transcriptional profiling. *Blood.* 2009;113(11):2488-2497.
doi:10.1182/blood-2008-04-152900
21. Bergendal E. 基因的改变NIH Public Access. *Bone.* 2008;23(1):1-7.
doi:10.1016/j.molmed.2014.03.001.Breakin g
22. Chase A, Cross NCP. Aberrations of EZH2 in cancer. *Clin Cancer Res.* 2011;17(9):2613-2618. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-2156
23. Béguelin W, Popovic R, Teater M, et al. NIH Public Access. 2014;23(5):677-692.
doi:10.1016/j.ccr.2013.04.011.EZH2
24. Pasqualucci L, Dominguez-Sola D, Chiarenza A, et al. Inactivating mutations of acetyltransferase genes in B-cell lymphoma. *Nature.* 2011;471(7337):189-196. doi:10.1038/nature09730
25. Guo C, Chen LH, Huang Y, et al. KMT2D maintains neoplastic cell proliferation and global histone H3 lysine 4 monomethylation. *Oncotarget.* 2013;4(11):2144-2153.
doi:10.18632/oncotarget.1555
26. Küçük C, Wang J, Xiang Y, You H. Epigenetic aberrations in natural killer / T-cell lymphoma : diagnostic , prognostic and therapeutic implications. Published online 2020:1-14. doi:10.1177/1758835919900856
27. Liu Y, Huang R, Liu L, Meng Y, Liu X. Epigenetic abnormalities of classical Hodgkin lymphoma and its effect on immune escape. *Cell Biochem Funct.* 2020;38(3):242-248. doi:10.1002/cbf.3463
28. Seitz V, Thomas PE, Zimmermann K, et al. Classical hodgkin's lymphoma shows epigenetic features of abortive plasma cell differentiation. *Haematologica.* 2011;96(6):863-870.
doi:10.3324/haematol.2010.031138
29. Ammerpohl O, Haake A, Pellissery S, et al. Array-based DNA methylation analysis in classical Hodgkin lymphoma reveals new insights into the mechanisms underlying silencing of B cell-specific genes. *Leukemia.* 2012;26(1):185-188.
doi:10.1038/leu.2011.194