
Fusi Gen *Translocation Ets Leukemia-Acute Myeloid Leukemia 1* (Tel-Aml1) Sebagai Faktor Prognosis pada Leukemia Limfoblastik Akut Anak

Sri Mulatsih¹, Sunarto¹, Sutaryo¹

¹ Bagian Ilmu Kesehatan Anak, RSUP Dr. Sardjito/ FK UGM, Yogyakarta

Fungsi fusi gen TEL-AML1 dalam leukemogenesis adalah mempengaruhi kunci proses pengaturan, termasuk kenaikan proses *cell-renewal* yang tidak terkontrol, menghentikan proliferasi dan diferensiasi yang menyebabkan resistensi terhadap proses apoptosis. Banyak studi menghasilkan data bahwa prognosis pasien leukemia limfoblastik akut (LLA) dengan fusi gena TEL-AML1 masih kontroversi, khususnya prognosis jangka panjang. Banyak penelitian yang menghubungkan adanya fusi gena ini dengan resistensi terhadap kemoterapi, dan lainnya menggunakan *minimal residual disease* (MRD) untuk melihat respons terhadap pengobatan. Adanya *co-existences* gena lain bisa memberikan kontribusi terhadap prognosis pasien LLA dengan fusi gen TEL-AML1. Dibutuhkan lebih banyak studi translasional untuk lebih memahami peran fusi gen dalam klinik. Pengetahuan mendasar mekanisme molekular pada leukemia sangat penting, khususnya dalam penanganan pasien. Pemahaman yang lebih baik tentang patogenesis leukemia bisa menghasilkan pengertian dan pengetahuan baru untuk menyusun strategi baru dalam penanganan pasien LLA yang didasarkan kaidah molekular. (*Sari Pediatri* 2009;10(6):404-9).

Kata kunci: leukemia limfoblastik akut, TEL-AML1, prognosis

Alamat Korespondensi:

Dr. Sri Mulatsih, Sp.AK. Bagian Ilmu Kesehatan Anak, RSUP Dr. Sardjito
Jl. Kesehatan No.1, sekup Utara, Yogyakarta. Fax: +62-274-583745
Phone: +62-274-553142 Email: mulat_wahyudi@yahoo.com

Angka keberhasilan terapi LLA meningkat sejak tahun 1960. *Event free survival* (EFS) mendekati 80% pada anak, dan 40% pada dewasa. Nilai kesembuhan (yang didefinisikan sebagai tidak-adanya bukti penyakit selama minimal 10 tahun) untuk anak mendekati 80%.¹ Berbagai gambaran klinis, biologis, genetik, dan molekular dapat digunakan sebagai indikator prognostik yang sangat bermakna terhadap luaran

kasus LLA.² Banyak peneliti memfokuskan penelitian di bidang molekular sebagai dasar patogenesis serta penentuan prognosis LLA atau kanker lain.

Genetika molekular LLA

Gen-gen berperan pada patogenesis terjadinya kanker melalui dua mekanisme umum. Mekanisme pertama adalah gangguan struktur gen yang normal (*proto-oncogene*) yang akan menghasilkan gen baru (sebagai *oncogene*) menghasilkan protein yang berperan pada sel pejamunya untuk menginduksi terjadinya malignansi. Produk protein biasanya berperan pada proliferasi sel, diferensiasi, atau *survival*. Mekanisme kedua adalah hilang atau tidak aktif gen yang menyandi protein penekan kanker. Gen klas ini dikenal sebagai *tumor-suppressor genes* atau *anti-oncogenes*.³ Gen-gen yang berperan terhadap terjadinya kanker termasuk LLA dan progresifitasnya dapat dikelompokkan ke dalam beberapa famili didasarkan pada fungsi protein yang disandi. Famili yang paling besar terdiri dari gen yang menyandi faktor transkripsi, protein terikat pada regulator gen target dan akan menstimulasi atau menghambat transkripsi.⁴ Famili lain yang penting termasuk gen yang menyandi proteinkinase, protein yang berperan pada program kematian sel (apoptosis), dan protein-protein dengan fungsi *sebagai tumor suppressor*, apabila hilang akan memberikan kontribusi terhadap tumorigenesis.⁵

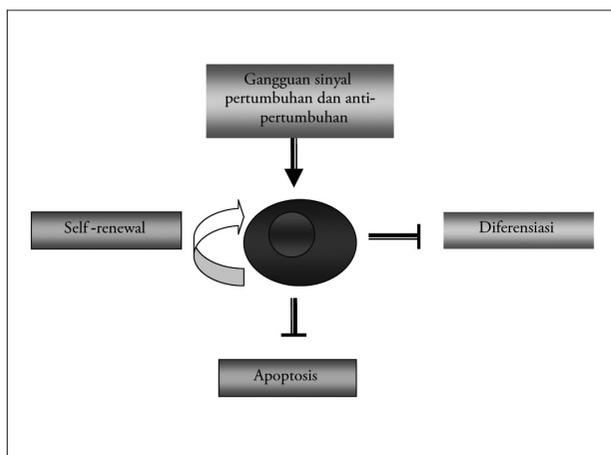
Gangguan pada anggota famili gen spesifik dihubungkan dengan tipe leukemia. Gen *leukemogenic* terjadi karena gen normal mengalami mutasi, fusi pada

gen lain, *rearrangement*, atau hilang. *Proto-oncogen* yang berperan pada kontrol proliferasi atau *survival* akan berubah menjadi *oncogen* yang menginduksi kanker sebagai akibat fusi gen ke gen lainnya atau mutasi. Fusi atau mutasi akan menghasilkan gangguan regulasi ekspresi gen atau produk gen yang abnormal sehingga akan menyebabkan proliferasi atau *survival* yang abnormal sel pejamu. Hal ini merupakan step awal dari evolusi leukemia. *Tumor-suppressor genes* bisa mengalami disrupsi karena mutasi, *rearrangements*, atau delesi. Hasilnya adalah produk gen *tumor-suppressor genes* hilang, yang akan berakibat terjadi proliferasi atau *survival* yang tidak normal. Hal ini sering sebagai kejadian sekunder yang menghasilkan bentuk yang lebih agresif leukemia.³

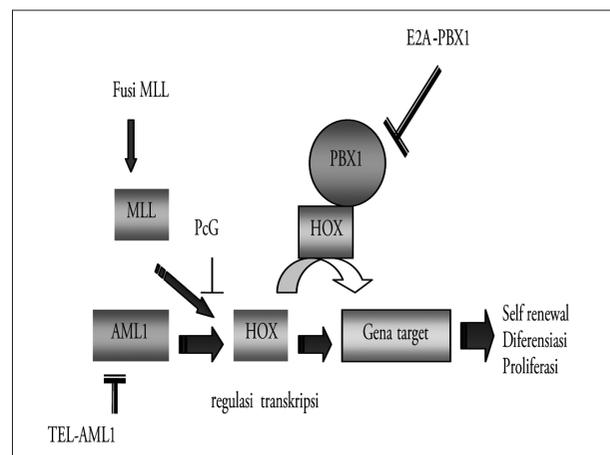
Beberapa gangguan gen dapat ditunjukkan secara mikroskopik sebagai perubahan segmen kromosom gen tersebut berada, dan abnormalitas kromosom pada leukemia sering digunakan sebagai petanda perubahan struktur genetika. Beberapa abnormalitas lain dapat dideteksi hanya dengan analisis molekular karena segmen DNA yang mengalami *rearranged*, hilang, atau mutasi tidak terlihat secara mikroskopik.⁶

Peran TEL-AML1 dalam leukemogenesis

Fusi gen TEL-AML1 menyebabkan peningkatan secara tidak terkendali kapasitas perbanyak diri (*self-renewal*), kegagalan kontrol proliferasi normal, terhalanginya diferensiasi, dan terjadi resistensi terhadap sinyal kematian (apoptosis) sel hematopoiesis (Gambar 1a). Alur umum target transformasi sel hematopoietik



Gambar 1a. Transformasi leukemogenik⁷



Gambar 1b. Mekanisme TEL-AML1 dalam leukemogenesis⁷

pada patogenesis LLA adalah hasil translokasi faktor transkripsi, seperti fusi protein *mixed-lineage leukemia* (MLL), *translocation-ETS-leukemia* (TEL-AML1), dan *a helix-loop-helix protein-pre-B-cell transforming* (E2A-PBX1), yang merupakan suatu kaskade yang dimediasi oleh gen *homeobox* (HOX). Fungsi kompleks faktor transkripsi AML1-CBF β (AML1) baik secara langsung maupun tidak langsung meregulasi transkripsi anggota khusus dari *family* gen HOX. Protein MLL dibutuhkan untuk menjaga transkripsi ini, sedangkan anggota protein *polycomb group* (PcG) berfungsi menekan transkripsi gen HOX. Protein HOX, kemudian bekerjasama dengan kofaktor, termasuk protein PBX1, untuk menginduksi transkripsi gen target, yang produknya akan mempengaruhi *self-renewal*, proliferasi, dan diferensiasi sel stem hematopoietik, termasuk progenitornya (Gambar 1b).

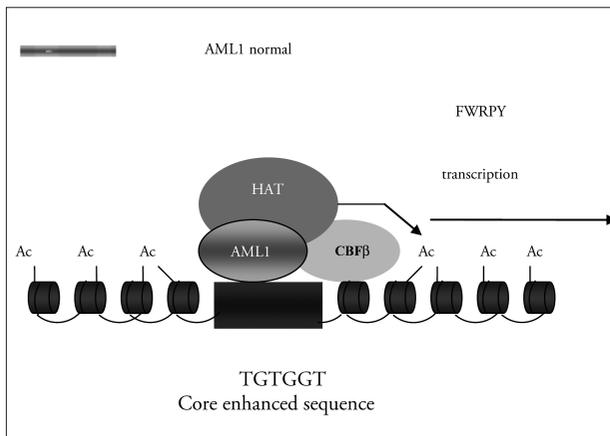
Mekanisme penekanan transkripsi oleh TEL-AML1

Mekanisme penekanan transkripsi oleh TEL-AML1 tampak pada Gambar 2. Panel a memperlihatkan struktur AML1, terdiri dari *central runt homology domain* (RHD), yang membantu ikatan DNA dan heterodimerisasi dengan CBF β , domain *transcriptional activation* (TA), dan C-terminal asam amino VWRPY (kode asam amino tunggal), yang membantu ikatan pada *groucho corepressor*. Struktur AML1 terikat pada inti yang mengatur peningkatan pengaturan transkripsi sebagai bentuk heterodimer dengan CBF β , dan bersama-sama mereka akan menarik kompleks

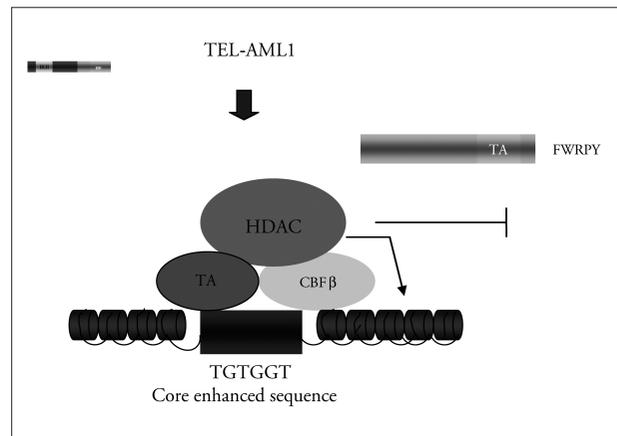
aktifasi transkripsi termasuk disini aktifitas *histone acetyltransferase* (HAT). Protein HAT *acetylate* (Ac) *lysin* tertinggal dalam inti *histone*, yang membuka struktur kromatin dan menghasilkan aktifasi transkripsi (panah). Panel b memperlihatkan struktur t(12;22) yang menghasilkan protein fusi TEL-AML1, dan domain *N-terminal helix-loop-helix* (HLH) dari TEL mengalami fusi ke protein yang paling dekat dengan AML1. Ujung panah menunjukkan tempat terjadinya fusi antara segmen ini. Protein TEL-AML1 mempunyai kemampuan untuk terikat pada *core enhanced sequence* dan membentuk heterodimer dengan CBF β ; namun demikian tidak seperti protein AML1 normal, hal ini akan menarik komplek *transcriptional corepressor* termasuk protein *histone deacetylase activity* (HDAC), yang melepaskan grup *acetyl* dari *histone*, menghasilkan penekanan dan kromatin dari transkripsi yang lebih berdekatan.⁷

Peran TEL-AML1 dalam praktek klinik

Usia dan jumlah sel darah putih pada saat diagnosis merupakan faktor prognosis tersendiri, namun akhir-akhir ini telah dilakukan penelitian untuk menentukan nilai kemaknaan antara translokasi kromosom dengan prognosis pada pasien LLA *T-lineage*. Kelainan kromosom, termasuk translokasi khusus pada penelitian bukan acak, sering dijumpai pada sejumlah besar kelompok anak LLA *T-lineage*, tetapi tidak bermakna sebagai faktor prognosis pada penelitian kohort.⁸ Skrining untuk TEL-AML1 sebagai hasil t(12;21)(p13;q22) menjadi hal yang



Gambar 2a. Peran AML1 dalam transkripsi⁷



Gambar 2b. Mekanisme penekanan transkripsi oleh TEL-AML1⁷

rutin dilakukan untuk diagnosis kekambuhan, dan mungkin digunakan sebagai alat untuk stratifikasi pengobatan.⁹ Kontribusi fusi gen ini secara umum belum diketahui, tetapi salah satunya mempengaruhi survival dan apoptosis.¹⁰

Melalui metode konvensional kasus translokasi t(12;21)(p13;q22) hanya ditemukan kurang dari 0,05%,¹¹ tetapi dengan metoda *fluorescence in situ hybridization* (FISH) dan/atau dengan *reverse-transcriptase polymerase chain reaction* (RT PCR) ditemukan pada 16%-27% kasus B-ALL. Sebagian besar pasien terdiagnosis saat berusia 2-9 tahun.¹² Beberapa peneliti mendapatkan hasil bahwa fusi gen berhubungan dengan luaran yang baik.^{13,14} Sekitar 22% dari seluruh kasus LLA di republik Czech mengalami fusi gen TEL-AML1. Anak yang terdiagnosis dengan fusi gen tersebut sebagian besar usia pra sekolah dengan leukemia tipe sel B, dan mendapat hasil terapi sangat bagus.¹⁵ Anak-anak yang mempunyai TEL/AML1 positif secara bermakna memiliki kemungkinan kekambuhan yang lebih rendah dibandingkan dengan TEL/AML1 negatif,^{16,17} namun prognosis jangka panjang belum diketahui. Penelitian lain menemukan bahwa frekuensi TEL/AML1 pada pasien yang mengalami kekambuhan adalah sama dengan yang dilaporkan pada saat diagnosis. Hal ini menunjukkan bahwa TEL/AML1 positif mungkin juga bukan suatu petunjuk atau indikator faktor prognosis yang baik seperti yang dilaporkan sebelumnya.¹⁸

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mencari hubungan antara fusi gen dengan sensitifitas terhadap kemoterapi. Fusi gen dihubungkan dengan prognosis yang baik karena tingginya sensitifitas selular terhadap L-asparaginase (L-Asp), karena kadar *asparagine synthetase* (AS) yang rendah. Resistensi terhadap L-asp terjadi sebagai akibat kadar AS dalam sel naik atau kemampuan sel yang resisten secara cepat mengekspresikan gen AS karena paparan L-Asp. Hipotesis tersebut dibantah karena hasil penelitian menunjukkan tidak ada perbedaan antara pasien LLA dengan t(12;21) positif dan negatif dalam kapasitas meningkatkan regulasi AS, setelah secara *in vitro* dipaparkan L-Asp. Tidak ada korelasi antara ekspresi AS mRNA dengan sensitifitas terhadap L-Asp. Dapat disimpulkan bahwa sensitifitas anak LLA dengan t(12;21) terhadap L-Asp tidak berhubungan dengan ekspresi kadar gen AS. Lebih dari itu, hasil berbeda dengan pengetahuan secara umum bahwa sel leukemia

secara khusus kekurangan AS dibanding dengan sel normal sumsum tulang maupun sel darah.¹⁹ Penelitian lain yang melakukan analisis kuantitatif ekspresi AS menunjukkan bahwa kemampuan sel dengan TEL/AML1[+] menaikkan kadar AS mRNA setelah terapi L-asparaginase lebih tinggi daripada sel leukemia dengan TEL/AML1[-] maupun sel limfoid non leukemik. Diduga bahwa sel dengan TEL/AML1[+] kurang mampu untuk melanjutkan proses siklus sel ke fase S karena tekanan nutrisi disebabkan karena L-asparaginase, disamping itu juga karena kemampuan menaikkan regulasi AS. Secara signifikan ekspresi AS lebih tinggi pada sel leukemia dengan TEL/AML1[+] (n=20) yang diterapi dibandingkan dengan anak-anak yang belum diketahui fusi genanya (n=25; p=0,0043). Tidak ada anak LLA dengan TEL/AML1[+] dan kadar AS tinggi mengalami relaps, sementara 10/15 pasien dengan kadar AS di bawah median mengalami relaps (p=0,00028). Anak TEL/AML1[+] dengan kadar AS tinggi dihubungkan dengan prognosis yang lebih baik, kemungkinan karena pengaruh metabolisme pada sel limfoblast.²⁰ Sebaliknya, pada LLA sel B resistensi terhadap L-Asp dan risiko relaps dihubungkan dengan ekspresi AS yang tinggi pada TEL-AML-negatif, tetapi tidak pada TEL-AML-positif.²¹ Penelitian selanjutnya menyimpulkan bahwa meskipun paparan L-Asp menyebabkan ekspresi mRNA AS, kenaikan regulasi ekspresi gen tidak berhubungan dengan respon awal yang jelek terhadap obat tersebut pada anak dengan LLA.²²

Penelitian lain banyak melihat luaran terapi pada pasien dengan fusi gen melalui penelitian MRD (*minimal residual disease*) pada waktu induksi atau sesudah terapi induksi. Kasus LLA dengan TEL-AML1-positif lebih sensitif terhadap terapi induksi dibandingkan TEL-AML1-negatif. Respon awal secara bermakna lebih tinggi pada kelompok dengan TEL-AML1-positif. Kualitas remisi pada kelompok dengan TEL-AML1-positif sangat bagus, hal ini dibuktikan dengan sangat rendah sampai tidak ada MRD *burden* dari spesimen sumsum tulang pada akhir induksi. Pasien dengan TEL-AML1-positif juga mempunyai luaran terapi EFS awal yang bagus. Kemungkinan EFS pada 30 bulan adalah (98,9±1,0)% pada kelompok TEL-AML1-positif dan (92,1±1,5)% grup TEL-AML1-negatif (p=0,0001).²³ Pasien LLA dengan TEL/AML1-positif memiliki respon induksi lebih baik pada hari ke tigapuluh tiga dibandingkan kelompok pasien LLA lainnya (p=0,0001). Namun demikian,

empat pasien dengan TEL-AML1 positif mengalami relaps. Dalam analisis Kaplan-Meier mengenai *disease free survival* terlihat berbeda secara bermakna pada distribusi MRD positif dibanding negatif; *log-rank* $p= 0,0016$. Sehingga disimpulkan, meskipun secara umum TEL-AML1 positif dihubungkan dengan prognosis yang baik, MRD positif pada akhir induksi menunjukkan gambaran prognosis yang buruk.²⁴ Penemuan yang berbeda menyebutkan sebagian besar pasien yang mengalami fusi gen TEL-AML1 pada awal diagnosis menunjukkan prognosis yang baik. Adanya fusi gen yang menetap pada MRD, tidak menambah nilai prognostik.²⁵

Beberapa penelitian menyebutkan luaran terapi dari pasien dengan fusi gen TEL-AML1 sangat dipengaruhi oleh ekspresi gen lain yang menyertai. Sebagian besar terjadi delesi secara submikroskopik pada regio 5' dari titik patahan AML1.^{26,27,28} Kelainan lain adalah delesi TEL, trisomi, dan tetrasomi 21 dan *double* fusi gena TEL-AML1.²⁸ Perubahan lima proses biologi yaitu deferensiasi sel, proliferasi sel, apoptosis, motilitas sel, dan respon terhadap gangguan dapat diidentifikasi berdasarkan ekspresi 14 gen yang berhubungan dengan proses tersebut.²⁹ Dari beberapa penelitian yang telah dibahas disimpulkan masih banyak hasil yang berbeda mengenai pengaruh fusi gen TEL-AML1 terhadap luaran terapi pasien LLA anak. Masih diperlukan penelitian lanjutan dari berbagai segi untuk menunjang pelayanan di klinis.

Kesimpulan

Petanda molekular bisa berguna untuk indikator prognosis penyakit. Pengetahuan mekanisme molekular pada leukemia mempunyai arti penting pada terapi. Melalui pemahaman mekanisme patogenesis leukemia akan menimbulkan pemikiran strategi baru untuk mengatasi lesi secara molekular. Protein TEL-AML1 merupakan fusi gen yang paling banyak terjadi pada LLA anak dan sebagai faktor independen untuk prognosis yang baik pada LLA, namun sampai sekarang pendapat tersebut masih kontroversi. Pemeriksaan fusi gen sudah sangat diperlukan terutama di negara berkembang, sebagai penunjang diagnosis klinis, dengan harapan pasien akan mendapatkan terapi yang lebih sesuai dalam rangka meningkatkan usia harapan hidup pasien LLA.

Daftar Pustaka

1. Pui CH, Sandlud JT, Pei D. Results of therapy for acute lymphoblastic leukemia in black and white children. *JAMA* 2003;290:2001-7.
2. Friedman AM, Weinstein HJ, The Role of Prognostic Features in the Treatment of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *The Oncologist* 2000;5:321-328.
3. Cline, M.J. The molecular basis of leukemia (review article). *NEJM* 2004;330:328-36.
4. Cleary ML. Ongenetic conversion of transcription factors by chromosomal translocation. *Cell* 1991; 66:1-3.
5. Rubnitz JE, Crist, WM. Molecular genetics of childhood cancer: Implications for pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Pediatrics* 1997;100:101-08.
6. Korsmeyer SJ. Chromosomal translocations in lymphoid malignancies reveal novel proto-oncogenes. *Annu Rev Immunol* 1992;10:785-807 (Medline).
7. Pui CH, Evans. Acute lymphoblastic leukemia, *Narrator Engl J Med* 2004;339:605-15.
8. Heerema NA, Sather HN, Senselm MG, Uckun FM. Frequency and clinical significance of cytogenetic abnormalities in pediatric T-lineage acute lymphoblastic leukemia: a report from the children's cancer group. *J of Clin Oncol* 1998;16:1270-8.
9. Seeger K, Adams HP, Buchwald D, Henze G. TEL-AML1 fusion transcript in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. The Berlin-Frankfurt-Munster Study Group. *Blood* 1988;91:1716-22.
10. Diakos C, Krapf G, Gerner C, Gruemayer RP. RNAi-mediated silencing of TEL-AML1 reveals a heat-shock protein—and survivin-dependent mechanism for survival. *Blood* 2007;109:2607-10.
11. Brisco MJ, Sykes PJ, Dolman G, Morley AA. Effect of the Philadelphia chromosome on minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia [see comments]. *Leukemia* 1997;11:1497.
12. Pui CH, Carroll AJ, Raimondi SC, Behm FG. Clinical presentation, karyotypic characterization and treatment outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia with a near-haploid or hypodiploid less than 45 line. *Blood* 1990;75:1170-7.
13. Shurtleff SA, Buijs A, Behm FG, Rubnitz JE, Raimondi SC, Hancock ML. TEL/AML1 fusion resulting from a cryptic t(12;21) is the most common genetic lesion in pediatric ALL and defines a subgroup of patients with an excellent prognosis. *Leukemia* 1995;9:1985-9.

14. Whitehead VM, Vuchich MJ, Lauer SJ. Accumulation of high levels of methotrexate polyglutamates in lymphoblasts from children with hyperdiploid (greater than 50 chromosomes) B-lineage acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric oncology group study. *Blood* 1992;80:1316-23.
15. Zuna. The role of TEL and AML1 genes in the pathogenesis of hematologic malignancies. *Cas Lek Cesk* 2001;140:131-7.
16. McLean TW, Ringold S, Neuberg D, Stegmaier K, Tantravahi R, Ritz J. TEL/AML-1 dimerizes and is associated with a favorable outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1996;88:4252-8.
17. Borkhardt A, Cazzaniga G, Viehmann S, Valsecchi MG, Ludwig WD, Burci L. Incidence and clinical relevance of TEL/AML 1 fusion genes in children with acute lymphoblastic leukemia enrolled in the Germans and Italian multicenter therapy trials. *Blood* 1997;90: 571-7.
18. Cayuela JM, Baruchel A, Orange C, Madani A, Auclerc MF, Daniel MT. TEL-AML1 fusion RNA as a new target to detect minimal residual disease in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1996;88:302.
19. Stams WAG, Boer ML, Beverloo HB, Pieters R. Sensitivity to L-asparaginase is not associated with expression levels of asparagine synthetase in t(12;21)+ pediatric ALL. *Blood*, 2003;101:2743-7.
20. Krejci O, Starkova J, Otova B, Trka J. Upregulation of asparagine synthetase fails to avert cell cycle arrest induced by L-asparaginase in TEL/AML1-positive leukaemic cells. *Leukemia* 2004;8:434-41.
21. Stams WAG, Den Boer ML, Holleman A, Pieters R. Asparagine synthetase expression is linked with L-asparaginase resistance in *TEL-AML1*-negative but not *TEL-AML1*-positive pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2005;105:4223-5.
22. Appel LM, Den Boer ML, Meijerink JPP, Veerman AJP, Reniers NCM, Pieters R. Up-regulation of asparagine synthetase expression is not linked to the clinical response to L-asparaginase in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2006;107:4244-9.
23. Uckun FM, Pallisgaard N, Hokland P, Heerema N. Expression of TEL-AML1 fusion transcript and response to induction therapy in standar risk acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2001;42:41-56.
24. Madzo J, Zuna J, Muzikova K, Trka J. Slower molecular response to treatment predict poor outcome in patients with TEL/AML1 positive acute lymphoblastic leukemia: prospective real-time quantitative reverse trascriptase-polymerase chain reaction study. *Cancer* 2003;97:105-13
25. Mosad E, Hamed HB, Bakry RM, Ezz-Eldin AM, Khalifa NM. Persistence of *TEL-AML1* fusion gene as minimal residual disease has no additive prognostic value in CD 10 positive B-acute lymphoblastic leukemia: a FISH study. *J Hematol Oncol* 2008;1:17
26. Ma SK, Wan TS, Cheuk AT, Chan LC. Characterization of additional gentic events in childhood acute lymphoblastic leukemia with TEL/AML1 gene fusion: a molecular cytogenetic study. *Leukemia* 2001;15:1442-7.
27. Mikhail FM, Serry KA, Hatem N, Nucifora G. AML1 gene ever-expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2002;16:658-68.
28. Rothman R, Trakhtenbrot L, Bielora B, Toren A. Co-existensi of multiple subclones in TEL-AML1 at diagnosis of acute lymphoblastic leukaemia in association with submicroscopic deletion of AML1. *Br J Haematol* 2005;129:491-8.
29. Gandemer V, Rio AG, Tayrac M, Galibert MD. Five distinct biological processes and 14 differentially expressed genes characterize *TEL/AML1*-positive leukemia. *BMC Genomics* 2007;8:385.