

## ***Heat Shock Protein (HSP) 70 dalam apoptosis dan inflamasi***

Verna Biutifasari

Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas  
Hang Tuah Kota Surabaya Provinsi Jawa Timur Indonesia

Korespondensi : Verna Biutifasari Email

[biutifasari.verna@hangtuah.ac.id](mailto:biutifasari.verna@hangtuah.ac.id) Telp/ HP +628155094148

Naskah Masuk : 01 Mei, Revisi: 22 Mei, Layak Terbit 31 Mei

<https://doi.org/10.30649/sbj.v1i3.35>

### **1. Pendahuluan**

Semua organisme menunjukkan respon homeostasis ketika organisme tersebut mengalami perubahan yang cepat dalam lingkungannya. Kemampuan organisme untuk beradaptasi atau menyesuaikan diri dengan lingkungan barunya sangat penting untuk kelangsungan hidup, dan kemungkinan merupakan kekuatan pendorong integral dalam evolusi. *Heat shock protein* (Hsp) adalah kelompok protein yang ekspresinya meningkat sebagai respons terhadap injuri. Hsp berfungsi sebagai molekul *chaperone*,

degradasi protein, menghambat apoptosis. Peningkatan kadar Hsp terjadi setelah stres. Hsp mempunyai peran sentral dalam homeostasis seluler.<sup>12</sup>

Sistem penamaan atau nomenklatur Hsp berdasarkan berat molekulnya dan macam Hsp. Salah satu Hsp yang sering dipelajari adalah Hsp-70

Tujuan dari penulisan review ini adalah menjelaskan tentang Hsp serta peranannya pada apoptosis dan inflamasi.

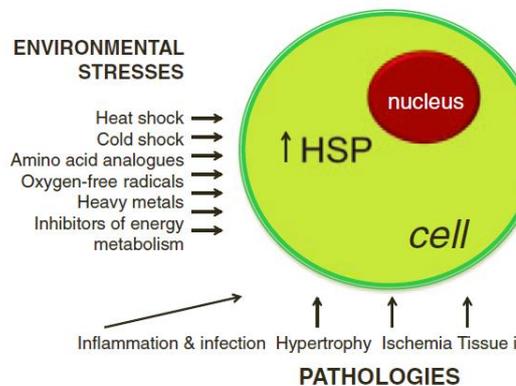
### **2. Heat Shock Protein (Hsp)**

*Heat shock proteins* (Hsp) merupakan protein di sel prokariotik dan sel eukariotik. Hsp mempunyai peranan penting dalam proses seluler. Hsp ditemukan pertama kali oleh Ritossa di tahun 1962, ketika kromosom kelenjar saliva dari lalat buah *Drosophila melanogaster* yang terpapar suhu 37°C selama 30 menit dan kemudian kembali ke suhu normal 25°C untuk pemulihan. Peningkatan suhu pada kromosom *Drosophila melanogaster* menyebabkan terjadinya *puffing gen*. Paparan panas (*heat shock*) akan

memprovokasi aktifitas gen di kromosom *Drosophila melanogaster* yang disebut *heat shock gene*.<sup>1, 34, 56</sup>

Beberapa keadaan dan faktor yang menginduksi sintesis dari Hsp yaitu stres dari lingkungan, keadaan non stres, keadaan patologis. Stres dari lingkungan yang menginduksi sintesis dari Hsp yaitu *heat shock*, *cold shock*, analog asam amino, radikal bebas dari oksigen, logam berat. Keadaan non stres yang menginduksi sintesis Hsp yaitu siklus sel, faktor pertumbuhan, diferensiasi, *oncogen*

dan *prooncogen*. Keadaan patologis yang menginduksi sintesis dari Hsp yaitu inflamasi, infeksi, hipertropi, iskemi, injuri jaringan, penuaan.<sup>356</sup>



Gambar.1 Beberapa keadaan berbeda dan faktor yang menginduksi sintesis Hsp di sel.<sup>6</sup>

Sistem penamaan atau nomenklatur Hsp berdasarkan berat molekulnya. Hsp yang telah ditemukan mempunyai berat molekul 27, 32, 40, 60, 70, 80, 90, 100 dan 110. Hsp-70 merupakan Hsp yang

### 3. Heat Shock Protein-70 ( Hsp-70)

Kelompok dari Hsp yang terpenting dan sering dipelajari adalah Hsp-70. Hsp-70 merupakan protein yang sintesisnya distimulasi oleh stres. Hsp-70 mempunyai gen yang terdiri dari kelompok penanda nukleotida tertentu (*marker nucleotide block*) yang disebut *heat shock element* (HSE). Kelompok nukleotida tersebut adalah CT-GAA-TTC-AG. Hsp-70 terdiri dari 13 isoform. Hsp-70 terbagi menjadi 2 yaitu *constitutive* Hsp-70 dan *inducible* Hsp-70. *Constitutive* Hsp-70 mempunyai kadar basal yang tinggi dan diinduksi secara lemah oleh stres. *Inducible* Hsp-70 tidak disintesis pada kondisi normal dan hanya disintesis pada kondisi stres.<sup>6910</sup>

Hsp-70 mempunyai bentuk dimer, dimana setiap monomer mengandung 3

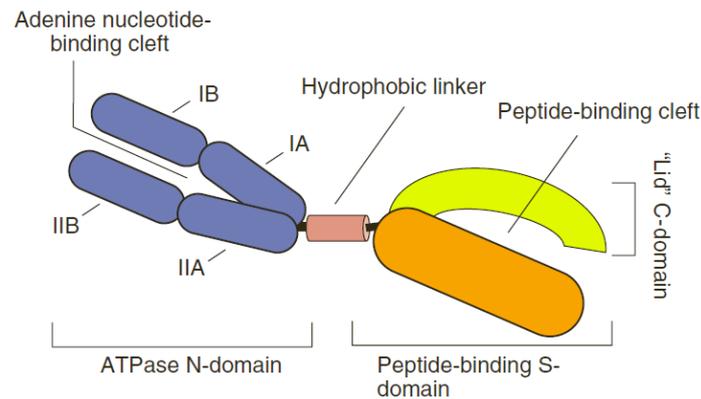
terpenting. Lokasi Hsp berada di sitosol, mitokondria, retikulum endoplasma dan nukleus.<sup>356, 7</sup>

*Heat shock protein* (Hsp) dibagi menjadi beberapa kelompok berdasarkan massa molekulnya sebelum dibagi lebih lanjut ke subdivisi. Berdasarkan penelitian Groenen et al, Hsp dibagi menjadi 4 kelompok yaitu: *small* Hsp, Hsp-60, Hsp-70 dan Hsp-90, dimana nomor mengacu pada massa molekul dalam kilodalton. Klasifikasi lain membagi Hsp menjadi 7 kelompok yaitu: *small* Hsp, Hsp-40, Hsp-60, Hsp-70, Hsp-90, Hsp-100 dan *large* Hsp.<sup>87</sup>

Hsp-70 merupakan Hsp yang paling sering dipelajari. Hsp-70 merupakan protein dengan massa molekul 66-78 kilodalton. Hsp-70 dikode oleh multi gen yang terdiri minimal 11 gen.<sup>2</sup> Hsp 70 terdiri dari *constitutive* Hsp-70 dan *inducible* Hsp-70.<sup>37</sup>

domain fungsional. Domain fungsional tersebut adalah domain ATPase N, domain substrat dan domain C. Masing-masing domain mempunyai fungsi yang berbeda. Ketiga domain tersebut membentuk molekul yang unik yang disebut *tritych*. Domain ATPase N merupakan domain yang mengikat dan menghidrolisis ATP. Fungsi domain ini memecah struktur molekul. Domain ATPase N terdiri dari 4 subdomain yang terbagi menjadi 2 lobus. Lobus I terdiri dari sub domain IA dan sub domain IB. Lobus II terdiri dari subdomain IIA dan IIB. Kedua lobus ini dihubungkan melalui subdomain IA dan IIA. Sub domain IB dan IIB membentuk celah pada bagian dasar. Bagian dasar dari celah ini merupakan tempat untuk mengikat ATP. Sub domain IB dan IIB akan saling

mendekat ketika ATP terikat pada celah. Domain C terdiri dari 5 spiral ( $\alpha A-\alpha E$ ). Domain ini merupakan domain yang fleksibel. Domain C membentuk struktur yang menyerupai tutup pada bagian yang fleksibel. Domain ini berfungsi untuk membuka dan menutup domain substrat. Tutup dari domain substrat ini akan ditempati oleh ikatan hidrogen dan ikatan ionik. Perubahan buka tutup dari domain C akan menyebabkan perubahan konformasi dari domain. (Gambar 2)<sup>6</sup>



Gambar 2. Struktur protein Hsp-70. Masing-masing monomer terdiri dari 3 domain fungsional yaitu domain ATPase N, domain substrat, domain C.<sup>6</sup>

#### 4.1 Peran Hsp-70 pada apoptosis dan inflamasi

Semua sel yang mati akan melalui proses kematian sel lewat apoptosis. Apoptosis dapat diinduksi melalui aktivasi *death* reseptor seperti Fas atau reseptor *tumor necrosis factor* (TNF), penurunan kadar faktor pertumbuhan, kerusakan DNA yang berlebihan, efek obat dan radiasi.<sup>6,7</sup>

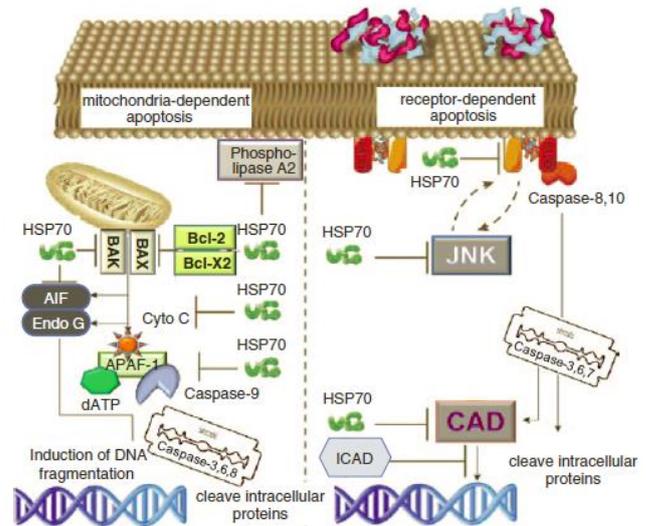
Apoptosis dipicu melalui 2 jalur yaitu *mitochondria-dependent* dan *receptor-dependent*. (gambar 3). Apoptosis melalui *mitochondria-dependent* dapat diaktivasi melalui respon stres dan perubahan intraselular yang diinduksi seperti iskemia. Apoptosis ini dimulai dari pelepasan molekul proapoptotik mitokondria seperti sitokrom *c*, *apoptosis inducing factor* (AIF), *Smac/DIABLO* dan *endonuklease G* (endoG). Sitokrom *c* pada sitoplasma berinteraksi dengan *apoptosis protease activating factor-1* (Apaf-1) dan dATP untuk membentuk

*apoptosome*. Apoptosome mengaktivasi *specific protease caspase-9*. *Caspase-9* akan memicu aktivasi dari *caspase* lainnya. Apoptosis ini dimonitor oleh protein famili Bcl-2. Bcl-2 adalah protein antiapoptotik yang akan menghambat pelepasan sitokrom *c* dan AIF dari mitokondria. Bcl-2 juga mencegah aktivasi *caspase*. Protein Bax bekerja berlawanan dengan Bcl-2 yaitu sebagai faktor proapoptotik. Keseimbangan antara Bcl-2 dan Bax akan menentukan apakah sel terjadi apoptosis atau tidak. Apoptosis melalui *receptor-dependent* dipicu oleh kematian ligand seperti Fas, TNF- $\alpha$ , dan *death reseptor ligand* (DRL). *Receptor-dependent* mengaktivasi *death reseptor* melalui membran plasma. Reseptor-reseptor tersebut mengaktivasi *caspase-8* dan akan mengaktivasi *caspase-3*. Peningkatan jumlah *death reseptor* akan mengaktivasi protein

kinase *c-Jun N terminal kinase* (JNK). Aktivasi dari JNK sendiri juga distimulasi oleh *death reseptor*. *Caspase-3* mengaktifasi *caspase-activated DNAase* yang merupakan fragmen dari DNA.<sup>6, 7</sup>

Kedua jalur ini diaktivasi oleh *caspase* memotong protein intraselular. Apoptosis dapat terjadi tanpa aktivasi *caspase* yaitu melalui AIF dan endo G ke dalam nukleus dan menginduksi kondensasi kromatin dan fragmentasi DNA.<sup>6, 7</sup>

Hsp-70 diketahui sebagai penghambat terjadinya apoptosis melalui beberapa mekanisme. Mekanisme apoptosis pada mitokondria dimulai dari peningkatan kadar Hsp-70, meningkatkan protein antiapoptotik Bcl-2 dan menurunkan proapoptotik Bax. Hsp-70 menghambat kemungkinan Bax masuk ke membran eksternal mitokondria dan mencegah peningkatan permeabilitas membran mitokondria serta pelepasan sitokrom c dan AIF. Hsp-70 menghambat keluarnya sitokrom c, *smac/DIABLO* dan *Apaf-1*. Mekanisme apoptosis di luar mitokondria dimulai ketika Hsp-70 dapat mengikat Apaf-1 yang akan mencegah penarikan *procaspase-9* ke *apoptosome*. Komplek ini menghambat aktivitas *caspase-9*. Mekanisme apoptosis di *death reseptor* terjadi ketika Hsp-70 akan mengurangi jumlah *death reseptor* dengan cara inhibisi JNK. Mekanisme apoptosis di bagian akhir apoptosis: Hsp-70 membatasi apoptosis ketika aktivasi *caspase* terjadi. Hal ini akan membatasi aktivasi phospholipase A2 dan perubahan morfologi inti.<sup>6, 7</sup>



Gambar 3. Mekanisme antiapoptotik dari Hsp-70.<sup>6</sup>

Kondisi inflamasi akan menginduksi secara simultan baik jalur anti apoptotik dan pro-apoptotik. Jika sintesis Hsp-70 diaktivasi sebelum inflamasi Hsp-70 akan menghambat apoptosis dan bila Hsp-70 diaktivasi sesudah terjadi inflamasi Hsp-70 akan meningkatkan apoptosis. Aktivasi sintesis Hsp-70 harus sesuai waktu. Aktivasi sintesis Hsp-70 dan akumulasi Hsp-70 di makrofag penting untuk terjadinya respon imun alamiah. Hsp-70 akan menghambat aktivasi sitokin pro inflamasi. Hambatan ini terjadi melalui inhibisi sitokin faktor transkripsi yaitu *nuclear factor-kB* (NF-kB) ( Gambar 9.)<sup>612</sup>

Sintesis Hsp-70 pada makrofag diaktivasi oleh sitokin pro inflamasi IL-12, TNF- $\alpha$  dan IFN- $\gamma$ . Akumulasi Hsp-70 di sel akan menyebabkan *negative feedback* dengan cara membatasi produksi sitokin pro inflamasi yang berlebih. Sitokin pro inflamasi yang berlebih akan membunuh sel normal saat inflamasi. Peran Hsp-70 pada respon

imun alamiah bergantung pada lokasi targetnya. Hsp-70 sebagai *chaperone* untuk target intraselular. Hsp-70 membantu menjaga homeostasis protein dan menghambat Nf-kB. Hsp-70 di target ekstraselular akan mengaktifasi *killer cell* dan mengaktifasi reseptor NF-kB. Efek imun Hsp-70 pada ekstraselular tidak menghambat respon imun alamiah.<sup>612, 13</sup>

Hsp-70 mempunyai peranan dalam respon imun adaptif. Hsp-70 mengaktifasi maturasi sel dendritik pada *antigen presentation* dan aktivasi sel T. Hsp-70 pada *antigen presentation* melalui 3 tahap yaitu selama pembentukan kompleks dengan antigen peptida, selama antigen peptida dikirim ke *antigen presenting cell* (APC) dan antigen pindah ke dalam sel, selama *intraselular chaperoning of antigen* pada MHC kelas 1. Komplek antigen-Hsp-70 dapat terbentuk baik di dalam maupun di luar sel dan dilepas selama nekrosis. Fungsi Hsp-70 sebagai *chaperon* akan mengikat antigen peptida melalui domain substrat. Komplek antigen-Hsp-70 akan terikat dengan *signaling reseptor* seperti TLR2, TLR4, CD 91 atau *scavengerreseptor* (SR). Ikatan tersebut akan mengaktifasi produksi sitokin melalui respon imun alamiah. Ketika antigen peptida masuk ke dalam sel, Hsp-70 akan berperan sebagai *chaperon* terhadap antigen tersebut dan memindahkannya ke retikulum endoplasma. Hsp-70 masuk ke dalam sel di konformasi ADP yang akan membawan protein antigen dan memastikannya untuk tidak dilepas. Sebaliknya Hsp-70 akan cepat diubah

dari ADP ke ATP dan menjadi konformasi ATP, melepas ikatan antigen peptida dan memfasilitasi masuk ke retikulum endoplasma ketika berada di ekstraselular dan sirkulasi. Hsp-70 memiliki banyak reseptor pada permukaan sel. TLR membuat Hsp-70 untuk mengaktifasi produksi sitokin melalui NF-kB dan menstimulasi respon alamiah sedangkan *scavenger reseptor* menyebabkan Hsp-70 mengirimkan antigen peptida ke *antigen presenting cell* dan menstimulasi respon imun adaptif. Hsp-70 ekstraselular pada respon imun mengubah imun respon alamiah menjadi adaptif. (Gambar.10)<sup>613</sup>

Hsp-70 mempunyai kemampuan menstimulasi respon imun alami dan adaptif secara bersamaan melalui domain yang berbeda dari Hsp-70. Domain C terminal menstimulasi produksi *chemokin* IL-12, TNF- $\alpha$ , NO dan mengikat CD14, TLR4 dan CD 40 di *antigen presenting cell* yang akan menstimulasi respon imun alamiah. Domain substrat mengikat antigen peptida, menstimulasi presentasi antigen dan respon adaptif. Domain N-terminal ATPase melalui perubahan ADP/ATP, meregulasi ikatan dan pelepasan antigen peptida akan menstimulasi baik respon imun alami dan adaptif.<sup>6</sup>

Hsp-70 muncul pada sel dendritik sel ketika terjadi stres oksidatif atau panas. Adanya Hsp-70 terjadi akibat aktivasi NFkB dan peningkatan IL-15 pada permukaan sel dendritik. (Gambar. 11) IL15 mengikat reseptornya pada permukaan limfosit T CD4+ untuk menginduksi munculnya ligan CD40 pada permukaan sel T dan

proliferasi sel T. Ligan CD40 pada limfosit T CD4<sup>+</sup> mengaktivasi kembali CD40 pada sel dendritik. CD 40 menginduksi maturasi sel dendritik dan meningkatkan ekspresi IL-15 dan mekanisme *positive feedback*. Mekanisme ini menstimulasi terbentuknya CD62<sup>+</sup> limfosit T memori dari sel T CD4<sup>+</sup>.<sup>6</sup>

Inflamasi yang berlebihan menyebabkan makrofag dan neutrofil meningkatkan sintesis Hsp-70 dan memaparkannya di permukaan sel. Hsp-70 akan dikenali sel T $\delta\gamma$  sebagai target sel. Sel T $\delta\gamma$  akan membunuh sel yang ditandai dan menghancurkannya.  
614

Peran Hsp-70 pada kanker dapat terjadi intraseluler dan ekstraseluler. Mekanisme Hsp-70 secara intraseluler terjadi ketika makrofag mengenali sel tumor. Makrofag mengenali sel tumor yang mempunyai potensi bahaya dan segera memproduksi sitokin. Sitokin dan mediator inflamasi yang digunakan untuk membunuh tumor mempunyai pola yang sama untuk menghancurkan bakteri. Sel tumor mempunyai respon berbeda terhadap sitokin pro inflamasi dibanding dengan bakteri yaitu sel tumor dapat meningkatkan sintesis Hsp-70 dengan sendirinya. Sel tumor mempunyai kadar Hsp-70 intraseluler yang tinggi. Hsp-70 ini melindungi sel tumor dari aksi sitotoksik makrofag.<sup>6</sup>

Mekanisme proteksi sel sel tumor terhadap mediator pro inflamasi ini tidak menguntungkan karena diduga Hsp-70 intraseluler meningkatkan proliferasi sel tumor secara langsung. Contoh mekanisme tersebut terjadi

pada peningkatan Hsp-70 pada kanker payudara. Hsp-70 pada kanker payudara akan memperpendek fase G0/G1 sel dan mempercepat pembelahan sel. Hsp-70 juga menghambat program kematian sel. Hsp-70 terikat langsung dengan p53 dan menjaga dalam kondisi tidak aktif. Hsp-70 menghambat p53 yang menginduksi jalur apoptosis. Peningkatan Hsp-70 dapat meningkatkan kadar antiapoptosis Bcl-2 dan menurunkan kadar proapoptosis Bax. Hsp-70 akan menghambat Bax pada membran luar mitokondria dengan cara mencegah peningkatan permeabilitas membran mitokondria dan pelepasan sitokrom C dan AIF. Hsp-70 juga menghambat pelepasan sitokrom c dan protein *proapoptotik Smac/Diablo* dan *Apaf-1* dari mitokondria. Hsp-70 mengikat *Apaf-1* mencegah *procaspase 9* dari *apoptosome* dan menghambat caspase 9. Hsp-70 mengurangi jumlah *death reseptor* melalui inhibisi JNK. Hsp-70 menghambat terjadinya apoptosis.<sup>6</sup>

Mekanisme Hsp-70 ekstraseluler terjadi ketika Hsp-70 dilepas dari sel tumor ke ekstraseluler dan ke dalam sirkulasi dimana membawa antigen tumor intraseluler. Partisipasi Hsp-70 ekstraseluler pada *antigen presentation* melalui 3 tahap (Gambar 14.) yaitu (1) pembentukan kompleks dengan antigen peptida, (2) antigen peptida mengirim *antigen presenting cell* dan mentranspor antigen ke dalam sel, (3) *chaperoning* intraseluler dari antigen MHC kelas 1. Mekanisme menyebabkan perkembangan respon adaptif anti tumor.<sup>6</sup>

## Ringkasan

Semua organisme menunjukkan respon homeostatis ketika organisme tersebut mengalami perubahan yang cepat dalam lingkungannya. Kemampuan organisme untuk beradaptasi atau menyesuaikan diri dengan lingkungan barunya sangat penting untuk kelangsungan hidup, dan kemungkinan merupakan kekuatan pendorong integral dalam evolusi.

Tujuan dari penulisan referat ini adalah menjelaskan tentang Hsp, Hsp-70, fungsi Hsp-70, peran Hsp-70 dan teknik pemeriksaan Hsp-70.

*Heat shock protein* (Hsp) adalah kelompok protein yang ekspresinya meningkat sebagai respons terhadap injuri pada berbagai metabolisme yang berbeda. Peningkatan kadar Hsp terjadi setelah stres. Sistem penamaan atau nomenklatur Hsp berdasarkan berat molekulnya. Salah satu Hsp yang sering dipelajari adalah Hsp-70.

Fungsi Hsp-70 sebagai molekul *chaperone* yang tergantung ATP (*ATP-dependent molecular chaperone*). Molekul *chaperone* ini membantu perlekukan pada polipeptida yang baru disintesis, menyusun kompleks multiprotein, dan sebagai pembawa protein keluar membran seluler. Fungsi ini berubah saat kondisi stres. Kondisi stress, Hsp-70 akan memperkuat kemampuan sel untuk melindungi diri dengan cara meningkatkan kadar dari protein yang tidak meleku dan bahkan sampai terjadi denaturasi protein. Hsp-70 mempunyai efek protektif. Fungsi ini berkaitan dengan kemampuan Hsp untuk mengganggu jalur apoptosis. Apoptosis atau program kematian dari sel bertanggung jawab untuk memindahkan sel yang tidak dibutuhkan atau cadangan selama perkembangan dan juga untuk homeostasis jaringan. Apoptosis mempunyai 2 jalur utama yaitu jalur ekstrinsik dan jalur instrinsik.

## Daftar Pustaka

1. name n. Heat Shock Proteins & The Cellular Stress Responses [www.enzolifescience.com](http://www.enzolifescience.com); 2010 [cited 2014 1 oktober ].
2. Lannau D et al. Heat Shock Proteins: Essential proteins for apoptosis regulations. *JCell MolMed*. 2008;12(3):743-61.
3. Kiang JG et al. Heat Shock Protein 70kDa: Molecular Biology, Biochemistry, and Physiology. *Pharmacol Ther*. 1998;80(2):183-201.
4. Ritossa F. Discovery of heat shock response. *Cell stress & chaperones*. 1996;1(2):97-8.
5. Daugarrd M et al. The heat shock protein family: Highly homologous proteins with overlapping and distinct functions. *Federation European Biochemical Society*. 2007;581:3701-10.
6. Malysev I. Immunity, Tumor and Aging: The Role of Hsp70 2013.
7. Parcalier A et al. Heat shock proteins, cellular chaperone that modulate mitochondrial cell death pathways. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2003;304:505-12.
8. Urbak L et al. Heat Shock Proteins in the Human Eye. *Hindawi Publishing Corporation International Journal of Proteomic*. 2010:8.
9. Liberek K. Focus Quality Control Chaperone in Control of Protein Disaggregation. *The Embo Journal*. 2008;27(328-335).

10. Saibil H. Chaperone Machines for Protein Folding, Unfolding and Disaggregation. *Nature Review Molecular Cell Biology*. 2013;8(1-13).
11. Doyle SM. Protein Rescue from Aggregation by Powerful Molecular Chaperone Machines. *Nature Review Molecular Cell Biology*. 2013;14(617-630).
12. Tsan MF. Heat Shock Protein and Innate Immunity. *Cellular & Molecular Immunology*. 2004;1(4):274-80.
13. Tsan MF. Heat shock proteins and immune system. *Journal of Leukocyte Biology*. 2009;85:905-8.
14. Hirsh MI. Roles of Heat Shocks Proteins-70 ( Hsp-70) and g d T Cell in Inflammation. *Am J Respir Cell Mol Bio*. 2008;39(509-513).
15. Usckn. Instruction manual enzyme-linked immunosorbent assay kit for heat shock protein 70 kDA protein 5 (HSPA5). 2013 [cited 2014 1 November]; Available from: [www.usckn.com](http://www.usckn.com).
16. Bachelet M et al. Flow cytometry is a rapid and reliable method for evaluating heat shock protein 70 expression in human monocytes. *Cell stress & chaperones*. 1998;3(3):168-76.
17. Xiao CF et al. Basal and inducible level of Hsp70 in patients with acute heat illness induced during training. *Cell stress & chaperones*. 2003;8(1):86-92.