

**PERUBAHAN-PERUBAHAN MOLEKULAR
PADA KARSINOGENESIS DAN
KEMUNGKINANNYA SEBAGAI DASAR PENGEMBANGAN
ERA BARU DALAM TERAPI KANKER**



Pidato Pengukuhan

**Pada peresmian penerimaan jabatan Guru Besar
dalam mata pelajaran Ilmu Biokimia
pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
di Surabaya pada hari Sabtu, tanggal 10 Desember 1988**

Oleh :

SRI UTARI PURNOMO SURYOHUDOYO

UNIVERSITAS
AIRLANGGA
1988/10

NEOPLASMS

KK
FK
PKA
6/15 253/10
Sur
p-1

2826/ PKA 14/188 ✓

**PERUBAHAN-PERUBAHAN MOLEKULAR
PADA KARSINOGENESIS DAN
KEMUNGKINANNYA SEBAGAI DASAR PENGEMBANGAN
ERA BARU DALAM TERAPI KANKER**



Pidato Pengukuhan

Pada peresmian penerimaan jabatan Guru Besar
dalam mata pelajaran Ilmu Biokimia
pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
di Surabaya pada hari Sabtu, tanggal 10 Desember 1988

Oleh :

SRI UTARI PURNOMO SURYOHUDOYO

28268814

MILIK
PERPUSTAKAAN
"UNIVERSITAS AIRLANGGA"
SURABAYA

2826/ PUA/ 14/88.

Saudara Rektor dan para hadirin sekalian yang saya hormati,

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Pertama-tama perkenankanlah saya terlebih dahulu memanjatkan puji syukur kepada Tuhan YME atas karunianya sehingga kita semua dapat berkumpul disini pada pagi hari yang berbahagia ini untuk menghadiri upacara peresmian penerimaan jabatan saya sebagai Guru Besar dalam ilmu Biokimia.

Pada kesempatan ini perkenankan saya menguraikan sampai dimana kemajuan teknologi laboratorium, terutama rekayasa genetika dalam menyingkap tabir rahasia pada proses karsinogenesis. Terlebih dahulu akan saya uraikan kaitan ilmu Biokimia dalam permasalahan ini.

Tugas ilmu Biokimia adalah mempelajari susunan dan reaksi kimiawi yang terjadi pada jasad hidup. Pada awal dasawarsa ke 2 abad ini, boleh dikatakan seluruh susunan kimiawi organisme sudah dapat diketahui. Perhatian selanjutnya ditujukan kepada reaksi yang terjadi pada mahluk hidup. Dalam mempelajari masalah ini segera disadari bahwa reaksi kimia dalam tubuh organisme tidaklah berdiri sendiri-sendiri, tetapi saling berkait, membentuk apa yang kemudian dikenal sebagai alur-alur metabolisme (metabolic pathways).

Pada akhir tahun tujuh puluhan dapat dikatakan bahwa semua alur metabolisme yang penting telah diketemukan. Pada kurang lebih saat yang sama disadari bahwa fungsi-fungsi kehidupan (life functions) yang terpenting seperti : gerakan locomotion), pengadaan energi, reproduksi dan sifat-sifat organisme yang diturunkan (heredity) semuanya dapat dijelaskan pada tingkat molekuler dalam bentuk interaksi antar molekul. Kemudian timbullah harapan bahwa semua peristiwa yang terjadi pada tubuh organisme pada akhirnya dapat dijelaskan sebagai akibat dari terjadinya interaksi antar molekul. Dengan demikian lahirlah cabang ilmu baru yang kemudian dikenal sebagai Biologi Molekuler (Molecular Biology) yaitu ilmu yang mencoba menjelaskan semua peristiwa yang terjadi pada tubuh organisme sebagai interaksi antar molekul, termasuk mekanisme terjadinya kanker (carcinogenesis). Penelitian mengenai mekanisme karsinogenesis erat hubungannya dengan penemuan di bidang ilmu Biologi Molekuler sehingga ada baiknya untuk menguraikan secara singkat perkembangan ilmu tersebut.

Dalam sejarahnya, ilmu Biologi Molekuler berawal dari ilmu Biokimia, yaitu sejak diketemukannya struktur DNA oleh Watson dan Crick pada tahun 1953. Penemuan tersebut merupakan tonggak sejarah yang sangat penting. Untuk itu kedua ilmuwan tersebut mendapatkan hadiah Nobel.

Tonggak sejarah lainnya yang tidak kalah penting adalah pembuktian Avery dkk pada tahun 1944, bahwa sifat suatu sel dapat dialihkan ke sel yang lain dengan

memindahkan suatu molekul DNA. Bila hal ini dikaitkan dengan penemuan Mendel jauh sebelumnya bahwa gen merupakan pembawa sifat-sifat sel, maka kesimpulan yang tak terelakkan : gen adalah DNA.

Penemuan Watson dan Crick serta Avery dkk memacu perkembangan lebih lanjut yaitu diketemukannya mekanisme proses-proses replikasi, transkripsi dan translasi yang dapat menjelaskan dua hal yaitu :

1. mekanisme penurunan sifat-sifat organisma keturunannya.
2. mekanisme pengendalian gen terhadap sifat-sifat organisma.

Perkembangan lebih lanjut dari bidang ilmu Biologi Molekuler adalah ditemukannya teknologi rekayasa genetika yang meliputi :

- teknologi DNA rekombinan (recombinant DNA)
- teknologi alih gen (gene transfer)
- teknologi hibridoma

Ditemukannya berbagai teknologi tersebut sangat menunjang pengungkapan mekanisme karsinogenesis, terutama teknologi DNA rekombinan dan teknologi alih gen. Teknologi DNA rekombinan pada dasarnya memungkinkan introduksi DNA suatu organisma ke dalam genom organisma lain. Disamping itu dengan DNA rekombinan dimungkinkan pembuatan "cloning" (pembiasaan) suatu segmen DNA, sehingga dapat diperbanyak dalam jumlah yang sesuai dengan yang dikehendaki.

Hadirin yang terhormat.

Sebelum menguraikan karsinogenesis ada baiknya kita tinjau dulu secara singkat mengenai kanker (neoplasma) itu sendiri. Kanker merupakan penyakit yang belum diketemukan cara pengobatannya untuk mendapatkan kesembuhan yang permanen. Cara-cara pengobatan yang telah dikenal selama ini belumlah memuaskan karena pada umumnya hanya menghasilkan kesembuhan sementara dan masih ada kemungkinan "kambuh" (relapse). Pengobatan yang belum sempurna disebabkan karena belum diketahui dengan pasti mekanisme yang mendasari terjadinya kanker tersebut. Sel kanker berasal dari sel normal yang oleh suatu sebab mengalami perubahan (transformasi), sehingga sifat-sifatnya berubah dari sel normal asalnya. Sifat-sifat yang berubah tersebut (fenotip kanker) meliputi perubahan morfologi maupun fungsi, antara lain : pertumbuhan sel yang tak terkendali, bentuk sel yang berubah, metabolisme makro molekul yang tak lazim seperti konsumsi karbohidrat yang sangat meningkat melalui alur oksidasi anaerobik dan lain-lain.

Pada awal tahun enam puluhan telah diketahui bahwa kanker dapat ditumbuhkan oleh tiga faktor dalam lingkungan hidup yaitu :

1. pengaruh bahan kimia karsinogenik
2. pengaruh radiasi
3. infeksi oleh virus onkogenik

Bahan kimia karsinogenik dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu bahan yang dapat menimbulkan kanker tanpa mengalami perubahan struktur dan kelompok yang hanya dapat bersifat karsinogenik setelah mengalami aktivasi, baik secara enzimatis maupun kimiawi. Bahan ini sering dinamakan prokarsinogen. Selain kedua kelompok tadi masih ada bahan kimia yang secara sendiri tidak bersifat karsinogenik, tetapi kehadirannya menyebabkan meningkatnya aktivitas karsinogen yang sudah ada. Bahan ini dinamakan Ko-karsinogen. Efek dari karsinogen tersebut adalah berubahnya ekspresi gen normal sehingga menimbulkan fenotip kanker. Kemungkinan titik tangkapnya adalah pada DNA, t-RNA dan protein sel.

Radiasi menyebabkan terjadinya mutasi pada gen dengan akibat ekspresi yang berubah pula.

Infeksi oleh virus onkogenik menyebabkan penyisipan (insertion) DNA yang berasal dari virus kedalam DNA sel yang terinfeksi, sehingga ekspresi gen berubah dan akhirnya menimbulkan fenotip kanker. Virus penyebab kanker, pertama kali diketemukan oleh Rous (1911). Rous menyuntikkan filtrat bebas sel (cell free filtrate) yang berasal dari sarkoma ayam kepada ayam yang lain. Beberapa waktu kemudian resipien tersebut juga menderita sarkoma yang sama. Ternyata sarkoma tersebut disebabkan oleh suatu virus (RSV) yang termasuk dalam golongan retrovirus, yaitu virus yang materinya adalah RNA bukan DNA.

Ternyata kemudian terdapat 2 macam virus onkogenik yaitu : retrovirus dan beberapa virus DNA. Retrovirus yang mempunyai enzim transkriptase terbalik (reverse transcriptase) akan mentranskripsi RNA-nya lebih dahulu untuk menghasilkan DNA, yang kemudian disisipkan kedalam DNA sel yang terinfeksi. Sedang pada infeksi oleh virus DNA, DNA virus dengan mekanisme tertentu diintegrasikan langsung kedalam DNA sel.

Dari uraian diatas dapat disimpulkan bahwa meskipun terdapat bermacam-macam faktor yang dapat menimbulkan karsinogenesis, hasilnya tetap sama yaitu perubahan dari sel normal menjadi sel kanker dengan sifat-sifat yang sama pula. Tentunya harus ada "sesuatu" yang menyebabkan adanya persamaan yang berlaku untuk ketiga faktor yang dapat menerangkan temuan-temuan diatas. Seperti telah diuraikan diatas, bahan kimia maupun radiasi merupakan faktor-faktor yang dapat menimbulkan mutasi, sehingga disebut sebagai mutagen. Suatu mutagen

belum tentu merupakan karsinogen atau dengan perkataan lain mutasi belum tentu menimbulkan kanker. Untuk menimbulkan kanker, mutasi harus melibatkan gen atau beberapa gen tertentu, bukan sembarang gen. Telah diuraikan diatas bahwa Avery telah membuktikan bahwa DNA adalah pembawa sifat yang dapat dialihkan. Atas dasar ini tentunya DNA dari sel kanker juga merupakan pembawa sifat yang dapat dialihkan. Untuk membuktikan hal ini Shih (1978) dari Massachusetts Institute of Technology (MIT) dari Amerika Serikat telah melakukan percobaan dengan tehnik alih gen (gene transfer). Shih telah memisahkan DNA yang berasal dari biakan sel fibroblas mencit yang telah mengalami transformasi karena diberi karsinogen metilkholtren. Tehnik pemisahan DNA telah dikenal lebih dahulu oleh peneliti lain dengan cara kopresipitasi dengan kristal kalsium fosfat. Selanjutnya DNA tersebut ditanamkan kedalam biakan sel fibroblas mencit yang belum mengalami transformasi (NIH3T3). Dua minggu kemudian terlihat beberapa "foci" pada biakan sel tersebut yang ternyata terdiri dari sel fibroblas yang telah mengalami transformasi. Pada pemeriksaan dibawah mikroskop ternyata bentuk sel-sel tersebut sama dengan sel-sel yang terinfeksi oleh onkovirus. Bila sel-sel tersebut diinokulasikan pada mencit, timbullah tumor. Jelaslah sudah bahwa sifat onkogenik dipindahkan dari satu sel ke sel yang lain oleh molekul DNA. Bila percobaan yang sama diulangi dengan menggunakan DNA sel normal, fenomena tersebut tidak terjadi. Ini membuktikan bahwa DNA dari sel tumor berlainan dengan DNA pada sel normal. Perubahan DNA tersebut disebabkan oleh terjadinya mutasi oleh metilkholtren.

Percobaan yang analog dengan penelitian tersebut diatas, kemudian juga dilakukan dengan memakai DNA yang berasal dari sel berbagai tumor spontan pada manusia antara lain : karsinoma buli-buli, karsinoma paru, fibrosarkoma, neuroblastoma serta leukemia. Semua menunjukkan hasil yang sama. Dari percobaan diatas dapat dilihat bahwa ada sesuatu yang sama yang menghubungkan antara transformasi akibat bahan kimia karsinogenik dan yang disebabkan oleh tumor spontan. Selain dari itu, dari percobaan diatas dapat dibuktikan bahwa DNA dari suatu spesies (manusia) dapat menimbulkan tumor pada spesies lainnya (mencit), demikian juga dari suatu organ ke organ yang lain (fibroblas). Telah diuraikan bahwa transformasi dari sel normal ke sel kanker harus melibatkan suatu gen atau beberapa gen tertentu. Masalahnya adalah identifikasi dari gen yang terlibat dalam proses karsinogenesis diantara enam milyar pasangan nukleotida yang terdapat dalam satu genom sel. Satu gen rata-rata mengandung 5000-10.000 nukleotida. Pekerjaan yang kelihatan rumit inipun akhirnya dapat diselesaikan dengan pembuatan "perpustakaan genom" (genomic library) yang didahului dengan pembuatan klon gen. Secara garis besar pekerjaan tersebut dilakukan sebagai berikut : genom sel yang mengalami transformasi (sel

tumor) dipecah menjadi segmen-segmen, dengan perantaraan enzim endonuklease terbatas (restricted endonucleases) setiap segmen terdiri atas satu gen; selanjutnya dibuat DNA rekombinan antara gen-gen tersebut dengan DNA dari bakteriofag lambda (bisa juga dengan plasmid bakteri) atas bantuan enzim DNA ligase. Hibrida fag yang terjadi, masing-masing mengandung genom yang terdiri dari satu gen dari sel tumor dan bagian gen dari fag sendiri, dengan demikian didapatkan suatu "perpustakaan genom", karna setiap gen dari genom sel tumor bisa ditemukan pada salah satu atau beberapa fag yang ada. Setiap fag selanjutnya dapat ditanamkan pada biakan E. Coli. Fag ini akan berkembang biak dan mematikan E. Coli tersebut, sehingga terlihatlah bercak-bercak (plaque) pada piring petri tersebut. Setiap bercak terdiri atas DNA yang berasal dari satu gen sel asal, sehingga bersifat klonal. Bila kemudian dilakukan "cloning" dari bercak-bercak ini akan didapatkan gen murni sebanyak yang dikehendaki. Dengan didapaknya gen-gen murni ini, secara mudah dapat ditentukan identifikasinya, dengan beberapa tehnik antara lain dengan tehnik alih gen. Dari sini dapat ditentukan gen yang bersangkutan paut dengan terjadinya karsinogenesis; selanjutnya gen tersebut disebut onkogen.

Hadirin yang terhormat.

Setelah onkogen dapat diisolasi, timbullah pertanyaan : dari mana asal onkogen ini ? Penelusuran asal usul onkogen ini dilakukan menurut dua jalur yaitu : melalui alih gen dari sel kanker manusia, seperti telah dijelaskan di atas dan melalui retrovirus. Bila DNA berasal dari klon onkogen yang didapat dari sel tumor manusia dipakai sebagai "probe" (pancingan) pada genom sel normal, terlihatlah dengan segera hibridisasi dengan segmen DNA normal tersebut, yang urutan nukleotidanya sesuai. Selain dari pada itu ternyata segmen DNA tersebut, dengan onkogen yang digunakan sebagai "probe" sama besar dan hampir serupa. Tentu saja tidak dapat tepat sama karena fungsinya ternyata sangat berbeda, tetapi tidak dapat diingkari bahwa segmen DNA tersebut hanya berbeda sedikit sekali dari onkogen. Kemudian diambil kesimpulan bahwa onkogen pada hakekatnya juga gen normal yang sedikit mengalami perubahan. Ada yang menamakannya proto onkogen. Kelompok ahli lain menyatakan bahwa segmen tersebut tidak lain adalah onkogen yang belum mengalami aktivasi (onkogen yang tidak aktif). Gen ini dapat ditemukan pada genom normal. Onkogen yang sesuai dengan onkogen dari sel kanker buli-buli bukan satu-satunya yang terdapat pada genom normal, masih ada lebih kurang 50 onkogen lain yang ada pada genom binatang/manusia yang potensial dapat mengalami aktivasi. Fungsi onkogen ini dalam sel normal belum diketahui; kemungkinan ada sangkut pautnya dengan

fungsi pengendalian pertumbuhan sel. Jalur penemuan onkogen yang lain ialah melalui penelitian dengan menggunakan retrovirus. Retrovirus terdapat dalam dua jenis, yaitu jenis retrovirus yang sangat onkogenik yang dapat merubah biakan sel normal menjadi sel kanker, dan jenis kurang onkogenik, yang hanya dapat menimbulkan efek onkogenik pada jaringan binatang. Jenis yang terakhir ini efeknya hanya dapat ditimbulkan bila terdapat dalam jumlah besar dan waktu laten yang lebih lama, yaitu beberapa bulan (dibandingkan hanya beberapa minggu pada kelompok yang sangat onkogenik). Ternyata pada kelompok retrovirus yang sangat onkogenik terdapat 4 gen, biasanya retrovirus hanya mempunyai 3 gen yang diperlukan untuk kelangsungan hidupnya. Gen ke 4 ini tidak mempunyai fungsi khusus untuk virus. Ternyata kemudian gen ke 4 tersebut bukan gen asli dari virus, tetapi berasal dari onkogen binatang/manusia yang terambil (transduced) waktu terjadi infeksi oleh virus yang bersangkutan. Onkogen tersebut diduga mengalami aktivasi saat terjadinya transduksi ke dalam genom virus. Selanjutnya bila virus yang sudah mengandung onkogen aktif tersebut menginfeksi sel binatang atau manusia, DNA yang terbentuk sebagai hasil transkripsi RNA (provirus), diintegrasikan ke dalam genom sel. Transkripsi DNA sel selanjutnya juga disertai transkripsi onkogen aktif yang terintegrasi tersebut, sehingga terbentuklah onkoprotein yang memungkinkan terjadinya karsinogenesis.

Retrovirus yang sifat onkogeniknya kurang kuat tidak mempunyai onkogen, dan tidak menimbulkan transformasi pada biakan sel. Pada infeksi oleh retrovirus yang kurang kuat sifat onkogeniknya, provirus yang terjadi diintegrasikan pada suatu tempat yang berurutan (arah hulu) dari onkogen. Dengan demikian onkogen letaknya berdekatan dengan promotor virus yang sangat aktif, sehingga ekspresi onkogen sangat meningkat. Hasilnya adalah ekspresi berlebihan (over expression) dari onkogen tersebut, sehingga dimungkinkan terjadinya karsinogenesis.

Hadirin yang terhormat.

Telah saya kemukakan bahwa karsinogenesis dapat timbul karena terjadinya mutasi pada DNA sel. Bagaimana sifat mutasi tersebut? Hal ini dapat diteliti dengan membandingkan DNA dari onkogen yang aktif dengan onkogen yang tidak aktif.

Dengan "cloning" dari masing-masing DNA, kita dapatkan DNA yang murni sehingga memungkinkan untuk diperbandingkan. Perbandingan ini dilakukan dengan teknik DNA rekombinan antara segmen-segmen yang berasal dari kedua macam DNA tersebut dengan teknik persilangan genetik. Hasil dari rekombinan

tersebut diuji dengan teknik alih gen untuk mengetahui kombinasi segmen mana yang menimbulkan transformasi pada biakan sel fibroblas.

Dengan makin dipersempitnya daerah DNA yang terlibat dalam transformasi sel, dapat ditentukan daerah tersempit dalam DNA dimana dapat ditemukan adanya perbedaan antara onkogen yang aktif dan onkogen yang tidak aktif (Onkogen yang aktif dapat menimbulkan transformasi sel pada tes alih gen). Dari percobaan demikian, ternyata bahwa perbedaan terletak pada daerah yang terdiri atas 350 nukleotida diantara 5000 yang ada. Dari urutan nukleotida tersebut ternyata kemudian bahwa antara kedua segmen tersebut hanya berbeda dalam satu basa, yaitu : guanin pada onkogen yang tidak aktif diganti oleh timin pada onkogen yang aktif; ini berarti bahwa antara onkogen yang aktif dan yang nonaktif hanya berbeda dalam satu nukleotida saja. Peristiwa ini dinamakan "point mutation". Mungkin hal ini merupakan permulaan dari serangkaian proses-proses yang terjadi dalam karsinogenesis. Walaupun hanya berbeda dalam satu nukleotida, implikasinya dapat luas. Sebagai akibat dari perbedaan satu nukleotida tersebut, maka protein hasil ekspresi gen yang bersangkutan berbeda satu asam amino, yaitu glisin pada onkogen yang tidak aktif diganti oleh valin pada onkogen yang sudah mengalami aktivasi. Sifat protein ditentukan oleh konformasinya, sedang konformasi ditentukan oleh urutan asam amino yang dikandungnya. Jadi tidaklah mengherankan apabila protein yang dihasilkan dari ekspresi onkogen yang aktif, sifatnya berbeda dari protein yang dihasilkan oleh onkogen yang tidak aktif.

Hadirin yang terhormat.

Pada penelitian lebih lanjut, diketemukan mekanisme-mekanisme lain disamping mutasi gen yang dapat menimbulkan karsinogenesis, yaitu :

1. Penataan kembali khromosoma (chromosomal rearrangement)
2. Amplifikasi onkogen
3. Menghilangnya (deletion) atau tidak berfungsinya gen tertentu.

Penataan kembali khromosoma dan amplifikasi gen merupakan mekanisme lain disamping mutasi dalam memacu aktivitas onkogen. Sedangkan hilangnya atau tidak berfungsinya gen atau gen-gen tertentu mengakibatkan hilangnya faktor penghambat aktivitas onkogen; gen yang bersifat demikian dinamakan anti-onkogen.

Penataan kembali khromosoma

Disini aktivasi onkogen terjadi karena berpindahnya onkogen yang semula tidak aktif dari tempat asalnya pada suatu khromosoma, ketempat yang berurutan dengan gen pembentuk immunoglobulin pada khromosoma lain. Promotor gen pembentuk immunoglobulin merupakan promotor yang sangat aktif, sehingga asosiasi onkogen dengan gen pembentuk immunoglobulin menyebabkan ekspresi onkogen sangat meningkat.

Amplifikasi gen

Disini onkogen terdapat dalam jumlah "copy" yang berlebihan. Dalam keadaan normal setiap onkogen hanya terdapat dalam dua "copy" saja. Dengan adanya amplifikasi gen ini, ekspresi gen meningkat jauh melebihi normal; dan keadaan ini menimbulkan fenotip sel kanker.

Anti onkogen

Telah dikatakan di atas bahwa menghilangkannya atau tidak berfungsinya anti onkogen mengakibatkan hilangnya hambatan terhadap aktivitas onkogen. Berbeda dari mutan onkogen (onkogen yang sudah berubah) yang terjadinya disebabkan oleh pengaruh- pengaruh dari luar dan tidak diturunkan, mutan anti onkogen yang terbentuk pada ovum atau sperma baik bersifat herediter maupun sebab-sebab lain dapat diturunkan kepada generasi penerusnya. Disamping itu mutan anti onkogen dapat juga terbentuk karena sebab-sebab dari luar pada waktu sel sudah mengalami diferensiasi seperti halnya onkogen. Bentuk yang ini tidak herediter.

Pada keturunan yang mendapat mutan anti onkogen, resiko mendapat kanker lebih besar dibanding mereka yang anti onkogennya normal.

Pengetahuan tentang anti onkogen ini banyak diperoleh melalui studi terhadap retinoblastoma, suatu tumor mata yang terdapat pada masa anak-anak.

Retinoblastoma dapat terjadi karena kelainan pada khromosom 13.

Pada analisis khromosoma, ternyata ada gen yang mengalami delesi (menghilang) pada khromosoma 13. Gen tersebut dinamakan gen Rb. Pada penelitian lebih lanjut dinyatakan bahwa retinoblastoma hanya terjadi apabila gen Rb tersebut tidak ada atau mengalami mutasi sehingga tidak dapat berfungsi dengan baik. Agar retinoblastoma dapat terjadi, kedua "copy" gen Rb harus terlibat. Mutasi pada gen Rb tersebut dapat terjadi pada saat masih ada di dalam ovum atau sperma maupun setelah terjadi diferensiasi sel yaitu pada sel yang akan menjadi retina.

Tumor lain yang mungkin manifestasinya melalui mekanisme yang sama dengan retinoblastoma adalah: tumor Wilm (Wilm's tumor) pada ginjal (kelainan

terletak pada khromosoma 11), kanker saluran kelenjar susu (ductal breast cancer) yang juga melibatkan khromosoma 13 dan kanker paru jenis sel kecil yang melibatkan khromosoma 3.

Dari kanker-kanker tersebut di atas satu-satunya anti onkogen yang sudah dapat diisolasi dan diuji hanyalah gen Rb. Yang lain masih merupakan hipotesis.

Penemuan anti onkogen ini mempunyai implikasi yang penting, mungkin dalam aplikasi klinik. Apabila gen Rb sudah dapat diisolasi dan dibuat "cloning", maka dengan memakai gen tersebut sebagai "probe" dapat dideteksi apakah fetus menderita kelainan pada gen Rb-nya.

Hadirin yang terhormat,

Pertanyaan berikutnya ialah bagaimana mekanismenya sehingga onkogen yang aktif menimbulkan terjadinya karsinogenesis.

Untuk dapat memahami persoalan ini sebaiknya kita menengok terlebih dahulu bagaimana proses perkembangan sel normal di dalam tubuh.

Semua sel yang terdapat di dalam tubuh berasal dari sel induk (stem cell). Sel induk mengalami multiplikasi dengan cepat. Setelah mencapai jumlah serta umur tertentu, sel-sel tersebut akan mengalami proses pematangan (maturing) dan diferensiasi menjadi sel-sel yang spesifik. Pada saat itu pertumbuhan (multiplikasi) sel akan berhenti.

Selama masa kanak-kanan dan masa dewasa proses multiplikasi dan diferensiasi akan berjalan secara harmonis, yaitu: pertumbuhan sel akan membentuk jaringan baru menggantikan sel yang mati, sedang berhentinya pertumbuhan setelah sel mencapai bentuk akhirnya menjamin adanya pengendalian agar tidak terjadi pertumbuhan yang berlebihan.

Pada sel kanker terjadi ketidak harmonisan antara kedua proses tersebut. Disini terdapat terlalu banyak sel muda yang belum mengalami diferensiasi dan yang tumbuh terlalu cepat.

Untuk mendapatkan keseimbangan yang harmonis antara proses multiplikasi dan proses diferensiasi diperlukan adanya faktor-faktor pengendali. Faktor-faktor tersebut merupakan protein-protein yang dihasilkan dari ekspresi gen-gen tertentu dalam genoma sel. Protein hasil ekspresi onkogen yang aktif tentunya berbeda dari yang dihasilkan oleh onkogen yang tidak aktif.

Pertumbuhan sel yang meningkat dapat terjadi karena beberapa sebab, yaitu :

1. Meningkatnya aktivitas faktor pertumbuhan (growth factor)
2. Meningkatnya kadar faktor pertumbuhan
3. Hilangnya atau tidak berfungsinya faktor penghambat pertumbuhan.

Meningkatnya aktivitas faktor pertumbuhan dapat terjadi karena berubahnya struktur molekul protein tersebut sebagai akibat terjadinya mutasi gen yang mengekspresinya. Kadar yang meningkat dapat terjadi sebagai akibat amplifikasi gen atau penataan kembali gen yang mengekspresi.

Hilangnya faktor penghambat pertumbuhan disebabkan karena adanya delesi atau rusaknya antigen-onkogen, sedang tidak berfungsinya faktor penghambat pertumbuhan dapat terjadi karena terbentuk ikatan kompleks antara faktor tersebut dengan protein asing lain. Telah saya uraikan dimuka bahwa dalam keadaan normal, multiplikasi sel akan berhenti apabila sel telah mengalami diferensiasi lengkap, yaitu pada saat sel tersebut telah memperoleh bentuk akhirnya. Diduga sel yang telah dewasa ini membentuk faktor penghambat pertumbuhannya sendiri.

Studi mengenai keharmonisan antara proses pertumbuhan dan proses diferensiasi ini banyak didapat dari penelitian Sachs mengenai sel-sel leukemia. Peneliti ini menggunakan klon dari sel leukosit normal dan sel leukemik. Seperti telah diketahui, sel-sel leukosit (sel darah putih) berasal dari sel induk mieloid (myeloid stem cell). Dalam keadaan normal sel induk mieloid akan menghasilkan sel-sel leukosit dewasa. Pada leukemia sel-sel yang dihasilkan oleh sel induk tersebut tidak mengalami pendewasaan dan tidak terdiferensiasi, tetapi tetap dalam bentuk sel pemula (precursor form). Sel-sel ini seperti sel-sel muda lain, terus menerus tumbuh memperbanyak diri dengan sangat cepat. Bila sel pemula yang normal ditanamkan kedalam biakan sel fibroblas, sel pemula tersebut akan mengalami multiplikasi dan diferensiasi sehingga terbentuklah makrofag dan granulosit yang normal. Ternyata fibroblas dalam hal ini merupakan sumber yang memproduksi suatu protein yang dapat merangsang (menginduksi) terjadinya proses multiplikasi dan diferensiasi sel pemula tersebut. Sifat faktor perangsang (induktor) tersebut adalah khas untuk tiap macam sel. Proses multiplikasi dan diferensiasi ternyata membutuhkan faktor perangsang yang berbeda. Proses diferensiasi dirangsang oleh protein yang dihasilkan oleh granulosit yang matang. Protein tersebut tidak dapat merangsang proses multiplikasi. Sebaliknya, faktor yang merangsang terjadinya multiplikasi tidak merangsang pematangan. Kecuali itu faktor untuk multiplikasi tersebut juga diperlukan untuk kelangsungan hidup sel. Tanpa faktor tersebut sel akan mati.

Mekanisme kedua induktor tersebut dalam menimbulkan efeknya ternyata berbeda. Untuk menimbulkan terjadinya diferensiasi, induktor yang diperlukan harus terikat pada DNA, sehingga dimungkinkan terjadinya aktivasi gen yang akan diekspresi bila waktunya telah tiba. Induktor pertumbuhan dalam menimbulkan efek multiplikasinya tidak terikat pada DNA, jadi harus ada mekanisme lain (kemungkinan melalui reseptor yang terdapat pada membran plasma). Pada penelitian lebih lanjut ternyata induktor pertumbuhan untuk sel

pemula mieloid terdiri dari 4 macam protein yang masing-masing mempunyai tugas sendiri-sendiri. Salah satu dari padanya bertugas menginduksi proses pertumbuhan sel pemula mieloid yang akan membentuk makrofag, granulosit, eritrosit, megakariosit, eosinofil, dan "mast cell". Protein yang kedua hanya berpengaruh terhadap sel mieloid yang akan membentuk makrofag dan granulosit saja. Sedang protein yang ketiga dan yang keempat masing-masing hanya berpengaruh terhadap bakal pembentuk makrofag atau granulosit saja.

Rupanya dalam melaksanakan tugasnya, protein-protein tersebut bekerja menurut suatu hirarki/urutan tertentu, yaitu mula-mula bekerja pada sel-sel mieloid sampai sel-sel tersebut mencapai stadium tertentu, untuk kemudian dilanjutkan dengan program-program yang lebih spesifik dalam pengembangan sel masing-masing. Setiap protein tersebut dihasilkan oleh gen-gen yang berlainan. Protein yang bertugas sebagai faktor diferensiasi dihasilkan oleh gen-gen yang jumlahnya sesuai dengan jumlah macam sel yang dihasilkan oleh proses diferensiasi tersebut. Sejumlah nama telah diberikan untuk faktor-faktor tersebut, antara lain : MGI-1 (Macrophage and Granulocyte Inducers type 1) untuk induktor pertumbuhan, dan MGI-2 untuk induktor diferensiasi. Pada sel normal kedua faktor tersebut bekerja secara harmonis.

Penelitian selanjutnya menyatakan bahwa induktor untuk proses diferensiasi berasal dari sel-sel mieloid itu sendiri, bukan dari fibroblas. Jadi fungsi faktor pertumbuhan ada dua macam, yaitu : memacu multiplikasi sel, dan merangsang sel-sel tersebut untuk membentuk faktor diferensiasi. Bila jumlah sel telah cukup banyak sehingga faktor diferensiasi telah diproduksi dalam jumlah cukup, proses diferensiasi dapat dimulai. Kerja sama antara kedua faktor tersebut pada sel normal mencakup pula keharmonisan antara berhentinya multiplikasi setelah sel mencapai bentuk akhirnya.

Telah dikemukakan diatas bahwa sel yang telah dewasa memproduksi faktor penghambat pertumbuhannya sendiri. Pada sel-sel leukemik kerja sama yang harmonis antara kedua faktor tersebut tidak terjadi.

Salah satu faktor yang menentukan terjadinya pertumbuhan sel mieloid yang normal ialah tersedianya faktor pertumbuhan. Dalam keadaan normal, seperti telah dijelaskan dimuka, pengadaan faktor pertumbuhan tergantung dari sel lain seperti fibroblas, yang menghasilkan protein penginduksi produksi faktor pertumbuhan tersebut. Pada penelitian dengan menggunakan klon-klon sel leukemik ternyata bahwa ada dua jenis sel, yaitu : jenis pertama ialah sel yang hanya membutuhkan sedikit faktor pertumbuhan untuk multiplikasinya, selanjutnya berkembang biak cepat sekali, yang akhirnya tidak lagi memerlukan induktor untuk produksi faktor pertumbuhan. Jenis yang kedua, yang dapat memproduksi faktor pertumbuhannya sendiri tanpa adanya induksi dari luar. Pada jenis ini, faktor pertumbuhan sudah berubah sifatnya, yaitu merupakan protein yang sifat-

nya konstitutif (akibat perubahan pada gen). Artinya bahwa sintesis protein tersebut berlangsung tanpa adanya rangsangan, sehingga merupakan protein yang tetap ada dalam sel tersebut. Sifat ini berbeda dengan faktor pertumbuhan pada sel normal, yang sintesisnya terjadi menurut kebutuhan, dengan cara menginduksi gen yang bersangkutan terlebih dahulu. Protein yang demikian dinamakan protein nonkonstitutif. Dengan berubahnya sifat faktor pertumbuhan menjadi protein konstitutif, sel kanker dapat tumbuh di jaringan manapun tanpa memerlukan pertolongan jaringan lain dalam penyediaan faktor untuk menginduksi pertumbuhannya. Dari uraian diatas dapat disimpulkan bahwa terjadinya leukemia mencerminkan adanya dua macam perubahan genetik, yaitu :

1. tidak adanya atau berkurangnya kebutuhan akan induktor dari luar untuk proses multiplikasinya yang mungkin diakibatkan oleh adanya mutasi pada gen.
2. terpisahnya proses diferensiasi dari proses multiplikasi.

Dalam percobaan yang menggunakan klon sel-sel leukemia mielositik, bila kedalam klon tersebut dimasukkan faktor diferensiasi, maka proses diferensiasi akan terjadi. Sel mieloid akan membentuk makrofag dan granulosit, disertai dengan munculnya sifat-sifat sel dewasa yang normal dan berhentinya multiplikasi. Kesimpulannya ialah bahwa sel-sel mielosit berubah menjadi leukemik karena kehilangan sifat normalnya dalam kebutuhannya akan faktor induksi pertumbuhan dari luar, tetapi masih mempertahankan kemampuannya untuk diferensiasi. Klon demikian dinamakan klon D+ (differentiation positive). Selain klon D+ dikenal pula klon D- (differentiation defective). Pemberian faktor diferensiasi pada klon ini menimbulkan dua macam kemungkinan perubahan, yaitu :

1. multiplikasi agak dihambat dan diferensiasi berjalan tetapi tidak sempurna, sehingga terjadilah bentuk peralihan (intermediate form).
2. sama sekali tidak ada respon. Multiplikasi tetap berjalan cepat, dan bentuk peralihan tidak terjadi.

Bentuk terakhir ini ialah sel leukemik yang faktor pertumbuhannya bersifat konstitutif. Kemungkinannya ialah bahwa klon D+ adalah tahap permulaan dari leukemia, sedangkan klon D- merupakan tahap lanjut, dimana telah terjadi perubahan-perubahan yang lebih ekstensif pada gen-gen terkait.

Pada analisis khromosoma, sel-sel leukemik menunjukkan adanya beberapa kelainan yaitu : berkurangnya jumlah khromosoma, adanya delesi dan penataan kembali khromosoma, disamping kemungkinan besar adanya mutasi gen.

Penelitian lebih lanjut mengungkapkan bahwa klon D+ dapat juga dirangsang oleh bahan-bahan lain yang bukan merupakan faktor diferensiasi normalnya, misalnya : deksametason, sitostatika dalam dosis rendah, insulin, beberapa

macam vitamin dan lain-lain. Ternyata faktor-faktor tersebut secara sendiri atau dalam kombinasi dengan faktor lain, atau dengan faktor normalnya dapat memacu berlangsungnya diferensiasi pada klon D-.

Peneliti lain melaporkan bahwa faktor-faktor tersebut dalam percobaannya dapat digunakan juga pada kanker jenis lain, yaitu : neuroblastoma dan teratokarsinoma.

Berbagai faktor perangsang diferensiasi bekerja dengan cara yang berbeda-beda. Salah satu diantaranya ialah dengan cara mengaktifkan (to turn on) gen yang memproduksi faktor diferensiasi. Pada beberapa macam klon D-, untuk menimbulkan proses diferensiasi diperlukan beberapa faktor perangsang yang masing-masing merangsang sebagian dari gen-gen yang diperlukan dalam proses diferensiasi, sehingga kombinasi dari pekerjaan faktor-faktor tersebut melibatkan seluruh gen yang diperlukan.

Dari penelitian-penelitian tersebut diambil kesimpulan bahwa proses diferensiasi yang normal memerlukan ekspresi yang sinkron dari beberapa gen. Interaksi antar molekul protein yang dihasilkan dari ekspresi gen-gen tersebut merupakan faktor penting dalam proses diferensiasi.

Bila ekspresi gen bersifat konstitutif dan bukan induktif maka akan terjadi kegagalan koordinasi ekspresi gen-gen yang terlibat dalam pertumbuhan dan perkembangan sel. Asinkronisasi mengakibatkan terhambatnya program diferensiasi sehingga sel tidak mencapai bentuk akhirnya, dengan akibat multiplikasi sel tidak dapat dihentikan. Dalam percobaan invitro, Sachs berhasil mengembalikan sifat induktif dari gen yang semula bersifat konstitutif dalam ekspresinya, sehingga sifat-sifat leukemiknya dapat dihilangkan.

Dengan diketahuinya bahwa sifat-sifat leukemik dapat dihilangkan dengan mengaktifkan proses diferensiasi, membuka cakrawala baru dalam terapi kanker. Sachs telah berhasil dengan baik menghilangkan sifat leukemik pada mencit yang disuntiknya dengan klon D+, dengan memberikan faktor diferensiasi atau faktor lain yang dapat mengaktifkan gen pembentuk faktor tersebut. Setidak-tidaknya apabila terapi tersebut dapat diterapkan pada manusia, cara tersebut dapat digunakan sebagai terapi alternatif disamping sitostatika yang diberikan dalam dosis besar, yang sering kali selain mematikan sel kanker juga mematikan sel sehat. Aplikasi lain yang mungkin dilakukan dalam terapi kanker ialah pemberian kedua faktor : pertumbuhan dan diferensiasi, bersama-sama dengan sitostatika dalam pengobatan kanker lain, untuk menanggulangi terjadinya agranulositosis yang sering terjadi pada pemberian sitostatika dosis tinggi.

Cara lain yang sedang banyak diteliti dalam terapi kanker ialah pemanfaatan antibodi monoklonal terhadap faktor pertumbuhan atau reseptornya. Dengan dihalanginya ikatan antara faktor pertumbuhan dengan reseptornya maka akan dihalangi pula efek yang ditimbulkannya sehingga tidak terjadi multiplikasi.

Keuntungan penggunaan antibodi monoklonal dibandingkan dengan serum yang konvensional, ialah kecilnya efek samping karena kemurniannya yang tinggi, dengan demikian sasaran juga lebih tepat.

Dengan difahaminya mekanisme yang menjadi dasar terjadinya karsinogenesis, kemungkinan besar akan terjadi perubahan-perubahan penatalaksanaan terapi kanker dimasa mendatang.

Hadirin yang terhormat

Demikianlah uraian saya mengenai perubahan-perubahan molekuler yang mendasari karsinogenesis dan kemungkinannya sebagai dasar terapi kanker, yang dapat saya rangkum dari berbagai sumber kepustakaan. Dari uraian tersebut saya menyadari, betapa jauh kita tertinggal dibidang tehnik laboratorium ilmu biokimia umumnya dan biologi molekuler khususnya. Untuk mengembangkan laboratorium biologi molekuler diperlukan dana yang tidak sedikit, baik untuk perangkat keras maupun perangkat lunaknya. Karena ilmu biokimia (termasuk juga ilmu biologi molekuler) adalah ilmu dasar, sehingga manfaat langsung terhadap pembangunan kurang dapat dirasakan masyarakat, pengembangannya bukanlah termasuk prioritas utama pada negara-negara berkembang termasuk Indonesia. Meskipun demikian, saya yang saat ini ditugasi mengelola Laboratorium Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga telah berusaha merintis jalan kearah itu. Usaha tersebut antara lain ialah dengan memberi kesempatan bagi staf pengajar, terutama yang masih muda, untuk mengikuti kursus-kursus ketrampilan dalam bidang tehnik laboratorium Biologi Molekuler. Sementara ini kursus-kursus tersebut diselenggarakan oleh Universitas-Universitas yang tergabung dalam Pusat Antar Universitas di Indonesia. Kiranya akan lebih baik lagi bila ada kesempatan untuk mengikuti kursus-kursus semacam itu di negara maju. Harapan saya adalah bahwa suatu ketika Universitas Airlangga akan mempunyai suatu Laboratorium Biologi Molekuler yang cukup representatif untuk melaksanakan kegiatan-kegiatan ilmiah dibidang tersebut. Untuk sementara ini kami harus sudah merasa puas apabila dapat mengikuti perkembangan-perkembangan yang terjadi di negara maju melalui informasi-informasi yang didapat dari perpustakaan. Perpustakaan yang memadai menurut hemat saya sangat penting dalam menunjang pengembangan Perguruan Tinggi, bukan saja untuk pengembangan ilmu-ilmu dasar tetapi juga bagi pengembangan ilmu-ilmu terapan. Bukan mustahil, sukar ataupun mahalnnya biaya untuk mendapatkan informasi yang "up to date" merupakan salah satu faktor penting dalam keengganan melakukan penelitian ataupun kurang bermutunya penelitian yang dihasilkan oleh staf pengajar Perguruan Tinggi, yang selama ini banyak

dikeluhkan. Oleh karena itu dengan segala kerendahan hati ijinlah saya menghimbau kepada Pemerintah Republik Indonesia, agar pengembangan dan pengelolaan perpustakaan, terutama yang terdapat pada Perguruan Tinggi pengelola pendidikan Pasca Sarjana, mendapatkan perhatian yang lebih baik dengan alokasi pembiayaan yang memadai.

Khusus bagi mereka yang berkecimpung dalam ilmu-ilmu dasar, informasi-informasi yang "up to date" mengenai kemajuan-kemajuan yang telah dicapai oleh rekan-rekan dari negara maju perlu terus diikuti. Hal ini perlu untuk mempersiapkan diri bila sewaktu-waktu keadaan telah memungkinkan, dapat langsung terjun bersama gerak langkah rekan-rekan tersebut tanpa harus mulai dari permulaan yang telah jauh ketinggalan seperti yang pernah diucapkan Menristek Prof. DR. Ir. J.B. Habibi dalam salah satu pengarahannya : "untuk dapat membuat kapal terbang orang tidak harus mulai dengan membuat sepeda".

UCAPAN TERIMA KASIH

Hadirin yang terhormat

Perkenankanlah saya kini mengucapkan terima kasih saya kepada berbagai pihak yang secara langsung maupun tidak langsung memungkinkan acara ini dilaksanakan.

Pertama-tama saya ucapkan banyak terima kasih kepada Pemerintah Republik Indonesia atas kepercayaan yang diberikan kepada saya untuk memangku jabatan Guru Besar.

Kepada saudara Rektor, saudara Dekan Fakultas Kedokteran dan para Guru Besar Universitas Airlangga saya ucapkan banyak terima kasih atas pengusulan dan kesediaannya menerima saya ditengah saudara-saudara sekalian. Semoga Tuhan mengizinkan saya untuk dapat memenuhi harapan-harapan saudara sekalian.

Kepada Prof. dr. J.A. Wibowo, guru saya, mantan Kepala Laboratorium Ilmu Biokimia, saya ucapkan terima kasih yang tak terhingga atas kesediaannya untuk memberi kesempatan kepada saya bekerja di Laboratorium Ilmu Biokimia sejak tahun 1956, meskipun waktu itu saya belum lagi menyelesaikan pendidikan dokter saya.

Terima kasih yang tak terhingga saya ucapkan bagi semua guru saya yang telah mendidik saya mulai dari Sekolah Rakjat di Kediri, SMP Negeri 1 Kediri, SMP Negeri 1 Surabaya, SMA Negeri 2 Surabaya dan Fakultas Kedokteran Unair Surabaya.

Kepada Drs. Parlinah Moedjono MA beserta staf, saya ucapkan banyak terimakasih atas bantuannya dalam penelusuran kepustakaan yang selama ini saya terima.

Terimakasih banyak saya ucapkan juga kepada saudara Drs. Soedarto beserta staf UP yang telah membantu menyelesaikan naskah ini tepat pada waktunya.

Kepada rekan-rekan senior di Laboratorium Ilmu Biokimia, Prof. dr. Purnomo Suryohudoyo, dr. H.R. Boediharto dan dr. H. Lukman Siregar serta semua staf pengajar maupun karyawan di Laboratorium Ilmu Biokimia, terimakasih saya ucapkan atas kerja sama yang selama ini terlaksana dengan baik.

Kepada Ibu-Ibu Unit Dharma Wanita Universitas Airlangga, terutama kepada Ibu Ketua, saya mohon maaf sebesar-besarnya karena kesibukan akhir-akhir ini saya sering tidak dapat secara aktif berpartisipasi dalam kegiatan Ibu-Ibu. Untuk toleransinya yang besar saya ucapkan banyak terimakasih.

Kepada Panitia Penyelenggara Acara ini saya ucapkan banyak terimakasih atas segala jerih payahnya sehingga acara ini dapat terlaksana dengan lancar.

Sembah sungkem saya kepada almarhum kedua orang tua saya, Bapak dan Ibu Salim Prawirodarsono yang telah bersusah payah mendidik saya untuk memberikan bekal dalam perjalanan hidup saya. Sayang sekali beliau-beliau tidak dapat menghadiri acara ini. Semoga arwah beliau berdua di terima Tuhan Y.M.E. di-sisiNya.

Sembah sungkem juga saya haturkan kepada almarhum Rama K.R.M. T. Soerjodiningrat beserta Ibu atas bimbingan serta doa restunya selama saya mendampingi puteranya.

Kepada suami tercinta Prof. dr. Purnomo Suryohudoyo, saya mengucapkan terima kasih yang tak terhingga atas bimbingan, dorongan dan toleransi yang telah anda berikan kepada saya baik selaku suami, atasan, dan sejawat saya, sehingga saya dapat sampai pada kedudukan sekarang ini. Acara pengukuhan jabatan Guru Besar ini sengaja saya pilih hari ini antara lain untuk menyongsong hari ulang tahunmu besok sebagai tanda taerimakasihku kepadamu.

Kepada anak-anakku tersayang Bakti, Asri, Rini dan Titut, Ibu mengucapkan banyak terimakasih, karena kalian tidak pernah menimbulkan kesulitan yang berarti dan penuh pengertian serta tidak terlalu banyak menuntut. Ibu selalu mendoakan kalian agar kalian berhasil dalam perjalanan hidup kalian.

Bagi para mahasiswa, saya tidak akan memberi banyak nasehat karena saya yakin saudara sekalian telah sarat dengan masehat-nasehat. Sebaliknya saya hanya akan menyampaikan satu pesan: berusaha se-maksimal mungkin untuk melaksanakannya tugas-tugas yang menjadi tanggung jawab saudara dengan sebaik-baiknya apapun tugas saudara dan dimanapun saudara berada".

Akhirnya saya ucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada hadirin sekalian atas perhatian dan kesabarannya dalam mendengarkan pidato saya ini. Sekian.

Wass. alaikum Wr. Wb.

KEPUSTAKAAN

1. Hunter, T. The Protein of Oncogen; Sci. Am.; 1983, 251 (2); 70-79.
2. Mertz, B. Antibodies to Tumor Growth Factors Herald New Era in Chemotherapy. JAMA, 1988, 259 : 957-958.
3. Robertson, M. Oncogenes and the origins of Human Cancer. Brt. Med. J. 1983. 286 (6359) : 81-82.
4. Sachs, L. Growth, Differentiation and the Revesal of Malig nancy. Sci. Am. 1986, 254 (1); 30 - 37.
5. Stryer, L. Biochemistry. 2nd Edition, New York; Freeman & Co 1981 : 740-748.
6. Watson, J.D.; Tooze, J; Kurtz, D.T. Recombinant DNA, a short Course. New York : Freeman & Co 1983 : 127-136.
7. Weinberg, R.A. A. Molecular Basis of Cancer. Sci. Am. 1983, 249 (5) : 102-116.
8. Weinberg, R.A. Finding the Anti-Oncogene. Sci. Am. 1988, 259 (3) : 44-51.