

TELAAH LEBIH JAUH TERHADAP PRION : PROTEIN PATOLOGIS SEBAGAI AGEN PENYAKIT

oleh:
Siufui Hendrawan¹

ABSTRACT

Further study of Prions: proteins as Agent Pathological Disease

The term prion, proteinaceous infectious particle, introduced by Stanley B. Prusiner, Nobel prize winner, in 1982 for infectious agents called prions that cause disease. Prion disease, which is also known as transmissible spongiform encephalopathies (TSEs), is a group of diseases that are fatal neurogeneratif in mammals, arising either genetic, infectious, or sporadic. Called spongiform encephalopathies because the mammalian brain is affected by the disease looks like a sponge, due to accumulation of large vesicles. Prion diseases that have been known, both in animals (scrapie, mad cow disease) and humans (Creutzfeldt-Jacob Disease, Gerstmann-Straussler-Scheinker Syndrome, Kuru, and Fatal Insomnia), can be developed over the years and all have been fatal. Although 15 years ago, there was skepticism, when B. Prusiner first time revealed that disease-causing agent of TSEs is a protein molecule called a prion. Nowadays more and more can be proved that the prion protein (PrPSc), pathological forms of cellular prion protein (PrPC), many accumulate in the brains of people with TSEs. Protein PrPC in its development may have misfolded (misfolding) that changed konformasinya forming PrPSc. This protein PrPSc deposits in the brain will eventually lead to the emergence of abnormalities in the nervous system.

Key words: prion, transmissible spongiform encephalopathies, misfolding

ABSTRAK

Telaah lebih jauh terhadap Prion : Protein Patologis sebagai Agen Penyakit

Istilah prion, *proteinaceous infectious particle*, diperkenalkan oleh Stanley Prusiner, pemenang hadiah Nobel, pada tahun 1982 untuk menyebut agen infeksi penyebab penyakit prion. Penyakit prion, yang juga dikenal dengan *transmissible spongiform encephalopathies* (TSEs), adalah sekelompok penyakit neurogeneratif yang bersifat fatal pada mamalia, yang timbul baik secara genetik, infeksius, maupun sporadik. Disebut *spongiform encephalopathies* karena otak mamalia yang terkena penyakit ini tampak seperti spons, akibat akumulasi vesikel yang besar. Penyakit-penyakit prion yang telah dikenal, baik pada hewan (*scrapie, mad cow disease*) maupun manusia (*Creutzfeldt-Jacob Disease, Gerstmann-Straussler-Scheinker Syndrome, Kuru, dan Fatal Insomnia*), dapat berkembang selama bertahun-tahun dan semuanya berakibat fatal. Walaupun 15 tahun lalu, timbul skeptisisme, ketika Prusiner pertama kali menyatakan bahwa agen penyebab penyakit TSEs adalah molekul protein yang disebut prion. Sekarang ini semakin dapat dibuktikan bahwa protein prion (PrPSc), bentuk patologik dari selular prion protein (PrPC), banyak terakumulasi pada otak penderita TSEs. Protein PrPC dalam perkembangannya dapat mengalami salah lipat (*misfolding*) sehingga berubah konformasinya membentuk PrPSc. Deposit protein PrPSc ini di dalam otak lama-kelamaan akan mengakibatkan timbulnya kelainan pada sistem saraf.

Kata-kata kunci : prion, transmissible spongiform encephalopathies, salah lipat

PENDAHULUAN

Saat ini penyakit yang diakibatkan oleh prion semakin banyak mendapat perhatian, apalagi sejak terjadi krisis penyakit sapi gila (*mad cow crisis*) di Amerika Serikat yang menimbulkan banyak kerugian. Penyakit ini telah menjadi momok di banyak negara. Tampilan otak yang seperti spons, akibat akumulasi vesikel-vesikel besar, dijelaskan oleh istilah *transmissible spongiform encephalopathies* (TSE).¹ Bentuk penyakit prion yang paling umum pada hewan adalah scrapie, yang ditemukan pada kambing dan domba. Hewan-hewan yang terkena akan kehilangan koordinasi sampai akhirnya tidak dapat berdiri. Mereka juga menjadi *irritable*, dan pada beberapa kasus, timbul gatal yang begitu hebat yang mendorong mereka untuk menggaruk bulu/wol mereka hingga lepas (asal nama "scrapie").²

Penyakit Prion pada hewan lainnya adalah *transmissible mink encephalopathy*, *chronic wasting disease* pada rusa dan *elk*, *feline spongiform encephalopathy*, dan *bovine spongiform encephalopathy* (penyakit sapi gila). Meski umum-

nya tersebar luas pada hewan, penyakit ini juga dapat dijumpai pada manusia. Di antara penyakit prion, *transmissible spongiform encephalopathies* (TSEs), yang menjangkiti manusia, *Creutzfeld-Jacob Disease* (CJD) adalah yang pertama kali ditemukan, yaitu sekitar tahun 1920-1921. Penemuan ini diikuti oleh ditemukannya *Gerstmann-Straussler-Scheinker Syndrome* (GSS) pada tahun 1928-1936. Pada tahun 1950an, dilaporkan bahwa penyakit Kuru menjangkiti suatu suku di New Guinea, kemudian menyusul *Fatal Familial Insomnia* (FFI) ditemukan pada tahun 1986, dan yang terakhir *New variant Creutzfeld-Jacob Disease* (NvCJD).³

Transmissible spongiform encephalopathies dapat ditularkan melalui infeksi, bila mengonsumsi jaringan yang terjangkit penyakit, seperti yang ditemukan pada *New variant Creutzfeld-Jacob Disease*, *iatrogenic CJD*, dan Kuru. *Transmissible spongiform encephalopathies* yang diturunkan secara hereditas akibat adanya *genetic disorder* atau mutasi gen PRNP yang menyandi protein prion adalah *familial CJD*

¹ Bagian Biologi Molekular dan Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara (dr. Siufui Hendrawan)

Correspondence to:
dr. Siufui Hendrawan,
M.Biomed. Department of
Biology Molecular and Biochemistry, Faculty of Medicine, Tarumanagara University, Jakarta.

(10% dari total kasus), *Gerstmann-Straussler-Scheinker Syndrome*, dan *Fatal Familial Insomnia*. Bentuk transmisi yang belum jelas diketahui atau dimengerti adalah bentuk sporadik yang seringkali timbul secara spontan misalnya *sporadic CJD*, meliputi lebih dari 85% dari total kasus yang ada serta bentuk sporadik dari *Fatal Insomnia*.^{1,4}

Meskipun telah banyak penelitian berkaitan dengan prion ini, namun sampai saat ini masih banyak yang merupakan teka teki. Apakah agen penyebab penyakit prion ini adalah protein semata dan bukan virus. Bila memang protein, bagaimana suatu protein dapat berubah menjadi patologis. Bagaimana agen penyakit ini ditransmisikan dan bereplikasi. Juga merupakan tantangan tersendiri untuk menemukan metode deteksi dini, vaksin, dan terapi dari penyakit yang fatal ini. Makalah ini diharapkan dapat menuntun kita mengenal lebih jauh akan penyakit misterius ini serta perkembangan terapinya sampai saat ini.

PENCARIAN AGEN PENYEBAB PENYAKIT PRION

Penelitian untuk mencari penyebab penyakit prion ini mulai dilakukan oleh Prusiner dkk. sejak tahun 1972. *Scrapie* pada kambing dan domba, *Creutzfeld-Jacob Disease*, dan Kuru diketahui dapat ditularkan dengan menyuntikan ekstrak dari jaringan otak hewan yang terjangkit ke hewan yang sehat. Awalnya diduga bahwa penyebab infeksi ini adalah virus *slow acting*, namun tidak ada satupun peneliti yang berhasil mengisolasi virusnya. Anehnya, sewaktu agen penyebab *scrapie*, yang diambil dari otak hewan yang terjangkit, diradiasi untuk merusak asam nukleatnya, ternyata agen tersebut tetap dapat menularkan penyakit. Jika absennya DNA/RNA pada agen *scrapie* tidak mengurangi

infeksiusitasnya, berarti penyebabnya bukanlah virus atau agen infeksius lainnya. Karena virus atau agen infeksius yang mengandung materi genetik tidak akan selamat melewati paparan radiasi. Kesimpulan yang didapat sementara adalah bahwa agen *scrapie* tersebut merupakan protein.^{2,5}

Istilah prion lalu diperkenalkan oleh Prusiner untuk membedakannya dari virus, bakteri, jamur, atau agen patogen lainnya. Prion diartikan sebagai partikel protein infeksius kecil yang tahan inaktivasi dengan prosedur yang merusak asam nukleat. Penelitian lebih lanjut, ternyata pada inti sel mamalia seperti tikus, *hamster* bahkan manusia terdapat gen PRNP (PRioN Protein (Creutzfeld-Jacob disease, Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome, fatal familial insomnia) yang mengkode protein prion. Manusia dan hewan-hewan tersebut mensintesis protein prion yang disingkat PrP (*Prion Protein*) sepanjang waktu tanpa jatuh sakit. Jadi dengan demikian PrP seharusnya tidak ada kaitannya dengan penyakit *transmissible spongiform encephalopathies*. Berbeda dari sifat protein pada umumnya, PrP yang diisolasi dari jaringan otak hewan yang terinfeksi penyakit *scrapie* yang bersifat resisten terhadap protease. Hal ini berbeda dari PrP yang ditemukan pada sel mamalia sehat bersifat sensitif terhadap protease. Selanjutnya, untuk membedakan protein yang normal dari yang infeksius, maka PrP yang normal disebut *PrP Cellular* (PrPC), sedangkan bentuk yang infeksius disebut *PrP Scrapie* (PrPSc).^{2,6}

Penelitian kemudian dilanjutkan ke tingkat gen. Sewaktu gen PRNP yang diisolasi dari penderita *Gerstmann-Straussler-Scheinker Syndrome* (GSS) dibandingkan dengan gen PRNP pada populasi normal, ditemukan adanya sedikit perbedaan yang dikenal sebagai *point mutation* pada kodon ke 102. Akibatnya, pada saat gen tersebut diekspresikan, yaitu pada saat sintesis PrP,

asam amino prolin akan digantikan dengan asam amino leusin (P102L). Juga terdapat mutasi pada kodon ke 117, sehingga alanin digantikan oleh valin (A117V). Dengan demikian, diduga ada kaitan antara mutasi yang terjadi pada gen PRNP dengan timbulnya penyakit. Hal ini kemudian terbukti dengan timbulnya penyakit scrapie pada tikus yang mengalami mutasi pada gen PRNP-nya.^{2,5}

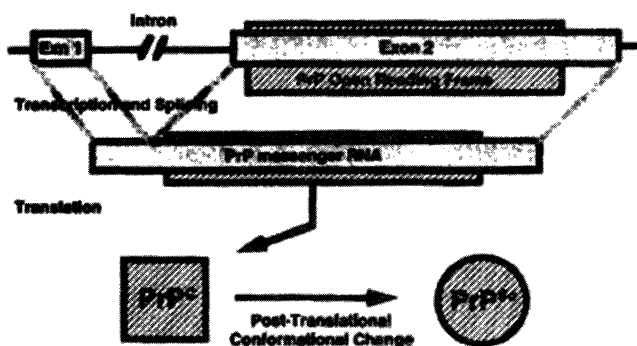
Saat ini sudah dapat direkayasa tikus transgenik dengan mutasi pada gen PRNP. Hewan transgenik ini ternyata di kemudian hari akan menderita penyakit *scrapie*. Apabila jaringan otak dari hewan transgenik ini dapat menimbulkan *scrapie* pada hewan sehat, maka terdapat bukti yang jelas bahwa protein prion (mutan) yang dihasilkan dari gen PRNP yang telah mengalami mutasi itulah yang bertanggungjawab atas timbulnya penyakit.^{2,5}

SATU PROTEIN DUA BENTUK

Protein prion disandi oleh gen PRNP yang terletak pada kromosom 20p12. Gen ini terdiri dari dua ekson yang dipisahkan oleh sebuah intron yang bila diekspresikan akan menghasilkan PrP 33-35 (BM 33-35kD). Protein ini kemudian akan mengalami

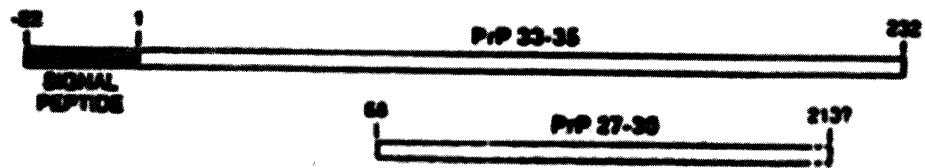
serangkaian modifikasi pasca translasi, menjadi protein dengan BM lebih kecil (27-30kD) (Gambar :1 dan 2). PrPc yang terdiri dari 253 asam amino, adalah suatu glikoprotein normal pada membran sel. Prion Protein penyebab *scrapie* (prPSc) adalah varian dari PrP normal. Tidak seperti PrPc, PrPSc bersifat lebih mudah beragregasi, tidak larut dalam detergen anionik, dan *partially resistant* terhadap proteinase K. Meski tidak ditemukan adanya perbedaan kimiawi di antara keduanya, PrPSc dapat dikatakan adalah bentuk resisten protease dari PrPc. Deposit PrPSc pada parenkim otak dipercaya penyebab dasar timbulnya *neural toxicity pada prion disorders*.^{2,5,6,7}

Setelah diselidiki, perbedaan utama antara PrPc dan PrPSc bersifat konformasional, yaitu bentuk tiga dimensi dari kedua protein tersebut. Pada PrPc, 40% dari area molekul tersebut membentuk lipatan yang disebut α -helix dengan *spiral backbone*, dan hanya 3% berupa *beta sheet* atau lembar beta. Sedangkan pada protein *scrapie* terutama (40-50%) dibentuk oleh β -strand/sheet dengan *fully extended backbone* (Gambar: 3). Banyaknya *beta sheet* pada PrPSc tidaklah mengherankan, karena tumpukan *beta sheet* inilah yang memudahkan terbentuknya amiloid. Prion Protein yang disintesis dari gen yang mengalami mutasi tidak langsung berbentuk *scrapie*. Dibutuhkan waktu yang cukup panjang bagi suatu PrP untuk berubah lipatnya secara spontan, lalu terakumulasi dan merusak jaringan otak^{2,5,6,7} (Gambar: 4).



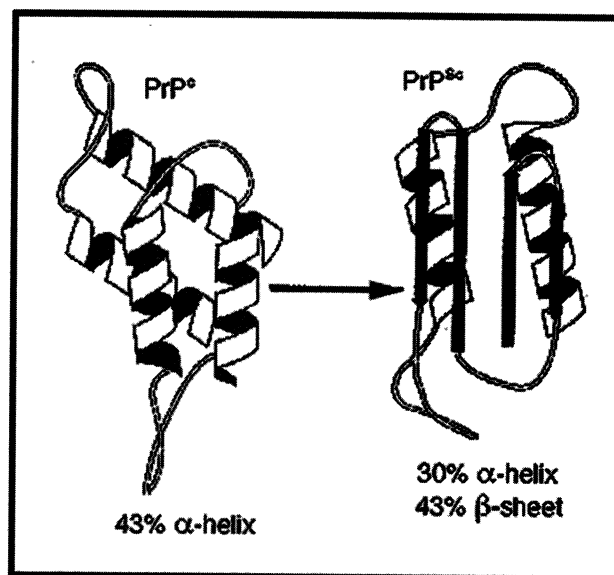
Gambar: 1. Organisasi dan ekspresi dari gen PRion Protein (PRNP)

Sumber: Prusiner.⁸



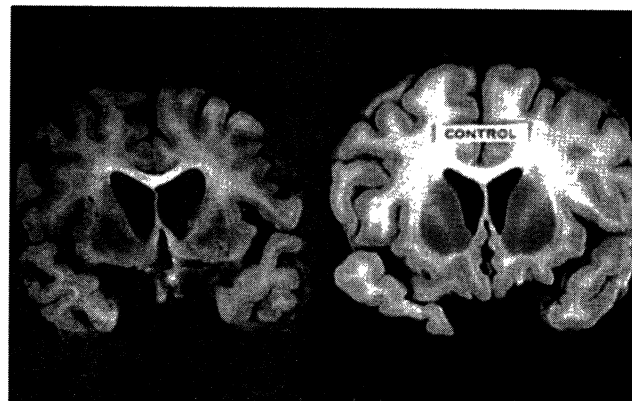
Gambar: 2. Ekspresi gen PRNP menghasilkan PrP 33-35. Setelah modifikasi pasca translasi dihasilkan PrP 27-30.

Sumber: Prusiner.⁸



Gambar: 3. Gambar yang sebelah kiri adalah PrP, dimana terlihat lebih banyak bentuk dua dimensi α -helix. Sebelah kanan adalah PrP^{Sc}, lebih banyak mengandung β -sheet.

Sumber: Cann⁹



Gambar: 4. Jaringan otak penderita *mad cow disease* dibandingkan yang normal.

Sumber: Science Life¹⁰

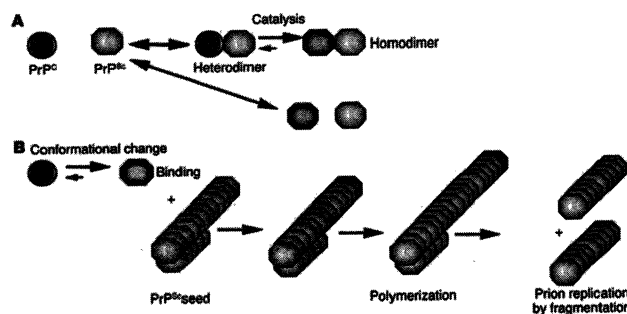
Jadi *prion disorders* akan timbul bila PrPC, mengalami perubahan konformasi dari dominan alfa helix menjadi bentuk patologik yang kaya akan beta sheet (PrPSc). Perubahan ini dapat dipicu oleh masuknya PrPSc dari luar melalui infeksi, mutasi pada gen protein prion yang diturunkan, maupun terjadi secara spontan pada kasus sporadik.¹¹

Replikasi Prion: dari *Alfa helix* menjadi *Beta sheet*

Replikasi protein prion hampir sama dengan duplikasi virus. Meliputi sintesis polipeptida, modifikasi pasca translasi, dan perubahan dari konvensional protein ke bentuk prion yang abnormal. Agen prion yang baru terbentuk ini akan mengakibatkan perubahan bentuk protein normal yang bersinggungan dengannya ke bentuk yang abnormal pula. Jadi PrPSc memperbanyak diri melalui kontak dengan PrPC dan dengan suatu cara yang tidak diketahui menyebabkan protein normal tersebut berubah lipatannya, dari konformasinya yang biasa ke bentuk *scrapie*.^{2,5,12}

Pada percobaan *in vitro*, PrPC pada membran sel dapat terikat dengan PrPSc dan berubah bentuk menjadi PrPSc (*kiss of death*). Studi kristalografi dan NMR menunjukkan bahwa secara alami dua molekul PrPC akan

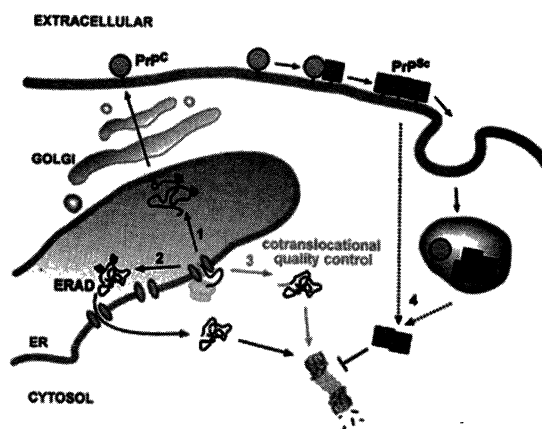
membentuk dimer. Daerah dimana kedua molekul PrPC saling berikatan adalah tempat dimana PrPSc berikatan dengan PrPC dan memicu pembentukan *beta sheet* pada molekul PrPC. Ada dua hipotesa bagaimana *alfa helix* pada PrPC dapat berubah menjadi *beta sheet* pada PrPSc. Pertama, PrPC mempunyai bentuk intermediat antara bentuk normal dan patologik, yang disebut PrP*. PrP* akan berikatan dengan protein lain yang disebut protein X oleh Prusiner. Akibatnya PrP* dapat terikat dengan PrPSc (membentuk dimer) dan mengadopsi bentuk dominan *beta sheet* dari PrPSc. Kedua molekul itu kemudian akan berpisah dan kembali merekrut PrPC lain. Hipotesa yang kedua lebih dapat diterima adalah *the seeding hypothesis (the nucleated polymerization model)*. Disini dikatakan PrPSc berperan sebagai *seed*/benih, sehingga molekul lain yang terikat dengannya akan mengadopsi bentuk PrPSc. Akan terbentuk heterodimer atau polimer yang panjang, yang sampai batas tertentu akan terpotong, kemungkinan oleh *chaperone* atau karena struktur tersebut secara mekanis tidak stabil lagi, menghasilkan fragmen-fragmen PrPSc yang lebih pendek, untuk kemudian merekrut PrPC lebih banyak lagi⁷ (Gambar: 5).



Gambar: 5. Model konversi PrPC menjadi PrPSc. (A) Model heterodimer. (B) Model polimer
Sumber: Aguzzi, dkk.⁴

Proses konversi PrPC menjadi PrPSc ini berlangsung pada sel. Prion protein normal, PrPC, seperti protein lainnya, disintesis oleh ribosom pada endoplasmik retikulum. Protein yang baru terbentuk ini akan masuk ke dalam kompleks Golgi untuk mengalami modifikasi dan akan diarahkan ke membran sel. Molekul PrPC kemudian akan terikat pada membran luar sel. Membran sel suatu waktu dapat melekat ke dalam untuk

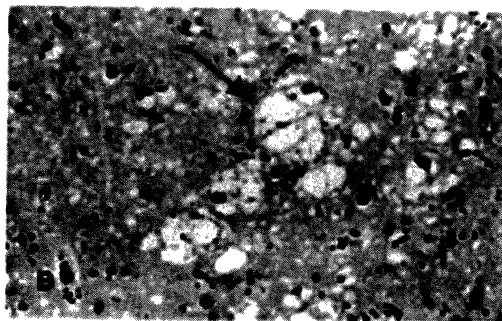
memasukkan material dari luar sel, membentuk gelembung yang disebut endosom. Bila terdapat PrPSc di luar sel, PrPSc dapat dimasukkan ke dalam sel melalui endosom dimana PrPSc mendapat kesempatan untuk berinteraksi dengan PrPC pada membran sel. Endosom kemudian dapat berfusi kembali ke membran sel dan melepaskan isinya berupa PrPSc hasil konversi dari PrPC⁷ (Gambar: 6).



Gambar: 6. Konversi PrPC menjadi PrPSc.

Sumber: http://www.sfb596.med.unimuenchen.de/pictures/publications/prp_formation_002.jpg¹³

Pada kultur sel, perubahan PrP normal ke bentuk scrapie berlangsung di dalam neuron, lalu scrapie PrP akan terakumulasi pada lisosom. Lisosom yang terisi PrPSc ini akan pecah dan merusak sel. Setelah sel-sel yang terinfeksi ini mati, maka akan dihasilkan lubang pada jaringan otak (*the swiss-cheese holes*), agen-agen prionnya akan keluar dan menyerang sel yang lain⁵ (Gambar: 7).



Gambar: 7. *Spongiform change* pada penyakit prion.
Sumber: Liberski¹⁴

Infeksiusitas dan Patogenesis Penyakit Prion

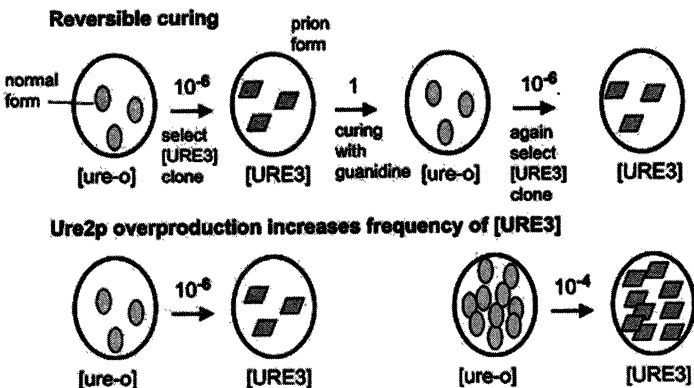
Peneliti di London telah berhasil mensintesis protein PrPC rekombinan. PrPC ini bila dicampur dengan PrPSc pada tabung percobaan akan berubah menjadi PrPSc. PrPSc hasil konversi ini kemudian disuntikkan pada tikus, mereka mendapati hewan percobaan itu bebas dari gejala penyakit TSE untuk lebih dari 550 hari. Sebaliknya, tikus sejenis yang diinokulasi dengan agen *scrapie* yang alami akan timbul gejala dalam 180 hari. Ketidakmampuan PrPSc untuk menimbulkan infeksi dalam tabung reaksi menyatakan dua kemungkinan. Kemungkinan pertama, adanya komponen lain, yang terdapat *in vivo*, yang membantu timbulnya infeksiusitas dari agen prion berupa suatu ko-faktor yang membantu merubah lipatan PrPC menjadi PrPSc. Komponen ini diduga adalah suatu glikosaminoglikan (GAG) yang berperan sebagai *chaperone* pengkonversi. Kemungkinan kedua, agen prion adalah sejenis virus dengan ukuran yang sedemikian kecil sehingga dapat lolos dari paparan radiasi. Untuk mengakhiri debat antara prion atau virus perlu disintesis PrPSc secara sintetik dan *dibuktikan*

*sifat infeksiusitasnya.*⁷

Melalui penelitian terhadap protein prion pada ragi, didapat cara lain untuk membedakan prion dari virus atau plasmid, yaitu dengan memperhatikan dua kriteria yang ditemukan pada prion namun tidak terdapat pada virus atau *nucleic acid replicons* lainnya.

Kriteria tersebut adalah:

1. *Reversible curability*. Jika penyebab suatu penyakit adalah virus, apabila penyakit itu berhasil disembuhkan maka penyakit tersebut tidak akan muncul lagi kecuali terinfeksi kembali oleh virus tersebut. Namun bila penyebab penyakit prion, meskipun sudah diberikan terapi, penyakit tersebut dapat muncul kembali karena masih terdapat protein yang memiliki potensi untuk berubah menjadi agen penyakit prion kembali.
2. Meningkatnya produksi protein akan meningkatkan frekuensi timbulnya penyakit prion. Hal ini disebabkan karena terdapat lebih banyak protein yang dapat berubah menjadi prion¹ (Gambar:8).



Gambar: 8. Kriteria genetik pada prion.
Sumber: Wickner, dkk.¹

Mengingat protein PrPC dilestarikan dalam evolusi, sewajarnya protein ini diasumsikan memiliki peran yang krusial dalam tubuh. Sehingga ada kemungkinan penyakit timbul karena protein ini kehilangan fungsinya. Pada tahun 1992, Prusiner, Weissmann, dan kawan-kawan berhasil mengembangkan tikus tanpa gen PRNP. Strain tikus *PrP-null* ini hidup seperti tikus normal lainnya tanpa menunjukkan gejala penyakit. Apakah ini menyatakan bahwa apapun peran PrPC dalam tubuh, sel memiliki jalan untuk mengompensasikannya. Peran PrPC dalam tubuh ternyata berkaitan dengan metabolisme tembaga. Tembaga adalah *trace element* yang esensial dalam tubuh. Mineral ini membantu tubuh dalam mensintesis kolagen, melanin, dan hemoglobin. Sel yang tidak memiliki PrPC lebih mudah keracunan tembaga. PrPC dapat mengikat dan memberikan tembaga kepada enzim yang memerlukannya, seperti *superoxide dismutase*, suatu antioksidan kuat yang berperan melindungi sel dari radikal bebas hasil metabolisme. Namun peran PrPC berkaitan dengan pengangkutan tembaga masuk dan keluar sel tidaklah begitu besar. Selain itu protein ini diduga berperan pula pada penyaluran sinyal antar sel neuron.⁷

Pada tahun 1996, kelompok peneliti di Nagasaki juga mengembangkan strain tikus *PrP-null*. Mereka mendapati tikus-tikus tersebut mendadak menderita sakit. Timbulnya gejala ataxia pada hewan percobaan itu diduga karena absennya protein PrPC. Hal ini tidak sesuai dengan hasil penelitian Prusiner, dkk. sebelumnya. Perbedaan ini ternyata karena peneliti Nagasaki menyingkirkan seluruh sekuens gen yang mengkode PrPC, termasuk *flanking regions*.⁷

Manusia dapat terjangkit penyakit prion lewat dua cara, yaitu:

1. Infeksi yang didapat, yang berasal dari makanan atau prosedur medis seperti injeksi *growth hormon*, transplantasi kornea, dan lain-lain yang dapat menjadi jalur masuknya agen penyakit
2. Transmisi yang diturunkan secara hereditas, bersifat autosomal-dominan

Patogenesis penyakit prion merupakan proses yang dinamis dan dapat dibagi dalam beberapa fase meliputi: infeksi dan replikasi perifer, neuroinvasi, dan neurodegenerasi. Agen prion yang tertelan akan diabsorpsi lewat dinding usus dan terakumulasi pada *plaque Peyer*. Sel-sel hematopoietik, seperti limfosit B, akan memfagosit agen prion tersebut dan membawanya ke *lymphoreticular system (LRS)* seperti lien, nodus limfatik, dan tonsil. Telah diketahui bahwa replikasi prion berlangsung pada jaringan limfoid tersebut. Lewat tempat tersebut, agen prion mendapat akses ke sum-sum tulang dan otak (neuroinvasi). Prion yang ada akan mengakibatkan makin banyaknya prion normal yang berubah ke bentuk yang infeksius. Deposit protein ini akan semakin banyak terakumulasi sebagai plak dan merusak neuron. Prion memperlihatkan sifat destruksi (neurodegenerasi) khususnya pada susunan saraf pusat (CNS).^{4,5}

Transmisi dan Gejala Klinis Penyakit Prion pada Manusia

Creutzfeld-Jacob Disease (CJD)

Gejala klinis ditandai dengan timbulnya depresi, dementia, inkontinensia uri, gangguan motorik sampai paralisis, tertawa yang tidak wajar, tremor, gangguan bicara dan yang khas diikuti dengan pneumonia. *Creutzfeld-Jacob Disease* lebih

banyak bersifat sporadik, dengan insiden sekitar satu per satu juta orang per tahun. Hanya 10 sampai 15 persen dari kasus *Creutzfeld-Jacob Disease* yang bersifat hereditas. Iatrogenik *Creutzfeld-Jacob Disease* diperkirakan ditransmisikan lewat transplantasi kornea, implantasi durameter atau elektoda pada otak, pemakaian instrumen bedah yang tercemar, dan injeksi hormon pertumbuhan. Bahkan diperkirakan satu dari 10.000 orang yang meninggal terinfeksi *Creutzfeld-Jacob Disease*. Gambaran ini sulit dipercaya karena sering terjadi misdiagnosis penyakit prion dengan penyakit neurologikal lainnya.^{2,15,16}

Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome (GSS)

Gejala klinis ditandai dengan *cerebellar ataxia*, gangguan motorik, kehilangan koordinasi otot, dan rusaknya *cerebellum*. *Dementia* lebih jarang terjadi. Penyakit ini dapat bertahan beberapa tahun sampai akhirnya penderita meninggal dunia. *Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome* dikenal bersifat familial, namun tidak jelas apakah ada yang bersifat sporadik juga. Angka kejadian *Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome* sekitar 2% dari *Creutzfeld-Jacob Disease*, timbul pada dekade ke 4 dan 5.^{3,5}

Kuru

Penyakit ini ditandai dengan berbagai kelainan *neurogeneratif*, dan dibagi menjadi 3 stadium, yaitu:

- stadium *ambulant* : jalan sempoyongan, disartria, tremor, inkoordinasi ekstremitas
- stadium *sedentary* : tidak dapat berjalan tanpa dibantu, tremor yang makin hebat, *ataxia* (kehilangan koordinasi otot), kelabilan emosi (tertawa terbahak-bahak dan depresi), kemampuan mental yang me-

nurun (*dementia*)

- stadium terminal : tidak dapat duduk tanpa dibantu, *ataxia* makin hebat, inkontinentia urin dan alvi, disfagia.^{3,12}

Kuru dikenal sebagai "*laughing death*" dan ditemukan pada suatu suku *south fore*, New Guinea, yang masih mempraktekkan kanibalisme. Mereka memakan jaringan otak orang yang meninggal dengan alasan religius. Kanibalisme inilah yang bertanggung jawab atas transmisi penyakit kuru yang fatal. Penyakit ini lenyap seiring dengan dihentikannya kanibalisme. Masa inkubasi penyakit Kuru adalah 2-23 tahun¹⁷

Fatal Familial Insomnia (FFI)

Penyakit ini ditandai dengan insomnia, disautonomia, *dementia*, sampai tidak dapat membedakan antara realita dan mimpi. Tampak atrofi yang berat pada talamus. Awalnya dikira penyakit ini adalah penyakit genetik yang diturunkan, namun penemuan bentuk yang sporadik menunjukkan bahwa penyakit ini dapat timbul spontan. Biasa timbul pada usia pertengahan. Sejak timbulnya penyakit sampai meninggal dapat memakan waktu antara 7-25 bulan.^{3,18}

New varian Creutzfeld-Jacob Disease (Nv. CJD)

Terjadi akibat makan daging sapi yang terinfeksi BSE (*mad cow disease*). Sampai saat ini Nv. CJD hanya dijumpai di satu negara yaitu Inggris.³ Sindrom Alpers adalah sebutan penyakit prion yang dijumpai pada bayi. Penelitian perlu terus dilakukan untuk mencari adanya hubungan antara prion dengan penyakit neurogeneratif lainnya seperti Alzheimer, Parkinson, dan *amyotrophic lateral sclerosis*.^{2,3,18}

Tabel: 1. Penyakit prion pada manusia

Prion disease	Natural host species	Etiology
sCJD	Humans	Unknown (somatic <i>PRNP</i> mutation?)
Familial Creutzfeldt-Jakob disease (fCJD)	Humans	Familial (germ line <i>PRNP</i> mutation)
Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease (iCJD)	Humans	Surgical procedures (infection)
vCJD	Humans	Ingestion of BSE-contaminated food; transfusion medicine (infection)
Kuru	Humans	Ingestion, ritualistic cannibalism (infection)
Fatal Familial Insomnia (FFI)	Humans	Familial (germ line <i>PRNP</i> mutation)
Gerstmann-Sträussler-Scheinker Syndrome	Humans	Familial (germ line <i>PRNP</i> mutation)
Scrapie	Sheep, goats	Infection, natural; mode of transmission unclear
Chronic Wasting Disease (CWD)	Deer, Elk	Infection; mode of transmission unclear
BSE	Cattle	Ingestion of BSE-contaminated feed (infection)
Transmissible mink encephalopathy	Mink	Ingestion (infection); Origin unclear
Feline spongiform encephalopathy	Cats	Ingestion of BSE-contaminated feed (infection)
Spongiform encephalopathy of zoo animals	Zoologic bovids, primates	Ingestion of BSE-contaminated feed (infection)

Sumber Aguzzi A⁴

Diagnosa dan Deteksi Dini Agen Penyakit Prion

Penyakit prion biasanya memiliki masa inkubasi yang cukup panjang. Perjalanan penyakit dari sejak awal sampai terminal bervariasi antara penyakit prion yang satu dengan yang lainnya, umumnya antara beberapa bulan sampai beberapa tahun. Kemampuan untuk diagnosa dini penyakit ini sangat vital, agar keberadaan agen prion dapat dideteksi jauh sebelum timbulnya gejala klinik.

Prion hanya dapat dideteksi pada sampel jaringan otak yang diambil pada penderita yang telah meninggal dan sangat sulit untuk ditumbuhkan di dalam laboratorium. Meski diduga bahwa agen prion juga terdapat di dalam cairan tubuh lainnya, seperti darah, sampai sejauh ini belum ada metode yang cukup sensitif untuk mendeteksinya. Suatu tim peneliti di Geneva mencoba teknik

baru untuk memperbesar jumlah agen prion yang diambil dari jaringan otak *Syrian golden hamster* yang terinfeksi *scrapie*. Mereka mencampur agen prion itu dengan jaringan otak hamster sehat agar terbentuk plak, lalu memecah plak tersebut dengan pancaran sinar ultrasonik, yang akan melepaskan lebih banyak prion lagi untuk mengonversi prion normal ke bentuk yang infeksius. Lewat beberapa kali siklus inkubasi dan sonifikasi ini, akan meningkatkan jumlah agen prion ke tingkat yang dapat dianalisis dengan metode identifikasi protein konvensional. Dengan metode ini, kemungkinan untuk mendeteksi agen prion dalam darah sangat menjanjikan.¹¹

Sekarang ini banyak perusahaan yang telah mengembangkan prion *diagnostic assays*. Banyak *commercial test kit* yang cukup valid untuk mendeteksi PrPSc seperti terlihat pada Tabel: 2.

Tabel: 2. Diagnosa molekuler penyakit prion

	Method	Diagnostic principle	Platform	Properties
Disease-associated PrP	Prionics-Check, Western blot	PrP ^{Sc}	Western blot	Very high specificity, medium throughput
	Prionics-Check LIA	PrP ^{Sc}	ELISA	High throughput
	Bio-Rad ELISA	PrP ^{Sc}	ELISA	High throughput
	Enfer Scientific TSE kit	PrP ^{Sc}	ELISA	High throughput
	InPro Biotechnology CDI	PrP ^{Sc} and protease-sensitive PrP ^{Sc}	ELISA	High throughput
Genetic tests	Anti-Y198 motif mAb's	PrP ^{Sc}	Immunoprecipitation	May obviate proteolytic digest
		<i>PRNP</i> ORF mutation	DNA sequencing	Unambiguous diagnosis of predisposition
Surrogate markers		14-3-3 Blood EDRF levels	Western blot, ELISA Northern blot, RT-PCR	Positive in cerebrospinal fluid Extraneural diagnostics
Prion infectivity assays	Endpoint bioassay	Prion infectivity	Transmission to mice	Highly sensitive and precise, long incubation times, extremely costly
	Bioassay by incubation time	Prion infectivity	Transmission to mice	High sensitivity, imprecise, very costly
	Scrapie cell assay	Prion infectivity	Transmission to cells	High sensitivity, currently medium throughput, only available for mouse prions
	Scrapie cell assay in endpoint format (SCEPA)	Prion infectivity	Transmission to cells	High sensitivity and precision, low throughput

Sumber Aguzzi A⁴ dkk

Terapi dan Antibodi terhadap Penyakit Prion

Dari banyak terobosan terapi penyakit prion yang telah dijelajahi, belum ada satupun yang terbukti efektif untuk mengobati penyakit ini. Lewat terapi gen, para peneliti berharap dapat menutup kemungkinan timbulnya protein yang tidak diinginkan dengan *knocked out* gen protein prion. Namun bila di kemudian hari didapati bahwa gen PrP ini ternyata esensial, harus dipikir akan alternatif lain. Saat ini

telah dikembangkan anti-PrP antibodi dan fragmen F(ab) terhadap PrP yang terbukti dapat menekan replikasi prion pada kultur sel. Namun, sistem imun mamalia akan mentolerir PrPC. Toleransi ini dapat diatasi dengan mengembangkan *high-affinity* anti-PrP antibodi monoklonal. Imunisasi pasif dengan anti-PrP antibodi monoklonal terbukti dapat memperlambat *onset* penyakit prion pada tikus yang terinfeksi prion. Namun sayang, strategi imunisasi aktif belum memberikan hasil yang berarti.^{1,3}

Tabel: 3. Pendekatan terapi penyakit prion

Therapeutic approach	Target	Properties	References
Polyanions	Possibly membrane-resident PrP ^{sc}	Efficient in cultured cells; relatively toxic in vivo	(70, 88)
Curcumin	Unknown	Efficacy in vivo unproven	(74)
Soluble lymphotoxin receptor	FDCs	Effective in vivo, but only on peripheral pathogenesis; moderate untoward effects	(28, 29)
CpG oligodeoxynucleotides	FDCs, DCs; B cells and macrophages	Severely immunoclastic at doses effective in vivo	(76, 79)
Anti-PrP antibodies	PrP ^c	Effective in vivo only if administered in massive doses	(80, 83, 84)
Amyloidotropic intercalators (e.g., Congo red)	PrP ^{sc}	Toxic; questionable efficacy in vivo	(89, 90)
Chemical or immunological sympathectomy	Peripheral nerves involved in neuroinvasion	Very efficacious, but unacceptable toxicity in vivo	(33)
Polyene antibiotics	Possibly membrane-resident PrP ^{sc}	Low efficacy in vivo	(91, 92)
Chlorpromazine and quinacrine	Unknown	Questionable efficacy in vivo; hepatotoxicity	(93-95)
Soluble dimeric PrP ^c immunoadhesin	PrP ^{sc}	Effective as transgene, but efficacy upon injection unproven	(87)

Sumber Aguzzi A⁴

Ide terapi lainnya adalah, bila *four-helix-bundle* model dari prion ini benar, maka dapat dikembangkan suatu obat yang akan terikat pada empat *helix* tersebut. Sewaktu terikat, obat ini akan menstabilkan bentuk empat *helix* ini serta mencegah terjadinya konversi ke bentuk *beta sheet*.²

Hasil yang menjanjikan didapati ketika beberapa peneliti di London menyuntikkan antibodi prion ke tikus percobaan. Tikus yang terinfeksi *scrapie* ini dapat bertahan hidup lebih lama dibandingkan dengan yang tidak mendapat antibodi. Beberapa obat anti prion juga telah dikembangkan. Seorang pasien Nv.CJD dilaporkan mengalami banyak perbaikan setelah mendapat *quinacrine* (obat anti-malaria) dan *chlorpromazine* (obat antipsikotik).¹⁹

PENUTUP

Meski sudah banyak yang diketahui dari penyakit prion. Masih banyak teka teki mengenai penyakit ini yang belum terungkap. Penyakit prion disebabkan oleh suatu protein yang disebut dengan PrPSc (*Prion Protein Scrapie*). PrPSc merupakan varian dari PrPc (*Prion Protein Cellular*). PrPc ini secara normal disintesis dalam tubuh sebagian besar mamalia sebagai ekspresi dari gen Prp. Bila terjadi mutasi pada gen PrP, PrP yang disintesis akan berubah lipatnya menjadi PrP-Sc. Jadi perbedaan antara PrPc dan PrPSc bersifat konformasional. PrPSc ini dapat ditransmisikan kepada manusia lewat makanan atau prosedur medis tertentu. PrPSc ini akan bereplikasi dengan mengkonversi protein

prion normal yang bersinggungan dengannya, ke bentuk yang infeksius. Selanjutnya PrPSc ini akan terakumulasi di jaringan otak, membentuk plak dan akhirnya akan meninggalkan lubang seperti spons pada otak post mortem. Oleh sebab itulah penyakit ini dikenal dengan sebutan *Spongiform Encephalopathies*.

Meski lebih umum ditemukan pada hewan, penyakit ini juga terda-

pat pada manusia. Perjalanan penyakit dan masa inkubasinya biasa memakan waktu yang cukup panjang. Gejala yang tampak menunjukkan kelainan neurologikal. Diagnosa pasti dilakukan dengan mendeteksi adanya agen prion pada jaringan otak. Berbagai ide terapi penyakit ini telah dikembangkan, mulai dari terapi gen, antibodi dan obat-obatan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wickner RB, Edskes HK, Roberts BT, Baxa U, Pierce MM, Ross ED, et al. Prions: proteins as genes and infectious entities. *Gene and Development* 2004;18:470-85.
2. Prusiner SB. The Prion Diseases. [cited 2006 Aug 28]. Available from: <http://www.sciam.com/article.cfm?articleID=0009FD80-C3C6-1C5A-B882809EC588ED9F>
3. Prion Disease. BBC News, health : Medical notes 1999 Aug 18 [cited 2006 Aug 28]. Available from: http://news.bbc.co.uk/1/hi/health/medical_notes/355601.stm
4. Aguzzi A, Helkenwalder M, Miele G. Progress and problems in the biology, diagnostics, and therapeutics of prion disease. *The Journal of Clinical Investigation* 2004;114:153-9.
5. Prusiner SB. Prion Diseases, *Scientific American*. 1995;272:48-56.
6. Prusiner SB. Prion Diseases and BSE crisis. *Science*. 1997;278:245-51.
7. Yam P. The Pathological Protein – Mad Cow, Chronic Wasting, and Others Deadly Prion Diseases. New York: Copernicus Books; 2003.
8. Prusiner, SB. Chemistry and biology of prions. *Biochem*. 1992;31(49):12277-88
9. Cann AJ. Principles of Molecular Virology. Academic Press, San Diego. 1997 [cited 2010 Jun 24]. Available from: www.trioci.com/sunnen/topics/prion.htm
10. Mitchum R. The Prion's Job and Antivax Smackdown. *Science Life* [serial on Internet]. 2010 Jan [cited 2010 Jun 24]. Available from: sciencelife.uchospitals.edu/.../neuroscience/
11. Gu Y, Fujioka H, Mishra RS, Li R, Singh N. Prion Peptide 106-126 modulates the aggregation of cellular prion protein and induces the synthesis of potentially neurotoxic transmembran PrP*. *J Biol Chem*. 2002;277:2275-86.
12. Prusiner SB. Molecular Biology of Prion Disease. *Science*. 1991;252:1515-22.
13. Prion Conversion. [cited 2010 Jun 19] Available from: http://www.sfb596.med.uni-muenchen.de/pictures/publications/prp_formation_002.jpg
14. Liberski PP, Ironside JW. Neuropathology of transmissible spongiform encephalopathies (prion disease). In: Brown DR, editor. *Neurodegeneration and prion disease*. New York: Springer;2005. p. 18.
15. Clarke T. Prion traces traced : Blasts of ultrasound amplify to detectable levels. 2001.
16. Bindon. Kuru : The Dynamics of Prion Disease [cited 2006 Sep 8]. Available from: <http://www.as.ua.edu/ant/bindon/ant570/Papers/McGrath/McGrath.htm>
17. Scully RE, Mark EJ, McNeely WF, McNeely BU. Case records of the Massachusetts General Hospital, N Eng. J. Med. 1993;328:12599-1266.
18. Heaphy S. Prion Disease, *Microbiology and Immunology*: BS3035: Prions 2003 Apr [cited 2006 Sep 8]. Available from: <http://www-micro.msb.le.ac.uk/3035/prions.html>
19. Pearson H. Antibodies cripple prions : Therapy looks best yet to tackle brain disease 2003 Mar [cited 2006 Sep 8]. Available from: <http://www.nature.com/nsu/010614/010614-11.html>
<http://www.nature.com/nsu/030303/030303-7.html>