

ANALISIS MOLEKULER GENOM VIRUS HEPATITIS C SERTA PERANANNYA DALAM PATOGENESIS INFEKSI

Tristia Rinanda

Abstrak. Virus Hepatitis C (HCV) adalah penyebab Hepatitis C, suatu penyakit yang masih menjadi masalah kesehatan di dunia, khususnya di Indonesia. Virus ini bergenom RNA untai tunggal yang berukuran sekitar 9,6 kilobasa. Genom HCV terdiri dari *untranslated region* serta sejumlah gen yang mengkode protein struktural dan non struktural. Setiap bagian dari struktur genom ini memiliki peran yang sangat penting dalam patogenesis infeksi. (*JKS 2012; 1: 53 - 57*)

Kata Kunci: Analisis molekuler, genom, virus hepatitis C, infeksi

Abstract. Hepatitis C Virus (HCV) is the causing agent of Hepatitis C, one of the major health problem in the world, especially in Indonesia. It is positive strand RNA virus with a genome size around 9,6 Kilobases. The single strand RNA genome of the virus contains untranslated regions and a large open reading frame that encodes structural and non-structural proteins. Each part of the genome plays important role on the pathogenesis of infection. (*JKS 2012; 1: 53 - 57*)

Keywords: *Moleculer analysis, genome, hepatitis C virus, infection*

Pendahuluan

Pada tahun 1980-an timbul sejumlah kasus hepatitis yang menyebar melalui transmisi parenteral. Virus ini tidak dapat dikategorikan dalam kelompok atau tipe virus hepatitis yang ada saat itu, yaitu Virus Hepatitis A, B dan delta. Seiring dengan perkembangan teknologi, ditemukanlah metode isolasi dan karakterisasi RNA virus. Virus ini kemudian dikenal dengan Virus Hepatitis C dan merupakan penyebab dominan kasus infeksi akibat virus hepatitis Non A dan Non B (NANBH)¹.

Hepatitis C adalah peradangan hati yang disebabkan oleh Virus Hepatitis C (*Hepatitis C Virus/HCV*), yaitu virus yang bergenom RNA untai tunggal dan dikategorikan ke dalam kelompok *flaviviridae*². Dalam perjalanan penyakitnya hepatitis C dapat menjadi infeksi akut dan infeksi kronis, dimana dari infeksi kronis tersebut dapat berkembang menjadi fibrosis dan kanker hati³. Hepatitis C juga berpotensi menjadi

kejadian Luar Biasa (KLB). Oleh sebab itu penyakit hepatitis C masih termasuk dalam masalah kesehatan utama di Indonesia⁴. Patogenesis infeksi HCV hingga menyebabkan hepatitis C tidak lepas dari peran struktur genom yang dimilikinya. Sekitar 9600 nukleotida menyusun sebuah *untranslated region* dan *Open Reading Frame* (ORF). *Open Reading Frame* akan mengkode sejumlah protein fungsional yang berperan dalam membentuk struktur virus serta berperan dalam patogenesis infeksi, terutama dalam hal mekanisme replikasi virus dalam sel inang⁵.

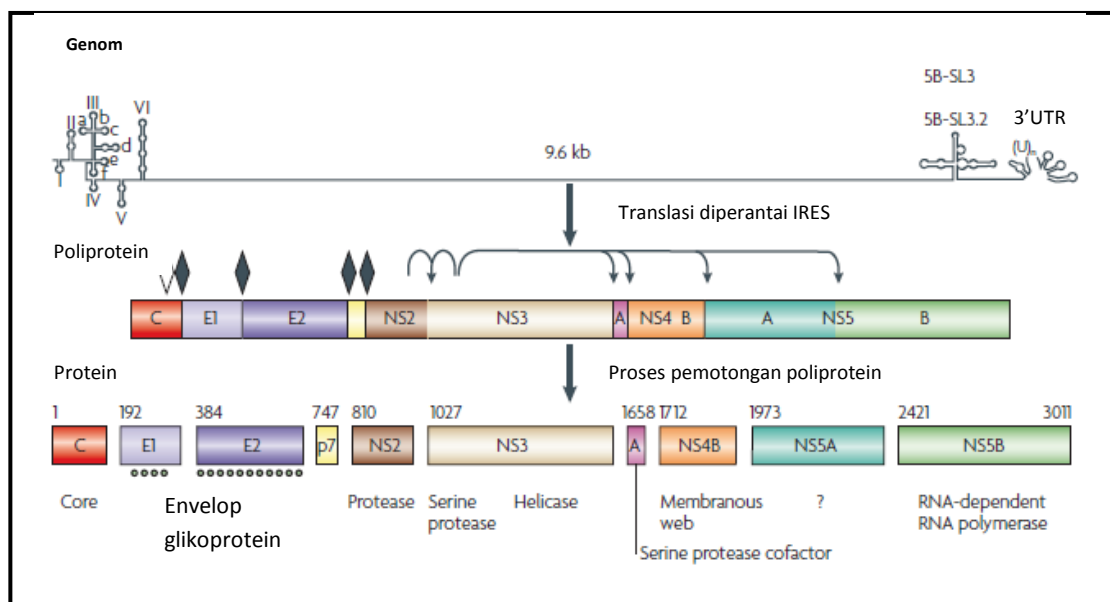
Struktur Genom Virus Hepatitis C

Partikel HCV (virion) terdiri berukuran 40-70 nm. Virion terdiri dari bagian inti (*core*) yang mengandung materi genetik berupa satu untai RNA yang dikelilingi oleh lapisan protein pelindung dengan struktur ikosahedral yang disebut nukleokapsid. Pada bagian luar nukleokapsid terdapat lapisan lipid dan glikoprotein yang membentuk struktur envelop⁵. *Open Reading Frame* mengkodekan sekitar 3000 asam amino. Poliprotein ini kemudian menjadi 10 protein fungsional pascatranslasi melalui

Tristia Rinanda adalah Dosen Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala Banda Aceh

proses yang melibatkan sejumlah proteinase milik sel inang dan virus⁵. Pada bagian ujung terminal 5' dan 3' terdapat daerah yang disebut *Untranslated region* (UTR). Daerah ini tidak mengkodekan protein apapun, namun berperan penting dalam inisiasi transkripsi dan translasi. Bagian yang terletak di ujung 5' disebut daerah 5'UTR, sedangkan yang terletak di ujung 3' disebut 3'UTR. Poliprotein post tranlasi terdiri dari protein struktural (terletak di dekat ujung amino) dan protein non struktural (terletak di

dekat ujung karboksil). Protein struktural adalah protein yang berperan dalam pembentukan struktur virus, yaitu protein *core*, E1, E2 dan p7. Protein non struktural terdiri dari NS2, NS3, NS4 dan NS5. Beberapa dari protein ini akan dipotong menjadi protein berukuran kecil yang berperan dalam replikasi virus. Rantai poliprotein yang terbentuk akan dipotong melalui mekanisme yang disebut *chopping*. Pemotongan ini dilakukan oleh sejumlah protease^{2,5}.



Gambar 1. Organisasi Genom HCV

Daerah 5' *Untranslated Region*

Daerah ini berukuran 342 nukleotida dan merupakan sebuah sekuens yang bersifat lestari (*conserved*) dalam genom HCV dengan tingkat kesamaan antar strain mencapai 90%. Persentase sekuens yang berbeda akan menunjukkan karakteristik tiap strain. Oleh sebab itu daerah 5'UTR dijadikan sebagai acuan untuk menentukan genotipe. Virus Hepatitis C dikenal dengan variasi genetik yang cukup tinggi. Saat ini di dunia telah dikenal 6 genotipe yaitu genotipe 1, 2, 3, 4, 5 dan 6. Pengelompokan genotipe HCV menjadi 6 genotipe didasarkan pada variasi urutan nukleotida di daerah 5'UTR. Variasi genetik HCV yang sangat tinggi terlihat nyata dengan adanya distribusi geografis

genotipe di daerah-daerah tertentu. Di daerah Asia Tenggara (termasuk Indonesia), sebagian besar kasus hepatitis C disebabkan oleh HCV genotipe 1, 2, 3 dan 6^{6,7}.

Daerah 5'UTR tidak mengkodekan protein namun dari sejumlah penelitian diketahui bahwa daerah ini berperan dalam regulasi translasi virus. Pada sekuens ini terdapat *Internal Ribosom Entry Site* (IRES) yang berperan dalam inisiasi translasi ORF menjadi rantai poliprotein yang kemudian akan menjadi sejumlah protein yang bekerja dalam replikasi virus. Berdasarkan studi analisis sensitivitas ribonuklease dan modeling struktur sekuender termodinamik diketahui bahwa

bentuk *loop* pada pada bagian ujung 5' bertindak sebagai IRES^{2,5}.

Daerah 3' *Untranslated Region*

Daerah 3' UTR memiliki panjang sekitar 225 nukleotida. Daerah ini terbagi menjadi 3 bagian yaitu *variable region*, *poly-(U)-poly(U/UC)* serta daerah yang lestari (daerah 3'X *region*) yang terdiri dari 3 segmen berbentuk *stem loop* (SL1, SL2 dan SL3). Daerah 3'UTR berinteraksi dengan 2 dari 4 bagian stabil *stem loop* di bagian ujung 3' daerah pengkode protein NS5B. Dalam replikasi virus, daerah 3'X dan 52 nukleotida dari ujung 5' *poly-U* memegang peranan penting, sedangkan daerah lain di daerah 3' UTR berperan meningkatkan laju replikasi⁸.

Protein Core

Protein ini terletak di ujung amino rantai polipeptida dan merupakan protein pembentuk kapsid virus. Selain berperan dalam pembentukan struktur terluar virus, protein *core* juga diduga menunjukkan aktivitas dalam proses replikasi virus di dalam nukleus, namun mekanismenya masih belum diketahui dengan jelas. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa protein *core* menekan transkripsi sejumlah gen inang seperti halnya yang ditemukan pada virus hepatitis B dan *Human Immunodeficiency Virus* (HIV). Selain itu juga ditemukan bahwa protein *core* juga dapat menghambat terjadinya apoptosis sel dan berinteraksi secara spesifik dengan bagian sitoplasmik dari reseptor *Lymphotoxin β* (LTR) yang merupakan salah satu dari *Tumor Necrosis Factors* (TNF). LTR diketahui berperan dalam sinyal apoptosis, sehingga protein *core* diduga memiliki fungsi sebagai imunomodulator dan berperan penting dalam mempertahankan keberadaan virus serta proses patogenesisnya. Dari sebuah penelitian mengenai analisis kadar trigliserida dalam sel diketahui bahwa ekspresi protein *core* mampu mengubah metabolisme seluler trigliserida. Steatosis yang merupakan karakteristik dari

penderita hepatitis menunjukkan kaitan antara protein *core* dengan gangguan metabolisme trigliserida^{1,8}.

Protein Struktural: E1 dan E2

Protein E1 dan E2 adalah protein penyusun bagian terluar virus. Protein ini mengalami glikosilasi di retikulum endoplasma dan membentuk glikoprotein. Sejumlah penelitian menunjukkan adanya interaksi yang cukup penting antara protein struktural dengan non struktural dalam hal kelangsungan replikasi virus. Bagian ujung amino protein E1 berinteraksi dengan protein *core*, sedangkan E2 berinteraksi dengan NS2, namun dari sejumlah penelitian terlihat bahwa interaksi yang paling dominan adalah interaksi antara E1 dan E2 dan interaksi ini merupakan hal terpenting dalam pembentukan struktur virus^{1,8}.

Daerah yang mengkodekan E1 dan E2 memiliki variasi antigenik yang cukup tinggi, terutama E2. Berbagai penelitian difokuskan untuk mengeksploitasi Daerah ini sebagai target pengembangan prototipe vaksin HCV. Variasi antigenik terjadi akibat sejumlah mutasi acak (*random mutation*) dan mutan yang terseleksi memiliki kemampuan untuk meloloskan diri antibodi yang dikeluarkan oleh tubuh inang¹. Kemampuan ini membuat virus mampu bertahan dalam sel inang dan penyakit berkembang menjadi kronis dan dapat berlanjut menjadi karsinoma hepatoseluler⁴.

Protein Non-struktural

NS2

NS2 merupakan protein transmembran non glikosilasi yang berukuran 23 kDa, dimana bagian ujung karboksilnya ditranslokasi ke dalam lumen retikulum endoplasma sedangkan bagian ujung aminonya tetap berada di dalam sitosol. Selain bersifat sebagai protease, NS2 juga dapat berinteraksi dengan protein inang, seperti *Cell death inducing DFF45 Like effector* (CIDE B) serta mempengaruhi gen reporter yang dikendalikan oleh sel hati

dan gen *promoter* dan *enhancer non-specific liver*⁸.

Pemisahan NS2 dan NS3 oleh serin protease NS3 merupakan tahapan yang cukup penting dalam replikasi virus. Tautan NS2 dan NS3 merupakan daerah yang cukup toleran terhadap mutasi¹.

NS3-NS4-A

NS3 adalah protein virus multifungsi yang memiliki aktivitas serin protease pada sepertiga ujung amino serta aktivitas helikase pada dua pertiga ujung karboksilnya. Protein NS4 berperan sebagai kofaktor aktivitas serin protease NS3. NS3-4A juga dapat berinteraksi dengan jalur seluler dan protein inang sehingga sangat berperan dalam siklus hidup virus serta patogenesis infeksi. NS3-NS4A juga merupakan target obat anti HCV yang paling populer^{1,4,8}.

NS3 serine protease sangat penting dalam siklus hidup HCV. Protease ini memotong rantai poliprotein pada tautan NS3/NS4A, NS4A/NS4B, NS4B/NS5A dan NS5A/NS5B. Dari penelitian terkini diketahui bahwa NS3-NS4A HCV berperan antagonis terhadap *dsRNA-dependent interferon regulatory factor 3* (IRF-3), yaitu suatu mediator induksi interferon dalam respon terhadap infeksi virus. NS3-NS4A juga mampu mencegah sinyal dsRNA melalui *toll like receptor* yang terdapat di bagian *upstream* IRF 3. Selain itu NS3-NS4A juga berperan memblokir *double-stranded RNA* sensor protein (RIG-I) intraselular. Hal ini membuat NS3-NS4A protease mampu menghindari respon imun yang teraktivasi pada tahap awal infeksi. NS3 juga dilaporkan mampu menginduksi transformasi menuju keganasan dari sel NIH3T3, menekan apoptosis yang diinduksi oleh aktinomisin-D pada sel murin serta terlibat dalam mekanisme pembentukan kanker hati^{1,8}.

NS3 Helikase

NS3-Helikase memiliki beberapa fungsi, yaitu menstimulasi aktivitas NTPase,

pengikatan RNA serta pelepasan struktur sekunder daerah RNA melalui pelepasan dan hidrolisis NTP. selama replikasi berlangsung, NS3-helikase berperan dalam mentranslokasikan substrat asam nukleat melalui perubahan konformasi protein dengan menggunakan energi dari hidrolisis NTP. Aktivitas NS3-helikase dimodulasi oleh domain NS3 protease dan NS5B^{1,4,8}.

NS4B

NS4B adalah protein membran integral yang tersusun dari 261 asam amino. Salah satu peran NS4B adalah sebagai tempat perlekatan kompleks replikasi pada membran. Selain itu NS4B juga dapat menghambat sintesis seluler, memodulasi aktivitas NS5B serta mengatur transformasi sel NIH3T3^{1,4,8}.

NS5A

NS5A memiliki peran yang cukup penting replikasi virus dan regulasi seluler. Bagian ujung amino daerah ini mengandung α heliks amfipatik yang sangat diperlukan dalam lokalisasi membrane serta penyatuan kompleks replikasi. Replikasi RNA replikon HCV dapat dihambat oleh mutasi pada sekuens NS5A¹.

Mekanisme regulasi replikasi HCV oleh NS5A sampai saat ini belum jelas seluruhnya. Protein NS5A berikatan dengan lipid membran intraselular melalui ikatan baguan ujung karboksilnya dengan *membrane associated protein*. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa hiperfosforilasi NS5A menyebabkan regulasi negatif terhadap replikasi virus. NS5A dapat berinteraksi langsung dengan NS5B serta dapat juga berinteraksi dengan protein seluler *geranylgeranylated*. *geranylgeranylation* dari satu atau lebih protein inang sangat diperlukan dalam replikasi virus⁸.

Dalam hal interaksi dengan protein seluler, NS5A memiliki beberapa fungsi, antara lain berperan dalam resistensi interferon dengan berikatan dan menghambat efektor antiviral interferon (PKR), berperan dalam

aktivasi transkripsi serta terlibat dalam regulasi pertumbuhan dan sinyal seluler⁸.

NS5B

Protein NS5B disebut juga dengan *RNA dependent RNA polymerase* (RdRp), yaitu enzim yang berperan mengkatalisis sintesis RNA rantai negatif dan positif. Protein ini juga merupakan target antiviral yang cukup penting. Variasi genetik yang cukup tinggi merupakan karakteristik utama dari HCV. Sebagai virus yang memiliki materi genetik RNA, HCV membutuhkan enzim *RNA-dependent RNA polymerase* untuk mengkatalisis sintesis RNA virus. Enzim ini tidak memiliki fungsi 5'-3' eksonuklease, yaitu fungsi untuk memperbaiki kesalahan penyusunan nukleotida yang terjadi selama replikasi. Berdasarkan pengamatan evolusi genom HCV selama 8 tahun pada simpanse dan 13 tahun pada manusia, frekuensi mutasi HCV akibat kesalahan penyusunan nukleotida diperkirakan mencapai $1,4 \times 10^3$ hingga $1,9 \times 10^3$ nukleotida per tahun. Beberapa mutasi yang terjadi bersifat *silent mutation* atau tidak menyebabkan perubahan pada urutan asam amino namun hanya mempengaruhi urutan dari nukleotida yang terbentuk. Mutasi yang lain dapat menyebabkan perubahan pada protein sehingga bersifat letal atau dapat menyebabkan timbulnya varian-varian HCV^{7,9,10}.

Kesimpulan

Struktur genom Virus hepatitis C berperan penting dalam patogenesis infeksi. Sejumlah gen mengkode protein penting, seperti protein core, E1, E2, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A dan NS5B. yang berperan dalam replikasi serta mekanisme pertahanan hidup virus di dalam sel inang. Daerah yang tidak mengkodekan protein, yaitu 5'UTR dan 3'UTR juga berperan dalam mekanisme translasi protein virus. Pemahaman mengenai struktur genom virus Hepatitis C merupakan jendela untuk memahami patogenesis infeksi.

Daftar Pustaka

1. Clarke, B. Molecular virology of Hepatitis C Virus. *Jurnal of Molecular Virology*. 1997. 48: 2396-2410.
2. World Health Organization. 2009. Fact Sheet: Hepatitis C. <<http://www.who.int>> diakses tanggal 28 September 2009.
3. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2009. Tiga Persen Penduduk Dunia Terinfeksi Hepatitis C. <www.depkes.go.id> diakses tanggal 12 September 2009.
4. Eroglu, C dan Argun P. Hepatitis C Virus: Genome Organization, Viral Proteins and Implication in Disease Pathogenesis. 2000. 24: 253-259
5. Moradpour, D., Penin, F., Rice, C.M. Replication of Hepatitis C Virus. *Nature Reviews Microbiology*, 2007.5: 453-463.
6. Inoue, Y., Sulaiman, A., Matsubayashi, K., Julitasari, Iinuma, K., Ansari, A., Laras, K. (2000): Genotypic Analysis of Hepatitis C in Blood Donors in Indonesia. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, 62, 92-98.
7. Simmonds, P. (2004) : Genetic Diversity and Evolution of Hepatitis C Virus -15 years on. *J. Gen. Virology*, 85, 3173-3188.
8. Chevaliez, S dan Pawlotsky, J.M. 2006. HCV Genome and Life Cycle. *Harrison Scientific Press*. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> diakses tanggal 12 September 2009.
9. Guillemette, G.H.L., Fabiani, F.L., Valet, S., Graffin C.G., Payan, C., Pivert, A., Goudeau, A. (2007) : Genetic Diversity of the Hepatitis C Virus : Impact and Issues in the Antiviral Therapy. *World J Gastroenterol*, 13, 2416-2462.
10. Department of Health and Human Services National Toxicology Program. 2004. Hepatitis C Virus: Eleventh Report on Carcinogens. <ntp.niehs.nih.gov> diakses tanggal 12 September 2009.