

HISTOPATOLOGIK DAN GENETIKA PENYAKIT ALZHEIMER

Sofia Mubarika Haryana & Radjiman
Bagian Histologi dan Biologi Sel
Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada
Yogyakarta

ABSTRACT

Sofia Mubarika Haryana dan Radjiman - Histopathologic and Genetics of Alzheimer's Disease

Alzheimer's Disease (AD), the most common cause of dementia, has become a major public health concern as cognitive deterioration as well as behavioral, affective and psychotic disturbances. Four different genes have been associated with AD, and others likely to be discovered. This finding made a dramatic progress in understanding the neurogenetics and pathophysiology AD. The mechanism by which altered amyloid and tau protein metabolism may produce neuronal degeneration in AD are being identified. The neurofibrillary tangles which consist of intraneural bundles of abnormal filament, composed of a highly phosphorylated form of microtubule-associated protein tau which occupying the perikaryotic cytoplasm and extending to the dendritic processes. Cellular and molecular approaches have been done to detect proteins from many materials: cerebrospinal fluid, serum, tissues which is likely could be used as diagnostic and peripheral marker; i.e. western blot, immunohistochemistry using specific monoclonal antibodies. Some gene abnormalities i.e. mutations could be detected by PCR method in *APP* gene, *PS 1* dan *PS 2* genes, also allelic by homozygosity/heterozygosity of *APOE* gene, which can give clue what are happening in those genes of AD. Based on these discoveries, rational therapeutic strategies are developing rapidly. Because cholinergic dysfunction may contribute understanding to the symptom of AD patients, enhancing cholinergic neurotransmission constitutes a rational basis for symptomatic treatment. Cholinergic enhancement with acetylcholine esterase inhibitor has now been shown to provide mild symptomatic benefit. Anti inflammatory and antioxidant, neurotransmitter modulation and neuroprotection may also directly interfere with underlying process.

Key words: *Alzheimer's Disease (AD) - four genes defects - pathophysiology - treatment*

(B.NeuroSains, Vol. 1, No.1: 77 - 80, Oktober 1999)

PENDAHULUAN

Alzheimer's disease (AD) merupakan penyakit neurodegeneratif bersifat progresif, ditandai dengan adanya timbunan peptida amyloid β ($A\beta$), *cortical neural loss*, *neurofibrillary tangle* dan penurunan fungsi kognitif (Mc Namara *et al.* 1998). Sampai saat ini konfirmasi kepastian AD masih berdasar otopsi (Fillenbaum *et al.* 1996).

AD merupakan salah satu penyebab utama demensia dan penyebab kematian ke-4 di Amerika (Katzman, 1976). Prevalensi AD bervariasi berdasar usia, 3% pada individu berusia kurang dari 65 tahun (*early onset*), hampir 50% pada individu berusia 85 tahun (Lautenschlager *et al.* 1995). *Early onset* AD jarang, tetapi tetap merupakan penyebab utama penurunan fungsi kognitif pada usia tengah lanjut (*late middle age*). Rata-rata waktu timbulnya penyakit sampai kematian lebih kurang 7-8 tahun.

Pengobatan yang ada dewasa ini hanya berupa pengobatan palliative minor.

Abnormalitas genetik terbukti merupakan penyebab utama AD. Empat gen terlibat dalam perkembangan AD. Pada AD *early onset*, tiga gen telah diidentifikasi yaitu: gen amyloid β protein precursor (*APP*) pada kromosom 21, gen *presenilin 1* (*PS1*) pada kromosom 14, dan *presenilin 2* (*PS2*) pada kromosom 1. Sedang faktor resiko genetik pada *late onset* AD adalah gen *apolipoprotein E-4* (*APOE*) pada kromosom 19 (Blacker *et al.* 1998).

Sampai saat ini keempat gen tersebut masih sulit digunakan sebagai suatu alat diagnostik dan prediktif untuk AD. Penelitian untuk mencari gen lain yang terlibat khususnya pada *late onset* serta mekanisme gen-gen yang telah teridentifikasi terus dilaksanakan sehingga terapi yang lebih tepat dan upaya pencegahan dapat dilakukan.

ABNORMALITAS GENETIK PADA ALZHEIMER'S DISEASE

Early Onset

Gen APP

Gen APP menyandi protein amyloid β precursor (protein APP). Pemrosesan normal APP menghasilkan peptida A yang merupakan komponen normal cairan tubuh. Protein APP diekspresikan pada hampir seluruh sel tubuh dalam bentuk lengkap dijumpai terutama di permukaan jaringan otak 50% dan 10% pada trombosit. Protein APP dalam bentuk solubel juga dijumpai akibat aktivitas enzim α dan β sekretase. Pada penderita AD dijumpai mutasi gen APP yang menyebabkan proses proteolisis protein APP meningkat sehingga $A\beta$ juga meningkat seperti dijumpai pada *senile plaque*. Mutasi gen APP dan abnormalitas gen APOE-4 dijumpai pada *early onset AD* dengan deposisi amyloid lebih banyak (Ponte *et al.* 1998).

Dari beberapa penelitian terbukti bahwa keberadaan protein APP pada sel-sel tubuh seperti endotel dan sel darah mempunyai peran dalam deposisi $A\beta$. Oleh karena itu, $A\beta$ dalam sirkulasi mempunyai arti penting baik pada diagnosis maupun patogenesis AD. Trombosit manusia merupakan salah satu sel darah yang mengandung banyak APP (>95%). Tiga bentuk APP isoform dijumpai pada membran trombosit (*resting*), trombosit megakaryocyt yaitu APP 695, APP 751 dan APP 770. Trombosit teraktivasi melepaskan fragmen APP 751/770 (*mature* dan *full length*) serta solubel, berbentuk *carboxyl truncated* yang disimpan dalam granula alpha (protein nexin II). Pada stimulasi, trombosit dapat melepaskan suatu protein yang secara fungsional identik dengan *platelet coagulation factor XIa inhibitor*, berbentuk *truncated* APP mengandung domain Kunitz (Smith *et al.* 1990). Bukti juga menunjukkan adanya modifikasi dalam pengonsentrasian/pemrosesan APP trombosit pada penderita AD tahap lanjut dan trombosit pada individu AD menunjukkan perubahan membran *fluidity*. Sehingga disimpulkan sementara bahwa berbagai tingkat APP isoform secara spesifik berhubungan dengan AD dan tingkat isoform APP dapat dianggap sebagai marker progresifitas penyakit.

Penelitian membuktikan bahwa pada AD ditandai secara spesifik dengan peningkatan isoform APP trombosit dan meningkatnya APP trombosit ini mempunyai korelasi positif dengan progresifitas penyakit sehingga sangat mungkin dapat digunakan sebagai parameter perifer untuk prognosis (Di Luca *et al.* 1998).

Gen Presenilin

Mutasi pada gen PS1 dan PS2 (terbanyak PS1) dijumpai pada $\pm 50\%$ *early onset AD* (Tanzi *et al.* 1996). Sampai saat ini telah diidentifikasi 45 mutasi yang berbeda pada gen PS1 dan PS2. Mutasi PS1 pada AD bersifat *fully penetrant* dan diklasifikasikan sebagai *autosomal dominant causative gen defect*.

Usia onset pada penderita AD dengan mutasi PS1 ± 45 tahun (berkisar 32-56 tahun) dan tidak terpengaruh oleh APOE-4. Rata-rata usia onset AD dengan mutasi PS2 Volga, Jerman adalah 52 tahun, sedang anak-anaknya berkisar pada usia 40-85 tahun; dengan kemungkinan faktor resiko tambahan yaitu lingkungan dan APOE-4.

Dari 47 keluarga AD dengan mutasi PS1 dan PS2, 35 ditemukan pada seorang anaknya atau seorang penderita dan tidak ada hubungan keluarga, berarti $\pm 70\%$ mutasi gen *presenilin* bersifat 'private' sehingga tidak praktis untuk melakukan tes genetik pada *early onset AD*.

Late onset

Gen APOE

Gen APOE memiliki 3 alel, yaitu alel 2,3 dan 4. APOE berperan sebagai faktor resiko genetik untuk AD terutama APOE-4/4 homosigot. APOE alel 4 dijumpai menurun pada 20-30% populasi tetapi pada penderita AD meningkat 45-60%. Sebanyak 2-3% APOE4/4 homosigot terdapat pada populasi, tetapi 12-15% pada AD. Sehingga APOE tidak dianjurkan digunakan sebagai diagnostik.

Gen APOE menyandi protein apolipoprotein E berfungsi mengangkut kolesterol dan lipid ke dalam hati melalui interaksinya dengan reseptor *low density lipoprotein* (LDL) pada permukaan sel hati (hepatosit). APOE juga berperan pada pembentukan dan regenerasi myelin selama perkembangan atau setelah trauma (Mak *et al.* 1996).

APOE $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ dan $\epsilon 4$ menghasilkan 3 isoform APOE, yaitu E2, E3 dan E4 semuanya terdapat dalam sirkulasi darah. E4 berkaitan dengan kadar kolesterol tinggi sedang E2 dengan kadar kolesterol rendah. Isoform APOE ini mempunyai varian 4-8% dalam kolesterol sehingga mempunyai kontribusi cukup berarti pada peningkatan resiko penyakit jantung koroner (Hallman *et al.* 1991)

AD ditandai dengan dimensia progresif berupa hilangnya neuron cortex, adanya benang-benang neurofibrilar yang tidak beraturan (*neurofibrillary tangle* = NFT) serta plaque (bercak-bercak) $A\beta$. Pada plaque dijumpai APOE berikatan dengan peptid $A\beta$ -A44. Dari analisis secara *linkage* diketahui bahwa *late onset AD* berhubungan erat

dengan peningkatan allel $\epsilon 4$ pada kromosom 19 secara signifikan dibanding dengan kontrol.

GAMBARAN HISTOPATOLOGIK

Penggolongan AD secara klinik menjadi familial AD (FAD) dengan mutasi pada kromosom 21 codon 712 dan 670-671 dari gen *APP*; FAD yang berkaitan dengan mutasi kromosom 14. Resiko AD ditentukan oleh kromosom 19. Sedang Sporadic AD (SAD) dengan tanda usia munculnya penyakit lebih awal, perubahan perilaku, myoclonus, bradikinesia dan aphasia.

Secara neuropatologi SAD dan FAD mempunyai gambaran sama seperti *neuronal loss*, deposisi $A\beta$, deposisi plaque $A\beta$ difus, plaque neuritik, fosforilasi abnormal mikrotubulus yang menyebabkan adanya NFT dan benang-benang neurofil.

PATOGENESIS ALZHEIMER'S DISEASE

Peranan keempat gen yang terbukti terlibat dalam kejadian AD, dapat ditunjukkan berupa *senile plaque*. *Senile plaque* mengandung suatu inti $A\beta$ yang dikelilingi oleh ujung saraf degeneratif dari sel glia yang teraktifasi. Pada model binatang (mencit transgenik yang disisipi gen *APP* mutan) pada otak mencit akan mengekspresikan *APP* mutan dan *senile plaque* tetapi tidak dijumpai NFT dan *neuronal loss*. Bukti menunjukkan bahwa *APP*, berperan penting dalam pembentukan $A\beta$. Mutasi *APP* menyebabkan peningkatan produksi $A\beta 42$ (abnormal), lebih panjang dari amyloid normal ($A\beta 40$), sehingga deposisi amyloid bertambah. Pada penderita AD dan resiko bawaan dengan mutasi gen *PS*, plasma dan fibroblasnya mengandung lebih banyak $A\beta 42$. Sedangkan penderita AD dengan *APOE-4* alel menunjukkan tumpukan amyloid meningkat dibandingkan dengan yang tanpa membawa alel. Jadi mutasi gen *APP* dan *presenilin* menyebabkan peningkatan produksi $A\beta$ sedangkan gen *APOE-4* memacu produksi dari deposisi $A\beta$.

Neuropatogenesis yang lain, menunjukkan bahwa protein presenilin dapat memacu kematian sel melalui apoptosis (Kim *et al.* 1997).

HARAPAN

Apakah AD dapat dihambat atau diobati?

Kuner *et al.* (1998) membuktikan bahwa peptid $A\beta$, merupakan fragmen proteolitik *APP* ditemukan pada plaque penderita dapat menyebabkan hilangnya neuron cholinergic dalam otak penderita AD. Dalam neuron ini, terutama pada nukleus basalis Meynert terjadi upregulasi reseptor neurotrophin 75kD (p75NTR), reseptor ini merupakan reseptor

terhadap $A\beta$ dan neurotrophin non selective (famili reseptor apoptosis). Bila terjadi ikatan antara $A\beta$ dengan p75NTR akan menginduksi kematian neuron.

Penelitian pada neuroblastoma *cell line* untuk melihat keterlibatan p75NTR dalam *Abeta induced cell death* menunjukkan kematian (apoptosis) neuron melalui jalur NFK β . Sehingga bila dilakukan hambatan *blocking* antara $A\beta$ dengan p75NTR menggunakan *nerve growth factor* (NGF) atau hambatan NFK β dengan *Curcumin* atau NFK β SN50 akan menghambat kematian neuron (*neuronal loss*). Penelitian terus dilakukan untuk melihat kemungkinan penghambatan jalur tersebut sebagai *drug target treatment*.

Apakah protein $A\beta$ dan *APP* isoform dapat digunakan sebagai penanda progresifitas penyakit?

Pada AD selalu ditunjukkan adanya deposisi $A\beta$ pada neokorteks dan penurunan fungsi kognitif, $A\beta$ berasal dari pemrosesan *APP* dijumpai pada semua cairan jaringan tubuh normal. Bila terjadi pemrosesan abnormal *APP*, misal pada mutasi gen *APP* maka akan terjadi deposisi $A\beta 42$ serta perubahan perilaku. Karena pemrosesan *APP* adalah proses biokimiawi tubuh maka abnormalitas pemrosesan juga akan tercerminkan di perifer yang dapat digunakan sebagai penanda diagnostik.

Gen *APP* menghasilkan protein yang diekspresikan pada semua jaringan. *APP* lengkap terdiri dari 1 dominan transmembran, 1 aminoterminal sebagai ektodomain yang dapat lepas (dipotong) oleh 2 enzim α sekretase dan β sekretase. Pemotongan dengan enzim tersebut menghasilkan fragmen solubel *APP* yang dijumpai di darah dan urine, cairan cerebrospinal (CSF). Konsentrasi tertinggi *APPs* dijumpai di korteks otak dan trombosit. Konsentrasi *APP full length* 50% terdapat pada sel otak dan 10% pada trombosit. Peran *APP* belum diketahui pasti, diduga mengatur cascade koagulasi oleh *APP* isoform yang memiliki Kunitz protease inhibitor (disebut sebagai potease nexin II), promosi pertumbuhan sel-sel, neuroproteksi.

Karena trombosit mengandung *APP* dengan konsentrasi tinggi, sedang ada kesamaan antara trombosit dan neuron maka dilakukan penelitian gambaran platelet pada AD. Di Luca *et al.* 1998 menunjukkan bahwa ada abnormalitas spesifik *APP* isoform trombosit pada AD. Dengan metode Western blot menggunakan antibodi spesifik *APP* tampak adanya band immunoreaktif pada 130 kD, dan sepasang 106-110 kD. Selanjutnya ditunjukkan bahwa rasio 130 kD dan 106-110 kD *APP* isoform pada AD menurun dibanding kontrol secara signi-

fikan (60%), sedangkan pada penderita demensia non AD tidak menurun. Oleh karena itu, gambaran ini kemungkinan dapat digunakan sebagai alat diagnostik AD.

KEPUSTAKAAN

- Blacker D, & Tanzi, RE., 1998. The genetic of Alzheimer's Disease. Current status and future prospect. *Arch. Nueral* 55;294-196.
- Di Luca M, Pastorino L, Bianchetti A, Perez, J, Vignalo LA, Lenze GL, Trabuchi M, Cattabuni F, & Padovani A., 1998. Differential level of platelet amyloid precursor protein isoforms. *Arch Neurol.* 55;1195-1200.
- Fillenbaum GG, Huber, MS, Bakly D, Henderson VW, Mortimer F, Morris JL, & Harrol, LE.1996 *Neural* 16;112-145, .
- Hallman DM, Preerwinkle, E, & Sahe N. *et al.*,1991. The apolipoprotein E polymorphism: a comparism of allele frequencies and effects in nine population. *Am. J. Hum. Genet.* 49;338-349
- Katzman A. The prevalence and malignancy of Alzheimer disease: a major killer. *Arch. Neurol.* 33;217-218, 1976.
- Kim T-W, Pettingel WH, Jung, YK, Kovacs, DM, & Tanzi, RE. 1997. Alternative cange of Alzheimer- associateed presenilin during apoptosis by a caspase 3 family protease. *Science* 277;373- 376.
- Kuner P, SchubeneL, R, & Hertil C. 1998. Beta-amyloid binds to p75NTR and activates human neuro- blastoma cells. *J. Neuro Sc.* 6;798-804 .
- Lautenschlager, NT, Cupples, LA, Ras, VS, Aurbalh SA, Becker R, Burke J, Chui H, Duara R, & Faly EJ. *et. al.*, 1996. Risk of dementia among relation of Alzheimer's disease patients in the MIRAGE study: What is in store for the oldest old? *Neurology* 46;641-649.
- Mak JT, Chein H, Woo, J, Kay, R, Chan YS, Hui E, Sze, KH, Lun C, Kwik T, & Pang CP., 1996. Apoli- poprotein E genotype and Alzheimer disease in Hongkong Elderly Clinical. *Neurology* 46;146- 149.
- Mc Namara MJ, Isla, IG, & Hyman BT., 1998. Apolipoprotein E genotype and deposit of A40 and A42 in Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* 55;1001- 1004.
- Ponte, P, Gonzales-Dewitt, P, & Schilling J. *et. al.*, 1998. A new A4 amyloid mRNA contain a domain homologous to *serine* protease inhibitor. *Nature* 331;525-527.
- Smith RP, Higuchi D.A, & Broze GJ. ,1990. Platelet coagulation factor XIa inhibition, a form of Alzheimers amyloid precursor protein. *Science* 240;745-748.
- Tanzi, RE, Kovacs DM, Kim, T-W, Moir, RD, Guenette SY, & Wasco W., 1996.The gene defects responsible for familiar Alzheimer disorder. *Neurobiol. Dis.* 3;159-168.