

Gene Expression Profiling during Early Acute Febrile Stage of Dengue Infection Can Predict the Disease Outcome

Pendahuluan

Infeksi virus dengue merupakan masalah kesehatan global yang serius, dengan risiko perkembangan menjadi *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF) atau Demam Berdarah Dengue yang mengancam jiwa. Pada fase demam akut awal, gejala klinis antara demam dengue biasa (DF) dan DHF seringkali sulit dibedakan, padahal penanganan medis untuk DHF sangat krusial sebelum terjadinya syok.

Penelitian ini bertujuan untuk mencari biomarker (penanda biologis) yang dapat memprediksi apakah seorang pasien demam berdarah akan mengalami kondisi ringan (*Dengue Fever*/DF) atau akan berkembang menjadi kondisi parah yang mengancam nyawa (*Dengue Hemorrhagic Fever*/DHF).

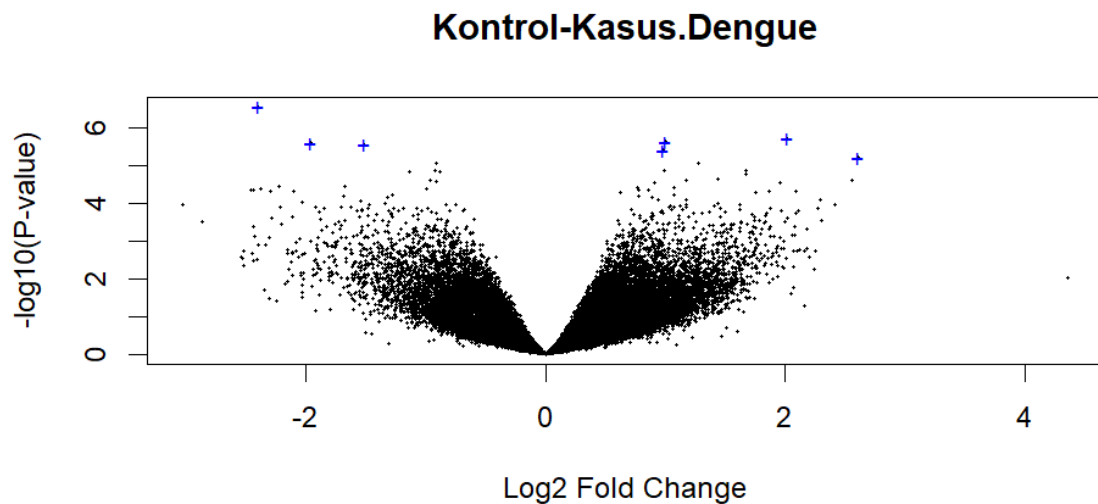
Metode

Penelitian tersebut menggunakan dataset GSE18090 dan uji coba penelitian tersebut terdiri dari 2 grup yaitu grup kontrol dan grup kasus dengue. Platform yang digunakan teknologi *microarray* dari Affymetrix (GPL570 - [HG-U133_Plus_2]) yang memungkinkan melihat ekspresi ribuan gen manusia secara sekaligus. Analisis ekspresi gen dilakukan menggunakan bahasa R untuk mengetahui Gen apa saja yang mengalami *upregulation* dan *downregulation* dalam bentuk *volcano plot* dan *heatmap*. Dilanjutkan dengan analisis enrichment, yang mencakup *gene ontology* (GO) dan KEGG Pathway.

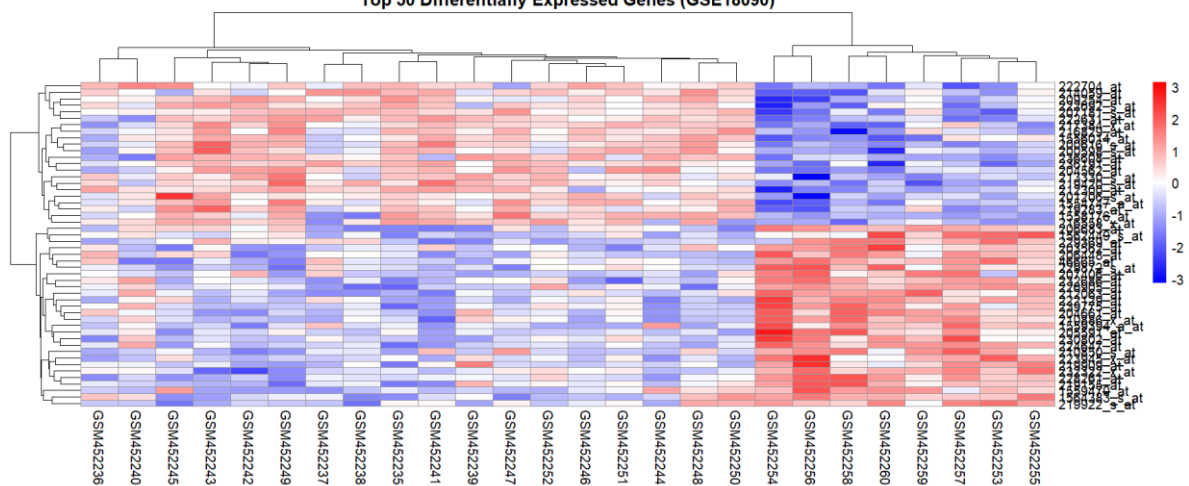
Hasil dan Interpretasi

Berdasarkan hasil analisi, terdapat 7 gen yang mengalami *upregulation* dan *downregulation* secara signifikan dengan catatan bahwa ada 2 gen yang tidak memiliki keterangan symbolgen nya sebagaimana yang ditunjukkan pada **Gambar 1**. Gen yang mengalami *upregulation* diantaranya OLFM1, MIB2, dan FAM124A. Peningkatan ekspresi tersebut mencerminkan aktivasi jalur persinyalan stres dan respon imun seluler. Gen yang mengalami *downregulation* diantaranya MLEC dan POLR1A. Penurunan ekspresi gen mengindikasikan adanya supresi pada sistem kontrol kualitas protein dan sintesis RNA ribosom sel inang, yang kemungkinan merupakan dampak dari strategi virus dalam membajak mesin seluler.

Analisis profil ekspresi menunjukkan bahwa terdapat 50 gen dengan perbedaan paling signifikan (DEGs) yang dapat dilihat pada **Gambar 2**. *Heatmap* memberikan gambaran visual yang jelas mengenai perbedaan aktivitas gen. Terlihat blok warna yang kontras antara kelompok Pasien Dengue dan Normal. Gen OLFM1, MIB2, dan FAM134A mendominasi dengan warna merah pada pasien (menunjukkan aktivitas tinggi), sementara MLEC dan POLR1A didominasi warna biru (menunjukkan aktivitas rendah). Hal ini membuktikan bahwa infeksi Dengue mengubah profil genetik seseorang secara drastis.



Gambar 1. Volcano Plot
Top 50 Differentially Expressed Genes (GSE18090)

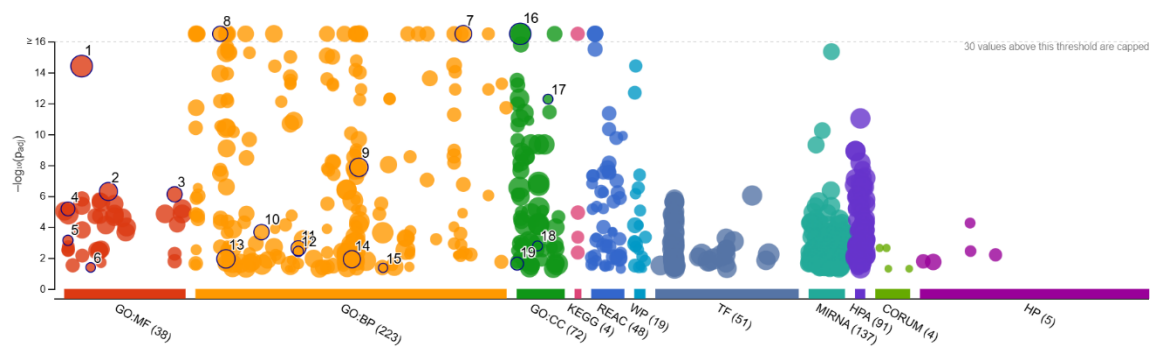


Gambar 2. Heatmap

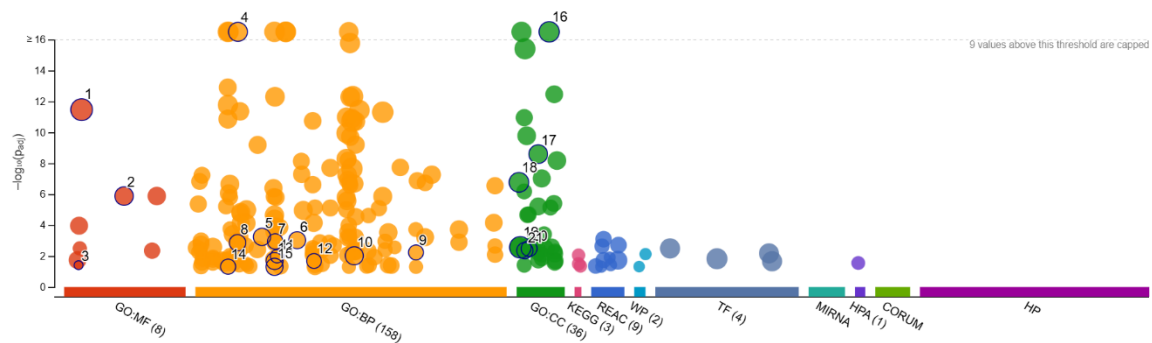
Analisis enrichment

- Gene Ontology (GO)

Secara keseluruhan, kedua grafik *Gene Ontology* (GO) mencerminkan strategi adaptasi seluler yang kontras selama infeksi Dengue tahap awal. Grafik *up-regulated* menunjukkan mobilisasi defensif yang intens, di mana peningkatan ekspresi gen seperti IFI44 dan MIB2 mengaktifkan jalur respon imun bawaan dan sinyal interferon sebagai upaya tubuh mengeliminasi virus. Sebaliknya, grafik *down-regulated* menunjukkan adanya supresi fungsional pada sistem metabolisme, seperti penurunan jalur biosintesis protein dan metabolisme RNA (terkait gen POLR1A), yang mengindikasikan bahwa sumber daya dialihkan atau terganggu oleh replikasi virus.



Gambar 3. Down-regulated genes

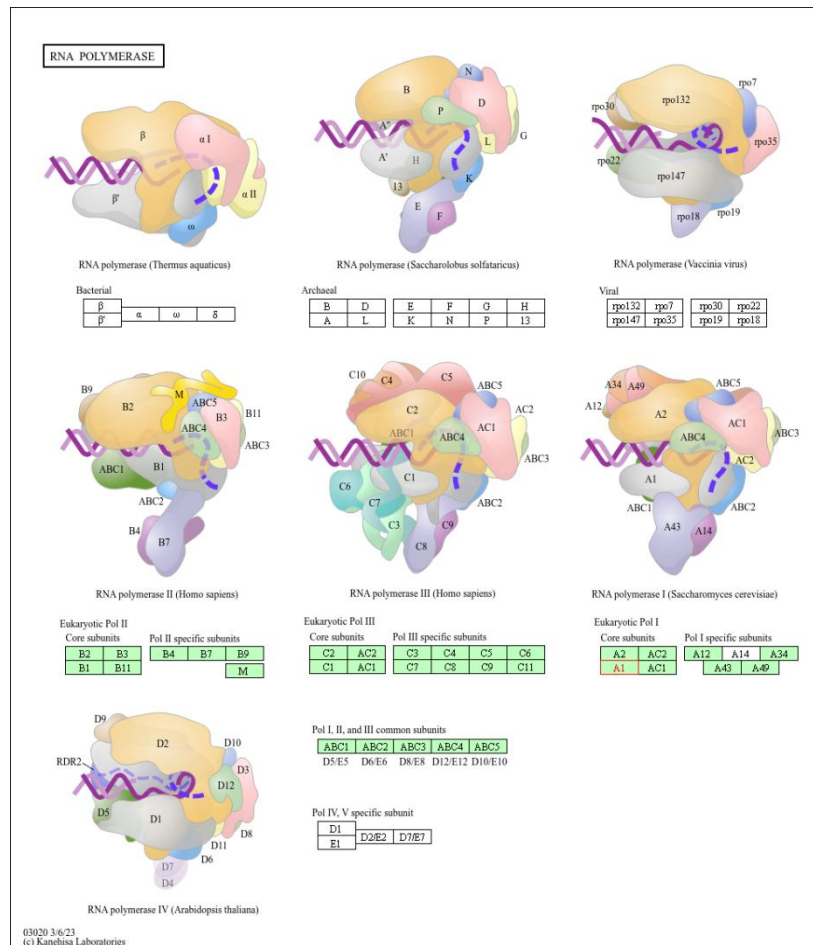


Gambar 4. Up-regulated genes

- KEGG Pathway

1. RNA Polymerase

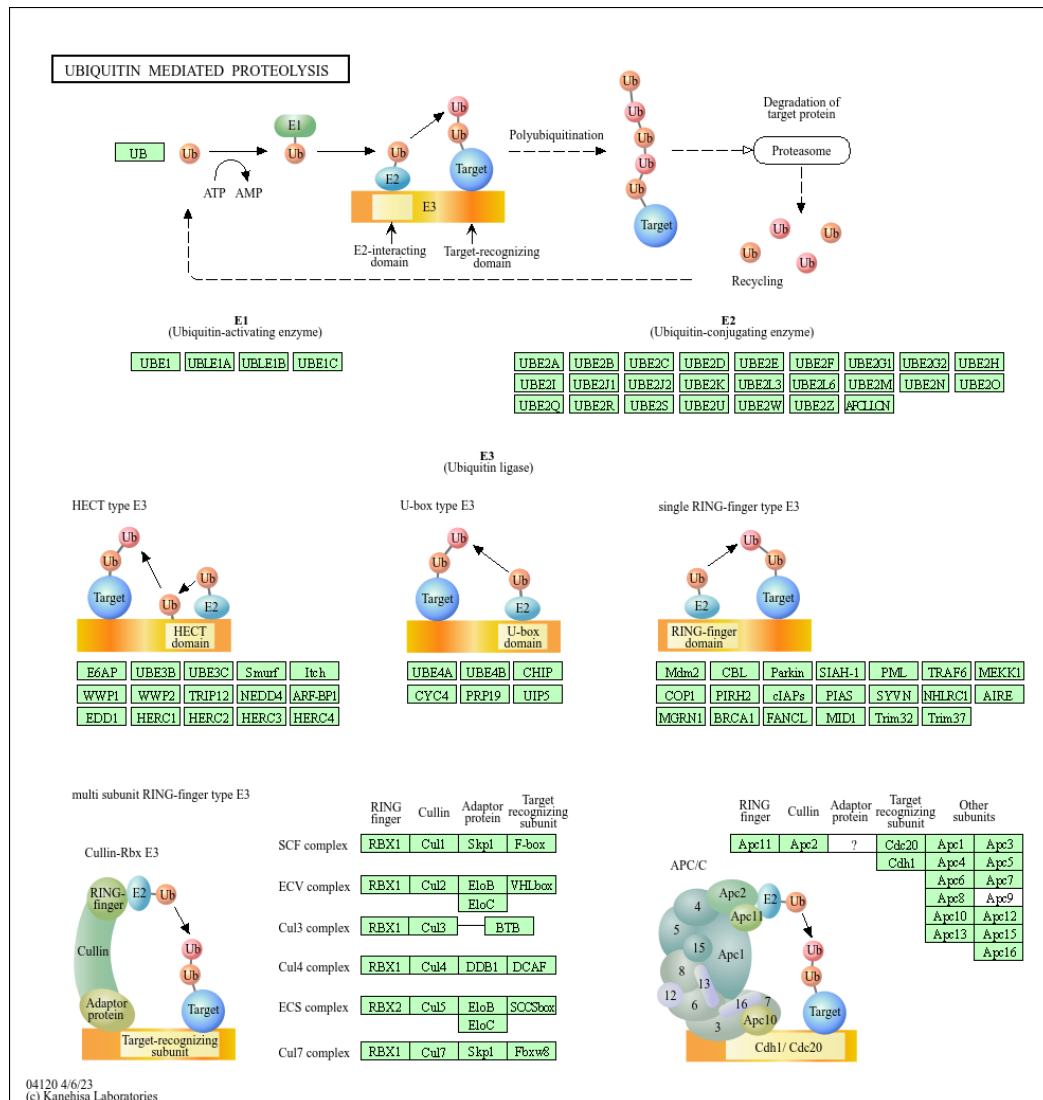
Dalam jalur RNA Polymerase, POLR1A bertanggung jawab menyintesis RNA ribosom (rRNA). Pada infeksi Dengue, virus akan memasuki nukleolus dan memanipulasi transkripsi inang untuk mengalihkan sumber daya demi replikasi virus. Penurunan atau perubahan ekspresi POLR1A menunjukkan adanya gangguan pada biosintesis protein normal sel inang akibat serangan virus.



Gambar 5. RNA Polymerase

2. Jalur Ubiquitin Mediated Proteolysis

MIB2 (Mindbomb E3 Ubiquitin Protein Ligase 2) adalah enzim E3 ligase yang ada dalam gambar jalur Ubiquitin. MIB2 berperan dalam menempelkan rantai ubiquitin ke protein target untuk didegradasi oleh proteasom. Dalam penelitian Dengue, MIB2 diketahui berinteraksi dengan jalur RIG-I untuk memicu respons interferon. Namun, virus Dengue sering mencoba memanipulasi E3 ligase seperti MIB2 untuk justru mendegradasi protein pertahanan tubuh. Intinya, sel menggunakan ubiquitinasi untuk menandai protein virus agar dihancurkan.

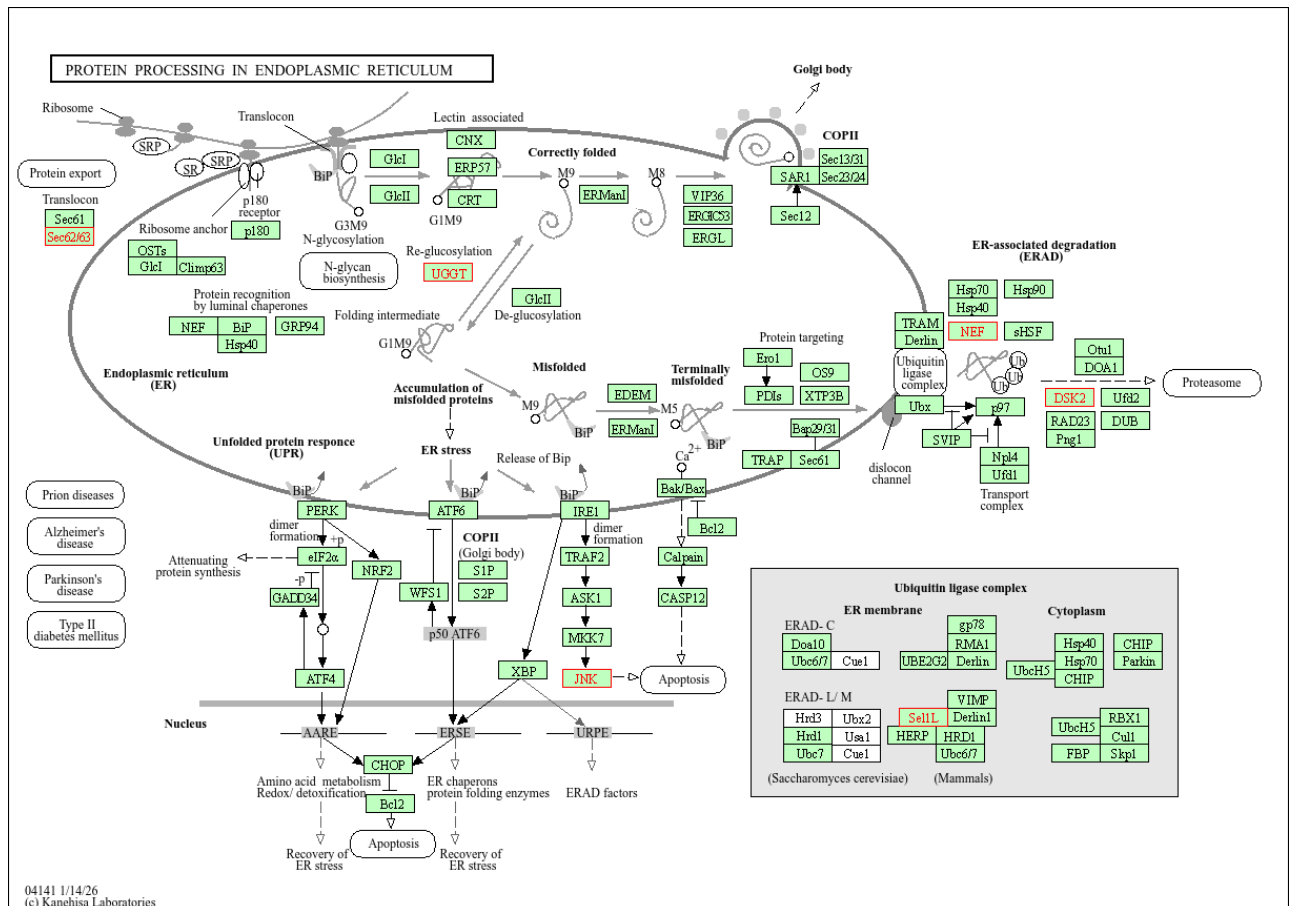


Gambar 6. Ubiquitin Mediated Proteolysis

3. Jalur Protein Processing in Endoplasmic Reticulum

Mekanisme jalur tersebut yaitu jika terjadi Penumpukan protein virus di ER menyebabkan ER Stress. Sel merespons melalui Unfolded Protein Response (UPR). Jika stres terlalu berat (seperti pada beban virus yang tinggi), sel akan diarahkan ke apoptosis. Gen yang bekerja pada jalur tersebut adalah gen MLEC (Malectin) yaitu protein chaperone yang mendeteksi glikoprotein yang salah lipat (misfolded) dan gen FAM134A (RETREG2) terlibat dalam proses ER-phagy (pembuangan bagian ER yang rusak).

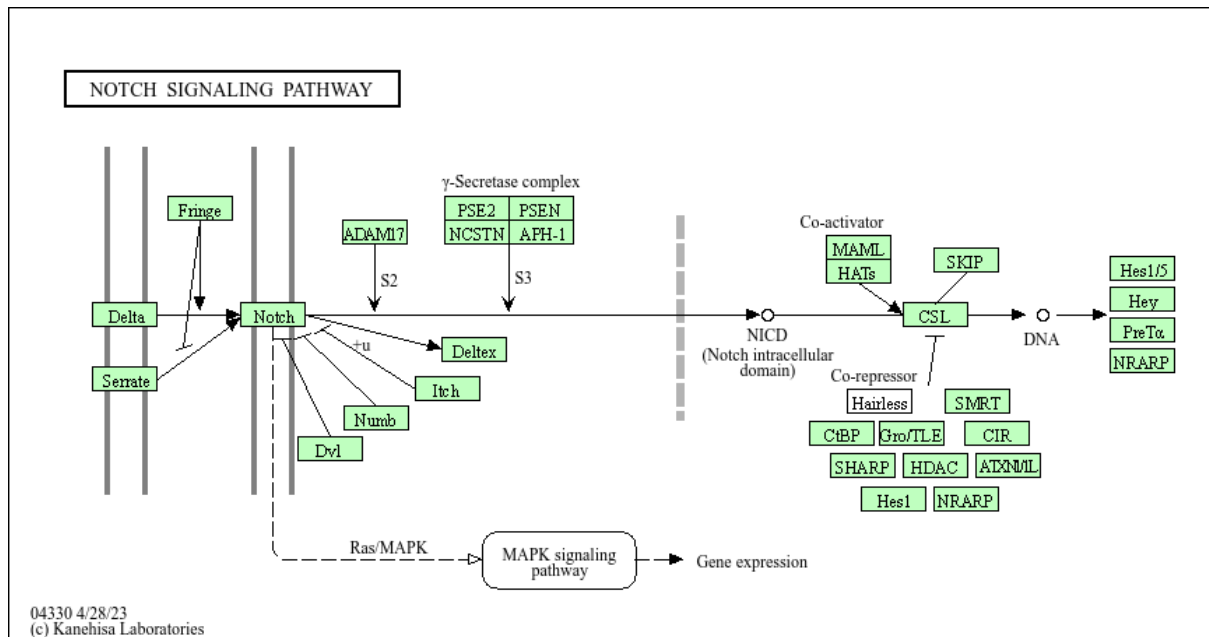
Virus Dengue bereplikasi di membran ER, ER akan mengalami tekanan hebat (ER Stress). MLEC mencoba memastikan protein virus terlipat dengan benar (atau membuangnya jika gagal), sementara FAM134A berperan dalam merestrukturisasi ER yang telah dimodifikasi oleh virus untuk membentuk "pabrik replikasi".



Gambar 7. Protein Processing in Endoplasmic Reticulum

4. Jalur Notch Signaling Pathway

OLFM1 (Olfactomedin 1) adalah protein yang memodulasi jalur sinyal ekstraseluler, termasuk berinteraksi secara tidak langsung dengan jalur Notch. OLFM1 berperan dalam perkembangan sistem saraf dan integritas struktur sel. Dalam konteks Dengue, gen ini sering dikaitkan dengan respons stres seluler dan perubahan pada adhesi sel. Disregulasi OLFM1 dapat memengaruhi bagaimana sel endotel (lapisan pembuluh darah) bereaksi terhadap sitokin inflamasi, yang berkontribusi pada fenomena kebocoran plasma.



Gambar 7. Notch Signaling Pathway

Kesimpulan

Gen-gen yang memiliki peningkatan dan penurunan ekspresi gen secara signifikan adalah OLFM1, MIB2, dan FAM134A, MLEC, dan POLR1A. Secara keseluruhan, infeksi diawali dengan deteksi RNA virus oleh RIG-I, yang memicu transkripsi antiviral melalui RNA Polymerase. Virus membalas dengan membajak ER untuk replikasi dan menggunakan *Ubiquitin Proteolysis* untuk menghancurkan protein pertahanan inang. Konflik ini menyebabkan stres seluler yang hebat, mengaktifkan jalur Notch dan mengubah metabolisme lipid, yang pada akhirnya berujung pada pelepasan sitokin masif dan kebocoran pembuluh darah. Maka dari itu, jika jalur pertahanan (seperti yang dipicu oleh MIB2) muncul secara berlebihan atau maladaptif, disertai dengan penurunan drastis pada jalur stabilitas seluler (seperti pada fungsi FAM134A dan POLR1A), maka sistem imun tidak hanya menyerang virus tetapi juga berisiko merusak jaringan inang. Hal inilah yang menjadi indikator awal terjadinya kebocoran plasma dan kegagalan homeostasis yang menjadi ciri khas dari Demam Berdarah Dengue (DHF).

Daftar Pustaka

Nascimento, E. J., Braga-Neto, U., Calzavara-Silva, C. E., Gomes, A. L., Abath, F. G., Brito, C. A., ... & Marques Jr, E. T. (2009). Gene expression profiling during early acute febrile stage of dengue infection can predict the disease outcome. *PloS one*, 4(11), e7892.

