

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Sepsis menurut *Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock* adalah disfungsi organ yang mengancam jiwa yang disebabkan oleh kegagalan regulasi respon pasien terhadap infeksi, disfungsi makro serta mikrovaskular dan menyebabkan disfungsi organ. Sepsis dengan skor *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA)  $\geq 2$  meningkat risiko kematian lebih 10% (Midwinter *et al.*, 2011; Bersten and Handy, 2019; Ruiqiang *et al.*, 2021).

*Systemic Inflammatory Response Syndrome* (SIRS) adalah suatu bentuk respon peradangan terhadap adanya infeksi bakteri, fungi, rickettsia, virus, dan protozoa. SIRS minimal terdapat dua dari gejala berikut yaitu suhu  $>38^{\circ}\text{C}$  atau  $<36^{\circ}\text{C}$ , denyut jantung  $>90$  denyut/menit, frekuensi pernapasan  $>20$  kali/menit atau  $\text{PaCO}_2 < 32$  mm Hg, jumlah sel darah putih  $>12 \times 10^9/\text{L}$  atau  $<4 \times 10^9/\text{L}$ . (Guntur, 2008; Khilnani, 2012; King *et al.*, 2014; Bersten and Handy, 2019).

Di Amerika Serikat, sepsis merupakan penyebab utama kematian pada *Intensive Care Unit* (ICU) (Mayr *et al.*, 2014). Kejadian sepsis diperkirakan 31,5 juta kasus setiap tahun di seluruh dunia dan 19,4 juta diantaranya merupakan sepsis berat dengan angka kematian 5,3 juta setiap tahunnya (Gyawali *et al.*, 2019). *World Health Organization* (WHO) melaporkan pada pasien sepsis di ICU, diperkirakan terdapat 58 kasus per 100,000 orang/tahun dan kejadian mortalitas di rumah sakit lebih dari sepertiga (42%). Jawad *et al* tahun 2012 melaporkan pada penelitian meta analisis, insiden sepsis berkisar 240 kasus per 100,000 orang, dimana insiden sepsis berat sebesar 56 kasus per 100,000 orang, dan syok septik 11 kasus per 100,000 orang. Angka kematian mencapai 30% untuk sepsis, 50% untuk sepsis berat, dan 80% untuk syok septik (Jawad *et al.*, 2012).

Penelitian Rhee *et al.* tahun 2017 di Amerika Serikat melaporkan terdapat lebih dari 170,000 kasus sepsis dan 55% sepsis memerlukan perawatan ICU (Rhee *et al.*, 2017). Penelitian di wilayah Asia Pasifik merupakan 60% dari populasi dunia dengan total penduduk 4,6 miliar. Insiden sepsis di wilayah ini berkisar antara 120 hingga 1.600 per 100,000, dengan angka kematian

terkait sepsis mencapai 35%, lebih tinggi daripada negara barat (Day, 2020). Di Indonesia, angka kejadian sepsis 30,29% dengan angka kematian 11,56 hingga 49%. Tambajong tahun 2016 pada pasien ICU RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado mendapatkan 82,8% didiagnosis sepsis (Tambajong *et al.*, 2016). Di ICU RSUP Dr. M. Djamil Padang tahun 2022 terdapat peningkatan mortalitas pasien sepsis dari 11,53% menjadi 19,64% dalam waktu enam bulan terakhir (periode Januari 2022 hingga Juni 2022).

Defisiensi vitamin D dikaitkan dengan peningkatan risiko infeksi virus dan bakteri. Kadar serum vitamin D yang rendah saat pasien masuk ke ICU berkorelasi dengan peningkatan kejadian sepsis dan risiko kematian (Shojaei *et al.*, 2019). Penelitian Jhones *et al.* tahun 2001 ada korelasi antara kekurangan vitamin D dan infeksi sepsis berat.

Vitamin D merupakan mediator penting dalam sistem kekebalan dan peran penghambatannya dalam patogenesis sepsis. Vitamin D dapat mengatur respons imun yang didapat dan bawaan. Vitamin ini mencegah overekspresi sitokin inflamasi dan merupakan mediator penting dalam agregasi leukosit, pembentukan peradangan lokal, dan respon anti-bakteri dalam imunitas bawaan (Liu *et al.*, 2007).

Penelitian Nainggolan pada 88 penderita sepsis mendapatkan 31,8% memiliki kadar vitamin D <8,1ng/ml dan 68,2% menunjukkan kadar vitamin D  $\geq 8,1$  ng/ml, angka kematian terbanyak terjadi pada kadar vitamin D <8,1 ng/ml dalam 30 hari rawatan (Nainggolan *et al.*, 2020). Penelitian Shojaei melaporkan angka kematian terbanyak pada usia yang lebih tua dan memiliki kadar vitamin D yang lebih rendah pada 168 pasien sepsis (Shojaei *et al.*, 2019; Nainggolan *et al.*, 2020).

Vitamin D ini dapat bersirkulasi dalam bentuk *Vitamin D Binding Protein* (VDBP). VDBP merupakan protein transport utama, bersama dengan albumin, mengikat lebih dari 99% metabolit vitamin D yang bersirkulasi. Vitamin D yang tidak terikat adalah 25(OH)D. VDBP berpartisipasi dalam pengangkutan 25(OH)D ke dalam sel melalui kompleks megalin/cubilin (Mallah *et al.*, 2011; Aksan *et al.*, 2020; Bouillon *et al.*, 2020).

Vitamin D Binding Protein (VDBP) merupakan serum 2-globulin dengan berat molekul 52-59 kDa, yang disebut *Group Specific Component (Gc)*. Gen pengkode VDBP (DNA 35kb dengan 13 ekson, 12 intron) terletak pada lengan panjang kromosom 4 (4q12-q13) yang diekspresikan di hati (Rozmus *et al.*, 2020). VDBP memiliki fungsi biologis yaitu mengikat dan mengangkut semua metabolit vitamin D. Vitamin D diubah menjadi 25(OH)D di hati. Proses selanjutnya terjadi perubahan 25(OH)D menjadi 1,25(OH)<sub>2</sub>D dan 24,25(OH)<sub>2</sub>D di ginjal. Hati merupakan sumber utama enzim 25-Hydroxylase dan ginjal merupakan sumber utama 1 $\alpha$ -Hydroxylase. Fungsi lain dari VDBP adalah mengikat asam lemak melalui ikatan membran proteoglikan leukosit dan aktivasi sistem komplemen C5 (Kamel *et al.*, 2017; Suberviola *et al.*, 2019; Rozmus *et al.*, 2020; Yoo *et al.*, 2020).

Defisiensi vitamin D, ditandai dengan konsentrasi serum 25(OH)D kecil dari 20 ng/mL, sehingga memicu sekresi PTH. Selanjutnya, PTH akan meningkatkan konversi 25-(OH)D menjadi 1,25(OH)<sub>2</sub>D yang semakin memperparah defisiensi namun mempertahankan konsentrasi 1,25-(OH)<sub>2</sub>D dalam darah tetap normal. Sekresi PTH berkelanjutan menyebabkan kelenjar paratiroid bekerja maksimal dan menyebabkan hiperparatiroidisme sekunder (Soejitno and Kuswardhani, 2009; Harahap, 2017).

Vitamin D di dalam tubuh memiliki kadar minimal 20 ng/mL, 25(OH)D digunakan untuk kesehatan tulang 30-40 ng/mL, menjaga kekuatan otot dan fungsi kekebalan (Aygençel *et al.*, 2013). Defisiensi vitamin D yang berat jika kadar tingkat vitamin D  $\leq 12$  ng/mL atau konsentrasi serum 25-hidroksivitamin D (25(OH)D) rendah. Defisiensi vitamin D dapat meningkatkan risiko morbiditas, seperti infeksi, *acute kidney injury*, infark miokard, dan sebagainya. Insiden defisiensi vitamin D berkisar antara 38% sampai 93% pada kondisi kritis dan berhubungan dengan perawatan lebih lama di unit perawatan intensif dengan angka mortalitas yang lebih tinggi (Soejitno and Kuswardhani, 2009; Trongtrakul and Feemuchang, 2017).

Jeng *et al.* meneliti penyebab kurangnya vitamin D pada pasien di ICU, disebabkan oleh berkurangnya paparan sinar matahari dan penurunan asupan vitamin D. (Jeng *et al.*, 2009; Quraishi and Camargo, 2012). Beberapa penelitian

menunjukkan kadar 25(OH)D yang lebih rendah pada pasien yang dirawat di ICU dikaitkan dengan peningkatan infeksi, lama rawatan, tingginya biaya perawatan kesehatan, angka kematian di rumah sakit yang lebih tinggi, dan kematian yang lebih besar setelah keluar dari perawatan, menjadi prediktor independen untuk prognosis pada pasien dengan klinis kritis (Parekh *et al.*, 2017; Xiao *et al.*, 2020; Yoo *et al.*, 2020). Penelitian Barnett *et al* menemukan bahwa pasien dengan kadar 25(OH)D <15 ng/ml dikaitkan dengan mortalitas 30 hari, 60 hari, dan 365 hari rawatan (Barnett *et al.*, 2014). Hasil ini berbeda dengan penelitian Ratzinger tahun 2017 dalam studi kohort retrospektif, kadar 25(OH)D dan 1,25(OH)D vitamin D tidak dapat memprediksi mortalitas pasien sepsis (Ratzinger *et al.*, 2017).

Genotipe VDBP adalah varian individu yang memiliki komposisi dengan gen VDBP spesifik sehingga menghasilkan protein pengikat vitamin D dengan karakteristik yang berbeda dari varian lainnya (Jamsari, 2013). Frekuensi Genotipe VDBP secara statistik tidak berbeda pada pasien yang *survive* maupun *non survive* (Barnett *et al.*, 2014). Lafi tahun 2015 pada 381 pasien, meneliti polimorfisme lokus rs70141657G/A dari gen CYP2R1, rs7041T/G dan rs4588C/A gen protein pengikat vitamin D mendapatkan risiko peningkatan defisiensi vitamin D secara bermakna pada orang Yordania (Lafi *et al.*, 2015; Susanti, 2018). Batur tahun 2021, polimorfisme VDBP menunjukkan korelasi positif pada lokus rs7041 dan tidak ada korelasi pada lokus rs4588 terhadap mortalitas pasien (Karcioglu Batur and Hekim, 2021). Penelitian Yoo tahun 2020, mendapatkan kadar VDBP serum lebih tinggi pada pasien sepsis yang *survive* lebih dari 30 hari, dibandingkan non-*survive* (Yoo *et al.*, 2020).

Polimorfisme gen adalah variasi struktur gen dalam satu populasi yang mewakili keanekaragaman hayati paling dasar. Polimorfisme gen dapat memberikan gambaran apakah kehidupan suatu populasi tersebut dalam keadaan aman atau terancam. Suatu populasi dengan polimorfisme gen yang rendah cenderung kehidupan jangka panjang terancam. Materi genetik berupa DNA dapat dipakai untuk mengungkap polimorfisme gen. DNA adalah molekul polimer, yaitu terdiri atas rantai monomer nukleotida (Rell *et al.*, 2013; Susanti, 2018).

*Vitamin D-binding protein* (VDBP) adalah protein serum yang dikodekan oleh gen GC yang terletak pada kromosom 4q13. Terdapat lebih dari 120 jenis varian genetik GC, polimorfisme nukleotida tunggal lokus rs4588 dan rs7041 pada kodon 416 dan 420 di ekson 11, menghasilkan tiga varian fungsional GC1f (A/G), GC1s (A/T), dan GC2 (C/G), yang memunculkan enam Genotip (GC1f-1f, GC1f-1s, GC1f-2, GC1s-1s, GC1s-2, dan GC2-2) (Jamsari., 2013; Park *et al.*, 2016; Kamel *et al.*, 2017; Rozmus *et al.*, 2022).

Polimorfisme yang paling umum pada gen VDBP adalah lokus rs7041 dan rs4588, yang terletak di ekson 11 pada domain III gen VDBP. Lokus rs7041 dan rs4588 berkorelasi dengan status vitamin D serum dan metabolit vitamin D. Kadar plasma protein gen Gc dan afinitasnya terhadap metabolit vitamin D dipengaruhi oleh dua polimorfisme fungsional umum, yaitu lokus rs4588 dan rs7041 (Terock *et al.*, 2020). Genotipe homozigot, orang kulit hitam dan kulit putih memiliki kadar bioavailable 25(OH)D yang sama. Perbedaan ras dalam prevalensi polimorfisme genetik mengalami proses perubahan metabolisme Vitamin D (Batur and Hekim, 2021). Ikatan afinitas pada genotipe mulai dari tertinggi hingga terendah yakni Gc1f/Gc1f, Gc1f/Gc1s, Gc1f/Gc2, Gc1s/Gc1s, Gc1s/Gc2 dan Gc2/Gc2 (Braithwaite *et al.*, 2015). Ketersediaan 25(OH)D lebih rendah pada wanita dengan genotipe GT/TG dan TT rs7041 dibandingkan genotipe GG. Kadar VDBP lebih tinggi pada wanita dengan GT/TG dan TT dibandingkan dengan GG (Arnaud and Constans, 1993).

Penelitian Batieha di Yordania, prevalensi kadar serum 25(OH)D < 40 ng/ml, 11,9% pada pria dan 58,5% pada wanita. Mallah tahun 2011 di Yordania pada 381 pasien memiliki kadar 25(OH)D yang rendah. Mishal tahun 2001 kadar serum 25(OH)D lebih rendah pada perempuan dibandingkan laki – laki. Tiga penelitian dilakukan di Yordania mendapatkan prevalensi kekurangan vitamin D cukup tinggi meskipun paparan sinar matahari memadai di negara tersebut (Mishal, 2001; Batieha *et al.*, 2011; Mallah *et al.*, 2011).

Ahn *et al.* melakukan studi asosiasi genom, varian genetik penyandi gen protein pengikat vitamin D pada lokus rs2282679, rs7041, dan rs1155563 menemukan ada hubungan dengan konsentrasi 25-hidroksivitamin D (25-(OH)D)

dengan varian genetik. Begitupula lokus rs3829251 yaitu sintesis atau aktivasi vitamin D (*nicotinamide adenine dinucleotide synthetase*) dan lokus rs6599638 pada gen asil-koenzim A dehidrogenase, lokus rs1790349 pada 7-dehidrokolesterol reduktase (DHCR7), serta lokus rs2060793 pada CYP2R1 (Ahn *et al.*, 2010). Pada studi asosiasi genom lainnya dilaporkan ada varian pada tiga gen yang terkait dengan konsentrasi 25-hidroksivitamin D yakni lokus rs2282679, lokus rs12785878 pada DHCR7, dan lokus rs10741657 pada CYP2R1 (Bouillon *et al.*, 2020).

Tinjauan review secara sistematis menilai hubungan antara konsentrasi 25-hidroksivitamin D dan polimorfisme nukleotida tunggal (SNP) terdapat hubungan dengan VDBP lokus rs7041 dan rs4588, enzim sitokrom P450 (CYP27B1 lokus rs10877012) (Lafi *et al.*, 2015). Mc Grath melaporkan terdapat hubungan antara konsentrasi 25-hidroksivitamin D dengan SNP lokus rs7041 dan rs4588, dan enzim sitokrom P450 (CYP27B1 lokus rs10877012). Daffara tahun 2017 melaporkan terdapat 57% membawa alel G bermutasi pada lokus rs7041, sedangkan 22% membawa alel A pada lokus rs4588.

Yoo (tahun 2020) melaporkan hasil penelitian pada iklim subtropis di Korea yang mengevaluasi hubungan kadar VDBP, total 25(OH)D dan bioavailabilitas vitamin D terhadap *outcome* mortalitas pasien sepsis dalam 30 hari. Kadar VDBP serum secara signifikan lebih tinggi pada pasien *survive* dibandingkan *non survive* (138,6 ug/mL vs 108,2 ug/mL,  $p = 0,023$ ). Polimorfisme VDBP dan frekuensi alel tidak berbeda secara statistik antar kelompok (Yoo *et al.*, 2020).

Ratzinger tahun 2017 melaporkan studi *cohort* retrospektif bahwa kadar 25(OH)D tidak dapat memprediksi mortalitas pasien sepsis (Ratzinger *et al.*, 2017). Polimorfisme lokus rs7041 T/G dan lokus rs4588 C/A gen reseptor VDBP terdapat risiko peningkatan defisiensi vitamin D secara bermakna pada orang Yordania (Lafi *et al.*, 2015; Susanti, 2018). Beberapa penelitian di Yordania yang telah dilakukan menemukan bahwa terdapat defisiensi vitamin D meskipun paparan sinar matahari memadai di negara tersebut (Mishal, 2001; Batieha *et al.*, 2011; Mallah *et al.*, 2011).

Dari uraian diatas disimpulkan bahwa kadar 25(OH)D yang rendah meningkatkan mortalitas pasien sepsis dan pada penelitian lain didapatkan hasil yang berbeda dimana kadar 25(OH)D yang rendah tidak dapat memprediksi mortalitas pasien sepsis. Frekuensi genotipe VDBP secara statistik tidak berbeda pada pasien yang *survive* maupun *non survive*, penelitian yang lain mendapatkan bahwa kadar VDBP serum secara signifikan lebih tinggi pada pasien sepsis yang *survive* dibandingkan *non survive*. Polimorfisme gen VDBP berkorelasi positif pada lokus rs7041 dan pada penelitian lain lokus rs7041 dan rs4588 berkorelasi dengan status vitamin D. Penelitian di Yordania pada daerah iklim subtropis terdapat defisiensi vitamin D.

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti akan melakukan penelitian dengan judul **hubungan antara polimorfisme lokus rs7041, rs4588 pada gen reseptor protein pengikat vitamin D dengan mortalitas pasien sepsis.**

## 1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Bagaimana karakteristik pasien sepsis antara *non survive* dan *survive*?
- 1.2.2 Bagaimana kadar vitamin D pasien sepsis antara *non survive* dan *survive*?
- 1.2.3 Bagaimana polimorfisme lokus rs7041 pasien sepsis antara *non survive* dan *survive*?
- 1.2.4 Bagaimana polimorfisme lokus rs4588 pasien sepsis antara *non survive* dan *survive*?
- 1.2.5 Bagaimana hubungan polimorfisme lokus rs7041 pada pasien sepsis antara *non survive* dan *survive*?
- 1.2.6 Bagaimana hubungan polimorfisme lokus rs4588 pada pasien sepsis antara *non survive* dan *survive*?
- 1.2.7 Bagaimana hubungan polimorfisme lokus rs7041 dan rs4588 pada pasien sepsis antara *non survive* dan *survive*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

#### 1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis adanya hubungan polimorfisme lokus rs7041, rs4588 pada gen reseptor pengikat vitamin D dengan mortalitas pasien sepsis

#### 1.3.2 Tujuan Khusus

Menganalisis :

- 1.3.2.1 Karakteristik pasien sepsis antara *non survive* dan *survive*
- 1.3.2.2 Kadar vitamin D pasien sepsis antara *non survive* dan *survive*
- 1.3.2.3 Polimorfisme lokus rs7041 pasien sepsis antara *non survive* dan *survive*
- 1.3.2.4 Polimorfisme lokus rs4588 pasien sepsis antara *non survive* dan *survive*
- 1.3.2.5 Hubungan polimorfisme lokus rs7041 pada pasien sepsis antara *non survive* dan *survive*
- 1.3.2.6 Hubungan polimorfisme lokus rs4588 pada pasien sepsis antara *non survive* dan *survive*
- 1.3.2.7 Hubungan polimorfisme lokus rs7041 dan rs4588 pada pasien sepsis antara *non survive* dan *survive*

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Bagi ilmu pengetahuan

Sebagai landasan studi lebih lanjut dalam menentukan tata kelola pasien sepsis.

#### 1.4.2 Bagi Pelayanan

- Digunakan sebagai dasar untuk menilai dan mencegah mortalitas pasien sepsis dengan pemeriksaan kadar vitamin D dan polimorfisme gen agar pasien tetap *survive*.
- Sebagai ilmu pengetahuan kepada masyarakat agar tidak terlambat membawa keluarga ke rumah sakit sehingga dapat mencegah dan menyelamatkan pasien terhadap kejadian sepsis sebelum pasien dirawat di ICU



- Mengetahui lebih dini prognosis pasien sepsis dan pemberian vitamin D dapat sesuai dengan gen pasien (Vitamin D2 dan D3)

### 1.4.3 Bagi Penelitian

Dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dalam membuat keputusan dan peraturan dalam penanganan dan perawatan pasien sepsis yang mengalami defisiensi vitamin D.

