

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi virus dengue masih merupakan salah satu masalah kesehatan utama di seluruh dunia. Insiden infeksi virus dengue meningkat 30 kali lipat dalam 50 tahun terakhir, diperkirakan 50 juta orang terinfeksi setiap tahun dengan angka kematian mencapai 22.000 pertahun. Asia Tenggara merupakan wilayah endemis dengue tertinggi di dunia, dan jumlah kasus dengue di Indonesia paling tinggi se Asia Tenggara (WHO, 2014). Penelitian Karyanti (2014) menunjukkan bahwa angka kejadian infeksi dengue di Sumatera Barat mengalami peningkatan dari 20-25/100.000 penduduk tahun 2010 menjadi >55/100.000 penduduk pada tahun 2012, sedangkan kejadian DBD di RSUP M Djamil Padang pada tahun 2007 mencapai 259 kasus selama 1 tahun dengan insiden syok sebanyak 46% (Mayetti, 2010).

Manifestasi klinis infeksi virus dengue sangat bervariasi, mulai dari bentuk yang asimtomatik, demam yang tidak khas (*undifferentiated fever*), demam dengue (DD) sebagai bentuk klinis ringan, demam berdarah dengue (DBD) dan sindrom syok dengue(SSD) sebagai bentuk lebih berat yang dapat menyebabkan kematian. Pada bentuk yang lebih berat ini (DBD/SSD) terjadi kebocoran plasma akibat peningkatan permeabilitas vaskular yang merupakan tanda patognomonik DBD dan SSD (WHO, 2011).

Penyakit yang diakibatkan oleh infeksi virus dengue merupakan hasil interaksi multifaktor yang meliputi faktor agen, faktor lingkungan dan faktor pejamu. Faktor agen meliputi virulensi virus, perbedaan virulensi serotipe virus dengue

menyebabkan perbedaan manifestasi klinis. Kelemahan teori ini adalah tidak adanya bukti eksperimental, baik percobaan binatang maupun kultur jaringan yang dapat membuktikan perbedaan virulensi keempat serotipe virus dengue tersebut. (Dejnirattisai, 2010; Soegijanto, 2010; Sasaki *et al*, 2013). Teori lainnya adalah teori *secondary heterologous infection* yang menyatakan bahwa infeksi virus dengue kedua kali atau berikutnya dengan serotipe virus yang berbeda pada seorang individu akan bermanifestasi lebih berat dibandingkan infeksi primer. Antibodi heterolog yang telah ada setelah infeksi virus dengue sebelumnya akan mengenal virus dengue yang menginfeksi berikutnya dan membentuk kompleks antigen antibodi yang berikatan dengan *Fc reseptor* dari membran sel leukosit terutama makrofag. Antibodi ini bersifat heterolog sehingga virus tidak dinetralisir oleh tubuh yang akan menyebabkan virus bebas melakukan replikasi dalam sel makrofag. Teori ini memiliki kelemahan yaitu tidak dapat menjelaskan terjadinya kasus DBD/ SSD pada bayi dan anak yang mengalami infeksi primer (Wagenaar *et al.*, 2004).

Teori lain adalah teori *antibody dependent enhancement* (ADE), menurut teori ini infeksi virus dengue akan menyebabkan sekresi mediator inflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF α), Interleukin (IL)-1, *Platelet Activating Factor* (PAF), IL-6 dan histamin sehingga terjadi peningkatan permeabilitas vaskular dan kebocoran plasma, protein dan elektrolit. Keadaan ini dapat berkembang menjadi hipovolemia dan syok (Soegeng, 2010).

Penelitian di Haiti menunjukkan bahwa walaupun infeksi virus dengue disebabkan oleh serotipe yang beragam, namun tidak satupun yang mengalami DBD dan SSD (Halstead *et al.*, 2001). Penelitian di Kuba mendapatkan tingkat keparahan infeksi virus dengue lebih ringan pada ras kulit hitam dibandingkan kulit putih.

Kedua hal ini memunculkan teori tentang adanya pengaruh genetik, berupa mutasi dan polimorfisme yang berpengaruh terhadap tingkat keparahan penyakit akibat infeksi virus dengue (Kouri *et al.*, 1998).

Beberapa penelitian polimorfisme genetik baik yang berupa *human leucocyte antigen* (HLA) dan non-HLA telah teridentifikasi dan memiliki pengaruh terhadap kerentanan dan tingkat keparahan penyakit akibat infeksi virus dengue. *Human leucocyte antigen* disandi oleh *major histocompatibility complex* (MHC) dan gen pada kromosom 6, HLA berfungsi untuk mempresentasikan protein antigen ke reseptornya pada limfosit T (epitop sel T spesifik) untuk mengaktifkan respons imun seluler. Beberapa polimorfisme gen yang terkait HLA dan memengaruhi infeksi virus dengue antara lain kelompok HLA kelas I; HLA-A1, HLA-A2, dan HLA-B*blank*, lebih sering dijumpai pada pasien DBD. Sebaliknya, HLA-B13, HLA-B14, dan HLA-A29 lebih jarang dijumpai pada pasien DBD. Pasien dengan HLA-A*2402/03/10 dua kali lebih sering mengalami DBD/SSD dibanding pasien tanpa HLA tersebut. Pada kelompok HLA kelas II; grup HLA-B15, yakni HLA-B62, B76, dan B77, memberikan efek protektif terhadap DBD pada infeksi primer. Sementara itu, individu dengan HLA-B46 (yang juga berasal dari serotipe grup HLA-B15) memiliki kerentanan menderita DBD akibat infeksi sekunder sebaliknya HLA-B44 memiliki efek protektif terhadap DBD pada infeksi sekunder. Beberapa *single nucleotide polymorphism* (SNP) pada kelompok non-HLA juga telah diidentifikasi memiliki pengaruh terhadap infeksi virus dengue seperti pada gen yang mengkode MBL2, TNF- α , *Fc receptor*, CTLA-4, TGF- β 1, HPA, DC-SIGN, TAP, VDR dan JAK 1 (Wagenaar *et al.*, 2004; Harapan *et al.*, 2013).

Kebocoran plasma merupakan faktor utama yang membedakan tingkat keparahan penyakit akibat infeksi virus dengue. Kebocoran plasma pada DBD terjadi akibat peningkatan permeabilitas kapiler yang bersifat sementara dan berlangsung tidak lebih dari 48 jam yang kemudian diikuti dengan resolusi spontan. Beberapa penelitian menunjukkan adanya hubungan erat antara disfungsi endotel dan peningkatan permeabilitas vaskular yang menyebabkan kebocoran plasma, elektrolit dan protein. Namun, penelitian lain menunjukkan bahwa kebocoran plasma tersebut bersifat sementara tanpa cedera endotel sehingga memunculkan teori lain adanya keterlibatan mediator inflamasi yang mencetuskan peningkatan permeabilitas vaskular (Srikiatkachorn *et al.*, 2007).

Endotel adalah suatu sel berlapis tunggal yang melapisi bagian dalam pembuluh darah. Disfungsi endotel merupakan bagian penting dari patogenesis infeksi virus dengue (Wallez *et al.*, 2008). Integritas vaskular dan kebocoran plasma pada infeksi virus dengue dipengaruhi antara lain oleh (1) sitokin proinflamasi, pelepasan sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-6 dan IL-12 dari sel monosit yang terinfeksi virus dengue akan mengaktifasi sel endotel (Dalrymple *et al.*, 2012). Sitokin tersebut akan meningkatkan ekspresi molekul adhesi seperti *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1), *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1), *selectin* dan *integrin ligan* (Whalen *et al.*, 2000; Anderson *et al.*, 1997). (2) aktivasi protein angiogenik yang memengaruhi integritas *junctional* endotel yaitu *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan angiopoietin (ANGPT) (Parikh *et al.*, 2006; Gavard *et al.*, 2008).

Angiopoietin merupakan suatu molekul glikoprotein yang berikatan dengan reseptor tirosin kinase (Tie-2). Angiopoietin terdiri dari ANGPT-1 sampai ANGPT-4.

Namun, hanya ANGPT-1 dan ANGPT-2 yang bermakna secara klinis dan banyak dipublikasikan. Pada keadaan normal kadar ANGPT-1 lebih tinggi dari ANGPT-2. Ikatan antara ANGPT-1 dengan reseptor Tie-2 akan mencetuskan sinyal elektrik melalui jalur *Phosphatidyl Inositol-3-Kinase* (PI3K) yang mengakibatkan *recruitment* sel perisit ke endotel sehingga integritas endotel tetap terjaga. Angiopoietin-1 juga memiliki kemampuan menghentikan efek fosforilasi VEGF terhadap VE-cadherin. Namun, pada kondisi jejas, hipoksia dan infeksi bakteri terjadi ketidakseimbangan rasio ANGPT-1 dan ANGPT-2, berupa peningkatan kadar ekspresi ANGPT-2. Peningkatan kadar ekspresi ANGPT-2 akan menyebabkan pergeseran ikatan reseptor Tie-2 dengan ANGPT-1 sehingga akan terjadi gangguan integritas endotel dan terjadilah peningkatan permeabilitas vaskular dan kebocoran plasma (Parikh *et al.*, 2006; Gavard *et al.*, 2008; Yuan *et al.*, 2011).

Beberapa penelitian menunjukkan adanya hubungan ANGPT dengan kebocoran plasma pada penyakit tertentu seperti retinopati diabetes (Hackett *et al.*, 2000), pertumbuhan janin terganggu (IUGR) (Malamitsi-Puchnet *et al.*, 2006), preeklamsia (Hadidy *et al.*, 2013), efusi pleura (Kalomenidis *et al.*, 2006), tumor (Yu *et al.*, 2001), sepsis (Siner *et al.*, 2009) dan *acute respiratory distress syndrome* (ARDS) (Parikh *et al.*, 2006). Penelitian Michels *et al.* (2012), dan Van de Weg *et al.* (2014), serta Rampengan *et al.* (2015) melaporkan adanya peningkatan kadar ANGPT-2 pada kelompok DBD dan SSD namun tidak pada kelompok DD dan anak sehat.

Protein angiogenik lain yang berperan pada terjadinya kebocoran plasma adalah VEGF. Molekul VEGF memiliki 3 reseptor yaitu *soluble vascular endothelial growth factor receptor* (sVEGFR) 1, sVEGFR-2, sVEGFR-3. Kadar VEGF

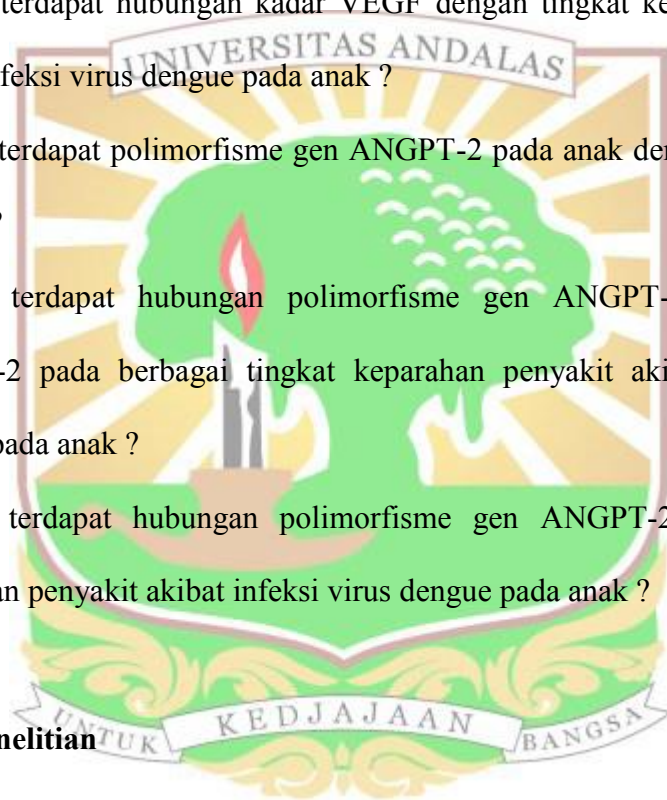
dilaporkan meningkat signifikan pada pasien DBD dan SSD dibandingkan kontrol (Srikiatkachornet *al.*, 2007; Tseng *et al.*, 2005). Pada infeksi virus dengue berat dilaporkan terjadi peningkatan sVEGFR-1 dan penurunan kadar sVEGFR-2 (Srikiatkachornet *al.*, 2007). Penurunan kadar sVEGFR-2 pada infeksi virus dengue disebabkan efek langsung virus dengue yang menyebabkan menurunnya produksi sVEGFR-2 dan peningkatan ekspresi sVEGFR-2 pada permukaan sel endotel. Efek ini akan mengakibatkan peningkatan kadar VEGF bebas didalam plasma yang memicu fosforilasi VE-chaderin dan terjadinya kebocoran plasma (Srikiatkachornet *al.*, 2007). Kadar VEGF bebas juga akan menguatkan efek kebocoran plasma yang ditimbulkan oleh ANGPT-2 (Thomas, 2008). Kadar ANGPT-2 dan sVEGFR-2 dilaporkan merupakan protein penanda utama terjadinya kebocoran plasma pada DBD (Weg *et al.*, 2014).

Gen pengode protein ANGPT-2 berlokasi pada kromosom 8 dan merupakan gen yang sangat polimorfik. Variasi genetik ANGPT-2 menyebabkan perbedaan variasi ekspresi protein ANGPT dan angiogenesis vaskular. Penelitian Su Li *et al.* (2009) menunjukkan bahwa variasi genetik ANGPT-2 berhubungan dengan meningkatnya risiko menderita ARDS. Pasien yang memiliki varian alel tSNP (rs2515475) memiliki risiko tinggi mengalami ARDS. Demikian juga penelitian Huber yang melaporkan bahwa polimorfisme ANGPT-2 akan menyebabkan gangguan proses angiogenesis dan berhubungan dengan risiko keguguran berulang dan kematian intrauterin (Huber *et al.*, 2005). Penelitian polimorfisme gen ANGPT-2 pada infeksi virus dengue belum pernah dilakukan, sehingga peneliti tertarik untuk melihat adanya hubungan antara peranan genetik berupa polimorfisme gen, kadar ANGPT-2 dan kadar VEGF yang memengaruhi integritas endotel dan mengakibatkan

kebocoran plasma yang berdampak terhadap keparahan penyakit akibat infeksi virus dengue.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat hubungan kadar ANGPT-2 dengan tingkat keparahan penyakit akibat infeksi virus dengue pada anak ?
2. Apakah terdapat hubungan kadar VEGF dengan tingkat keparahan penyakit akibat infeksi virus dengue pada anak ?
3. Apakah terdapat polimorfisme gen ANGPT-2 pada anak dengan infeksi virus dengue ?
4. Apakah terdapat hubungan polimorfisme gen ANGPT-2 dengan kadar ANGPT-2 pada berbagai tingkat keparahan penyakit akibat infeksi virus dengue pada anak ?
5. Apakah terdapat hubungan polimorfisme gen ANGPT-2 dengan tingkat keparahan penyakit akibat infeksi virus dengue pada anak ?



1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui hubungan polimorfisme gen dan kadar ANGPT-2 serta kadar VEGF dengan tingkat keparahan penyakit akibat infeksi virus dengue pada anak.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui hubungan kadar ANGPT-2 dengan tingkat keparahan penyakit akibat infeksi virus dengue pada anak

2 Mengetahui hubungan kadar VEGF dengan tingkat keparahan penyakit akibat infeksi virus dengue pada anak

3 Membuktikan polimorfisme gen ANGPT-2 pada anak dengan infeksi virus dengue

4 Mengetahui hubungan polimorfisme gen ANGPT-2 dengan kadar ANGPT-2 pada berbagai tingkat keparahan penyakit akibat infeksi virus dengue pada anak

5 Mengetahui hubungan polimorfisme gen ANGPT-2 dengan tingkat keparahan penyakit akibat infeksi virus dengue pada anak

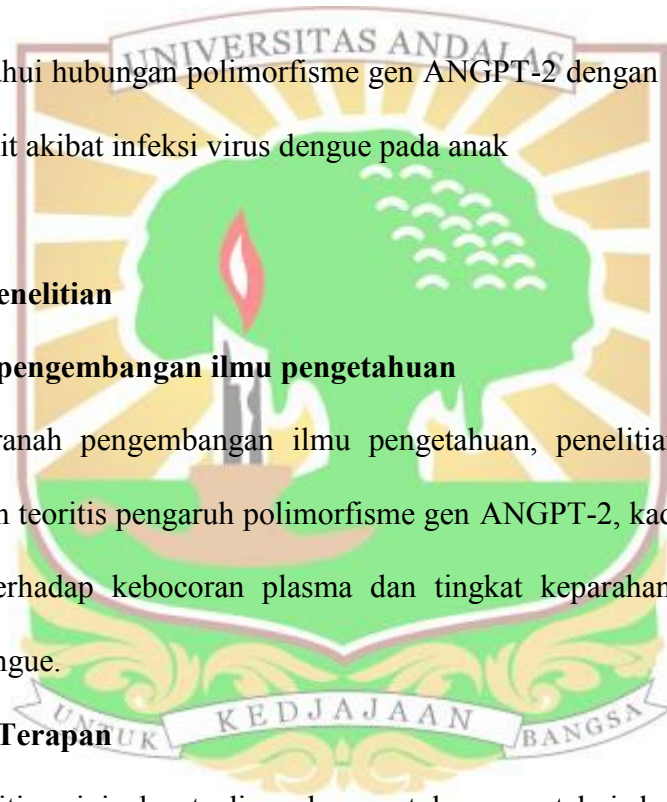
1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat pengembangan ilmu pengetahuan

Dalam ranah pengembangan ilmu pengetahuan, penelitian ini bermanfaat sebagai landasan teoritis pengaruh polimorfisme gen ANGPT-2, kadar ANGPT-2 dan kadar VEGF terhadap kebocoran plasma dan tingkat keparahan penyakit akibat infeksi virus dengue.

1.4.2 Manfaat Terapan

1. Penelitian ini dapat digunakan untuk mengetahui kerentanan genetik individu terhadap infeksi virus dengue.
2. Meningkatkan kewaspadaan terhadap infeksi virus dengue pada individu yang memiliki kerentanan genetik.
3. Hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai modalitas pemeriksaan untuk menentukan prognosis penyakit infeksi dengue pada anak dengan kerentanan genetik tertentu.



4. Hasil penelitian ini dapat dijadikan pertimbangan untuk mengembangkan anti ANGPT untuk mencegah terjadinya perembesan plasma dan sebagai modalitas terapi pada infeksi virus dengue.

