

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

*Corona Virus Disease-19* (COVID-19) merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus baru *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus* (SARS-CoV-2), dan mulai menyebar luas ke seluruh dunia dengan angka kematian yang cukup tinggi. Penyakit yang disebabkan oleh virus SARS-CoV-2 ini berbeda dengan virus corona sebelumnya, memiliki kemampuan penyebaran yang cepat, menimbulkan gejala yang cukup berat. (WHO, 2020). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia melaporkan 70.736 kasus konfirmasi COVID-19 dengan 3.417 kasus meninggal (*Case Fatality Rate/ CFR* 4,8%) sampai tanggal 9 Juli 2020. Berdasarkan laporan KEMENKES RI tanggal 19 September 2022, angka kematian akibat COVID-19 sebanyak 157.892 (2,5%). (PDPI, 2022).

Infeksi COVID-19 dimulai dengan masuknya virus SARS-CoV-2 ke dalam tubuh manusia melalui *droplet infection*, berikatan dengan reseptor ACE-2. Makrofag yang teraktivasi akan mengenali antigen SARS-CoV-2 melalui reseptor permukaannya dan ikatan antigen dengan reseptor akan mengaktifkan respons imun. Respon imun yang berlebihan memicu badai sitokin dan menyebabkan berbagai macam komplikasi, memperburuk kondisi klinis pasien. Salah satu komplikasinya adalah terjadinya peningkatan aktivitas koagulasi dan mengakibatkan hiperkoagulasi. (Lodigiani *et al.*, 2020).

Pengenalan antigen COVID-19 oleh sel fagosit memicu terjadinya aktivasi dan produksi sitokin pro inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IFN- $\gamma$  yang akan mengaktifkan kaskade koagulasi jalur intrinsik dan ekstrinsik. Jalur intrinsik diawali oleh aktivasi FXII (dikode oleh gen F12) dan selanjutnya mengaktifkan FXI, FIX dan FVIII (dikode oleh gen F8), dibantu oleh *Von Willebrand Factor* (VWF) yang dihasilkan oleh gen VWF. Jalur ekstrinsik diawali oleh aktifasi FIII (dikode oleh gen F3) dan dilanjutkan dengan FVII. Kedua jalur ini kemudian mengaktifasi

FX dengan bantuan kofaktor FV (dikode oleh gen F5) yang akan mengaktifkan protrombin menjadi trombin (trombin dihambat oleh  $\alpha$ -2 makroglobulin yang dikode gen A2M). Trombin akan merubah fibrinogen menjadi fibrin yang akan menjadi *cross link fibrin clot* dengan bantuan FXIII (dikode oleh gen F13A1). *Cross link fibrin clot* akan berubah menjadi D-Dimer dengan bantuan plasmin yang teraktifasi dengan bantuan *Plasminogen Activator Receptor urokinase type* (u-PAR) (dikode oleh gen PLAUR), dan dihambat oleh *Plasminogen Activator Inhibitor-1* (PAI-1) (dikode oleh gen SERPINE1). Kerja faktor koagulasi FV dihambat oleh protein C dan reseptornya (dikode oleh gen PROC dan PROCR), serta protein S (dikode oleh gen PROS1). Sedangkan aktifitas protein C ini dihambat oleh trombomodulin (dikode oleh gen THBD).

Kasakade koagulasi dapat dikelompokkan kedalam lima kelompok besar yaitu prokoagulan, antikoagulan, kofaktor, fibrinolitik dan fibrinolitik inhibitor. Pembekuan darah adalah sistem kompleks dimana proses ini terjadi akibat keseimbangan antara jalur prokoagulan bertanggung jawab untuk pembentukan faktor pembekuan dan mekanisme yang menghambat atau disebut antikoagulan. Prokoagulan terdiri dari beberapa protein yang dapat ditemukan dalam sampel darah dikode oleh beberapa gen seperti F12 dan VWF. Sedangkan yang bersifat antikoagulan dikode oleh gen THBD, PROC dan PROCR. Selain itu kofaktor yang membantu aktivasi faktor lain dalam kaskade koagulasi juga dikode oleh gen F3, F5, F8, PROS1 dan F13A1. (O'Donnell JS *et al.*, 2019)

Beberapa studi mengaitkan gen ataupun protein prokoagulan, antikoagulan, kofaktor, profibrinolitik maupun fibrinolitik inhibitor dengan COVID-19 dengan sumber sampel yang berbeda-beda. Studi oleh *Demichev, et al* terhadap 139 pasien COVID-19 didapatkan banyak protein yang berubah sesuai dengan tingkat keparahan penyakit sebagai penanda progresifitas, termasuk mediator imun dan inflamasi. Terdapat korelasi positif dan negatif yang signifikan dari banyak protein dengan jumlah IL-6, termasuk faktor koagulasi FII, FXII. (Demichev *et al.*, 2021) Studi *dos Santos, et. al* tahun 2002 melaporkan bahwa senyawa kunci aktivasi dan pensinyalan Protein C (PC); PROCR, THBD dan PROC mengalami penurunan

regulasi pada pasien COVID-19; sedangkan ekspresi gen F3 meningkat di semua jaringan COVID-19 yang dianalisis. Gen PLAUR, SERPINE1 dan F5 meningkat di hati pasien COVID-19 dibandingkan dengan kontrol (dos Santos et al., 2022). Polimorfisme gen F3 (gen *Tissue Factor*) yang berbeda antara individu telah dilaporkan sangat berpengaruh terhadap kejadian koagulasi sebagai inisiator seluler utama pembekuan darah berdasarkan studi Kathleen, et. al. (Kathleen E et al., 2017).

Studi lainnya menunjukkan disregulasi faktor koagulasi (F5, F7, F10: *up-regulated*; F13B: *down-regulated*) (Costanzo et al., 2022). Studi oleh Fitz Gerald tahun 2020 menganalisis *sequencing library* sampel cairan *lavage* bronkoalveolar yang diisolasi secara klinis dan sel mononuklear darah perifer dari pasien positif SARS-CoV-2 dan kontrol yang sehat. Studi ini juga menganalisis kumpulan data sekuensing RNA yang berasal dari sel epitel bronkial normal manusia yang terinfeksi SARS-CoV-2 in vitro dan menunjukkan peningkatan ekspresi F3. Infeksi SARS-CoV-2 menurunkan gen seperti PROS1, PLAUR dan gen PROC1, reseptor yang meningkatkan aktivitas penghambatan protein S dan protein C (FitzGerald et al., 2020).

Gen SERPINE-1 (*Serpin Family E Member 1*) juga telah dilaporkan sebagai salah satu gen antifibrinolitik pada pasien COVID-19. Studi oleh Sareh tahun 2020 menemukan pengobatan SARS-CoV-2 menyebabkan peningkatan regulasi gen dalam sel epitel paru yaitu SERPINE (Sareh et al., 2020).

Pada hemostasis primer, *Von Willebrand Factor* (VWF) juga sangat berperan. Trombosit dapat berikatan langsung dengan kolagen subendotel yang terekspos, atau secara tidak langsung melalui VWF. Sedangkan pada hemostasis sekunder, VWF berfungsi sebagai protein pembawa faktor VIII dan memperpanjang waktu paruh faktor VIII dalam plasma. Faktor VIII adalah faktor pembekuan yang membentuk kompleks dengan faktor lain dan akhirnya menghasilkan fibrin (Mei et al., 2021). Sebanyak 27 protein dikaitkan dengan prognosis buruk pada COVID-19, salah satu di antaranya adalah VWF (Costanzo et al., 2022).

Protein yang termasuk dalam profibrinolitik dikode oleh gen PLAU sebagai aktivator plasminogen. Disaat yang bersamaan, fibrinolitik inhibitor dapat menghambat fibrinolisis melalui pengaktifan protein yang dikode oleh gen A2M dan SERPINE1. Pada saat yang sama ketika bekuan darah sedang terbentuk dan terkonsolidasi, proses fibrinolisis sudah dimulai dalam sistem yang terpisah namun saling berhubungan. (Miles LA *et al.*, 2021)

Hiperkoagulasi yang terjadi pada infeksi COVID-19 dipengaruhi oleh kerusakan endotel akibat peradangan, faktor prokoagulan dari jaringan yang rusak, dan faktor yang merangsang agregasi trombosit (Henry *et al.*, 2020; Joly *et al.*, 2020). Keadaan hiperkoagulasi pada pasien COVID-19 berkaitan dengan komplikasi berat, sampai *Disseminated Intravaskuler Coagulation* (DIC) (Klok *et al.*, 2020; Tang *et al.*, 2020). Keadaan hiperkoagulasi pada COVID-19 meningkatkan risiko terjadinya trombosis dan tromboemboli, terutama tromboemboli vena yang bisa menyebabkan kondisi berat yang memenuhi kriteria DIC. (Klok *et al.*, 2020). Hiperkoagulasi biasanya dinilai dengan pemeriksaan D-dimer serum. D-dimer merupakan produk degradasi fibrin yang terbentuk selama proses degradasi bekuan darah oleh fibrinolisis. Peningkatan D-dimer dalam darah merupakan penanda kecurigaan trombosis. (Li *et al.*, 2020). Peningkatan D-dimer yang signifikan dapat ditemukan pada pasien COVID-19 berat. Hal ini menggambarkan keadaan hiperinflamasi dan prokoagulan pada COVID-19. (Lodigiani *et al.*, 2020). Studi oleh Zhou *et al.* menunjukkan peningkatan D-dimer  $>1.0 \mu\text{l/mL}$  merupakan prediktor terkuat terjadinya mortalitas pada pasien COVID-19 (Zhou *et al.*, 2020). Studi oleh Cui *et al.* menunjukkan bahwa peningkatan D-dimer  $>1.5 \mu\text{l/mL}$  merupakan prediktor tromboemboli vena pada pasien COVID-19 dengan sensitivitas 85% dan spesifisitas 88.5% (Cui *et al.*, 2020).

Resiko kematian dan kerusakan sel berat akibat inflamasi pada pasien COVID-19 derajat sedang-berat cukup tinggi, walaupun telah diberikan terapi. Hiperkoagulasi pada pasien COVID-19 yang menyebabkan kerusakan paru secara langsung terkait dengan gangguan mikrosirkulasi paru (vaskulopati), maupun secara

sistemik. Hiperkoagulasi tidak terjadi pada semua pasien yang berat, bahkan pasien ringan pun bisa mengalami hiperkoagulasi. Hal ini tidak terlepas dari variasi gen yang dimiliki individu.

Banyak penelitian dilakukan dalam upaya pencegahan dan penanganan yang tepat terhadap COVID-19 ini, termasuk komplikasi yang terjadi seperti hiperkoagulasi. Penelitian tentang pendekatan genetik yang menggambarkan ekspresi gen memainkan peranan penting pada kejadian biokimia terhadap reaksi virus COVID-19 di tubuh.

Derajat gangguan pada pasien COVID-19 dapat dipengaruhi oleh ekspresi gen karena berhubungan dengan gejala klinis yang buruk bagi pasien. (Fricke-Galindo and Falfán-Valencia, 2021; Lio *et al.*, 2021) Penelitian tentang ekspresi gen pada pasien COVID 19 dapat dijadikan kebaruan hasil yang diinginkan untuk terapi dan morfologi yang dibentuk oleh protein tersebut. Penelitian transkriptomik diperlukan untuk melihat protein dari gen koagulasi sebagai potensi dalam terapi dan mendapatkan hasil yang lebih baik. (Gupta *et al.*, 2021). Regulasi beberapa gen dalam darah yang menghasilkan protein yang berkaitan dengan koagulasi seperti gen prokoagulan (F12, VWF), gen antikoagulan (THBD, PROC, PROCR), gen kofaktor (F3, F5, F8, F13A1, PROS1), gen profibrinolitik (PLAUR) dan gen fibrinolitik inhibitor (SERPINE1, A2M) telah banyak dikaitkan dengan keadaan COVID-19. Namun begitu, hubungan gen koagulasi dengan D-dimer sebagai produk degradasi fibrin yang terbentuk selama proses degradasi bekuan darah oleh fibrinolisis yang merupakan penanda kecurigaan trombosis pada pasien COVID-19 saat ini belum pernah diteliti. Padahal ekspresi gen pada saat transkripsi dapat menjadi hal yang penting dalam kebaruan morfologi pada sebuah penyakit dan terapi. Oleh karena itu, peneliti ingin meneliti lebih lanjut mengenai analisis transkriptomik ekspresi. Dari permasalahan yang diuraikan di atas mendorong peneliti untuk menganalisis hubungan ekspresi gen prokoagulan (F12, VWF), gen antikoagulan (THBD, PROC, PROCR), gen kofaktor (F3, F5, F8, F13A1, PROS1), gen profibrinolitik (PLAUR) dan gen fibrinolitik inhibitor (SERPINE1, A2M) dengan D-Dimer serum pada pasien COVID-19.

Berdasarkan penjelasan diatas penulis tertarik untuk menganalisis ekspresi gen koagulasi berupa gen prokoagulan, gen anti koagulan, gen kofaktor, gen fibrinolitik, dan gen fibrinolitik inhibitor dengan menggunakan metode transkriptomik pada pasien COVID-19 ringan dan sedang berat.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Apakah terdapat perbedaan ekspresi gen-gen yang terlibat dalam proses koagulasi antara pasien COVID-19 ringan dan sedang berat?
2. Apakah terdapat hubungan antara D-Dimer dengan gen-gen yang terlibat dalam proses koagulasi pada pasien COVID-19?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Menganalisis perbedaan ekspresi gen-gen koagulasi antara pasien COVID-19 ringan dan sedang-berat serta hubungannya dengan kadar D-Dimer serum.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

Penelitian ini memiliki beberapa tujuan khusus sebagai berikut:

1. Menganalisis perbedaan ekspresi gen prokoagulan antara pasien COVID-19 ringan dan sedang-berat.
2. Menganalisis perbedaan ekspresi gen antikoagulan antara pasien COVID-19 ringan dan sedang-berat.
3. Menganalisis perbedaan ekspresi gen kofaktor antara pasien COVID-19 ringan dan sedang-berat.
4. Menganalisis perbedaan ekspresi gen profibrinolitik antara pasien COVID-19 ringan dan sedang-berat.
5. Menganalisis perbedaan ekspresi gen fibrinolitik inhibitor antara pasien COVID-19 ringan dan sedang-berat.
6. Menganalisis perbedaan kadar D-Dimer serum pada pasien COVID 19 ringan dan sedang-berat.

7. Menganalisis hubungan kadar D-Dimer serum dengan ekspresi gen prokoagulan pada pasien COVID 19.
8. Menganalisis hubungan kadar D-Dimer serum dengan ekspresi gen antikoagulan pada pasien COVID 19.
9. Menganalisis hubungan kadar D-Dimer serum dengan ekspresi gen kofaktor pada pasien COVID 19.
10. Menganalisis hubungan ekspresi gen profibrinolotik dengan kadar D-Dimer serum pada pasien COVID 19.
11. Menganalisis hubungan kadar D-Dimer serum dengan ekspresi gen fibrinolitik inhibitor pada pasien COVID 19.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

##### **1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu Pengetahuan**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi khasanah ilmu pengetahuan mengenai ekspresi gen-gen koagulasi dengan metode transkriptomik, dengan menilai gen-gen yang terlibat dalam satu waktu, dan variasi gen secara individu.

##### **1.4.2 Manfaat untuk masyarakat**

Hasil penelitian ini dapat menjadi data untuk tatalaksana penyakit berdasarkan transkriptomik yang akan memberikan informasi genetik secara personal, serta dapat digunakan untuk pencegahan dan pengobatan COVID-19 di masyarakat.

##### **1.4.3 Manfaat untuk Klinisi**

Data transkriptomik gen koagulasi dapat membantu klinisi dalam penatalaksanaan pasien COVID-19.

