

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) merupakan infeksi pernapasan akut yang disebabkan oleh SARS CoV-2. Pada akhir Desember 2019 di Wuhan China, terjadi wabah pneumonia yang tidak diketahui penyebabnya. Pada 11 Februari 2020, *World Health Organization (WHO)* menamai pneumonia ini dengan *Novel coronavirus induced pneumonia* atau *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)*. *The International Virus Classification Commission* mengumumkan *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS CoV-2)* merupakan penyebab COVID-19. Pada Maret 2020, terdapat 79.968 kasus terkonfirmasi di China, diantaranya 2.873 kasus meninggal dunia. Pada 31 Januari 2020, WHO mengumumkan COVID-19 sebagai *Public Health Emergency of International Concern (PHEIC)* yang menimbulkan banyak resiko pada berbagai negara dan membutuhkan koordinasi internasional dalam penanganannya (Li *et al.*, 2020).

Berdasarkan data epidemiologi, WHO menyatakan hingga 7 November 2021 terdapat 294 juta kasus terkonfirmasi positif dan lebih 5 juta kematian didunia. Jumlah kasus baru tertinggi dilaporkan di Amerika Serikat sebanyak 510.968 kasus dan Inggris 252.104 kasus. Federasi Rusia melaporkan terdapat peningkatan kasus 3% yaitu 281.305 kasus baru. Negara lain seperti Turki melaporkan peningkatan kasus sebanyak 8% kasus baru dan Jerman 29% kasus (WHO, 2021a). Hingga 1 Mei 2021 terdapat 153 juta kasus terkonfirmasi positif didunia dengan total kematian 3,2 juta orang (WHO, 2021c). Jumlah kasus Indonesia pada 10 November 2021 tercatat 4.249.323 kasus terkonfirmasi positif dengan 143.592 kematian (WHO, 2021b). Berdasarkan data pemantauan COVID-19 di Sumatera Barat pada tanggal 1 Desember 2021, terdapat 89.845 kasus terkonfirmasi positif dengan 2.152 kematian (Barat, 2021).

Rinosinusitis viral atau *common cold* merupakan rinitis akut yang disebabkan oleh virus. Sebanyak 50% kasus rinosinusitis akut pada dewasa disebabkan oleh *Rhinovirus (RV)* dan *Corona virus (CoV)* (Fokkens *et al.*, 2020). *Coronavirus*

merupakan virus RNA rantai tunggal positif tidak bersegmen dengan ukuran diameter 60-100 nm berbentuk bulat. SARS CoV-2 termasuk dalam genus *Beta-coronavirus*. Hasil analisis filogenik menunjukkan SARS CoV-2 termasuk dalam sub genus *Sarbecovirus*, sama dengan *Coronavirus* penyebab *Severe Acute Respiratory syndrome* (SARS) dan *Middle East Respiratory Syndrome* (MERS) (Jin *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020; Mason, 2020; Rothan and Byrareddy, 2020).

SARS CoV-2 menular melalui droplet, kontak dan fekal-oral. SARS-CoV-2 menginfeksi dan bereplikasi dengan berikatan pada reseptor ACE2 pada epitel silia saluran pernapasan. Virus bereplikasi pada mukosa saluran napas atas lalu lanjut hingga saluran napas bawah (Jin *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020; Mason, 2020). Virus menyebabkan sistem imun merespon dengan mengaktifkan respon imun bawaan melalui *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) dan respon imun adaptif spesifik antigen (Han *et al.*, 2020). Peningkatan derivat Th-1 dan sitokin pro-inflamasi menyebabkan terjadinya respon imun selular. Peningkatan IL-6, TNF- α , IFN- γ secara signifikan ditemukan pada rinitis virus (Klemens *et al.*, 2007). Pada rinitis virus terjadi kerusakan *tight junction* dan apoptosis sel epitel. Virus berikatan dengan reseptor *Intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) dan *Toll-like receptor 3* (TLR3). Infeksi *Rhinovirus* menyebabkan peningkatan molekul integral seperti *interleukin-1 β* (IL-1 β) dan *nuclear factor κ B* (NF- κ B). Pelepasan molekul ini akan meningkatkan regulasi ICAM-1 dan infiltrasi sel-sel inflamasi (Çatlı, Atilla and Miller, 2019)

.Interleukin merupakan faktor prognostik COVID-19. Hal ini disebabkan karena interleukin berperan sebagai pro-inflamasi sistem imun bawaan dan anti-inflamasi yang berkaitan dengan tingkat keparahan penyakit atau kematian. Pada beberapa studi mengevaluasi keseimbangan antara Th1 dan Th2. IFN- γ merupakan IFN tipe II yang dihasilkan oleh sel NK dan limfosit T. Kadar IFN- γ yang tinggi dan persisten dapat memperburuk peradangan sistemik dan meningkatkan kerusakan pada jaringan serta kegagalan organ (Ana Carolina *et al.*, 2020). Pada infeksi SARS CoV terjadi pelepasan interferon oleh sel epitel, terutama IFN- α , IFN- β dan IFN- γ . Pada uji tikus, IFN- β akan berikatan dengan *Aryl Hydrocarbon Receptor* (AhR) *signaling* melalui *IDO-Kyn-dependent pathway* yang meregulasi peningkatan produksi

MUC5AC di sel epitel alveolar. Akumulasi mukus pada COVID-19 menyebabkan timbulnya *silent hypoxia* (Liu *et al.*, 2020; Robinot *et al.*, 2021).

IFN- γ merupakan sitokin pleiotropik yang berperan pada respon imunitas dan inflamasi. Peningkatan IFN- γ berhubungan dengan tingkat keparahan penyakit dan menyebabkan terjadinya modifikasi mikrobio serta mengubah transkriptomik sel melalui ekspresi gen yang berlebih yang dikaitkan dengan kejadian badai sitokin (Arnaldez *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020). Gadotti *et al* menemukan peningkatan IFN- γ terdeteksi pada fase awal infeksi penyakit dan berhubungan dengan prognosis yang buruk. Differensiasi sel T menjadi Th1 didorong oleh IFN- γ , IL-12 dan IFNs. IFN- γ akan berperan menghambat jalur Th2 dan mencegah proliferasi sel Th2 (Ana Carolina *et al.*, 2020). Choreño *et al* membandingkan pandemic H1N1 dengan COVID-19, ditemukan peningkatan sitokin proinflamasi IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-9, IL-12p70, CCL11 dan peningkatan anti inflamasi IL-4, IL-5, IL-10 dan IL-13 pada COVID19 (Choreño-Parra *et al.*, 2021).

Saat infeksi *Respiratory syncytial virus* (RSV) terdapat peningkatan IL-17, Th-2, IL-4 dan IL-13 yang berkorelasi dengan peningkatan ekspresi gen mukus dan hiperplasia sel goblet. Peningkatan ekspresi MUC5AC berkaitan dengan *c-Jun N terminal kinase* (JNK)-*activator protein 1* (AP-1)-*c-Jun signaling pathway* dan jalur EGFR. Penghambatan jalur EGFR pada tikus menekan ekspresi musin pada saluran napas (Li and Tang, 2021). IL-4 menghambat IFN- γ melalui beberapa jalur. IL-4 mengaktivasi STAT6 dengan menginduksi *inhibitory factors* yang memediasi penghambatan ekspresi gen *IFN-responsive factor 1* (IRF1) (Nguyen and Benveniste, 2000). Pada percobaan murin, IFN- γ menekan produksi mukus pada saluran pernapasan. Oyanagi *et al* menemukan IFN- γ menekan produksi musin pada saluran napas dengan menghambat proses transkripsi gen MUC5AC. IFN- γ menghambat ikatan Sp1 dengan promotor MUC5AC sehingga menekan produksi mukus pada saluran pernapasan (Oyanagi *et al.*, 2017).

Pada *common cold*, peningkatan IL-4 dan IL-13 diikuti oleh peningkatan IL-10 yang secara bersamaan berfungsi menekan reaksi inflamasi pada mukosa hidung (Klemens *et al.*, 2007). Pada asma, IL-4 ditemukan meningkat bersamaan dengan IL-13, peningkatan sitokin ini memicu sekresi mukus pada saluran napas. Mukus

diinduksi dengan aktivasi transkripsi STAT6 oleh IL-4 dan IL-13 melalui subunit reseptor IL-4Ra. Akibat aktivasi tersebut IL-13 menyebabkan hiperplasia sel goblet dan menginduksi sekresi MUC5AC (Wang *et al.*, 2017). Penelitian yang dilakukan oleh Chon *et al* menemukan bahwa IL-4 dan IL-5 memiliki peran penting dalam produksi mukus dan rekrutmen sel melalui sel Th2. Aktivasi CD4 oleh IL-4 menyebabkan differensiasi sel Th0 menjadi sel Th2 sehingga terjadi umpan balik positif dengan mengaktifkan sekresi IL-4. Sekresi IL-4 akan merangsang MUC5AC melalui aktivasi jalur JAK3/STAT6 (Cohn *et al.*, 1997). Dabbagh *et al* menemukan IL-4 memiliki peran penting terhadap ekspresi gen musin. Pemaparan IL-4 yang banyak akan menyebabkan ekspresi gen MUC5AC secara cepat dan produksi *glycoconjugates* pada mukosa hidung (Dabbagh *et al.*, 1999).

Merza *et al* menemukan, terdapat peningkatan kadar serum IL-4 yang signifikan pada pasien COVID-19 yang telah memasuki fase pemulihan. Hal ini menunjukkan terdapat peran sel Th2 untuk mengurangi proses inflamasi yang terjadi (Merza *et al.*, 2021). Peningkatan sekresi mukus pada infeksi virus berkaitan dengan eksaserbasi dan penurunan cepat fungsi paru. Hewson *et al* menemukan, infeksi *Rhinovirus* merangsang produksi MUC5AC. Peningkatan MUC5AC secara signifikan berhubungan dengan viral load ($p=0.002$) (Hewson *et al.*, 2010).

Pada epitel saluran napas manusia terdapat 22 jenis gen musin yang diekspresikan. Gen utama yang menghasilkan musin pada epitel hidung adalah MUC5AC dan MUC5B yang berfungsi menjaga hemostatis epitel. Komponen utama penyusun musin adalah glikoprotein yang dikode oleh beberapa gen musin. MUC5AC dihasilkan oleh sel goblet epitel dan MUC5B dihasilkan oleh glandular submukosa pada saluran napas bawah (Gray, Koo and Nettekheim, 2001; Kim, Ho-suk, *et al.*, 2004; Iwashita *et al.*, 2013; Chatterjee, van Putten and Strijbis, 2020). MUC5B ditemukan dominan pada keadaan normal yang berfungsi menjaga epitel tetap dalam keadaan normal dengan mengendalikan infeksi bakteri dan mencegah peradangan lebih lanjut. Pada keadaan normal, kadar MUC5AC ditemukan rendah. Ketika terjadi infeksi virus, sekresi MUC5AC akan meningkat. MUC5AC berperan sebagai umpan untuk reseptor virus dan sangat penting untuk sebagai respon terhadap inflamasi (Ridley and Thornton, 2018).

Ketidakseimbangan aktivitas saraf simpatik dan parasimpatik menyebabkan timbulnya gejala rinore. Serabut saraf parasimpatis melepaskan asetilkolin (Ach) dan neuropeptida lainnya seperti *vasoactive intestinal peptide* (VIP) sehingga meningkatkan sekret hidung dan vasorelaksasi (Garay, 2004). Reseptor muskarinik M3 akan dirangsang oleh asetilkolin sehingga menginduksi *guanosine monophosphate cyclic* dan memicu sekresi sel kelenjar (Yao, Wilson and Ball, 2018). Pada studi lain menjelaskan, senyawa capsaicin yang terdapat pada paprika merah juga dapat menstimulasi serabut saraf C untuk menginduksi pembakaran dan munculnya rinore serta hidung tersumbat (Sanico *et al.*, 1997).

Penelitian yang dilakukan oleh Ahn *et al.*, SARS CoV-2 merusak sistem mukosiliar pada hidung. Ahn menemukan terdapat peningkatan kadar reseptor ACE2 pada sel apikal epitel hidung, terdapatnya ekspresi ACE2, TMPRSS2, protein FURIN pada sel goblet di epitel hidung, sedangkan Gen MUC5AC jarang ditemukan atau ditemukan dalam ekspresi rendah, hal ini sesuai dengan temuan rendahnya presentase gejala rinore pada pasien COVID-19 (Ahn *et al.*, 2021). Pada COVID-19 gejala rinore ditemukan sebanyak 4% kasus, sedangkan pada influenza dan *common cold* ditemukan sebanyak 91% kasus mengalami rinore (Czubak *et al.*, 2021). Pada penelitian lainnya ditemukan rinore hanya 4% pada beberapa kasus dan batuk masih menjadi gejala yang sering ditemukan (Al-swiahb and Motiwala, 2021; El-anwar *et al.*, 2021). Lovato dalam penelitiannya menemukan gejala kongesti nasal pada COVID-19 3,7% kasus, sedangkan rinore jarang ditemukan (Lovato and de Filippis, 2020).

Pada pemeriksaan RT-PCR menunjukkan pada mukosa terdapat mRNA yang mengkode MUC5AC dan MUC5B. Secara fisiologis, kadar MUC5AC dalam sinus rendah dan akan meningkat ketika terjadi proses inflamasi. Sekresi musin diregulasi oleh berbagai proses termasuk proses sintesis dan eksositosis. Berbagai stimulasi pada epitel seperti infeksi virus, bakteri, polusi lingkungan dan bahan kimia, protease, sitokin inflamasi dapat menyebabkan peningkatan ekspresi gen musin selama proses inflamasi pada sinonasal. Polusi lingkungan dan oksidan seperti asap rokok, acrolein, ozon SO₂ dan hydrogen peroksida dapat menstimulasi ekspresi MUC5AC dan produksi musin (Önerci, 2013). Ketika terjadi inflamasi akan terjadi pelepasan mediator inflamasi seperti TNF α , IL-9, IL-4, *acrolein*, *neutrofilelastase*, *oxidative*

stress dan *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) yang akan menginduksi peningkatan produksi MUC5AC (Kim, Ho-suk, *et al.*, 2004; Guo and Chun, 2007). Penelitian yang dilakukan Ali menemukan MUC5AC 75% meningkat pada polip nasal (Ali *et al.*, 2005).

Terdapat beberapa sitokin dan kemokin pro dan anti inflamasi yang merangsang produksi gen MUC5AC. Oleh karena itu penulis ingin melihat bagaimana hubungan ekspresi mRNA IL-4, IFN- γ dan ekspresi MUC5AC pada sekret hidung COVID-19 melalui pemeriksaan RT-PCR.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang, disusun rumusan masalah yang akan diteliti sebagai berikut:

1. Bagaimana analisis ekspresi IL-4 dengan ekspresi MUC5AC pada sekret hidung COVID-19?
2. Bagaimana analisis ekspresi IFN- γ dengan ekspresi MUC5AC pada sekret hidung COVID-19?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis ekspresi IL-4, IFN- γ dengan ekspresi MUC5AC pada sekret hidung pasien COVID-19.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis ekspresi IL-4 pada sekret hidung pasien COVID-19
2. Menganalisis ekspresi IFN- γ pada sekret hidung pasien COVID-19
3. Menganalisis ekspresi mRNA IL-4 dengan MUC5AC pada sekret hidung pasien COVID-19
4. Menganalisis ekspresi IFN- γ dengan MUC5AC pada sekret hidung pasien COVID-19

1.4. Manfaat Penelitian

1. Aspek Akademik

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi data dasar dan meningkatkan khasanah ilmu pengetahuan mengenai hubungan ekspresi mRNA IL-4, IFN- γ dengan ekspresi mRNA MUC5AC pada sekret hidung pasien COVID-19

2. Aspek Klinis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi masukan bagi praktisi Kesehatan dalam mengembangkan terapi rinore pada COVID-19.

3. Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi wawasan baru pada masyarakat mengenai gejala COVID-19 sehingga masyarakat dapat mengenali gejala COVID-19 dan meningkatkan kesadaran masyarakat dalam pencegahan penularan COVID-19.

