



Kinetika Demam Berdarah Dengue dalam Spektrum Immunopatogenesis dan Klinis

Soroy Lardo,¹ Marsetyawan HNE Soesatyo,² Juffrie,³ Sitti Rahmah Umniyati⁴

¹Divisi Penyakit Tropik dan Infeksi Departemen Penyakit Dalam RSPAD Gatot Soebroto,

²Departemen Histologi dan Biologi Sel Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada/ RSUP Sardjito – Yogyakarta,

³Departemen Anak Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada/RSUP Sardjito- Yogyakarta,

⁴Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada
Yogyakarta, Indonesia

ABSTRAK

Virus dengue adalah virus RNA yang termasuk genus *Flavivirus* dan familia *Flaviviridae*. Sampai saat ini dikenal empat serotipe, yaitu DEN-1, DEN-2, DEN-3, dan DEN-4. Infeksi salah satu serotipe akan menimbulkan antibodi protektif seumur hidup, tetapi tidak untuk serotipe lain. Struktur virus memiliki 10.700 basa di dalam genomnya. Di dalam genom, terdapat sebuah *single open reading frame* (SORF) yang mengkode dua macam protein, yaitu protein struktural dan nonstruktural. Protein NS1 merupakan protein nonstruktural glikoprotein dan bukan bagian dari struktur virion, tetapi diekspresikan pada permukaan sel. Protein NS1 merupakan penanda awal infeksi dengue yang akan berperan baik untuk proses immunopatogenesis dan spektrum klinis.

Kata kunci: Demam berdarah dengue, NS1, virus dengue

ABSTRACT

Dengue virus is a RNA virus, genus *Flavivirus* and family *Flaviviridae*. There are currently four known serotypes, namely DEN-1, DEN-2, DEN-3, and DEN-4. Infection of one serotype will produce a lifetime protective antibodies, but not for the other serotypes. The structure of the virus has a base of 10,700 in its genome. There is a single open reading frame (SORF) that encodes two different kinds protein that is structural and non-structural protein. NS1 protein is a non-structural protein glycoprotein, not part of the virion structure, but expressed on the cell surface. The kinetic profile of dengue virus NS1 protein is an early marker of dengue infection which would contribute both to the immunopathogenesis and clinical spectrum. NS1 protein has as important antigenicity as an early marker. **Soroy Lardo, Marsetyawan, Juffrie, Siti Rahmah Umniyati. Dengue Hemorrhagic Fever Kinetics in Clinical and Immunopathogenesis Spectra**

Keywords: Dengue hemorrhagic fever, dengue virus, NS1

PENDAHULUAN

Demam berdarah dengue (DBD) sampai saat ini merupakan masalah kesehatan di negara tropis termasuk di Indonesia. Demam dengue (DD) endemik pertama kali dilaporkan David Bylon di Batavia/Jakarta tahun 1770, sedangkan demam berdarah dengue pertama kali diketahui di Surabaya dan Jakarta pada tahun 1968, di mana konfirmasi virologi diperoleh pada tahun 1970.¹ Demam berdarah dengue dapat mencetuskan sindrom yang mengancam nyawa terutama pada anak di bawah 16 tahun di daerah endemik dengue. DBD dapat terjadi melalui infeksi primer, lebih sering melalui infeksi sekunder. Peningkatan infeksi sekunder ini disebabkan adanya *antibody-dependent enhancement* (ADE), yaitu antibodi serotipe pertama meningkat dengan

infeksi serotipe kedua.^{2,3}

DBD memiliki manifestasi klinis yang sama dengan demam dengue, ditambah kegagalan sirkulasi dan perdarahan yang dapat berakibat kematian. Gejala klinik di antaranya demam tinggi, nyeri kepala berat (retroorbital), kemerahan wajah, nyeri otot, nyeri sendi, mual dan muntah, nafsu makan menurun, dan nyeri abdomen akut. Manifestasi perdarahan serius dapat terjadi, yaitu epistaksis, perdarahan gusi, *petechiae* dan *echymosis*, hematemesis, melena, dan perdarahan vagina.²

Karakteristik utama DBD adalah kebocoran plasma yang ditandai gangguan sirkulasi berupa hipotensi, takikardia, mengcilnya tekanan nadi, dan tertundanya pengisian

kembali kapiler. Komplikasi yang dapat terjadi adalah efusi pleura dan asites. Komplikasi DBD yang jarang berupa ensefalopati, ensefalitis, gagal hati, miokarditis, dan DIC (*disseminated intravascular coagulation*).²

Karakteristik Virus Dengue

Virus dengue termasuk grup B *Arthropod Borne Virus* (Arbo viruses) yang merupakan virus RNA, genus *Flavivirus*, famili *Flaviviridae*. Sampai saat ini dikenal 4 serotipe, yaitu DEN-1, DEN-2, DEN-3, dan DEN-4. Infeksi salah satu serotipe akan menimbulkan antibodi protektif seumur hidup untuk serotipe bersangkutan, tetapi tidak untuk serotipe yang lain. Keempat serotipe virus tersebut ditemukan di berbagai daerah di Indonesia. Serotipe DEN-3 merupakan serotipe yang dominan di

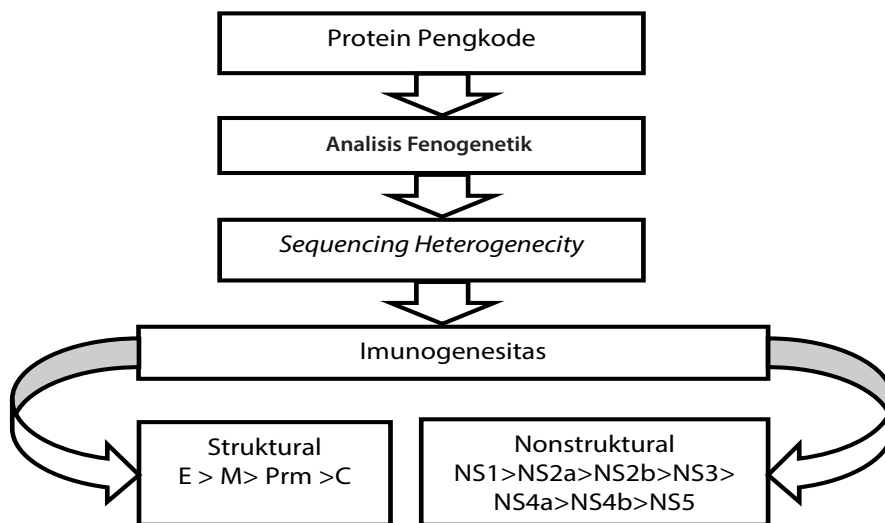


Indonesia dan berhubungan dengan kasus berat saat kejadian luar biasa.^{4,5}

Virus dengue mempunyai diameter *envelope* 40-60 nm, mengandung RNA untai tunggal (ssRNA) *positive sense* dengan genom untai tunggal tidak bersegmen berukuran 10,7 kb. Virion matur mengumpul di dalam *cisternae* retikulum endoplasma. Virus DEN termasuk kelompok virus yang relatif labil terhadap suhu dan faktor kimia serta masa viremia yang pendek, sehingga keberhasilan isolasi dan identifikasi virus sangat bergantung kepada kecepatan dan ketetapan pengambilan.⁵ Pada genom virus dengue terdapat sekitar 10.700 basa. Di dalam genom, terdapat sebuah *single open reading frame* (SORF) yang mengkode 2 macam protein, yaitu protein struktural dan nonstruktural. Protein struktural terdiri atas C (*core*), M (*membrane*), Prm (*Premembrane*), dan E (*envelope*). Protein nonstruktural terdiri atas 7 macam, yaitu NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, dan NS5.⁶

Struktur protein virus dengue mempunyai beberapa fungsi penting. Fungsi utama adalah mempermudah perpindahan asam nukleat virus dari sel *host* satu ke sel *host* yang lain. Protein ini berperan melindungi gen virus terhadap inaktivasi oleh nukleus dan melengkapi partikel virus untuk intervensi sel yang rentan. Respons imunitas *host* secara langsung akan melawan faktor antigen protein atau glikoprotein virus yang tidak terlindungi di permukaan partikel virus.⁶

SORF dan Antigenitas Virus Dengue



Gambar 1. Potensi protein penentu imunogenitas virus dengue⁶

Protein NS1 bukan bagian struktur virion, tapi diekspresikan pada permukaan sel yang terinfeksi. NS1 adalah protein nonstruktur berupa glikoprotein yang fungsinya belum jelas. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa glikoprotein nonstruktural ini berperan dalam replikasi virus RNA. Protein NS2 memiliki 2 protein (NSA dan NSB) yang berperan sebagai serine proteinase. Gen NS4 memiliki 2 protein hidrofob yang berperan pada kompleks replikasi membran RNA. NS5 memiliki berat molekul 105.000 dan merupakan petanda protein Flavivirus. Protein ini berperan penting dalam pembentukan *RNA cap structure*.^{6,7}

Penentuan patogenitas virus dengue dapat digambarkan dalam skema (Gambar 1).

Penentuan variasi antigenitas serotipe dapat dilihat dari skema (Gambar 2).

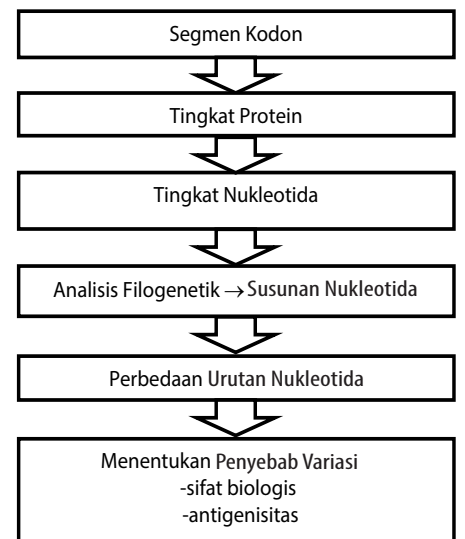
Profil Kinetik Virus Dengue

Protein NS1 sebagai penanda awal infeksi dengue diteliti pada sampel serum pasien dewasa infeksi primer dan sekunder dengue tipe 4. Dari 209 sampel serum yang dikumpulkan hari ke-2 sampai ke-7 onset demam, 71 pasien diperiksa dengan *Platelia NS1 antigen capture ELISA inhibition method tests*. Didapatkan hasil positif pada 83,3% kasus primer dan 96,4% kasus sekunder. Kinetik protein NS1 memperlihatkan nilai tertinggi rasio rata-rata *optical density* (OD) atau persentase positif di antara hari ke-2 dan ke-4. Hasil penelitian ini memperlihatkan kegunaan protein NS1 sebagai penanda virologik

awal infeksi dengue; untuk hal tersebut, harus dilakukan studi prospektif sebagai penanda prognostik beratnya penyakit. Saat ini beberapa penelitian sudah dilakukan untuk mengevaluasi protein nonstruktural NS1 virus dengue sebagai penanda awal perjalanan penyakit infeksi dengue. NS1 adalah glikoprotein dengan ukuran 46-56-kDa yang diekspresikan dalam membran sel (mNS1) dan sekresi ke dalam darah (sNS1). NS1 memiliki kemampuan dalam menentukan kelompok spesifik dan tipe spesifik. NS1 juga merupakan suatu *complement-fixing antigen* dan menghasilkan respons humoral sangat kuat.⁸

Pada penelitian ini, protein NS1 diobservasi hari ke-3 dan ke-4 pada serum pasien dengan infeksi primer. Nilai maksimal rata-rata dari OD (*optical density*) adalah 9,6 (95% CI 3,4 s/d 15,8). Nilai tersebut didapatkan pada hari ke-4. Peningkatan IgM antidengue dideteksi pertama kali pada hari ke-4 dengan nilai 3,1% (95% CI 2,7 s/d 4,3). Sedikit peningkatan titer spesifik IgG diamati pada hari ke-5 dengan nilai GMT (*geometric mean titer*) 15,9 (95% CI, 6,7 s/d 38,3). Pada infeksi sekunder, nilai maksimum protein NS1 diamati pada hari ke-2 demam dengan rasio rata-rata OD 19,1 (95% CI, 18,7 s/d 19,6) menurun lambat pada hari ke-3 dan hari ke-4 (17,5 dan 15,4). Peningkatan IgM antibodi (OD *mean ratio* =3,4) diamati pada hari ke-4 (95% CI, 1,9 s/d 4,2) dan IgG antibodi meningkat cepat hari ke-4 (GMT=1116; 95% CI, 755 s/d 1787).⁸

Dari sudut persentase kasus infeksi primer



Gambar 2. Penentu sifat, antigenitas, dan variasi antar serotipe virus dengue.⁶



dan sekunder terhadap protein NS1 dan IgM antibodi, persentase lebih tinggi didapatkan NS1 jika diobservasi pada hari ke-3 (90%) dan 4 (80%). Pada infeksi sekunder, nilai lebih tinggi diamati pada hari ke-2 s/d ke 4 (100%) pada hari ke-2 dan 92% pada hari ke-4, dan penurunan cepat sesudah hari ke-5. Persentase IgM positif meningkat gradual pada hari ke-3 infeksi primer dan hari ke-2 infeksi sekunder, lebih tinggi di antara hari ke-5 dan hari ke-7. Penelitian Young, dkk. (2000) menggambarkan *antigen capture ELISA test* menggunakan *NS1 Mab serotipe 2* dan poliklonal pada kelinci sebagai *capture* dan deteksi antibodi. Dalam studi tersebut, NS1 tidak dapat dideteksi baik pada fase akut maupun konvalesen dari sampel serum pasien yang secara serologik terkonfirmasi infeksi primer, tetapi 40% (2/5) pasien infeksi sekunder positif NS1. Kumarasamy, dkk. (2007) menggunakan panel infeksi primer dan sekunder, presentase NS1 Ag Platelet lebih bermakna pada infeksi primer akut dengue (97,4%) dibandingkan kasus infeksi sekunder dengue (68,8%). Hasil tersebut mengungkapkan bahwa 83,3% deteksi infeksi primer NS1 dan 96,4% infeksi sekunder. Penelitian ini menyimpulkan persentase tertinggi nilai positif pada infeksi sekunder. Nilai rendah atau tidak terdeteksi protein NS1 pada infeksi sekunder disebabkan oleh adanya imunokompleks dari antibodi protein NS1. Hal lain yang perlu menjadi pertimbangan adalah presentasi NS1 pada infeksi sekunder disebabkan viremia yang lebih tinggi.⁸

Kinetika Virus Dengue dalam Spektrum Patogenesis

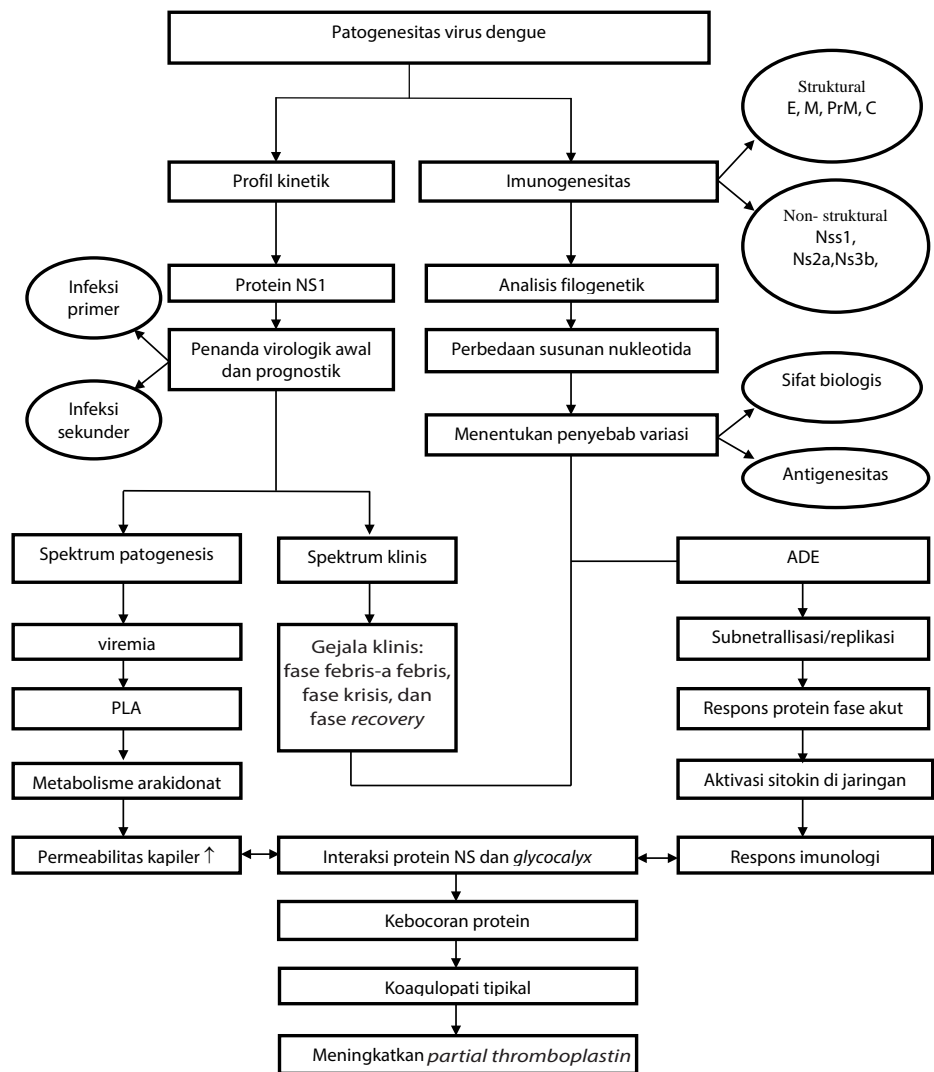
Kinetika virus dengue dalam spektrum patogenesis terkait dengan virulensi dan fase viremia. Tingkat viremia sangat menentukan perjalanan infeksi dengue selanjutnya, dengan fase aferen monosit di dalam darah menjadi target infeksi. Setelah monosit menjadi target infeksi, virus dengue mampu menginduksi makrofag untuk memproduksi enzim *Phospholipase A2* (PLA2). PLA2 merupakan superfamili enzim yang menghidrolisis fosfolipid membran menjadi *lysophospholipids* (LysoPL) dan asam lemak bebas. PLA2 berikatan dengan protein tubuh mengaktifasi metabolisme asam arakhidonat, menginduksi biosintesis eikasinoid seperti prostaksiklin, tromboksan, prostaglandin, dan leukotrien. Situasi ini berpotensi perembesan plasma yang mendorong terjadinya DSS.⁷

Viremia ditentukan oleh beberapa faktor di antaranya kemampuan dan kapasitas virulensi virus, tingkat kemampuan infiltrasi virus pada tingkat epitel dan *junction*. Jumlah virus cukup banyak akan melebarkan epitel *junction* dan menyebabkan lebih banyak infiltrasi virus ke jaringan dan lebih lanjut mengaktifkan respons imun. Pada penelitian di Thailand, viremia lebih tinggi pada DBD dibandingkan DD dan pada infeksi sekunder dibandingkan infeksi primer; titer puncak 10-100 kali lipat pada pasien DSS dibandingkan DBD.⁹ Hal ini menunjukkan tingginya titer viremia dihubungkan dengan berat penyakit. Pada penelitian pada anak, kuantitas viremia menentukan proses perjalanan dengue berikutnya.⁹ Fase kritis merupakan fase selanjutnya, memberatnya dengue salah satunya ditentukan oleh tingkat viremia. Peningkatan hematokrit pada fase kritis menandakan kebocoran vaskular akibat sitokinemia fase sebelumnya. Peningkatan

sitokin di tubuh akan memicu terlepasnya berbagai *marker* pro-inflamasi seperti IFN γ , IL-2, dan TNF α yang turut menentukan kondisi memberatnya DBD. Sitokinemia juga akan memicu kondisi gangguan hemostasis, yaitu perdarahan dan DIC. Mengkaji uraian di atas, *monitoring* kinetika virus menjadi penting, dihubungkan dengan upaya memahami perjalanan patogenesis DBD.⁹

Kinetika Virus Dengue dalam Spektrum Klinis

Perjalanan infeksi dengue menjadi fokus utama, bagaimana memahami setiap gejala dan varian klinis pasien sebagai parameter spektrum klinis dihubungkan dengan kinetika virus. Gejala klinis merupakan akibat dari imunopatogenesis dengue yang sedang berlangsung, yaitu siklus interaksi antara virus – inang dan lingkungan (reservoir tubuh). Gejala klinis pada fase a-febris merupakan



Gambar 3. Algoritma peran kinetika virus dengue dalam spektrum imunopatogenesis dan klinis



wujud dari tingkat viremia, mengacu pada gejala *probable dengue* di antaranya: demam, mual dan muntah, nyeri retroorbital, nyeri sendi, *rash*, *petechiae*, dan leukosit rendah. Fase kritis dan fase syok merupakan suatu mekanisme kompleks dari kaskade kebocoran plasma dan mekanisme autoimun yang terjadi pada tingkat vaskular dan endotel. Fase ini diawali dengan *warning sign* yang terdiri dari nyeri abdomen, muntah persisten, akumulasi cairan, perdarahan mukosa, kelelahan, pembesaran hati (hepatomegali), dan peningkatan hematokrit.¹⁰

Gambaran kondisi beratnya dengue terdiri dari: 1) peningkatan hematokrit merupakan penanda peningkatan permeabilitas kapiler yang akan berujung kepada kebocoran plasma. Kondisi klinis akumulasi cairan dengan distress pernapasan dapat terjadi pada DSS; 2) Perdarahan merupakan petanda adanya gangguan koagulopati yang dapat berujung ke DIC; 3) Gangguan organ merupakan suatu kondisi beratnya DBD yang dapat berujung terjadinya MODS (*multi-organ dysfunction syndrome*) dengan kondisi klinis gangguan hati - nilai SGOT atau SGPT > 1000, gangguan kesadaran dan gangguan jantung, dapat diperberat dengan translokasi bakteri ataupun infeksi sekunder yang dapat berkembang

menjadi sepsis.¹¹

Berbasiskan pendekatan patofisiologi infeksi sekunder, adanya viremia pada tingkat endotel akan menggerus lapisan *glycocalyx* menjadi tipis, sehingga memudahkan kebocoran plasma. *Antibody dependent enhancement* (ADE) setelah fase viremia sebagai tolak ukur pertama proses subnetralisasi, sehingga replikasi virus akan berlanjut, terutama pada infeksi sekunder. Pada infeksi sekunder atau infeksi primer saat bayi dan ADE, konsentrasi virus meningkat *in vivo*. ADE terjadi dengan adanya subnetralisasi dengue sekunder.¹²

Kondisi infeksi masif sel tubuh ditandai dengan meningkatnya respons protein fase akut, sitokin dan kemokin, kompleks imun, komplemen, dan dilepaskannya beberapa produk. Terjadi aktivasi, proliferasi, dan sekresi sitokin di jaringan oleh sel T-memori limfosit yang akan mengenalkan *conserved* dan perubahan ligan peptida yang dipostulatkan meningkatkan proses inflamasi. Respons imunologik pejamu akan menciptakan lingkungan fisiologis untuk mempromosi permeabilitas kapiler saat beban virus cepat menurun, walaupun mekanisme pastinya belum jelas. Interaksi antara dengue nonstruktural protein 1 (NS1)

dan permukaan lapisan *glycocalyx* akan melepaskan heparan sulfat ke sirkulasi, dan selanjutnya akan mengubah karakteristik filtrasi lapisan permukaan, sehingga terjadi kebocoran protein. Kehilangan protein koagulasi mungkin berperan penting pada berkembangnya koagulopati tipikal, yang dimanifestasikan dengan meningkatnya *partial thromboplastin time* dengan fibrinogen rendah.¹²

Teori proses di atas memperlihatkan bahwa peran imunopatogenesis dalam dengue berat sangat penting. Viremia kinetika pasien dengue dengan infeksi sekunder dalam pendekatan mekanistik dapat menentukan saat terjadinya komplikasi. Algoritma peran kinetika virus dengue dalam spektrum imunopatogenesis dan klinis dapat diuraikan sebagai berikut (**Gambar 3**).

SIMPULAN

Protein NS1 memiliki antigenesitas penting sebagai penanda awal infeksi dengue. Penilaian kinetika virus melalui *optical density* (OD) dan *geometric mean titer* menjadi faktor penting dalam melihat kinetika virus sebagai bagian dari proses imunopatogenesis dan spektrum klinis DBD.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soewandjo E. Perkembangan terkini dalam pengelolaan beberapa penyakit tropik infeksi. Surabaya: Airlangga University Press; 2002. p. 113-29.
2. Birnbaumer DM. Fever in the returning traveler. In: Slaven EM, Stone SC, Lopez FA, editors. Infectious diseases emergency department diagnosis & management. New York: Mc Graw-Hill; 2007. p. 418-27.
3. Zulkarnain I, Tambunan KL, Nelwan RHH, dkk. Penatalaksanaan demam berdarah dengue pada dewasa di RSPUN Dr. Cipto Mangunkusumo-Jakarta. In: Hadinegoro SR, Satari HI, editors. Naskah lengkap pelatihan pelatih dokter spesialis dalam tatalaksana DBD. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2002. p. 150-61
4. Monath P. Viral febrile illnesses. In: Strickland G. Hunters tropical medicine. Philadelphia: WB.Saunders Co; 1991. p. 200-7
5. Soegijanto S. Demam berdarah dengue. 2nd edisi. Surabaya: Airlangga University Press; 2006.
6. Nasronuddin. Imunopatofisiologimolekuler infeksi virus dengue. In: Nasronuddin, Hadi U, Vitana, editors. Penyakit infeksi di Indonesia solusi kini dan mendatang. Surabaya: Airlangga University Press; 2007. p. 46 -54
7. Noisakran S, Perng GC. Alternate hypothesis on the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever (DHF)/ dengue shock syndrome (DSS) in dengue virus infection. *Experimental Biol Med*. 2008; 233:401-8.
8. Vazquez S, Ruiza D, Barreroa R, Ramirez R, Calzadaa N, del Rosario Peña B, dkk. Kinetics of dengue virus NS1 protein in dengue 4-confirmed adult patients. *Diagnostic Microbiol Infect Dis*. 2010; 68: 46-9. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2010.04.006.
9. Lei HY, Huang KJ, Lin YS, Yeh TM, Liu HS, Liu CC. Immunopathogenesis of dengue haemorrhagic fever. *Am J Infect Dis*. 2008;4(1):1-9
10. Deen J, Lum L, Martinez E, Tan LH. Clinical management and delivery of clinical services. Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. WHO Guidelines; 2009. p. 25-9
11. Nathan MB, Drager RD. Epidemiology, burden diseases and transmission. In Dengue Guidelines For Diagnosis, Treatment, Prevention and Control. WHO Guidelines 2009; p 11-6
12. Simmons CP, Farrar JJ, Vinh Chau Nv, Wills B. Current Concept Dengue. *NEJM* 2012;366(15): 1423-32