

EKSPRESI INTERLEUKIN-10 PADA INFEKSI VIRUS DENGUE

TESIS

Oleh :

FERIMULYANI HAMID

05212021



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS PADANG**

2007

FERIMULYANI HAMID

Ekspresi Interleukin-10 (IL-10) Pada Infeksi Virus Dengue

ABSTRAK

Interleukin 10 (IL-10) adalah sitokin yang dihasilkan oleh sel *T helper 2* (Th2) yang diaktivasi oleh sel monosit atau makrofag yang terinfeksi virus dengue. Infeksi oleh virus ini menimbulkan berbagai manifestasi diantaranya Demam Dengue (DD) dan Demam Berdarah dengue (DBD).

IL-10 yang terbentuk pada infeksi virus dengue akan mengaktivasi sel B untuk membentuk antibodi. Antibodi yang terbentuk antara lain adalah anti NS-1, dimana anti NS-1 ini dapat bereaksi silang dengan trombosit yang menyebabkan agregasi trombosit sehingga terjadi trombositopenia dan anti NS-1 ini juga bereaksi silang dengan endotel vaskuler yang mengakibatkan terjadinya peningkatan permeabilitas endotel vaskuler.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan ekspresi IL-10 pada DD dan DBD, mengetahui hubungan IL-10 dengan penurunan jumlah trombosit dan peningkatan nilai hematokrit pada DD dan DBD. Penelitian ini menggunakan rancangan *analytic cross sectional study*. Penelitian terdiri dari 2 kelompok yaitu kelompok DD dan kelompok DBD pada pasien yang dirawat di RS M Djamil Padang, yang masing-masing kelompok terdiri dari 27 subjek. Kadar IL-10 dianalisis dengan metoda *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) menggunakan *Human IL-10 Elisa Kit* keluaran *Ray Biotech, Inc.*

Data dianalisa dengan menggunakan SPSS 12, dan nilai $p < 0.05$ berarti terdapat perbedaan yang signifikan.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan perbedaan yang signifikan dimana ekspresi IL-10 didapat lebih tinggi pada DBD dari DD, dengan $p = 0.0000$, Kadar IL-10 mempunyai korelasi lemah dengan pola negatif dengan jumlah trombosit dan mempunyai korelasi sangat lemah dan berpola positif dengan nilai hematokrit.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terjadi peningkatan ekspresi IL-10 jika infeksi virus dengue berlanjut.

Kata kunci : Interleukin-10 (IL-10), Demam Dengue (DD), Demam Berdarah Dengue (DBD).

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Infeksi virus dengue memperlihatkan spektrum klinis yang bervariasi mulai dari yang ringan sampai berat. Manifestasi klinis ringan dapat berupa demam tanpa sebab yang tidak jelas, demam dengue (DD), dan manifestasi klinik yang berat dapat berupa demam berdarah dengue (DBD), dan sindrom syok dengue (SSD). Virus dengue pada manusia ditularkan oleh nyamuk *aedes aegypti* dan *aedes polynesiensis* yang dapat menyerang semua orang dan sering menimbulkan kejadian luar biasa (Jun, 2001).

Pada pertengahan abad ke-20 dengue menyebar di negara-negara tropis dan subtropis, yang berarti bahwa sepertiga dari penduduk dunia beresiko untuk terinfeksi virus dengue. Virus dengue menyebabkan 50 – 100 juta kasus demam akut setiap tahunnya, termasuk lebih dari 500.000 kasus berat, yaitu DBD dan SSD (Chaturvedi, 2000; Srichaikul dan Nimmannitya, 2000; Teichman, 2003). Epidemik pernah dilaporkan terjadi di Brazil, Kamboja, Colombia, Cuba, Ekuador, Laos, Malaysia, Myanmar, Peru, Thailand, Venezuela, Vietnam dan Indonesia (WHO, 1997).

Infeksi virus dengue di Indonesia pertama kali ditemukan di Surabaya pada tahun 1968, dan konfirmasi virologis baru didapat pada tahun 1972. Epidemik pertama diluar Jawa dilaporkan pada tahun 1972 di Sumatera Barat dan Lampung, disusul oleh Riau, Sulawesi Utara dan Bali(1973). Pada tahun 1974 epidemik dilaporkan terjadi di Kalimantan Selatan dan Nusa Tenggara Barat.

Semenjak itu penyakit tersebut menyebar ke berbagai daerah, sehingga sampai tahun 1980 seluruh propinsi di Indonesia kecuali Timor-Timur telah terjangkit penyakit dengue (Soedarmo, 2005).

Sejak pertama kali ditemukan, jumlah kasus menunjukkan kecenderungan meningkat baik dalam jumlah maupun luas wilayah yang terjangkit dan secara sporadis selalu terjadi epidemi setiap tahun. Epidemi DBD terbesar terjadi pada tahun 1998 dengan *Incidence Rate* (IR) = 35,19 per 100.000 penduduk dan *Case Fatality Rate* (CFR) = 2%. Pada tahun 1999 IR menurun tajam sebesar 10,17%, namun tahun-tahun berikutnya IR cenderung meningkat yaitu 15,99 (tahun 2000); 21,66 (tahun 2001); 19,24 (tahun 2002); dan 23,87 (tahun 2003) (Soedarmo, 2005).

Laporan Dinas Kesehatan Propinsi Sumatera Barat menyebutkan bahwa ada 4 daerah kabupaten kota yang dinyatakan sebagai daerah endemis DBD, yaitu kota Padang, kota Pariaman, kabupaten Padang Pariaman, dan kabupaten Pesisir Selatan. Selama periode Januari sampai Desember 2006 terdapat 1067 kasus DBD, meninggal 13 dengan CFR 1,22% (Lazwardi, 2006).



Gambar.1.1. Mapping Endemisitas DBD SUMBAR TH 2006.
(Lazwardi, 2006)

Interleukin 10 (IL-10) adalah sitokin yang dihasilkan oleh sel *T helper 2* (Th2) yang diaktivasi oleh sel monosit atau makrofag yang terinfeksi virus dengue. Sitokin ini bersifat sebagai *antiinflammatory*, yang berfungsi mengontrol reaksi imunitas non spesifik dan imunitas seluler. Selain itu IL-10 juga mengatur jumlah sitokin *proinflammatory* melalui mekanisme *feedback* ke subset sel *T helper 1* (Th1) dan mencegah ekspresi *Interleukin-12* (IL-12) oleh makrofag yang diaktifkan dan sel dendritik. IL-10 juga dapat merangsang antigen spesifik yang menghambat sinyal molekul kostimulatori, sehingga tidak berikatan dengan ligannya dan mencegah ekspresi molekul *Major Histocompatibility complex I* (MHC I) dan MHC II menyebabkan sel yang terinfeksi oleh virus dengue tidak dapat dikenal oleh sel T (Mathew *et al.*,1999; Chaturvedi,2000; Feng,2005; Palmer *et al.*,2005), menghambat proliferasi sel T dan proses apoptosis sehingga mempermudah penyebaran virus dengue (Perez, 2005), mengatur fungsi trombosit yang menyebabkan agregasi trombosit.(Malavige *et al.*, 2004) IL-10 yang terbentuk selama infeksi virus dengue akan mengaktifasi sel B untuk membentuk antibodi terhadap protein virus. Anti bodi yang terbentuk antara lain *anti envelope* (anti-E) *anti premembran* (anti-prM) dan *anti nonstruktural-1* (anti-NS1). Anti-NS1 akan bereaksi silang dengan trombosit yang menyebabkan terjadinya agregasi trombosit sehingga terjadi trombositopenia. Anti-prM dan anti-NS1 juga akan bereaksi dengan endotel vaskuler sehingga menyebabkan peningkatan permeabilitas vaskuler (Feng, 2005).

Patofisiologi yang membedakan DBD dan DD adalah adanya gangguan hemostasis dan peningkatan permeabilitas vaskuler yang menyebabkan terjadinya perembesan plasma. saat kritis penyakit ini terjadi pada akhir fase demam.

dimana fase tersebut dapat merupakan awal penyembuhan tetapi dapat pula sebagai awal fase syok. Oleh sebab itu diagnosis klinis dan laboratorium DBD secara dini diperlukan untuk mengetahui apakah penyakit ini akan masuk kedalam fase syok atau tidak. Gejala klinis, adanya trombositopenia dan hemokonsentrasi digunakan sebagai parameter yang digunakan untuk memantau saat kritis ini (Rezeki *et al.*, 2005)

Penelitian yang dilakukan oleh Palmer *et al.*, 2005 menemukan bahwa sel dendritik yang diinfeksi oleh virus dengue akan teraktivasi dan menghasilkan *Tumor Nekrosis Faktor alfa* ($TNF\ \alpha$), *Interferon alfa* ($INF\ \alpha$) dan IL-10, peningkatan IL-10 dalam plasma penderita bervariasi antara 35-300 pg/ml (Palmer *et al.*, 2005). Kemudian Perez, 2005 meneliti *Regulated upon Activation Normal T-cell Expressed and Secreted* (RANTES), IL-12 dan IL-10 pada penderita infeksi virus dengue, yang mendapatkan kadar IL-10 lebih tinggi pada penderita DBD sekunder yaitu 200 pg/ml, dan pada DBD primer yaitu 20 pg/ml dan kadar IL-10 lebih tinggi pada DBD dibandingkan DD dimana sitokin ini mencapai kadar tertinggi setelah 2 – 3 hari setelah puncak viremia (Perez, 2005).

Studi prospektif yang dilakukan oleh Hung *et al.*, 2004 di “*Children's Hospital No. 1-Ho Chi Minh City*” pada 107 penderita anak yang dirawat dengan DBD/SSD berdasarkan kriteria WHO, didapatkan profil sitokin IL-10 rata-rata pg/ml dengan standar deviasi (*range*) adalah 73.8 ± 69.8 (2.8–405.1) pada semua penderita, pada penderita DBD 72 ± 52.7 (5.4–206) dan SSD 77.8 ± 100.2 (2.8–405.1) dengan nilai p 0.4 (berdasarkan *Kruskal Wallis Test*), ini berarti bahwa IL-10 lebih tinggi ditemukan pada SSD dari pada DBD. Tidak ditemukan perbedaan kadar sitokin IL-10 pada infeksi primer dan sekunder. Ditemukan juga

bahwa meningkatnya kadar IL-10 pada anak berhubungan dengan beratnya penyakit, derajat kebocoran kapiler dan adanya efusi pleura. Jumlah trombosit pada SSD lebih rendah dibandingkan DBD dengan nilai p 0,02 sedangkan nilai hematokrit pada penderita SSD lebih tinggi dari pada DBD dengan nilai p 0,003 (Hung *et al.*, 2004). Apakah IL-10 dapat dijadikan parameter untuk memprediksi perjalanan penyakit infeksi virus dengue ini?

Respon imun terhadap infeksi virus dengue dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain tergantung pada jumlah dan serotipe virus yang masuk, status imun host, umur, berulangnya infeksi, dan genetik dari host (Malavige *et al.*, 2004; Stephenson, 2005). Terdapat 4 serotipe virus dengue dengan 12 genotipe, semua serotipe ditemukan di Indonesia dengan 4 genotipe (Dossantos *et al.*, 2004). Adanya perbedaan genotipe ini apakah akan memberikan perbedaan respon imun terhadap infeksi virus dengue?

Berdasarkan latar belakang diatas penulis tertarik untuk meneliti bagaimanakah ekspresi kadar IL-10 pada Demam Dengue dan Demam Berdarah Dengue, bagaimanakah hubungan IL-10 dengan jumlah trombosit pada Demam Dengue dan Demam Berdarah Dengue dan bagaimanakah hubungan IL-10 dengan peningkatan nilai hematokrit pada Demam Dengue dan Demam Berdarah Dengue.

1.2. Rumusan masalah

1. Bagaimanakah ekspresi IL-10 pada Demam Dengue dan Demam Berdarah Dengue?
2. Bagaimanakah hubungan IL-10 dengan jumlah trombosit pada Demam Dengue dan Demam Berdarah Dengue?

3. Bagaimanakah hubungan IL-10 dengan nilai hematokrit pada Demam Dengue dan Demam Berdarah Dengue?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum :

Untuk mengetahui ekspresi IL-10 pada infeksi virus dengue.

1.3.2. Tujuan Khusus :

1. Mengetahui ekspresi IL-10 pada Demam Dengue dan Demam Berdarah Dengue.
2. Mengetahui hubungan IL-10 dengan jumlah trombosit pada Demam Dengue dan Demam Berdarah Dengue.
3. Mengetahui hubungan IL-10 dengan peningkatan nilai hematokrit pada Demam Dengue dan Demam Berdarah Dengue.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam :

Manfaat akademik

Menjelaskan peranan IL-10 pada infeksi virus dengue.

Manfaat klinis

Perubahan ekspresi IL-10 pada infeksi virus dengue dapat dijadikan sebagai parameter untuk membantu klinisi memprediksi perjalanan penyakit infeksi virus dengue.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Dari pembahasan tersebut diatas dapat dibuat kesimpulan :

1. Terjadi peningkatan ekspresi IL-10 jika infeksi virus dengue berlanjut, yang berarti bahwa aktivitas sel Th2 lebih besar pada demam berdarah dengue dari pada demam dengue.
2. Terdapat hubungan yang lemah antara IL-10 dengan jumlah trombosit dan berpola negatif baik pada demam dengue maupun pada demam berdarah dengue. Hal ini menunjukkan bahwa IL-10 hanya sedikit berpengaruh terhadap terjadinya trombositopenia, dan peningkatan IL-10 akan diikuti oleh penurunan trombosit.
3. Terdapat hubungan yang sangat lemah dan berpola positif antara IL-10 dengan nilai hematokrit pada demam dengue dan demam berdarah dengue, hasil ini menunjukkan peningkatan IL-10 akan diikuti oleh peningkatan hematokrit.

7.2. Saran

1. Dianjurkan untuk melakukan pemeriksaan IL-10 sebagai parameter untuk memprediksi perjalanan penyakit infeksi virus dengue terutama pada kasus tertentu yang dicurigai kearah lebih berat.
2. Perlu dipertimbangkan untuk memberikan antibodi anti IL-10 pada kasus tertentu yang dicurigai akan menjadi berat di masa datang.

3. Perlu penelitian lanjutan untuk melihat kemungkinan didapatkannya vaksinasi untuk virus dengue.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 1997. Comprehensive Guidelines, Prevention and Control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever. World Health Organization, Geneva.
- Anonymous, 2003. Clinical Practice Guidelines, Dengue Infection In Adults. Dengue Consensus, Academy of Medicine Malaysia Ministry of Health.
- Aryati, 2001. Nilai Diagnostik Dengue Rapid Test untuk diagnosis Demam Berdarah Dengue.
- Chaturvedi UC, Argawal R, Elbishibishi EA, Mustafa AS, 2000. Cytokine cascade in dengue hemorrhagic fever: implications for pathogenesis. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 28, 183-188.
- Cardier JE, Balogh V, Silva CP, Romano E, Rivas B, Bosch M *et al.*, 2006. Relationship of thrombopoietin and interleukin-11 levels to thrombocytopenia associated with dengue disease. *Cytokine* 34, 155-160.
- Clyde K, Kyle JL, Harris E, 2006. Recent Advances in Deciphering Viral and Host Determinants of Dengue Virus Replication and Pathogenesis. *Journal of Virology*, 80(23): 11418-11431.
- Chen RF, Liu JW, Yeh WT, Wang L, Chang JC *et al.*, 2005. Altered T helper 1 reaction but not increase of virus load in patients with dengue hemorrhagic fever. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 43-50.
- Dossantos FB, Miagostovich MP, Nogueira RM, Schatzmayr HG, Riley LW, Harris E, 2004. Analysis of recombinant dengue virus polypeptides for dengue diagnosis and evaluation of humoral of the humoral immune response. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 71(2), pp. 144-152.

- Eng J, 2003. Sample Size Estimation : How Many Individuals Should be Studied?
Radiology and Radiologist, Research Statistical Analysis.
- Feng GU 2005. Host Response to Dengue Infection. Dengue digest vol.2 no.2.
- Guzman MG, Kaori G, 2003. Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: lessons and challenges. J Clin Virol ;27:1-13
- Guglani L, Kabra SK, 2005. T Cell Immunopathogenesis of Dengue Virus Infection, Dengue Bulletin . Vol 29.
- Halstead SB, 2002. Dengue hemorrhagic fever: two infections and antibody dependent enhancement, a brief history and personal memoir. Rev Cubana Med Trop; 54(3):171-79
- Halstead SB, Lan NT, Mynt TT, Shwe TN, Nisalak A, Kalyanarooj S *et al.*, 2002. Dengue Hemorrhagic Fever in Infants: Research Opportunities Ignored. Emerging Infectious diseases.
- Halstead SB, Heinz FX, Barrette ADT, Roehrig JT, 2004. Dengue virus: molecular basis of cell entry and pathogenesis. Elsevier.
- Huang JK, Li SY, Chen SC, Liu HS, Lin YS, Yeh TM *et al.*, 2000. Manifestation of thrombocytopenia in dengue-2-virus-infected mice. Journal of General Virology, 81, 2177-2182.
- Hung NT, Lei HY, Lau NT, Lin YS, Huang KJ, Lien LB, *et al.*, 2004. Dengue Hemorrhagic Fever in Infants: A Study of Clinical and Cytokine Profiles. The Journal of Infectious Diseases ; 189:221-32
- La Russa VF, Innis BL, 1995. Mechanisms of dengue virus-induced bone marrow suppression. Bailliere's Clinical Haematology 8, 249-270

- Lazuardi, 2006. Data DBD prop. Sumatera Barat tahun 2006, Sub.Din Bina P2P-PL.
- Lei HY, Yeh TM, Liu HS, Lin YS, Chen SH, Liu CC, 2001, Immunopathogenesis of dengue virus infection. *J Biomed Sci* 8:377-388.
- Lin YW, Wang KJ, Lei HY, Lin YS, Yeh TM, Liu HS *et al.*, 2002. Virus Replication and Cytokine Production in Dengue Virus-Infected Human B Lymphocytes. *Journal of Virology*, p. 12242-12249, Vol. 76, No. 23
- Matheus S, Deparis X, Labeau B, Lelarge J, Morvan J, Dussart P, 2005. Discrimination between Primary and Secondary Dengue Virus Infection by an Immunoglobulin G Avidity Test Using a Single Acute-Phase Serum Sample. *Journal of Clinical Microbiology*, p. 2793-2797, Vol. 43, No. 6
- Malavige GN, Fernando S, Fernando DJ, Seneviratne SL, 2004. Review Dengue viral infections. *Postgraduate Medical Journal* 80:588-601.
- Mathew A, Kurane I, Green S, Vaughn DW, Suntayakom S, Emis FA *et al.*, 1999. Impaired T Cell Proliferation in Acute Dengue Infection. *The Journal of Immunology*.
- Myint KS, Endy TP, Mongkolsirichaikul D, Monomunth C, Kalayanaroj S *et al.*, 2006. Cellular Immune Activation in Children with Acute Dengue Virus Infections Is Modulated by Apoptosis. *JID*.
- Morgan R, 2005. Dengue Virus, *Cell Biology*, BIO 214
- Munoz JL, Gilma G, 2003. Inhibition of interferon signaling by dengue virus. *PNAS* vol 100.

LIBRARY
PUSAT KAWAN
UNIVERSITAS ANEALAS

- Nasrul E, 2005. Ekspresi CD4 dan CD8 serta kadar IL-1 β , IL-2, IL-10, TNF- γ pada imunopatogenesis hepatitis -C kronik. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Palmer DR, Sun P, Celluzi C, Bisbing J, Pang S, Sun W *et al.*, 2005. Differential Effects of Dengue Virus on Infected and Bystander Dendritic Cells. *Journal of virology* 79 : 2432 – 2439.
- Perez AB, 2005. Increased IL-10 levels during dengue virus infection. Dissertation, Institute for Tropical Medicine Pedro Kouri, Cuba.
- Perez AB, Garcia G, Sierra B, Alvarez M, Vazquesz S, Cabrera MV *et al.*, 2004. IL-10 levels in Dengue patients: Some findings from the exceptional epidemiological conditions in Cuba, Research Article, *J. Med. Virol.* 73:230-234
- Ostronof M, Florencio M, Domigos MC, Calixto R, Sucupira A, Sauto AM *et al.*, 2002. Serious Trombocytopenia Associated to Dengue Hemorrhagic Fever (DHF). *Southeast Asian J Trop Med Public Health*; 20(4): 549-54
- Rothman AL, 2004. Dengue: defining protective versus pathologic immunity. Review series, *J. Clin. Invest.* 113:946-951. doi:10.1172/JCI200421512.
- Rothman AL; Ennis FA, 1999. Immunopathogenesis of Dengue Hemorrhagic Fever. Minireview, *Virology* 257.
- Simmons C, 2006. *Dengue : Infection and Immunity* 1, Oxford University Clinical Reseach.
- Stephenson JR, 2005. Understanding dengue pathogenesis: implications for vaccine design. *Public Health Reviews, Bulletin of the World Health Organization*, vol.83 no.4.

- Soedarmo SP, 2005. Masalah Demam Berdarah Dengue di Indonesia, dalam naskah lengkap Demam Berdarah Dengue. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hal 1-12.
- Suroso T, Umar AI, 2005. Epidemiologi dan Penanggulangan Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia saat ini, dalam naskah lengkap Demam Berdarah Dengue. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hal 14- 31.
- Teichman D, Gobels K, Niedrig M, Grobusch MP, 2003. Dengue virus infection in travellers returning to Berlin, Germany: clinical, laboratory, and diagnostic aspects. *Acta Tropica* 90. 87-95
- Srichaikul T, Nimmannitya S, 2000. Haematology in dengue and dengue haemorrhagic fever. *Baillie's Clinical Haematology* Vol. 13, No. 2, pp. 261-276
- Wang SH, Patarapotikul J, Innis BL, Anderson R, 1995. Antibody-enhanced binding of dengue-2 virus to human platelets. *Virology* 213, 254-257
- Withawaryonong P, 2001. Dengue Haemorrhagic Fever in Infancy at Pechabun Hospital, Thailand. *Journal of Trop. Med*; 32-481-7