

## Mekanisme Respons Imun terhadap Infeksi Sekunder pada *Severe Dengue*: Sebuah Tinjauan Pustaka

Maya Ulfah<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

### Abstrak

*Dengue* merupakan salah satu penyakit infeksi *arbovirus* (*arthropod-borne virus*) yang ditemukan pada sekitar 100 negara baik tropis maupun subtropis di seluruh dunia. Mekanisme yang menyebabkan timbulnya keparahan bahkan berujung pada kematian dalam infeksi DENV (*severe Dengue*) masih belum dipahami secara baik. Meskipun demikian, beberapa penelitian yang berkaitan dengan respons imun di dalam tubuh dan peranannya dalam infeksi *severe Dengue* telah banyak dilakukan. Hipotesis umum yang paling dapat diterima untuk terjadinya *severe Dengue* adalah infeksi sekunder yang disebabkan oleh serotipe DENV yang berbeda. Sel-T memori yang terbentuk selama infeksi primer dapat bereaksi dengan cepat, tetapi memiliki efektivitas yang lebih rendah daripada sel-T *naïve* selama proses infeksi sekunder non-spesifik terjadi. Proses tersebut mengakibatkan terjadinya respons imun yang tidak efisien dengan deregulasi produksi *cytokine*. Teori tersebut juga dikenal dengan istilah *original antigenic sin*. Hipotesis lainnya yang juga masih berkaitan dengan *original antigenic sin*, yaitu *Antibody Dependent Enhancement* (ADE). Berdasarkan teori ADE, non-spesifik antibodi yang diproduksi selama proses infeksi sekunder dengan serotipe heterologous mengakibatkan serapan dan replikasi virus yang lebih tinggi di dalam sel target, seperti yang terjadi pada sel monosit melalui reseptor Fc. Pemahaman yang baik mengenai kedua hipotesis tersebut dapat sangat bermanfaat untuk memahami kejadian DHF/DSS pada infeksi DENV.

**Kata kunci:** *dengue, antibody dependent enhancement, original antigenic sin, sitokin*

## Immune Response Mechanisms to Secondary Infection in Severe Dengue: A Literature Review

### Abstract

Dengue is an arboviral infectious disease present in around 100 tropical and subtropical countries. In the world. The mechanisms that lead to severe outcomes and death in DENV infection still not fully explained. Studies on immune responses and their roles in severe Dengue has been conducted by scientists. A widely accepted hypothesis states that severe Dengue often develops during a secondary infection caused by a different DENV serotype. Memory T cells formed during the primary infection respond quickly, but show lower effectiveness than naive T cells during a non specific secondary infection. This condition produces inefficient immune responses with cytokine production dysregulation. This concept is known as original antigenic sin. Another related hypothesis linked to original antigenic sin is Antibody Dependent Enhancement. In this theory, non specific antibodies produced during a secondary infection with a heterologous serotype support higher viral uptake and replication in target cells, such as monocytes through Fc receptors. Better understanding of these two hypotheses supports clearer explanation of DHF and DSS in DENV infection.

**Keywords:** *dengue, antibody dependent enhancement, original antigenic sin, cytokine*

Korespondensi: Maya Ulfah, Alamat Jl. Prof. Soemantri Brodjonegoro No. 1 Bandar Lampung, e-mail: [maya.ulfah@fk.unila.ac.id](mailto:maya.ulfah@fk.unila.ac.id)

## Pendahuluan

*Dengue* merupakan salah satu penyakit infeksi arbovirus (arthropod-borne virus) yang ditemukan pada sekitar 100 negara baik tropis maupun subtropis di seluruh dunia. Virus *Dengue* (DENV) yang menginfeksi manusia berasal dari famili *Flaviviridae* dan terdiri dari 4 jenis serotipe, yaitu DENV-1, DENV-2, DENV-3 dan DENV-4. Proses transmisi dari DENV diperantarai oleh nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* sebagai vektor.<sup>(1,2)</sup> Berdasarkan data yang diperoleh dari *World Health Organization* (WHO) setidaknya terdapat sekitar 390 juta kasus *Dengue* setiap tahunnya di mana 3.9 miliar orang di seluruh dunia beresiko terinfeksi oleh DENV.<sup>(3)</sup> Infeksi *Dengue* dianggap sebagai salah satu penyebab mortalitas dan morbiditas yang terbesar di negara berkembang dan merupakan penyebab kematian utama di kalangan anak-anak yang berumur di bawah 15 tahun di Asia Tenggara.<sup>(4)</sup> Indonesia sebagai salah satu negara endemik *Dengue* pernah mengalami kasus infeksi terbesar, yaitu sebanyak 150 ribu kasus pada tahun 2007. Kasus tersebut terjadi pada penduduk Indonesia di mana sebanyak lebih dari 35% penduduknya hidup di daerah perkotaan terutama di daerah Jakarta dan Jawa Barat.<sup>(5)</sup>

Sebagian besar dari individu yang terinfeksi DENV tidak menunjukkan gejala (*asymptomatic*) atau hanya menunjukkan gejala ringan yang dikenal sebagai demam *Dengue* klasik (*Classical Dengue Fever*). Gejala dari *Dengue Fever* (DF), antara lain myalgia, sakit kepala di bagian retro-orbital, nyeri pada persendian, muntah, dan kehilangan nafsu makan. Gejala-gejala tersebut dapat berlangsung selama 3--7 hari. Berdasarkan kriteria yang ditetapkan oleh WHO sebagian kecil (3%) dari individu yang terinfeksi DENV juga dapat mengalami *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF) atau *Dengue Shock Syndrome* (DSS). Fase akut dari DHF/DSS diawali dengan gejala yang mirip dengan DF, namun pasien tiba-tiba mengalami sindrom permeabilitas pembuluh darah yang parah bersamaan dengan *thrombocytopenia*, pendarahan, dan *coagulopathy* yang dapat mengakibatkan *shock* dan kematian.<sup>(6)</sup> Pada saat ini belum ada *treatment* atau vaksin yang secara spesifik melawan infeksi *Dengue*, sehingga diagnosis awal, istirahat yang baik, dan pemeliharaan

cairan tubuh pasien merupakan hal penting dalam penanganan *severe Dengue*.<sup>(7)</sup>

Mekanisme yang menyebabkan timbulnya keparahan bahkan berujung pada kematian dalam infeksi DENV (*severe Dengue*) masih belum dipahami secara baik. Meskipun demikian, beberapa penelitian yang berkaitan dengan respon imun di dalam tubuh dan peranannya dalam infeksi *severe Dengue* telah banyak dilakukan.<sup>(8)</sup> Xavier-Carvalho et al.<sup>(8)</sup> juga menyatakan bahwa fase kritis dari infeksi DENV yang terjadi pada hari keempat atau keenam disebabkan oleh adanya *cytokine storm* (badai sitokin).<sup>(8)</sup> *Cytokine storm* terjadi akibat adanya peningkatan level mediator pro-inflamasi, seperti Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), *Tumour Necrosis Factor* (TNF), *Soluble TNF Receptor 1* (sTNFR1), sTNFR2, *CXC-chemokine Ligand 8* (CXCL8), CXCL9, CXCL10, CXCL11, *CC-chemokine Ligand 5* (CCL5), *Vascular Endothelial Growth Factor A* (VEGFA), dan juga *Anti-inflammatory Cytokine Interleukine-10* (IL-10).<sup>(9)</sup> Akan tetapi, penyebab intrinsik dari ketidakseimbangan produksi *cytokine* serta jenis mediator yang meregulasi perkembangan infeksi ke arah yang lebih parah masih belum dipahami secara menyeluruh.<sup>(8)</sup>

Hipotesis umum yang paling dapat diterima untuk terjadinya *severe Dengue* adalah infeksi sekunder yang disebabkan oleh serotipe DENV yang berbeda. Suatu infeksi primer oleh serotipe tertentu, misalnya DENV-1 dapat memberikan imunitas terhadap serotipe tersebut, akan tetapi dapat memicu terjadinya respon imun non-spesifik terhadap serotipe yang lainnya (DENV-2, 3, dan 4). Hal tersebut menunjukkan bahwa sel-T memori yang terbentuk selama infeksi primer dapat bereaksi dengan cepat, tetapi memiliki efektivitas yang lebih rendah daripada sel-T naïve selama proses infeksi sekunder non-spesifik terjadi. Proses tersebut mengakibatkan terjadinya respons imun yang tidak efisien dengan deregulasi produksi *cytokine*. Teori tersebut juga dikenal dengan istilah "*original antigenic sin*". Hipotesis yang lain tentang munculnya *severe Dengue*, yaitu *Antibody Dependent Enhancement* (ADE). Berdasarkan teori ADE, non-spesifik antibodi yang diproduksi selama proses infeksi sekunder dengan serotipe heterologous mengakibatkan serapan dan replikasi virus yang lebih tinggi di dalam sel target, seperti yang terjadi pada sel monosit melalui reseptor Fc.<sup>(7)</sup> Namun, karena

sifat patogenesis dari *Dengue* yang sangat kompleks, kedua teori tersebut masih memerlukan observasi lebih lanjut mengenai perkembangan *severe Dengue* di dalam *host*.

Tinjauan pustaka ini bertujuan untuk membahas peranan respons imun *host* terhadap *Dengue* yang berkaitan dengan peranan sel-T dan sel-B serta komponen lainnya, seperti *cytokine* yang memediasi respons imun adaptif pada saat terjadinya infeksi sekunder. Informasi yang berkaitan dengan peranan komponen sistem imun tersebut diharapkan mampu memahami proses timbulnya keparahan atau *severe Dengue* dengan lebih baik.

### Klasifikasi *Dengue*

Klasifikasi *Dengue* telah secara sistematis dipaparkan oleh WHO, yaitu DF, DHF atau DSS. Reaktogenisitas yang terjadi setelah proses infeksi DENV dapat didefinisikan dengan spektrum manifestasi klinis yang berkisar dari infeksi yang tidak terlihat pada DF, DHF atau DSS serta suatu waktu dimana infeksi mulai terlihat sebagai gejala klinis yang umum. Meskipun, *classic* DF telah diketahui sejak 200 ribuan tahun yang lalu, akan tetapi DHF/DSS baru pertama kali dilaporkan pada tahun 1950. Gejala klinis dari DHF/DSS umumnya ditandai dengan kebocoran pembuluh dan pendarahan.<sup>(10)</sup>

Infeksi DENV terjadi pada anak usia sekolah sekitar 6--8% setiap tahunnya di daerah endemik, tetapi hanya 5--50% dari infeksi tersebut yang menunjukkan gejala. Sebagian besar gejala infeksi terjadi sebagai *classical* DF dan periode inkubasi berkisar antara 3 sampai 14 hari, tetapi umumnya sekitar 4--7 hari. Terjadinya DF juga ditandai dengan demam secara mendadak yang disertai dengan sakit kepala, sakit dibagian belakang kepala, *myalgia* dan *arthralgia*, muka memerah, ruam, anorexia, sakit di bagian abdomen, dan mual.<sup>(10)</sup>

Pada saat DENV masuk dan dilepaskan ke dalam kulit oleh nyamuk, DENV bereplikasi di dalam sel dendritik yang selanjutnya menimbulkan infeksi sistemik pada sel makrofag atau monosit dan diikuti masuknya virus ke dalam aliran darah. Sel hati juga merupakan sel target dari infeksi DENV, sehingga virus juga dapat terdeteksi pada sel hati, akan tetapi kerusakan parah dari sel hati hingga timbul penyakit *jaundice* jarang terjadi.

Selama *febrile periode* (demam) terdapat titer virus yang tinggi, yaitu berkisar antara  $10^5$ -- $10^6$  unit infeksi virus per ml, meskipun demikian DENV memiliki kemampuan viremia yang beragam terhadap pasien di semua rentang usia. Dalam periode tersebut DENV juga mampu menginfeksi organ lain termasuk hati.<sup>(10)</sup>

Beberapa penelitian melaporkan bahwa ruam yang terlihat selama infeksi DF memiliki insiden lebih dari 80% dan bersifat polimorfik. Ruam yang muncul memiliki karakter sebagai *macular*, *maculopapular*, *morbilliform*, *scarlatiniform*, atau *petechial* dan biasanya terlihat pada bagian paha, lengan, dan permukaan telapak tangan dan kaki. Pruritus dan desquamasi kulit juga dapat terjadi. Infeksi DF bersifat lebih ringan pada anak yang berusia muda dibandingkan dengan yang terjadi pada anak dengan umur lebih tua atau dewasa. *Thrombocytopenia*, leukopenia, dan peningkatan kadar serum transaminase merupakan abnormalitas yang terdeteksi di laboratorium ketika infeksi *symptomatic* DF. Leukopenia sangat umum terjadi pada infeksi DENV, meskipun demikian infeksi sekunder akibat bakteri jarang terjadi.<sup>(10)</sup>

Bentuk infeksi DENV yang lebih parah biasa dikenal sebagai DHF atau DSS yang memiliki karakter demam, *thrombocytopenia*, pendarahan, dan adanya peningkatan permeabilitas vaskular dengan bocornya cairan intravaskular ke dalam ruang interstisial. Peningkatan permeabilitas vaskular dan kehilangan cairan intravaskular berkontribusi secara signifikan terhadap keparahan *Dengue* dan terjadinya *shock* yang dapat menyebabkan kematian. Bentuk infeksi tersebut dapat terlihat pada saat infeksi primer *Dengue*, akan tetapi lebih sering ditemukan ketika terjadi infeksi sekunder dengan heterotipe DENV, misalnya jenis serotipe yang berbeda dari infeksi sebelumnya. Viremia pada DHF/DSS umumnya 10 sampai 100 kali lebih tinggi dibandingkan dengan DF. Manifestasi pendarahan dari DHF meliputi kerapuhan kapiler; *petechia*; *ecchymoses* atau purpura; pendarahan dari lapisan mukosa, saluran pencernaan, atau bagian tubuh lain; serta hematemesis atau melena.<sup>(10)</sup>

Perjalanan klinis DHF mirip seperti pada *classical* DF dengan ditandai juga demam tinggi yang tiba-tiba terjadi dan gejala konstitusi nospesifik lainnya. Kondisi pasien dapat

memburuk secara tiba-tiba ketika waktu defervesensi dengan adanya penyempitan tekanan nadi dan gejala hipovolemi akibat kebocoran plasma baik dengan maupun tanpa manifestasi hemoragik. Peningkatan permeabilitas vaskular merupakan akibat dari hilangnya cairan plasma ke dalam ruang interstisial dan dapat juga mengakibatkan efusi pleura dan ascites. Hal tersebut umum ditemukan dengan insiden lebih dari 50% pada penderita DHF yang diperiksa menggunakan prosedur ultrasound. *Shock* hipovolemi muncul ketika terjadi kebocoran cairan plasma yang cukup ke ruang interstisial dan mengganggu *cardiac output*. Periode *shock* terjadi secara singkat, tetapi mengancam jiwa dan pasien dapat saja meninggal dunia atau sembuh dalam waktu 24 jam tergantung dari pelayanan medis yang dilakukan. Kegagalan fungsi hati dan manifestasi neurologis-yang-jarang juga diasosiasikan pada pasien DHF. *Hepatomegaly* dilaporkan terjadi pada anak-anak yang menderita DHF di Thailand di mana lebih dari 98% dari anak-anak yang mengalami DHF menunjukkan gejala perbesaran hati.<sup>(10)</sup>

Patogenesis dari DHF/DSS bersifat sangat kompleks dan para peneliti masih harus mengidentifikasi faktor mana dari sisi abnormalitas kimia, hematologi, dan imunologi yang berkontribusi secara signifikan terhadap pendarahan berlebihan dan peningkatan permeabilitas vaskular. Murphy et. al.<sup>(10)</sup> menyatakan bahwa berdasarkan perubahan koagulasi dan permeabilitas vaskular diyakini timbul akibat kombinasi dari beberapa hal sebagai berikut:

- a. Peningkatan replikasi virus.
- b. Peningkatan kematian sel akibat infeksi virus (apoptosis) atau disebabkan karena proses perlawanan oleh sel imun *cytotoxic* atau sel *antibody-dependent cytotoxicity* (ADCC).
- c. Aktivasi komplemen.
- d. Aktivasi subset sel-T memori yang gagal melakukan proses *cytotoxicity* pada sel yang terinfeksi oleh virus.
- e. Peningkatan sekresi mediator inflamasi seperti interferon tipe I dan II serta berbagai jenis *cytokine* oleh sel yang terinfeksi virus atau sel imun. Peranan dari faktor-faktor sistem imun yang spesifik terhadap DENV termasuk *antibody-dependent-enhancement*

selanjutnya akan didiskusikan lebih jauh lagi pada tinjauan pustaka ini.

Faktor lainnya yang berasal dari *host* juga berkontribusi tinggi terhadap keparahan dalam infeksi *Dengue*. Insiden terjadinya DHF/DSS berkorelasi positif dengan peningkatan usia pasien. Peningkatan interval infeksi antara infeksi primer dan sekunder juga diketahui dapat meningkatkan keparahan pada infeksi sekunder. Hal tersebut disebabkan karena seiring bertambahnya usia dan interval infeksi, maka terjadi penurunan titer antibodi *cross-neutralizing* yang diinduksi oleh infeksi primer yang aktif melawan virus heterotipik pada saat infeksi sekunder DENV. Spektrum respons klinis yang terjadi selama infeksi primer dan sekunder serta mekanisme yang memodifikasi tingkat keparahan dari *severe Dengue* masih belum didefinisikan secara menyeluruh. Salah satu faktor yang berhasil diidentifikasi adalah faktor-faktor yang telah dijelaskan di atas termasuk sejarah dari infeksi sebelumnya dengan serotipe *Dengue* yang berbeda. Namun, beberapa penelitian telah menjelaskan bahwa ternyata faktor genetik dari *host* juga dapat memodulasi respons klinis terhadap infeksi primer dan sekunder dari DENV.<sup>(10)</sup>

### Struktur Virus *Dengue* (DENV)

Genom DENV merupakan molekul RNA *single-stranded-positive-sense* yang berukuran sekitar 11 kb dan terdiri dari satu *open reading frame* (ORF) yang selanjutnya akan diekspresikan sebagai suatu poliprotein berukuran besar. Poliprotein tersebut kemudian akan diproses menjadi 3 struktural dan 7 non-struktural (NS) protein oleh enzim protease baik yang berasal dari *host* maupun DENV itu sendiri. Ujung terminus dari genom virus *Dengue* mengandung *untranslated region* (UTR) yang memiliki peran penting dalam proses replikasi gen dan translasi protein virus di dalam sel *host*. Pada ujung 5'-UTR dari genom DENV hanya mengandung 100 nukleotida dan memiliki *cap structure* tipe I (m7G5\_ppp5\_A), sedangkan di bagian 3'UTR memiliki ukuran yang lebih besar, yaitu sekitar 450 nukleotida dengan beberapa struktur RNA *conserved* dan tidak terdapat terminal *polyadenylate tract*. Secara keseluruhan organisasi genom DENV adalah 5\_UTR-C-prM-E-NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5-3\_UTR.<sup>(10)</sup>

Virion DENV berdiameter sekitar 50 nm dan terdiri dari 3 protein struktural, *capsid* (C), *membrane* (M) dan *envelope* (E), serta genom RNA. Permukaan dari virion tersusun dari 180 glikoprotein E pada bagian lipid dari *envelope* virus *Dengue*. Glikoprotein E adalah protein utama yang terlihat pada permukaan virion DENV. Imunitas terhadap DENV dimediasi oleh proses netralisasi antibodi yang melawan glikoprotein E. Sekuens asam amino dari protein E menentukan tiap jenis serotipe DENV. Residu asam amino yang terdapat di dalam protein E suatu jenis serotipe bersifat sangat *conserved* dengan kesamaan sekitar 90--96%. Namun, diantara serotipe yang satu dengan lainnya terdapat sekitar 60--70% kemiripan sekuens asam amino dari protein E. Sekuens asam amino tersebutlah yang diidentifikasi menggunakan *immunologic assay* untuk dapat membedakan keempat jenis serotipe. Virus *Dengue* tidak berevolusi secepat virus RNA yang lainnya karena DENV harus mampu bereplikasi dan bertransmisi secara efisien, baik di dalam tubuh manusia maupun pada nyamuk.<sup>(10)</sup>

### Siklus Hidup DENV

Virus DENV diinjeksikan ke dalam kulit ketika bagian mulut dari nyamuk betina, yaitu *proboscis* menembus lapisan epidermis dan dermis sampai ke daerah yang sesuai dan terdapat pembuluh darah. Setelah proses infeksi di kulit terjadi, DENV harus mencapai infeksi sistemik untuk dapat melanjutkan proses transmisinya ke *host* nyamuk yang baru. Virus DENV merupakan *lymphotropic pathogen*, sehingga menggunakan limfatik dan kelenjar getah bening sebagai saluran untuk menuju ke pembuluh darah. Sifat DENV tersebut pertama kali ditunjukkan terjadi di dalam tubuh primata yang diinokulasi dengan DENV pada bagian kulit. Secara berurutan, virus dapat terdeteksi di kelenjar getah bening sebelum mencapai infeksi sistemik dimana virus kemudian dapat terdeteksi di dalam serum. Di dalam suatu studi, diketahui bahwa sel imun yang berada di kulit juga dapat teraktivasi pada onset DHF/DSS yang secara potensial memperlihatkan adanya respon inflamasi sistemik.<sup>(12)</sup>

Sel yang menjadi target infeksi DENV adalah sel-sel myeloid, yaitu monosit, makrofag, sel dendritik, sel endotelial, dan sel hepatosit.<sup>(12,13)</sup> Reseptor DENV pada sel

hepatosit berupa *heat shock protein* (Hsp) 70 dan 90, GRP78, serta *heparin sulfate*. Sel monosit dan makrofag memiliki reseptor yang terdiri dari *mannose receptor* (CD205), CD-14 *associated protein*, CLEC-5A, *heparin sulfate* dan DC-SIGN (CD209), sedangkan untuk sel dendritik reseptor selulernya berupa DC-SIGN.<sup>(13)</sup> Setelah reseptor berikatan dengan glikoprotein E DENV, virus akan masuk ke dalam sel *host* melalui *clathrin-mediated endocytosis* dan penurunan pH di dalam endosomal akan memicu perubahan konformasi dari virion. Hal tersebut memicu terjadinya fusi antara membran dan proses pelepasan genom DENV ke dalam sitoplasma. Replikasi dapat terjadi karena adanya asosiasi dengan struktur membran sel yang diinduksi oleh virus dengan membentuk *replication complex* (RC). Genom DENV yang berupa *positive-sense* RNA lalu akan segera ditranslasikan menjadi poliprotein oleh ribosom sel *host*. Poliprotein tersebut akan dipotong oleh enzim protease *host* dan diproses lebih lanjut untuk dapat menghasilkan virion yang matang. Virion yang telah matur kemudian akan dikeluarkan dari sel melalui proses eksositosis.<sup>(1)</sup>

### Respons Imun *Innate* pada DENV

Setelah proses infeksi terjadi, DENV pertama kali akan melakukan replikasi di dalam kulit dengan menyerang keratinosit dan sel Langerhans (LC). Proses infeksi tersebut akan memicu respons imun *innate* melalui *pattern recognition receptor* (PRR) dan *pathogen-associated molecular pattern* (PAMP). Stimulasi PRR akan memicu produksi berbagai macam *cytokine* dan *chemokine* yang bertanggung jawab untuk memunculkan kondisi *antiviral*. Jenis PRR yang berasosiasi untuk pengenalan DENV adalah *retinoic-acid inducible gene 1* (RIG-I) dan *melanoma differentiation-associated protein 5* (MDA-5) bersama *toll-like receptor 3* (TLR3), TLR7, TLR8 dan sensor intraseluler seperti DExE/H *box RNA helicases*.<sup>(15)</sup> Aktivasi dari reseptor-reseptor tersebut oleh DENV akan menginduksi interferon tipe I (IFN) dan IL8.<sup>(1,15)</sup>

Pengenalan awal RNA DENV oleh TLR3 menghasilkan fosforilasi molekul TIR-domain yang berisi molekul *adapter-inducing interferon  $\beta$*  (TRIF). Molekul TRIF berinteraksi baik dengan *TNF-associated factors* (TRAF3) dan TRAF6. Reseptor TRAF3 akan berikatan dengan *TANK binding kinase 1* dan Ik kinase 1

(Ikk1) menghasilkan fosforilasi IRF3. Molekul TRAF6 memberikan sinyal melalui TAK1, mengaktifasi AP-1 dan menginisiasi defosforilasi Ikk1/Ikk2 dari IκB yang memicu aktivasi NFκB. Translokasi ke dalam nukleus dari molekul IRF3, AP-1, dan NFκB menginduksi pembentukan IFN-α/β. Molekul IFN-α/β kemudian akan mengstimulasi gen *interferon stimulating genes* (ISG) dan *chemokines*. Berdasarkan penelitian pada primata yang terinfeksi DENV menunjukkan bahwa administrasi TLR3 dan TLR7/TLR8 secara signifikan mampu menurunkan tingkat replikasi virus dan meningkatkan produksi *pro-inflammatory chemokine*. Titer antibodi serum anti DENV juga mengalami peningkatan yang dapat mengindikasikan bahwa TLR memiliki peranan protektif terhadap infeksi DENV (Gambar 6.).<sup>(15)</sup>

Pengenalan DENV melalui RIG1 dan MDA5 yang terjadi di sitoplasma akan memicu *mitochondrial antiviral signaling* (MAVS).<sup>(1)</sup> Gen RIG1 dan gen MDA5 yang dapat mengenali dsRNA berperan untuk menginduksi IFN-β. Saat berikatan dengan dsRNA, RIG1 akan mengalami oligomerisasi dalam *ATP-dependent fashion*. Peranan pengenalan dsRNA tersebut penting untuk dapat membedakan antara RNA DENV dengan RNA *host*. Hal tersebut dilakukan dengan cara mengenali metilasi 2'-O *ribose* yang terdapat pada mRNA *host*. Aktivasi MAVS selanjutnya akan berinteraksi dengan *stimulator of interferon genes* (STING yang juga dikenal sebagai MITA). Setelah teraktivasi, MAVS melakukan oligomerisasi dan menarik berbagai ubiquitin E3 ligase seperti TRAF3 dan TRAF 6 untuk mengaktifkan *cascade* sinyal. Aktivasi TRAF3 menyebabkan translokasi IRF3 dan IRF7 ke dalam nukleus untuk menginduksi transkripsi dari IFN-α/β seperti yang telah dijelaskan di atas. Sedangkan aktivasi TRAF6, akan menginduksi translokasi NFκB ke dalam nukleus untuk dapat mensintesis IFN-α/β. Oleh karena itu, baik RIG1 dan MDA5 bekerja secara sinergis dengan TLR untuk membatasi replikasi DENV secara *in vitro*.<sup>(15)</sup>

Molekul IFN-α/β yang disekresikan oleh sel yang terinfeksi DENV menstimulasi sinyal peringatan kepada sel-sel sekitar secara *autocrine* bahwa infeksi telah terjadi. Molekul IFN-α/β berperan sangat kuat sebagai penghambat infeksi DENV. Sinyal yang dikirimkan oleh IFN-α/β melalui jalur IFN-α/β reseptor (IFNAR) dan mengaktifasi jalur

JAK/STAT dengan memfosforilasi adaptor molekul TYK2 dan JAK1. Proses aktivasi tersebut mengakibatkan fosforilasi dan dimerisasi molekul *signal transducer and activator transcription* (STAT), diantaranya STAT1, STAT2, STAT3, dan STAT5. Sebuah kompleks sinyal penting yang terbentuk oleh STAT1 dan STAT2 bersama dengan IRF9 dalam respon terhadap aktivasi IFNAR adalah *interferon stimulating gene factor 3 complex* yang bertranslokasi ke dalam nukleus dan berikatan dengan *IFN-stimulated response elements* yang terletak pada bagian promoter *IFN-stimulated gene*. Proses tersebut sangat penting untuk memproduksi protein-protein antiviral dan *pro-inflammatory cytokine*. Produksi IFN-α/β yang juga menginduksi NFκB untuk bertranslokasi ke dalam nukleus akan mengakibatkan produksi pro-interleukin 1 dan aktivasi *inflammasome* yang memicu pematangan interleukin 1 dan 18. Kedua cytokine tersebut sangat berperan penting dalam respon antiviral dan rekrutmen sel imun menuju ke situs infeksi.<sup>(15)</sup>

*Complement system* di dalam respons imun *innate* juga sangat berperan melalui jalur *mannose binding lectin* (MBL) untuk menetralsasi virus. Molekul MBL akan berikatan dengan *mannose glycans* dan protein tersebut akan mengenali DENV. Proses pengenalan DENV menggunakan MBL kompleks tersebut akan menginduksi *cleavage* C4 dan C2 oleh MBL *associated serine protease*-2. Deposit C4b dan C2a di permukaan virion akan membuat C3 *convertase*. Selanjutnya, *classical complement cascade* termasuk pembentukan C5 *convertase* dan C5b-9 *membrane attack complex* akan menginduksi lisis, rekrutmen *phagocytosis*, dan inflamasi.<sup>(1)</sup>

### Respons Imun Adaptif terhadap DENV

Sel sentinel dari sistem imun tubuh, yaitu sel LC, DC, dan *mast cells* (MC) yang terdapat di lapisan epidermis kulit merupakan pertahanan pertama tubuh terhadap DENV. Sel MC akan mengalami degranulasi dan dalam beberapa menit setelah mendeteksi DENV akan mensekresikan *cytokine* (misalnya IFNα dan TNF), *chemokine* (CCL5, CXCL10, dan CXCL12) serta protease. *Chemokine* memfasilitasi perekrutan sel sitotoksik, seperti sel-T CD8<sup>+</sup> (limfosit T sitotoksik yang memiliki fenotipe sel-T *helper* 1 (TH1)), sel NK dan sel NKT ke tempat infeksi yang terdapat di kulit. Sel DC, makrofag,

monosit, keratinosit, dan kemungkinan jenis sel lainnya yang menjadi terinfeksi, juga memicu pembentukan *cytokine*, selain *cytokine* yang diproduksi oleh MC. Sel DC turunan monosit (moDC), yang direkrut ke lokasi infeksi dapat berfungsi sebagai target infeksi dan memungkinkan amplifikasi virus di dalam kulit sementara sel NK, NKT, dan sel CD8<sup>+</sup> dapat membunuh sel yang terinfeksi DENV dan mempromosikan pembersihan virus.<sup>(16)</sup>

Sel DC yang berada di lapisan kulit dan makrofag serta moDCs yang direkrut adalah target infeksi dan replikasi DENV, tetapi sel-sel tersebut juga bertindak sebagai *antigen presenting cell* (APC). Sel DC bermigrasi ke kelenjar getah bening (*draining lymph node*) dalam bentuk CCR7-*dependent* dan CCL21-*dependent*. Di dalam LN, sel DC yang diaktifkan oleh DENV meningkatkan regulasi molekul *co-stimulator* seperti CD80 dan CD86, dan mereka menyajikan antigen ke sel-T CD4<sup>+</sup> dan CD8<sup>+</sup> di dalam zona sel-T untuk inisiasi respon imun adaptif. Sel-T CD4<sup>+</sup> yang diaktifkan memberikan bantuan untuk sel-T CD8<sup>+</sup>. Kelenjar getah bening sekunder juga akan terinfeksi secara berurutan setelah infeksi yang terjadi di *draining* LN. Oleh karena itu, LN adalah pusat amplifikasi untuk DENV yang digunakan virus untuk berkembang menjadi infeksi sistemik.<sup>(16)</sup>

Sel DC yang teraktivasi sebagiannya telah terinfeksi oleh DENV akan tiba di *draining* LN melalui limfatik aferen di mana sel tersebut akan mempresentasikan antigen ke sel-T CD4<sup>+</sup> dan CD8<sup>+</sup> untuk menginisiasi respon imun adaptif. Sel-T CD4<sup>+</sup> berpotensi untuk berkembang menjadi sel T *follicular helper* (T<sub>FH</sub>). Sel tersebut kemudian akan bermigrasi dari zona sel-T ke bagian periperal dari folikel sel-B di dalam LN di mana sel-sel tersebut kemudian akan berpartisipasi dalam reaksi *germinal centre* dan mempromosikan perkembangan sel-B memori yang spesifik terhadap DENV dan sel plasma. Sel-T memori spesifik DENV mengekspresikan marker berupa CD44 (di mencit) dan CD45RO (di manusia). Sel T<sub>FH</sub> mampu berpindah ke folikel yang baru dan masuk kembali ke *germinal centres*.<sup>(16)</sup>

Selama infeksi DENV sekunder, sel-T CD8<sup>+</sup> memori dengan fenotipe *skin-homing* (CXCR3<sup>+</sup> CCR5<sup>+</sup> CLA<sup>+</sup>). Sel-sel tersebut dapat keluar dari LN melalui limfatik eferen dan masuk kembali ke sirkulasi dan secara teoritis memiliki potensi untuk kembali lagi ke kulit untuk menghilangkan DENV. Demikian pula, sel

T CD4<sup>+</sup> yang memiliki fenotipe sitotoksik (CD45RA<sub>hi</sub>CCR7<sub>low</sub>GPR56<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup> *granzyme*<sup>+</sup>) dan dikenal sebagai sel-T efektor memori RA (TEMRA), dan sel-sel ini juga dianggap berkontribusi terhadap pembersihan DENV. Selama infeksi DENV sekunder, sel-sel B plasma spesifik antigen menjalani ekspansi klon di LN. Memori sel T<sub>FH</sub>, yang bersirkulasi dalam darah dan mampu memasuki *germinal centres* LN kembali, dapat memfasilitasi ekspansi klon sel B dan dengan demikian meningkatkan produksi antibodi dan pematangan afinitas selama infeksi DENV sekunder. Pengamatan terbaru tentang fenotipe, fungsi, dan *trafficking* sel-T selama infeksi DENV menunjukkan bahwa sel T dapat memainkan peran penting dalam memberikan perlindungan terhadap DENV.<sup>(16)</sup>

### Infeksi Sekunder dan Kaitannya terhadap ADE dan *Original Antigenic Sin*

Berdasarkan penelitian yang dilakukan puluhan tahun yang lalu, infeksi sekunder DENV dengan serotipe yang homolog mampu memberikan perlindungan total terhadap gejala *Dengue* bahkan hingga 18 bulan yang merupakan interval terpanjang dari infeksi sekunder yang diujikan pada saat itu. Namun, berdasarkan studi *cohort* yang dilakukan pada lebih dari 2800 pasien ternyata re-infeksi oleh serotipe homolog DENV tidak sepenuhnya mampu memberikan pertahanan total terhadap infeksi tersebut. Hal tersebut disebabkan oleh 4 dari pasien kemungkinan telah mengalami reinfeksi homologous. Meskipun demikian, penelitian lanjutan untuk mengetahui penyebab proteksi yang lemah termasuk adanya *coinfection* perlu dilakukan. Beberapa studi juga mendemonstrasikan bahwa adanya re-aktivasi sel-T memori yang efektif selama infeksi sekunder dengan homologous serotype DENV terjadi. Pada mencit, kualitas antibodi (aviditas dan kemampuan netralisasi) juga meningkat selama infeksi sekunder homologous terjadi.<sup>(16)</sup>

Selama infeksi DENV sekunder, besar dan kinetika respon aktivasi sel-B dan sel-T ditingkatkan, walaupun di dalam prosesnya melibatkan aktivasi sel-sel memori yang bersifat *cross-reactive* terhadap serotipe heterologous. Berdasarkan percobaan pada tikus sebagai model, sel-T *serotype-specific* juga memberikan respon terhadap *strain* kedua setelah infeksi sekunder. Hal tersebut menunjukan bahwa baik sel-T *naïve* maupun

sel-T memori yang *serotype-cross-reactive* dapat teraktivasi. Ekspansi yang signifikan dari *plasmablast* dapat diamati (~1000 kali lipat lebih besar daripada *baseline* pada orang dewasa yang sehat), terhitung hingga 30% dari total populasi limfosit yang bersirkulasi. Respon tersebut sangat unik pada *Dengue* jika dibandingkan dengan pemberian vaksin influenza dengan *booster* yang hanya membangkitkan respon *plasmablast* sekitar 6% dari total sel-B yang bersirkulasi. Sel-B memori tersebut spesifik terhadap DENV dan secara cepat akan mensekresikan *virus-specific* IgG dalam jumlah besar. Antibodi dan sel-B memori yang terdeteksi selama fase akut infeksi DENV sekunder juga menunjukkan *cross-reactive* terhadap beberapa serotipe seperti halnya respon yang terjadi pada sel-T, yang dapat mengarah pada mekanisme *original antigenic sin*.<sup>(16)</sup>

Berbeda dengan *plasmablast*, frekuensi sel-T CD8<sup>+</sup> yang spesifik DENV dalam darah tampak serupa selama infeksi DENV primer dan sekunder. Namun, interpretasi tersebut didasarkan pada perbandingan sel-T yang menargetkan hanya beberapa kompleks peptida-HLA tertentu. Perbedaan utama antara infeksi primer dan sekunder adalah adanya *pre-existing antibodies*, yang diduga dapat meningkatkan infeksi dan tingkat keparahan penyakit, serta populasi sel-T *cross-reactive* yang dapat memberikan *cross-protection* akan tetapi dapat pula memperparah penyakit *Dengue*.<sup>(16)</sup>

### **Original Antigenic Sin dan Antibody Dependent Enhancement**

Mekanisme *original antigenic sin* terjadi ketika tubuh terkena *pathogen* yang sedikit berbeda atau berkembang selama paparan berikutnya. Dalam hal tersebut, karena adanya paparan antigen pertama, limfosit memori tidak berespon terhadap antigen itu sendiri, melainkan menggunakan sistem memori, sehingga menganggap bahwa antigen kedua adalah antigen pertama dan memberikan respon justru terhadap bentuk antigen pertama. Fenomena tersebut sekilas merupakan hal yang wajar terjadi atau justru sistem imun akan berespon dengan lebih cepat terhadap *pathogen*. Namun, masalah yang muncul adalah ketika antigen kedua cukup berbeda dari antigen pertama, sehingga respon yang terjadi tidak cukup kuat terhadap antigen

kedua dan menyebabkan kegagalan dalam mengeliminasi *pathogen*. Dalam kasus yang lebih ekstrim, dengan kegagalan sistem imun untuk mengatasi antigen kedua justru menyebabkan virus atau *pathogen* mampu menghindari sistem imun dan menyebabkan keparahan bahkan kematian.<sup>(17)</sup>

Produksi antibodi memainkan peran penting dalam mengendalikan infeksi virus melalui 4 cara utama: 1) netralisasi, antibodi berikatan secara kuat dengan virus dan menghindari aktivitas dari virus; 2) opsonisasi, kompleks antibodi dan virus mempromosikan fagositosis melalui reseptor Fc yang diekspresikan pada membran sel fagosit; 3) aktivasi komplemen, kompleks antibodi dan virus dikenali oleh protein komplemen, yang mengaktifkan *complement system* yang mengarah pada lisis dari *pathogen*, dan 4) *antibody-dependent-cell-mediated cytotoxicity*, sel NK mengenali antibodi yang berikatan dengan sel yang terinfeksi serta degranulasi perforin dan *granzymes* yang memicu lisis sel yang terinfeksi.<sup>(17)</sup>

Setelah infeksi sekunder, terdapat respon antibodi yang lebih cepat dan meningkat dibandingkan dengan respon primer. Peningkatan respons imun tersebut disebabkan oleh stimulasi sel limfosit B memori yang terbentuk pada infeksi primer. Antibodi pertama yang terbentuk pada saat infeksi sekunder dapat menetralkan antigen virus yang sama dalam waktu singkat. Namun, pada infeksi baru dengan virus yang sedikit mirip, *original antigenic sin* mengarah pada produksi antibodi *cross-reactive* yang secara efisien mampu mengendalikan virus pertama tetapi tidak dapat menetralkan virus yang baru. Lebih jauh lagi, pengikatan antibodi *cross-reactive* dengan virus baru dapat memicu internalisasi virus ke dalam Fc dan berkomplemen dengan reseptor pada sel seperti makrofag atau sel DC. Proses tersebut justru akan meningkatkan masuknya virus ke dalam sel. Dalam skenario klasik, virus yang dinetralkan akan masuk ke dalam sel untuk kemudian masuk ke dalam lisosom dan dihancurkan, tetapi jika netralisasi tidak cukup maka opsonisasi justru dapat meningkatkan replikasi virus yang akan menambah keparahan infeksi. Fenomena tersebut dikenal sebagai *antibody dependent enhancement*. Original antigenic sin dan ADE sangat berkaitan satu sama lainnya.<sup>(17)</sup>



Meskipun pada awalnya dijelaskan dalam respon humoral terhadap virus influenza dan serotipe yang berbeda, *original antigenic sin* dapat terjadi pada respon imun seluler terhadap virus lain. Selama infeksi pertama, sel limfosit T sitotoksik spesifik virus (CTL) diaktivasi oleh APC melalui kompleks epitope-MHC-II yang dikenali oleh reseptor sel-T spesifik. Interaksi tersebut menghasilkan sel-T memori dan efektor CTL yang mampu melisis sel yang terinfeksi melalui sekresi *cytokine* dan enzim litik. Jika infeksi kedua oleh virus yang agak berbeda terjadi, CTL memori yang sudah ada sebelumnya akan menimbulkan respon imun lebih dulu daripada sel-T *naïve*. Hal tersebut dapat terjadi karena sel-T memori mengekspresikan lebih banyak protein adhesi dan reseptor *cytokine* dan cenderung bereaksi cepat terhadap antigen pada dosis rendah. Varian peptida yang dihasilkan dari strain virus baru tersebut mungkin memiliki aviditas yang kurang terhadap reseptor sel-T dan memicu respons imun yang berbeda secara kualitatif. Pada kasus infeksi lainnya termasuk DENV, fenomena tersebut dapat mengarah pada respon imun yang buruk, misalnya *cytokine storm* dan imunopatogenesis seperti yang dijelaskan dalam DENV. Dalam kasus lain mengarah pada alergi CTL dan kehilangan kendali virus seperti yang dijelaskan untuk HIV dan virus limfokoriomeningitis. Konsekuensi yang paling drastis dari *pathogen* yang menginduksi *original antigenic sin* adalah bahkan jauh lebih buruk daripada tidak mengenali antigen sama sekali. Melainkan, sistem imun sepenuhnya mengabaikan antigen sebagai mikroorganisme baru, dan salah mengidentifikasi sebagai antigen lain yang memicu hasil klinis yang merugikan setelah infeksi sekunder (Gambar 10.).<sup>(17)</sup>

Seperti yang dijelaskan di atas, DHF/DSS sebagian besar telah dijelaskan melalui *original antigenic sin* dan *cross-reactive* serotipe. Namun demikian, penjelasan tersebut adalah model yang sangat sederhana, sehingga tanda sistem imun lainnya harus dipertimbangkan untuk menjelaskan penyakit lebih jelasnya seperti hubungan antara haplotipe HLA dan spesifisitas limfosit T. Dengan demikian kompleksitas parameter yang memengaruhi keparahan respon imun tidak hanya bergantung pada *origin antigenic sin* seperti yang telah diyakini sebelumnya, tetapi

mekanisme lain yang mungkin berperan seperti varian genetik *host* dan virus. Sebagai contoh, HLA-B7 membatasi sel-T tetramer-positif yang berkorelasi dengan keparahan penyakit hanya pada individu HLA-A11 negatif. Selain itu, respons *cross-reactive* terhadap DENV tidak selalu merugikan untuk memerangi infeksi sekunder. Hal tersebut akan tergantung pada variasi epitope yang ditemukan pada infeksi sekunder heterologous DENV. Dalam beberapa kasus respon sel-T dapat berkontribusi pada proteksi atau imunopatogenesis. Hal lain yang berkaitan juga tentang kemampuan sel-T yang spesifik terhadap suatu epitope untuk mensekresikan *cytokine* dan mempengaruhi keluaran penyakit. Sebagai contoh, *Th1-biased memory T-cells* dikendalikan oleh IFN- $\gamma$  diasosiasikan dengan infeksi DENV sekunder yang kurang parah. Sebaliknya, respon TNF- $\alpha$  skewed T-cells berasosiasi dengan infeksi yang lebih parah. Seperti yang ditunjukkan oleh Rothman et al.<sup>(18)</sup> meskipun benar bahwa vaksin harus berusaha untuk menghindari *original antigenic sin*, tetapi studi yang lebih dalam diperlukan untuk memprediksi fungsi fenotipe sel-T yang dihasilkan oleh vaksin multi-serotipe.<sup>(18)</sup>

### Simpulan

Keparahan *Dengue* disebabkan oleh adanya mekanisme antara lain: *antibody dependent enhancement* (ADE) dan *original antigenic sin*, serta kegagalan netralisasi oleh komponen seluler sel imun ketika proses infeksi heterologous terjadi. Beberapa mediator dalam komponen sistem imun juga turut berkontribusi terhadap terjadinya keparahan dalam infeksi sekunder, misalnya *cytokine* dan komponen pro-inflamasi lainnya.

### Daftar Pustaka

1. Uno N, Ross TM. Dengue virus and the host innate immune response. *Emerg Microbes Infect* [Internet]. 2018;7(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41426-018-0168-0>
2. Costa VV, Fagundes T, Souza DG, Teixeira MM. Inflammatory and Innate Immune Responses in Dengue Infection. *Am J Pathol* [Internet]. 2019;182(6):1950–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajpath.2013.02.027>

3. WHO | Epidemiology [Internet]. WHO. World Health Organization; 2017 [cited 2019 Feb 24]. Available from: <https://www.who.int/denguecontrol/epidemiology/en/>
4. Lim SP. Dengue drug discovery: Progress, challenges and outlook. *Antiviral Res* [Internet]. 2019;163(September 2018):156–78. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.12.016>
5. WHO/TDR. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention, and control [Internet]. Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. 2009. 147 p. Available from: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44188/1/9789241547871\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44188/1/9789241547871_eng.pdf)
6. Navarro-sanchez E, Despre P, Cedillo-barron L. Innate Immune Responses to Dengue Virus. *Arch Med Res*. 2005;36:425–35.
7. Perera SD, Perera SSN. Simulation Model for Dynamics of Dengue with Innate and Humoral Immune Responses. *Comput Math Methods Med*. 2018;2018:1–18.
8. Xavier-Carvalho C, Cardoso CC, de Souza Kehdy F, Pacheco AG, Moraes MO. Host genetics and dengue fever. *Infect Genet Evol* [Internet]. 2017;56(November):99–110. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.11.009>
9. Culshaw A, Mongkolsapaya J, Screaton GR. The immunopathology of dengue and Zika virus infections. *Curr Opin Immunol* [Internet]. 2017;48:1–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.coi.2017.07.001>
10. Murphy BR, Whitehead SS. Immune Response to Dengue Virus and Prospects for a Vaccine. *Annu Rev Immunol*. 2011;29(1):587–619.
11. Halstead SB. Dengue. *Lancet*. 2007;370:1744–1652.
12. Wahala WMPB, de Silva AM. The human antibody response to dengue virus infection. *Viruses*. 2011;3(12):2374–95.
13. Rathore APS, St John AL. Immune responses to dengue virus in the skin. *Open Biol*. 2018;8(8):1–9.
14. Sun P, Kochel TJ. The Battle between Infection and Host Immune Responses of Dengue Virus and Its Implication in Dengue Disease Pathogenesis. *Sci World J*. 2013;2013:1–11.
15. Green AM, Beatty PR, Hadjilaou A, Harris E. Innate Immunity to Dengue Virus Infection and Subversion of Antiviral Responses. *J Mol Biol* [Internet]. 2014;426(6):1148–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmb.2013.11.023>
16. John ALS. Adaptive immune responses to primary and secondary dengue virus infections. *Nat Rev Immunol* [Internet]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41577-019-0123-x>
17. Vatti A, Gershwin ME, Chang C, Anaya J-M, Pacheco Y, Monsalve DM. Original antigenic sin: A comprehensive review. *J Autoimmun* [Internet]. 2017;83(2017):12–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaut.2017.04.008>
18. Rothman AL. Immunity to dengue virus: a tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2011 Aug 15 [cited 2019 Mar 19];11(8):532–43. Available from: <http://www.nature.com/articles/nri3014>