

## BAB 2

## TINJAUAN PUSTAKA

**2.1 *Mycobacterium tuberculosis*****2.1.1 Morfologi dan Struktur Bakteri *Mycobacterium tuberculosis***

*Mycobacterium tuberculosis* memiliki bentuk batang lurus atau sedikit melengkung, tidak berspora dan tidak berkapsul. Bakteri ini memiliki lebar 0,3 – 0,6  $\mu\text{m}$  dan panjang 1 – 4  $\mu\text{m}$ . Dinding *Mycobacterium tuberculosis* sangat kompleks, terdiri dari lapisan lemak yang cukup tinggi (60%). Penyusun utama dinding sel *Mycobacterium tuberculosis* ialah asam mikolat, lilin kompleks (complex-waxes), trehalosa dimikolat yang disebut “cord factor”, dan *mycobacterial sulfolipids* yang berperan dalam virulensi. Asam mikolat merupakan asam lemak berantai panjang (C60 – C90) yang dihubungkan dengan arabinogalaktan oleh ikatan glikolipid dan dengan peptidoglikan oleh jembatan fosfodiester. Unsur lain yang terdapat pada dinding sel bakteri tersebut adalah polisakarida seperti arabinogalaktan dan arabinomanan. Struktur dinding sel yang kompleks tersebut menyebabkan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* bersifat tahan asam, yaitu apabila sekali diwarnai, tahan terhadap upaya penghilangan zat warna tersebut dengan larutan asam – alkohol (Aditama dkk, 2006).

Komponen antigen ditemukan di dinding sel dan sitoplasma yaitu komponen lipid, polisakarida dan protein. Karakteristik antigen *Mycobacterium tuberculosis* dapat diidentifikasi dengan menggunakan antibodi monoklonal. Saat ini telah dikenal metode *purified antigens* dengan berat molekul 14 kDa

(kiloDalton), 19 kDa, 38 kDa, 65 kDa yang memberikan sensitivitas dan spesifisitas yang bervariasi dalam mendiagnosis TB. Ada juga yang menggolongkan antigen *Mycobacterium tuberculosis* dalam kelompok antigen yang disekresi dan yang tidak disekresi (somatik). Antigen yang disekresi hanya dihasilkan oleh basil yang hidup, contohnya antigen 30.000  $\alpha$ , protein MTP 40 dan lain lain (Aditama *dkk.*, 2006).

### 2.1.2 Patogenesis Infeksi Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*

*Mycobacterium tuberculosis* menginfeksi manusia melalui udara yang dilepaskan pada saat penderita *tuberculosis* (TB) batuk. Melakukan kontak dengan penderita bisa membuat kita tertular TB.

Setelah masuk ke sistem pernapasan, bakteri ini terkumpul di dalam paru-paru, akan berkembang biak menjadi banyak (terutama pada orang dengan daya tahan tubuh yang rendah), dan dapat menyebar melalui pembuluh darah atau kelenjar getah bening. Peradangan yang terjadi pada jaringan paru yang terinfeksi kuman TB dan pembuluh limfe yang mengarah ke kelenjar limfe regional pada infeksi TB primer disebut sebagai lesi primer. Bila respon imun dapat mengeliminasi kuman, maka penderita sembuh dengan meninggalkan sedikit bekas berupa granuloma dan kelenjar limfe regional yang mengalami kalsifikasi atau fibrosis, yang secara keseluruhan disebut sebagai *Ghon complex* (US Departement of Health and Human Services, 2011; Hernández-Pando *et al.*, 2007).

Bila respon imun tidak mampu mengeliminasi kuman, atau bila aktivitas sel limfosit T dan makrofag tidak seimbang, akan terjadi rusaknya integritas granuloma yang menyebabkan lepasnya kuman TB dan menyebar melalui

pembuluh darah. Kondisi ini dapat menyebabkan penyakit TB sistemik atau TB miliar, TB meningitis, ginjal, tulang dan sebagainya. Penyebaran juga dapat terjadi secara *perkontinuitatum* ke jaringan sekitar, atau secara bronkogen melalui percabangan saluran nafas ke jaringan paru yang lain (*US Departement of Health and Human Services*, 2011; *Hernández-Pando et al.*, 2007).

## 2.2 Erythropoietin (EPO)

Erythropoietin (EPO) merupakan regulator humoral eritropoesis yang *lineage specific*. Produksi Erythropoietin dalam tubuh bergantung pada tekanan oksigen jaringan dan dimodulasi oleh suatu mekanisme umpan balik positif maupun negatif. Pada tekanan oksigen yang rendah, produksi meningkat yang akan menimbulkan peningkatan produksi eritrosit di sumsum tulang. Peningkatan suplai oksigen menuju jaringan akan menyebabkan penurunan produksi EPO. Sedikit penurunan produksi EPO akan menimbulkan anemia. Satu contoh yang klasik dari anemia ini adalah anemia pada gagal ginjal terminal. Penggunaan *recombinant human EPO* (rHuEPO) pada keadaan ini telah dikenal secara luas dan memiliki dampak dramatik pada peningkatan kualitas hidup penderita penyakit ginjal. Dengan meluasnya penggunaan EPO pada berbagai kondisi klinik dan dimulainya pendekatan terapi yang baru dengan EPO, diperlukan suatu pemahaman tentang fisiologi dan patofisiologi dari EPO (Notopoero, P.B, 2014).

Erythropoietin, juga dikenal sebagai erythropoetin atau erthropoyetin atau EPO, adalah glikoprotein hormon yang mengontrol eritropoesis, atau produksi sel darah merah. Ini adalah sitokin (molekul sinyal protein) untuk eritrosit (sel darah merah) prekursor di sumsum tulang. Human EPO memiliki berat molekul

34 kDa. Juga disebut hematopoietin atau hemopoietin, diproduksi oleh fibroblas interstisial dalam ginjal dalam hubungan erat dengan kapiler peritubular dan tubulus epitel tubular. EPO ini juga diproduksi dalam sel perisinusoidal di hati. Sementara produksi hati menonjol dalam periode janin dan perinatal, produksi ginjal dominan selama masa dewasa. Selain eritropoiesis, erythropoietin juga memiliki fungsi biologis lainnya diketahui. Sebagai contoh, memainkan peran penting dalam respon otak terhadap cedera saraf. EPO juga terlibat dalam proses penyembuhan luka. Ketika eksogen EPO digunakan sebagai obat meningkatkan kinerja, itu diklasifikasikan sebagai eritropoiesis-merangsang agen (ESA). Eksogen EPO sering dapat dideteksi dalam darah, karena sedikit perbedaan dari protein endogen, misalnya, dalam fitur modifikasi posttranslational (Notopoero, P.B, 2014).

### 2.2.1 Reseptor Erythropoietin (EPO)

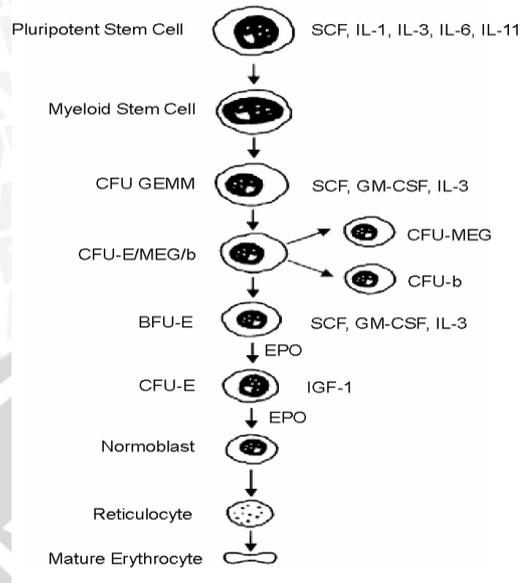
EPO mengikat reseptor permukaan sel progenitor eritroid untuk mengatur proliferasi sel eritroid sumsum tulang untuk berproliferasi, diferensiasi, dan bertahan hidup. Jumlah reseptor EPO pada permukaan sel kurang dari 1000 reseptor/sel. Reseptor EPO terutama di ekspresikan oleh sel eritroid pada tahap antara CFU-E dan tahap pronormoblas. Sejumlah kecil reseptor EPO diekspresikan oleh BFU-E dan adanya respon yang lemah terhadap EPO ditunjukkan oleh sel pada tahap ini. Jumlah reseptor terbanyak didapatkan pada CFU-E dan pronormoblas. Jumlah reseptor EPO per sel menurun bertahap selama diferensiasi sel eritroid dan beberapa penelitian melaporkan bahwa retikulosit dan eritrosit matur tidak mengandung reseptor EPO.<sup>1</sup>

Reseptor EPO diekspresikan sebagai suatu protein dengan berat molekul antara 66–78 kD. Reseptor EPO berbentuk suatu dimer yang *preformed*.

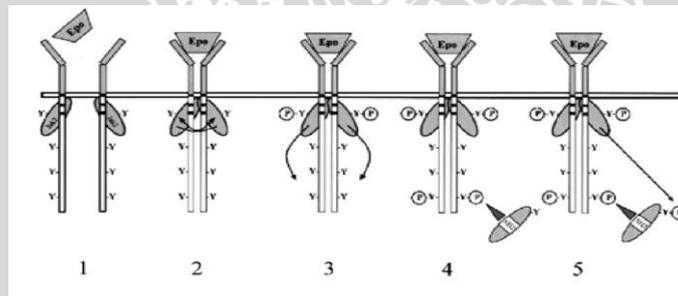
Pengikatan EPO pada reseptor EPO mengubah struktur konformasional reseptor EPO dengan suatu mekanisme *self dimerization*. JAK2 kinase berhubungan dengan reseptor EPO pada daerah transmembran. Proses dimerisasi ini diperlukan untuk tahap aktivasi JAK2 kinase selanjutnya (No. 1, Gambar 2).

Karena adanya proses dimerisasi ini, dua molekul JAK2 kinase yang terletak transmembran sebelumnya belum berhubungan menjadi berdekatan dan teraktivasi oleh proses transfosforilasi. (No. 2, Gambar 2). Mekanisme selanjutnya adalah proses fosforilasi dari asam amino tirosin pada reseptor EPO. Setelah EPO mengaktivasi reseptor, 8 molekul asam amino tirosin yang terletak pada daerah sitoplasma reseptor EPO terfosforilasi (No. 3, 4, Gambar 2). Adanya fosforilasi asam amino tirosin ini menyebabkan tersedianya suatu tempat “berlabuh” untuk molekul SH-2 (*Src homology-2*) yang akan digunakan dalam proses komunikasi intraseluler selanjutnya. (No 5, Gambar 2).<sup>1,2</sup>

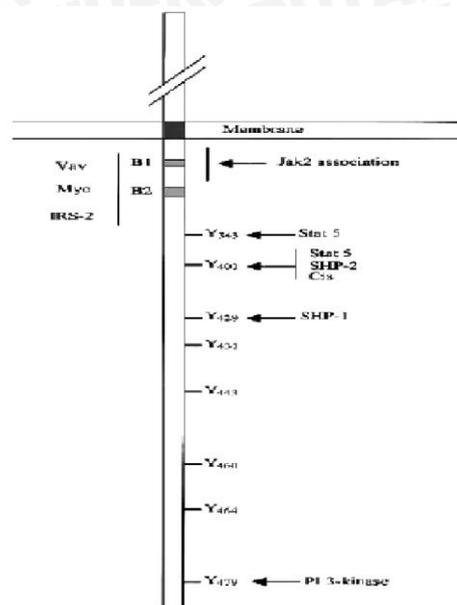
Proses komunikasi intraseluler terjadi setelah proses aktivasi reseptor EPO. Sejumlah jalur lalu lintas komunikasi intrasel (*pathway*) terlibat dalam tahap ini. Jalur Ras/MAP kinase akan teraktivasi dan menghasilkan proliferasi sel. EPO juga akan mengaktifkan jalur komunikasi intrasel STAT1, STAT3, STAT5A, dan STAT5B, terutama pada jalur yang diinduksi sitokin.<sup>2,5</sup>



**Gambar 2.1** Faktor pertumbuhan yang mempengaruhi eritropoiesis dari sel induk pluripoten menjadi eritrosit matur.



**Gambar 2.2** Mekanisme Molekuler Aktivasi Reseptor EPO.



**Gambar 2.3** Skema yang menggambarkan bagian intraseluler reseptor EPO dan berbagai tempat "berlabuh" protein petanda untuk komunikasi intrasel.

### 2.2.2 Peran EPO pada Sistem Saraf Pusat

Gen EPO ditemukan pada jaringan otak manusia daerah korteks temporal, *hippocampus*, dan *amygdala*. EPO dapat dideteksi dalam cairan serebrospinal manusia dewasa dan neonatus. Pada tingkat sel, EPO diproduksi oleh astrosit dan neuron. Reseptor EPO secara luas diekspresikan pada kebanyakan sel otak, termasuk neuron, sel endotel, sel *microglial*, dan astrosit. EPO berperan sebagai faktor neurotropik pada neuron. Target kedua kerja EPO fisiologis pada jaringan otak adalah pembuluh darah otak. EPO bekerja sebagai faktor angiogenik pada jaringan otak. Target selanjutnya adalah sel glia. EPO dilaporkan berperan pada proses maturasi, proliferasi dan diferensiasi oligodendrosit dan astrosit. Selanjutnya EPO dilaporkan memiliki efek antiapoptosis yang melindungi kerusakan otak yang disebabkan karena adanya hipoksia (Notopoero, P.B, 2014).

### 2.2.3 Anti Erythropoietin (EPO) Antibody

Erythropoietin (EPO) merupakan sitokin pleiotropik yang mempromosikan eritropoiesis atau proliferasi dan diferensiasi prekursor sel darah merah. EPO terutama diproduksi oleh sel-sel hati janin secara bertahap, oleh ginjal dalam kondisi hipoksia, hati dan otak juga mengeluarkan EPO adalah jumlah yang lebih sedikit. Produksi sel darah merah dirangsang ketika EPO mengikat dan mengaktifkan reseptor EPO (EPOR) dimer. EPOR langsung mengatur sinyal dengan JAK2, PI3K, NF- $\kappa$ B, STAT5A dan STAT5B. EPO juga menghambat apoptosis progenitor erythroid dengan downregulating Fas dan FasL. Ekspresi EPO berada di bawah kendali dari faktor transkripsi hypoxia inducible factor (HIF). Erythropoietin menunjukkan efek penyakit-memodifikasi penyakit menular dan gangguan inflamasi kronis. Monoklonal Anti - Erythropoietin antibodi spesifik bereaksi dengan Erythropoietin mencit (Notopoero, P.B, 2014).

### 2.3 Patofisiologi *Mycobacterium tuberculosis* ke CNS

Infeksi terjadi melalui inhalasi droplet yang mengandung bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, yang menyebabkan deposisi alveoli paru. Saat sudah masuk alveoli, basil *Mycobacterium tuberculosis* berinteraksi dengan makrofag alveolar melalui banyak reseptor yang berbeda. Sekali sistem innate imun ini dirangsang, bermacam-macam sitokin dan kemokin dilepaskan, aktivasi respon sel T-helper tipe 1 terjadi, dan akhirnya terbentuk granuloma atau fokus primer (fokus Rich). Fokus primer nantinya dapat pecah. Bila sistem innate imun tidak dapat membunuh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, bakteri ini dapat menyebar ke bagian tubuh lain melalui sistem hematogen atau limfogen. (Bermudez, 2001)

Penyebaran melalui sistem hematogen ini sering terjadi di bagian tubuh yang memiliki kandungan oksigen yang tinggi, termasuk otak. Respon faktor imun tubuh yang kompleks dan faktor virulensi *Mycobacterium tuberculosis* pada akhirnya menentukan infeksi membentuk kavitas atau tidak dan apakah penyebaran infeksi menimbulkan gejala klinis atau tidak (Rom, 2004).

Untuk penyakit TB di sistem saraf pusat, penyakit ini dimulai dengan perkembangan TB granuloma (fokus Rich) di otak, medula spinalis, atau selaput meningen. Lokasi fokus ini dan kapasitas untuk mengontrol mereka pada akhirnya menentukan bentuk penyakit TB sistem saraf pusat apa yang terjadi. Penyakit TB sistem saraf pusat biasa memunculkan manifestasi awal sebagai meningitis tuberkulosa dan jarang muncul sebagai TB encephalitis, tuberkuloma intracranial, atau abses otak tuberkuloma (Rom, 2004).

Pemahaman kita tentang patogenesis meningitis TB didapat utamanya dari penelitian Rich dan McCordock yang dilakukan di rumah sakit John Hopkins dan dilaporkan pada tahun 1993. Menggunakan hamster dan kelinci, Rich dan McCordock menunjukkan bahwa selaput meningen tidak bisa terinfeksi secara langsung melalui penyebaran hematogen bakteri *Mycobacterium tuberculosis* tapi memerlukan inokulasi langsung ke dalam sistem saraf pusat agar terjadi meningitis tuberkulosa pada hewan ini. Dengan melakukan banyak rangkaian pengamatan postmortem, Rich dan McCordock melaporkan bahwa hampir di semua kasus terdapat fokus meningeal yang digunakan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* agar bisa masuk ruang subarakhnoid dan menimbulkan meningitis. Berdasarkan banyaknya observasi yang kuat dan pembelajaran tambahan yang telah terkonfirmasi (Donald, 2005), teori tentang fokus vaskular kaseosa ("fokus Rich") pada korteks otak atau meningen adalah jalur kunci basil tuberkulosa

untuk masuk ke ruang subarakhnoid. Metode jalur masuk ini berlawanan dengan penyebaran hematogen secara langsung yang diobservasi secara tipikal pada meningitis bakterial akut (Rock *et al.*, 2008).

Namun muncul keraguan bahwa teori tersebut dapat menjelaskan frekuensi hubungan TB miliar dan meningitis tuberkulosa, sehingga Donald dan rekannya (Donald, 2005) meneliti ulang publikasi masalah ini dan menyimpulkan bahwa penyebaran TB memiliki peran penting pada perkembangan meningitis tuberkulosa sama halnya penyebaran TB meningkatkan probabilitas bahwa fokus Rich akan berkembang, dan dengan demikian meningkatkan kesempatan pecahnya lesi secara tiba-tiba yang akan mengarah ke meningitis tuberkulosa klinik (Rock *et al.*, 2008).

Kemudian, penelitian Jain mengatakan *Mycobacterium tuberculosis* jenis H37RV dan CDC 1551 memiliki kemampuan invasi serta merubah struktur dkompleks sel endotel di otak manusia secara langsung karena bakteri jenis ini lebih sering terlihat menginvasi dan melewati *Human Brain Microvascular Endothelial Cell (HBMEC) monolayer*. Pada penelitian ini, Jain mengkultur *Mycobacterium tuberculosis* pada lapisan HBMEC yang diambil dari infant berumur 9 bulan. Kemampuan invasi sel endotel otak manusia yang kompleks mungkin dapat disebabkan karena adanya tonjolan-tonjolan mikrovili pada pintu masuk, yang mendorong keterlibatan sel aktin pada sitoskeleton pasien untuk melakukan penyusunan ulang. Kondensasi F-aktin juga terjadi selama invasi *Mycobacterium tuberculosis* pada kompleks sel endothelial di otak yang dihambat oleh *cytochalasin D*. Selain itu, gen *Rv0986* dan *Rv0987* yang dimiliki oleh *Mycobacterium tuberculosis* memiliki potensi untuk meningkatkan virulensi dan adhesi bakteri TB pada sel pasien (Jain, 2006). Selain itu, perbedaan

karakteristik yang dimiliki *Mycobacterium tuberculosis* yaitu kapasitas untuk masuk dan bereplikasi dalam makrofag mengakibatkan sel makrofag/mikroglia, ikut terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* sebagai target utama sistem saraf pusat (Rock *et al.*, 2008).

Patofisiologi pembentukan granuloma secara seluler sangat rumit. Pecahnya fokus primer (fokus Rich) yang melepaskan basil/bakteri ke ruang subarahnoid akan mendorong produksi limfosit T CD4<sup>+</sup> lokal secara fungsional berpolarisasi menjadi sel Th1 dan Th2. Sel *T-helper1* memproduksi sitokin tipe *T-helper1* antara lain IL-12 dan IFN- $\gamma$ , sedangkan sel *T-helper2* memproduksi sitokin tipe *T-helper2* antara lain IL-4 dan IL-5. Sementara itu, makrofag yang menjadi target utama dari *Mycobacterium tuberculosis* akan mempresentasikan antigen bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang telah mereka ingesti melalui *major histocompatibility complex* (MHC) kelas II ke sel T CD4<sup>+</sup> sehingga sel T CD4<sup>+</sup> akan teraktivasi menjadi sel T helper 1 dan menghasilkan IFN- $\gamma$  dan IL-12, yang menginduksi aktivasi makrofag dan mencetuskan penghancuran *mycobacteria* (Dhenda *et al.*, 2010).

IFN- $\gamma$  nantinya merangsang monosit dan makrofag untuk fagositosis dan membunuh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Mikroglia yang teraktivasi ini akan menghasilkan sejumlah sitokin *pro-inflammatory* / kemokin yang berperan penting dalam melawan dan neuropatogenesis infeksi di CNS. Selama teraktivasi, mikroglia akan memproduksi dan menyekresikan beberapa sitokin *pro-inflammatory*, seperti IL-12, IL-23, IL-7, IL-15 dan TNF- $\alpha$  (Dhenda *et al.*, 2010) serta EPO (Rock *et al.*, 2008).