



Studi seroepidemiologis *Chlamydia pneumoniae* dan beberapa mikroorganisme yang diduga menyebabkan infark miokard akut

Seroepidemiological study of Chlamydia pneumoniae and some microorganisms that presumed causing acute myocardial infarction

Sri Murwani¹, Mulyohadi Ali¹, Ketut Muliarta¹, Purwanto², Ida Susilawati²,
Dinda Nur Aini³ Yuni⁴

¹Department of Microbiology and Biomedicine, Brawijaya University School of Medicine, Malang

²Department of Biochemistry, Universitas Negeri Jember, Jember

²Faculty of Mathematic and Natural Science, Universitas Negeri Islam, Malang

³District Veterinary, Marine and Fisheries Office, Malang

KEYWORDS *Chlamydia pneumoniae; Acute Myocardial Infarction; conventional risk factors; atherosclerosis*

ABSTRACT *Acute myocardial infarction (AMI) is still a major health problem. Approximately 20% of death in the world was caused by atherosclerotic diseases like stroke, myocardial infarct. Recent studies explain the role of infection in the pathogenicity of AMI. The purpose of this study was to examine seroepidemiological study of Chlamydia pneumoniae infection related to AMI and its occurrence as pathogen burden-infection with other microorganisms. Subjects for this study were patients diagnosed clinically and laboratorically as AMI, from RSUD Saiful Anwar and RS. Lavalette, Malang. Blood samples were collected from each subject and serum was analyzed for IgG antibodies against C. pneumoniae, CMV, H. pylori and S. mutans. Clinical status was analyzed to find IMA conventional risk factors, such as smoking, hypertension, hypercholesterolemia, and diabetes mellitus. The result showed that the average age of these patients were 55 years and men were more common than women. All of these patients were infected by microorganism. Patients with infection and conventional risk factors were 51,9%, infection without conventional risk factors was 48,2%, and conventional risk factors for IMA without infection was 51, 85%. The most common conventional risk factor was smoking (37, 0%). Infection by S. mutans was detected in all patients (100%), C. pneumoniae 92,6%, CMV 92,6%, H. pylori 77,8%; however multiple infections were observed in most of the patients. It was concluded that microorganisms played roles in the pathogenicity of IMA. It was suggested that the development of IMA might be contributed by single infection as well as multiple infections. However, multiple infections tend to be observed in most of the patients.*

Aterosklerosis merupakan penyakit yang dapat menyebabkan kematian di negara-negara yang sudah maju, dan diprediksi akan dapat menyebabkan kematian di negara-negara yang sedang berkembang pada awal seperempat abad yang akan datang. Lebih dari separo kematian setiap tahun di Amerika disebabkan oleh aterosklerosis, dan lebih dari 500.000 orang meninggal setiap tahun karena infark miokard akut/*acute myocardial infarction* (IMA/AMI) (Orford, and Selwyn, 2005). Di United States dan negara-negara industri lainnya, sekitar 800.000 orang menderita MI dan 250.000 meninggal sebelum dibawa ke rumah sakit (Bajzer, 2004).

Kejadian IMA tergantung pada faktor-faktor predisposisi aterosklerosis. Akhir-akhir ini banyak diteliti hubungan ACS dengan infeksi mikroorganisme. Agen infeksius yang terbukti dapat menyebabkan aterosklerosis adalah *Chlamydia pneumoniae* (*C. pneumoniae*), *Herpes simplex virus* (HSV), *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), *Cytomegalovirus* (CMV) dan bakteri periodontitis. *Chlamydia pneumoniae* paling ekstensif menyebabkan aterosklerosis, paling sedikit

Correspondence:

Drh. Sri Murwani, MP., Department of Microbiology, Brawijaya University School of Medicine, Malang, Jalan Veteran, Malang 65145, Facsimile 0341-467881, e-mail: muratinia@hotmail.com

disebabkan penyakit periodontal. Infeksi *H. pylori* dalam menyebabkan aterosklerosis masih kontroversial. Hal yang membuktikan *H. pylori* dapat menyebabkan aterosklerosis adalah ditemukannya bakteri dalam ateroma, sedang pendapat lain menolak dengan pertimbangan *H. pylori* hanya menyebabkan infeksi lokal (Fong, 2000; O'Connor, 2001).

Sejak tahun 1988 infeksi oleh *C. pneumoniae* dihubungkan dengan patogenesis aterosklerosis dan dengan manifestasi klinisnya seperti penyakit jantung koroner, stenosis arteri karotid, aneurisma aortik, klaudikasi (oklusi pada arteri di bawah ekstremitas) dan stroke. Studi seroepidemiologi menunjukkan adanya hubungan antara antibodi terhadap *C. pneumoniae* dengan penyakit arteri koronaria, infark miokard, penyakit arteri karotid dan penyakit cerebrovaskular. Pada penderita aterosklerosis, titer antibodi terhadap *C. pneumoniae* meningkat dua kali atau lebih tinggi dibanding individu normal. Hubungan *C. pneumoniae* dan aterosklerosis didukung pula dengan ditemukannya organisme tersebut pada lesi aterosklerotik (atheroma) (Campbell *et al.*, 1998; Kaukoranta-Tolvanen *et al.*, 1996).

Beberapa penelitian menemukan adanya korelasi positif antara beban infeksi mikroorganisme (*infection burden/pathogen burden/infeksi oleh beberapa patogen*) dengan meningkatnya risiko infark miokard akut (IMA) aterosklerotik. Terjadi peningkatan CRP dan resiko CAD pada penderita IMA sero-positif *pathogen burden* (Epstein *et al.*, 1999; Espinola-Klein, 2002; Huittinen, 2003).

Infeksi oleh *C. pneumoniae* sampai sekarang belum banyak mendapat perhatian, karena selain gejala klinis tidak spesifik juga masih kurang familiar di masyarakat maupun di dunia kedokteran di Indonesia. Sampai sekarang penelitian tentang *C. pneumoniae* belum dilakukan di Indonesia.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari seroepidemiologi IMA yang terkait dengan infeksi oleh bakteri *C. pneumoniae*, mempelajari hubungannya dengan faktor risiko konvensional, mempelajari distribusi IMA berdasar umur dan jenis kelamin, dan adanya infeksi multipel dengan mikroorganisme lain yang diduga dapat menyebabkan IMA (*Cytomegalovirus, H. pylori, S. mutans*).

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Bahan utama penelitian berupa antibodi pasien IMA, antibodi sekunder yang dilabel dengan Biotin, beberapa antigen yang dilapiskan pada plat-

titermikro (*C. pneumoniae, CMV, H. pylori, S. mutans*).

Rancangan penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *observational-cross sectional*, dan dianalisis secara diskriptif.

Cara kerja

Selama 10 bulan penelitian diperoleh 27 pasien yang didiagnosis menderita IMA dari RSUD Saiful Anwar dan RS Lavalette Malang. Delapan orang yang secara klinis dan laboratoris dinyatakan sehat (tidak menderita infeksi dan tidak menderita penyakit sistemik) sebagai kontrol negatif. Diagnosis IMA didasarkan dari anamnesis, pemeriksaan klinis, elektrokardiogram, tes darah (creatinine phosphokinase/CPK; creatinine kinase fraksi mioglobin/CKMB; dan troponin) dan CRP. Pada subyek penelitian juga diperiksa faktor-faktor risiko IMA konvensional seperti merokok, tekanan darah, kadar gula dan total kolesterol darah. Sampel berupa serum penderita, dan analisis di Laboratorium Sentral Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Analisis sampel

Sampel darah yang telah diambil dari penderita dibiarkan pada suhu kamar sampai membeku. Selanjutnya disentrifugasi pada 4000 rpm, selama 10 menit. Serum dipisahkan, dan disimpan pada suhu -40°C. Masing masing serum diuji secara serologis, untuk deteksi antibodi IgG terhadap *C. pneumoniae, H. pylori, CMV* dan *S. mutans* menggunakan tehnik ELISA.

HASIL

Berdasarkan umur dan jenis kelamin pasien IMA aterosklerotik, diperoleh hasil bahwa rerata umur penderita IMA adalah 55,8 + 15,1 tahun, dan 81,5% penderita berjenis kelamin laki-laki (Tabel 1).

Tabel 1. Distribusi penderita berdasarkan umur (tahun) dan jenis kelamin

Umur Rerata ± SD	Pria n (%)	Wanita n (%)	Total n (%)
55,8 ± 15,1	22 (81,5)	5 (18,5)	27 (100)

Pada Tabel 2 dan 3, diperoleh gambaran bahwa 51,8% pasien IMA yang diteliti mempunyai faktor risiko konvensional (merokok, hipertensi, hiperkolesterol, diabetes mellitus). Pasien dengan faktor risiko konvensional tersebut, secara serologik semua terinfeksi

mikroorganisme yang diteliti. Sebanyak 48,1% pasien IMA hanya memiliki faktor risiko infeksi, tidak disertai faktor resiko konvensional.

Faktor konvensional yang paling banyak adalah merokok (37,0%), diikuti diabetes mellitus dan hiperkolesterol masing-masing 18,5%, dan hipertensi 7,4%.

Tabel 2. Distribusi penderita berdasarkan infeksi dan faktor risiko konvensional

Faktor risiko	Jumlah penderita	%
Konvensional	14	51,9
Infeksi (serologik +)	27	100
Konvensional + infeksi	14	51,9
Infeksi tanpa konvensional	13	48,1

Tabel 3. Distribusi faktor risiko konvensional

Jenis faktor risiko konvensional	Jumlah penderita	%
Merokok	10	37,0
Hipertensi	2	7,4
Diabetes mellitus	5	18,5
Hiperkolesterol	5	18,5
Jumlah	27	100

Hasil serologik menunjukkan bahwa sebagian besar pasien IMA yang diteliti terinfeksi lebih dari satu mikroorganisme. Sebanyak 21 subyek (77,8%) terinfeksi oleh 4 mikroorganisme (*C. pneumoniae*, *CMV*, *H. pylori* dan *S. mutans*) (Tabel 4). Data lain menunjukkan, bahwa semua pasien positif terhadap *S. mutan* (100%), sedang *C. pneumoniae* dan *CMV* 92,6%, *H. pylori* 77,8% (Tabel 5).

Tabel 4. Distribusi serologik positif terhadap patogen

Jumlah serologik positif	Jumlah penderita	%
0 patogen	0	0
1 patogen	2	7,4
2 patogen	0	0
3 patogen	4	14,8
4 patogen	21	77,8
Jumlah	27	100

Tabel 5. Distribusi jenis patogen dengan serologik positif

Jenis patogen	Jumlah penderita	%
<i>C. pneumoniae</i>	25	92,6
<i>Cytomegalovirus</i>	25	92,6
<i>H. pylori</i>	21	77,8
<i>S. mutans</i>	27	100

PEMBAHASAN

Distribusi umur dan jenis kelamin penderita IMA

Dari distribusi umur dan jenis kelamin, diperoleh hasil bahwa rerata umur penderita IMA adalah 55,8 + 15,1 tahun, dan 81,5 % penderita berjenis kelamin laki-laki.

Secara umum IMA dapat terjadi pada semua usia, tetapi angka kejadian meningkat sejalan dengan bertambahnya usia. Kira-kira 50% dari IMA di USA dijumpai pada orang-orang dengan usia lebih muda dari 65 tahun (Bajzer, 2004). Penelitian Espinola-Klein di Amerika (2002), mendapatkan rerata umur pasien aterosklerosis 63+9 tahun dan 75% terjadi pada laki-laki. Sementara itu Garas and Zafari (2004), melaporkan bahwa sebagian besar pasien IMA berusia lebih dari 65 tahun, dan pasien dengan usia lebih tua cenderung mempunyai tingkat mordibitas dan mortalitas yang lebih tinggi. Pada laki-laki sering terjadi kira-kira sampai usia 70 tahun, sedangkan pada wanita setelah masa menopause (Bajzer, 2004). Hal ini diperkirakan karena adanya faktor hormonal. Hormon estrogen bersifat protektif terhadap terjadinya aterosklerosis.

Adanya variasi umur dan jenis kelamin mungkin berkaitan dengan faktor risiko lain yang berbeda pada setiap individu.

Hubungan beberapa faktor risiko konvensional dengan IMA

Diperoleh gambaran bahwa 51,8% pasien IMA yang diteliti mempunyai faktor risiko konvensional (merokok, hipertensi, hiperkolesterol, diabetes mellitus).

Faktor risiko yang paling banyak adalah merokok, hal ini diduga berhubungan dengan kebiasaan merokok masyarakat Indonesia. Perokok masih dijumpai di mana-mana, yang dapat berefek bagi perokok maupun bagi orang di sekelilingnya.

Merokok menginduksi peningkatan kadar fibrinogen, reaktivitas platelet, dan viskositas darah melalui polisitemia sekunder (Worthley *et al.*, 2001). Merokok dapat menginduksi perubahan profil lipid, meliputi penurunan HDL dan peningkatan oksidasi

LDL. Oksidasi LDL terjadi karena paparan radikal bebas yang dihasilkan saat merokok (Worthley *et al.*, 2001).

Hubungan infeksi dengan IMA

Semua pasien dengan faktor konvensional yang diteliti memiliki faktor risiko infeksi. Sebanyak 48,2% pasien IMA hanya memiliki faktor risiko infeksi, hal ini membuktikan bahwa infeksi dapat merupakan faktor independen penyebab IMA.

Data yang diperoleh dapat menjelaskan adanya kontribusi infeksi dalam aterogenesis. Selain efek langsung patogen pada pembuluh darah (infeksi lokal), diduga ada mekanisme yang menimbulkan efek sistemik yang meliputi gangguan tingkat sirkulasi, seperti sitokin, *acute-phase reactants*, leukosit, dan respons yang diperantarai oleh sistem imun (peningkatan produksi *pathogen-specific IgG antibodies*). *C-reactive protein* (CRP) sirkulasi biasanya dipakai sebagai tanda inflamasi sistemik, sehingga *acute-phase reactant* memegang peran dalam aterogenesis. CRP mengaktifkan komplemen dan dapat berlanjut terbentuknya plak aterosklerotik (Epstein *et al.*, 1999).

Infeksi dapat menginduksi beberapa sel imunokompeten, sel endotelial untuk memproduksi *matrix metalloproteinase* (MMP), yang dapat menyebabkan rupturnya plak dan terbentuknya thrombus. Thrombus dapat menyebabkan oklusi pembuluh darah dan terjadinya infark.

Hubungan *C. pneumoniae* dengan IMA

Hasil serologik menunjukkan bahwa dari 27 pasien IMA, sebanyak 25 (92,6%) seropositif terhadap *C. pneumoniae*, yang secara relatif menunjukkan angka yang sangat tinggi.

Infeksi *C. pneumoniae* sering ditandai adanya gangguan pernafasan, seperti batuk, sesak nafas, rasa sakit pada daerah dada, dan sulit dibedakan dengan infeksi saluran pernafasan pada umumnya. Infeksi *C. pneumoniae* sekarang banyak dihubungkan dengan aterosklerosis dan IMA.

Beberapa penelitian melaporkan, bahwa *C. pneumoniae* dapat menginfeksi sel endotelial manusia secara *in vitro* dan menstimulasi ekspresi selectin-E, ICAM-1, VCAM-1. Hal tersebut diduga merupakan faktor mekanisme patogenik lokal *C. pneumoniae* dalam menyebabkan inflamasi vaskular, termasuk aterogenesis (Campbell *et al.*, 1998; Kaukoranta-Tolvanen *et al.*, 1996).

Endotoksin *C. pneumoniae* menyebabkan pelepasan TNF- α dan mengganggu pelepasan

nitric-oxide dan *prostacyclin*, yang berlanjut pada terjadinya perubahan sel endotelial. Kerusakan sel endotelial dapat menyebabkan absorpsi LDL yang teroksidasi dan kondisi patologis sel endotelial, yang menginduksi rekrutmen sel mononuklear, mediator inflamasi, *growth-factor*, respons fibroproliferatif dari *smooth-muscle cell* (SMC) pembuluh, dan terbentuk plak aterosklerotik (Ngeh and Gupta, 2000). Selain itu telah diteliti bahwa *heat shock protein 60 C. pneumoniae* (cHSP60) mempunyai kontribusi pada terjadinya aterosklerosis, bersifat homolog dengan protein vaskuler manusia, sehingga menyebabkan *autoimmunity* dan luka sel endotelial vaskular (Mayr *et al.*, 2003). Kol *et al.* (1998), menemukan cHSP60 pada karotid atheroma manusia. HSP60 manusia dan cHSP60 dapat menginduksi produksi TNF α dan MMP-9 oleh makrofag dan menginduksi toksisitas seluler melalui komplemen atau *antibody-dependent cellular cytotoxicity*.

Hasil penelitian Vehmaan-Kreula *et al.* (2001), menunjukkan bahwa *C. pneumoniae* melalui beberapa proteinnya (Omp2, MOMP, HSP60) mampu menginduksi ekspresi 92kDa gelatinase (MMP-9) makrofag.

Pathogen burden

Infark miokard kebanyakan disebabkan karena rupturnya plak aterosklerotik, dan sedikit karena rusaknya endotelium vaskuler. Ruptur plak dihubungkan dengan *unstable atherosclerosis plaque*, yang menstimuli terbentuknya thrombus intrakoronari dan sumbatan aliran darah arteri. Plak aterosklerotik yang labil banyak dihubungkan dengan enzim proteolitik yang dapat menghancurkan *extracellular matrix* (ECM). Enzim yang banyak dipelajari hubungannya dengan ruptur plak adalah MMP. MMP mempunyai peran pada degradasi ECM dan remodeling jaringan. Pada aterogenesis, MMP diproduksi oleh beberapa sel seperti makrofag, limfosit, endotel, SMC. Aktivasi MMP *in vivo* belum jelas, tetapi penelitian secara *in vitro* menunjukkan bahwa MMP dapat diaktifkan oleh beberapa agen yang dapat melepas atau memodifikasi prodomain MMP (Romanelli *et al.*, 1999). Dalam keadaan fisiologis dan patologis, seperti adanya radikal bebas yang berlebihan, infeksi mikroorganisme dapat meningkatkan produksi MMP (Vehmaan-Kreula *et al.*, 2001).

Adanya *pathogen burden* diyakini memperberat terjadinya reaksi inflamasi. Rusaknya *fibrous cap* sering dihubungkan dengan adanya infiltrasi yang sangat tinggi sel busa makrofag. Plak eksentrik pada *shoulder region* merupakan predileksi terjadinya inflamasi aktif (aktivasi endotel dan infiltrasi makrofag), dan kerusakan plak (Falk *et al.*, 1995), disamping rendahnya

sintesis SMC, tipisnya *fibrous cap*, dan besarnya *lipid core* (Davies, 1996). Epstein *et al.* (1999), membuktikan adanya hubungan antara *pathogen burden/ aggregate pathogen load* terhadap meningkatnya kadar CRP dan risiko penyakit arteri koronari. Espinola-Klein *et al.* (2002), melaporkan bahwa *aggregate pathogen burden* secara independen berperan pada progresi aterosklerosis karotid.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan

1. Patogen terbukti berperan penting dalam menimbulkan IMA. Sebanyak 92,6% dari penderita IMA terinfeksi *C. pneumoniae*
2. IMA cenderung diderita oleh kaum laki-laki berusia paruh baya.
3. Sekitar separuh IMA disebabkan oleh infeksi secara independen, dan separuhnya lagi disebabkan oleh gabungan infeksi dan faktor risiko lainnya.
4. Dari faktor risiko konvensional yang diteliti, merokok adalah yang tertinggi, kemudian diabetes mellitus dan hiperkolesterol, dan terendah hipertensi.
5. Terbukti adanya *pathogen burden* pada penderita IMA. Sebagian besar penderita IMA terinfeksi lebih dari satu mikroorganisme.

SARAN

Untuk memperoleh data seroepidemiologi yang lebih akurat, diperlukan jumlah pasien yang lebih banyak dan distribusi tempat pengambilan sampel yang lebih luas.

KEPUSTAKAAN

Bajzer CT. Acute Myocardial Infarction. <http://www.clevelandclinicmeded.com/diseasemanagement/cardiology/acute/acute.htm>. Diakses pada 28 Mei 2004

Byrne GI and Kalayoglu MV 1999. *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis: Link to the diseases process, *Am Heart J*; 138:S488-S490

Campbell L, O'Brien E, Capuocio A 1998. Detection of *Chlamydia pneumoniae* TWAR in human coronary atherectomy tissue. *J Infect Dis*, 172:585-588

Davies MJ 1996. Stability and Instability: Two Faces of Coronary Atherosclerosis. *Circulation*, 96:2013-2020

Epstein SE, Zhou YF, Zhu J 1999. Infection and atherosclerosis. Emerging Mechanistic Paradigms. *Circulation Electronic Pages, Circulation*, 27;100(4):e20-8.

Espinola-Klein C, Rupprecht HJ, Blankberg S, Bickel C, Kopp H, Victor A, Hafner G, Prellwitz, Schlumberger W 2002. Impact of infectious burden on progression of carotid atherosclerosis. *Stroke*, 33:2581

Falk E, Shah PK, Fuster V 1995. Coronary Plaque Disruption. *Circulation* 92:657-671.

Fong IW 2000. Emerging relations between infectious diseases and coronary artery disease and atherosclerosis. *CMAJ*, 163(1):49-56

Garas S and Zafari AM 2004. Myocardial Infarction. Instant Access to Minds of Medicine. <http://www.emedicine.com/med/Topic1567.htm>

Huittinen TS 2003. Atherosclerosis, Chapter 2. Review of the literature. Oulu University Library

Kaukoranta-Tolvanen SS, Ronni T, Leinonen M, Saikku P, Laitinen K 1996 Expression of adhesion molecules on endothelial cells stimulated by *Chlamydia pneumoniae*. *Microb Pathog*, 21(5):407-11

Kol A, Sukhova GK, Lichtman AH, Libby P 1998. Chlamydial Heat Shock Protein 60 Localizes in Human Atheroma and Regulates Macrophage Tumor Necrosis Factor- α and Matrix Metalloproteinase Expression. *Circulation*, 98:300-307

Mayr M, Metzler B, Kiechl S, Willeit J, Schett G, Xu Q, Wick G, Endothelial Cytotoxicity Mediated by Serum Antibodies to Heat Shock Proteins of *Escherichia coli* and *Chlamydia pneumoniae*. Institute for Biomedical Aging Research, Austrian Academy Sciences Innsbruck; Department of Neurology, University Clinic, Innsbruck; Institute for General and Experimental Pathology, University of Innsbruck, Medical School, Innsbruck, Austria. E-mail IBA@oaeaw.ac.at. Diakses pada tahun 2003

Ngeh J and Gupta S 2000. *C. pneumoniae* and atherosclerosis : Causal or Coincidental Link? *ASM News*, 66:12

O'Connor S, Taylor C, Campbell LA, Epstein, Libby P 2001. Potential infectious etiologies of atherosclerosis: A multifactorial perspective. *CDC upcoming Issue*, 7:5

Orford JL and Selwyn AP 2005. Atherosclerosis. Instant Access to the Minds of Medicine. <http://www.emedicine.com/med/topic182.htm>

Romanelli R, Mancini S, Laschinger C, Overall CH, Sodek J, McCulloch CAG 1999. Activation of Neutrophil Collagenase in Periodontitis. *Journal of Infection and Immunity*, 67(5): 2319-2326

Vehmaan-Kreula P, Puolakkainen M, Sarvas M, Welgus HG, Kovanen PT 2001. *Chlamydia pneumoniae* protein induce secretion of the 92-kDa gelatinase by human monocyte-derived macrophages. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*;21:e1

Worthley SG, Osende JI, Helft G, Badimon JJ, Fuster V 2001. Coronary Artery Disease: Pathogenesis and Acute Coronary Syndrome. *The Mount Sinai Journal of Medicine*, 68(3)