

Tinjauan Pustaka

Faktor Virulen *Dirofilaria immitis* Pada Jaringan Tubuh Manusia

Forman Erwin Siagian

Bagian Parasitologi

Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia

Abstrak

Dirofilaria immitis merupakan cacing golongan nematoda dengan tempat predileksi pada jantung dan arteria pulmonalis anjing maupun kucing serta banyak jenis hewan lain. Pada manusia, cacing itu menyebabkan infeksi zoonosis yang disebut dirofilariasis dan bisa berakibat fatal. Infeksi terjadi melalui gigitan nyamuk zooantropofilik yang mengandung stadium mikrofilaria. Teoritis *D. immitis* tidak dapat berkembang menjadi cacing dewasa diluar hospes definitifnya. Namun dilaporkan beberapa kasus sumbatan pembuluh darah paru dan jantung oleh cacing dewasa. Kemampuannya untuk bertahan hidup dan menimbulkan gangguan organ dalam hospes non alamiahnya menunjukkan adanya sejumlah faktor virulen yang menyebabkan sistem kekebalan kesulitan untuk menghancurkan cacing ini. Faktor virulen cacing adalah stadium mikrofilaria dengan produk-produk sekresi, ekskresi dan enzimatik.

Kata Kunci : *D. immitis*, zoonosis, dirofilariasis, faktor virulensi

Virulence Factors of *Dirofilaria immitis* in Human Tissue

Abstract

Dirofilaria immitis is a filarial nematode of dogs, cats and many kind of animals with its predilection site heart and lung vessels. In human, this worm can cause zoonotic infection that can be fatal named dirofilariasis. Infection occur through the bite of zooantrophophilic mosquito that contain infective microfilaria. Theoretically, *D. immitis* will not be able develop and become adult worm outside its definite host but several cases of heart and pulmonal vessels obstruction caused by adult stage have been reported. The ability to survive and destroy the inner organ of the non-natural hosts showed that there are several virulence factors that made the host's immune system failed. This paper aimed to discuss about the virulence factors of *D. immitis* .

Keywords : *D. immitis*, zoonosis, dirofilariasis, virulence factors

PENDAHULUAN

Dirofilaria immitis merupakan cacing filaria yang bersifat zoonosis. Anjing dan kucing merupakan hospes definitif, karena cacing tersebut mampu tumbuh dan berkembang biak menjadi cacing dewasa dalam jaringan kedua hewan diatas terutama pada organ dalam seperti jantung, paru dan pembuluh darah serta jaringan subkutan.^{1a-b} Cacing itu juga pernah dilaporkan ditemukan pada anjing laut, kuda, beruang dan binatang pengerat lain. Cacing dewasanya hidup dalam bilik

jantung kanan dan arteri pulmonalis, sedangkan stadium mikrofilaria berada dalam aliran darah perifer.² Pada anjing, parasit tersebut awalnya selama lebih kurang tiga bulan berada pada jaringan subkutan, sebelum menjadi matang dan bermigrasi ke sisi kanan jantung. Cara infeksi terjadi melalui gigitan nyamuk yang bersifat zooantropofilik.³ Penularan ke manusia terjadi jika nyamuk yang mengandung larva infektif menggigit manusia. Nyamuk yang menghisap darah hospes alamiah secara tak sengaja juga menghisap mikrofilaria

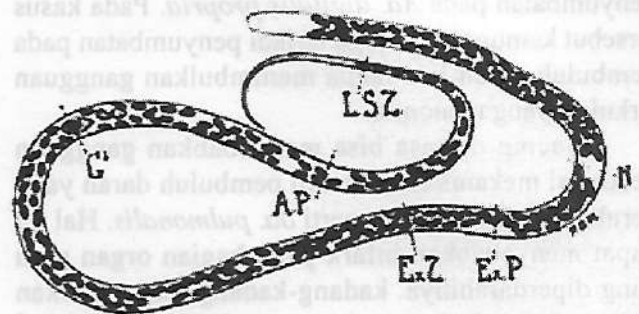
yang akan berkembang menjadi larva infeksi. Banyaknya spesies nyamuk yang mampu menularkan parasit ini di lingkungan tempat tinggal manusia dan hewan peliharaannya kemungkinan berperan dalam infeksi pada manusia.^{3,4} Secara teoritis, parasit itu tidak dapat tumbuh menjadi cacing dewasa diluar hospes definitifnya, namun ternyata cacing itu tetap saja mampu menimbulkan kelainan patologis pada manusia.²

D. immitis termasuk Kelas Secernentea, Sub Kelas Spiruria, Ordo Spirurida, Superfamily Filarioidea, Famili Acanthocheilonematidae dan genus *Dirofilaria*. Sejauh ini terdapat enam spesies yang diketahui menginfeksi hewan dan manusia yaitu *D. immitis* ditemukan pada banyak jenis hewan terutama anjing dan kucing. Distribusinya tersebar di banyak wilayah di dunia. *Dirofilaria tenuis* ditemukan pada raccoon di Perancis. *Dirofilaria ursi* dilaporkan menginfeksi beruang di Amerika Serikat bagian utara, Kanada, Alaska, Jepang dan Rusia, *Dirofilaria subdermata* ditemukan pada babi di Amerika Serikat bagian utara dan Kanada. Sementara *Dirofilaria striata* ditemukan pada kucing liar, puma, macan kumbang di Amerika Serikat bagian utara dan selatan. Yang terakhir *Dirofilaria repens* ditemukan di banyak negara (300 negara) tersebar di benua Eropa, Asia dan Afrika.^{1a}

Kasus infeksi oleh *D. immitis* pada manusia telah dilaporkan dari berbagai tempat di dunia. Pada beberapa kasus otopsi pernah dilaporkan cacing dewasa *D. immitis* ditemukan di jantung dan pembuluh darah besar. Biasanya cacing muda ditemukan menyumbat *arteriae pulmonalis* sebagian atau seluruhnya yang menyebabkan infark dan kadang-kadang ditemukan lesi granulomatosa berbentuk koin berisi cacing dewasa. Diameter lesi berukuran antara 1-3 cm, biasanya soliter meski pernah juga dilaporkan lesi multipel yang ditemukan secara tidak sengaja pada pemeriksaan rutin radiologis paru. Bentuk lesi yang mirip dengan keganasan paru dan kondisi patologis lain seperti tuberkulosis paru, infeksi jamur dan hamartoma sehingga segera mendapat penanganan medis dan pengobatan. Umumnya penderita dengan lesi tersebut asimtomatik. Gejala klinisnya, jika ada, bisa berupa batuk, nyeri dada, eosinofilia serta lebih jarang lagi demam dan hemoptisis.³

Larva infeksiif mampu menginvasi hampir semua jaringan dalam tubuh manusia serta hampir tidak menyebabkan respons imun hospes selama proses infeksi kecuali jika menyerang organ yang sangat sensitif seperti konjungtiva. Larva biasanya tidak dapat bertahan lama dan akhirnya mati karena bukan berada dalam hospes definitifnya. Parasit yang mati dalam jaringan kemudian menyebabkan respons kekebalan tubuh hospes terhadap benda asing, yang berusaha

mengeliminasi benda asing tersebut. Tidak jelas benar apakah hancurnya tubuh parasit mati tersebut yang menyebabkan timbulnya respons hospes atau justru respons kekebalan hospes yang membunuh parasit.² Hal itu menunjukkan bahwa sampai taraf tertentu, parasit tersebut mampu menginfeksi serta bertahan dalam hospes yang bukan merupakan hospes alamiahnya yang kemudian diikuti oleh reaksi jaringan hospes terhadap cacing yang mati.⁶

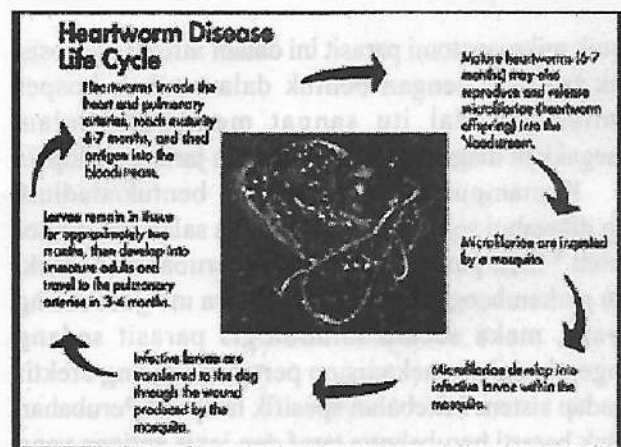


A.P.	Anal pore	G ⁺	First genital cell
Ex.P.	Excretory pore	L.S.Z.	Last tail cell
Ex.Z.	Excretory cell	N.	Nerve ring

Gambar 1. Mikrofilaria *D. immitis*⁵

Kemampuan filaria tersebut menginfeksi hospes yang bukan hospes alamiahnya serta timbulnya gangguan berupa jejas pada organ dalam menunjukkan kemampuan alamiah berupa faktor virulen yang menyebabkan sistem kekebalan tubuh hospes kesulitan untuk mengeliminasinya.

Tulisan ini bertujuan untuk mengulas mengenai faktor virulen *D. immitis* terutama pada manusia yang menyebabkannya mampu bertahan menghadapi sistem kekebalan hospes.



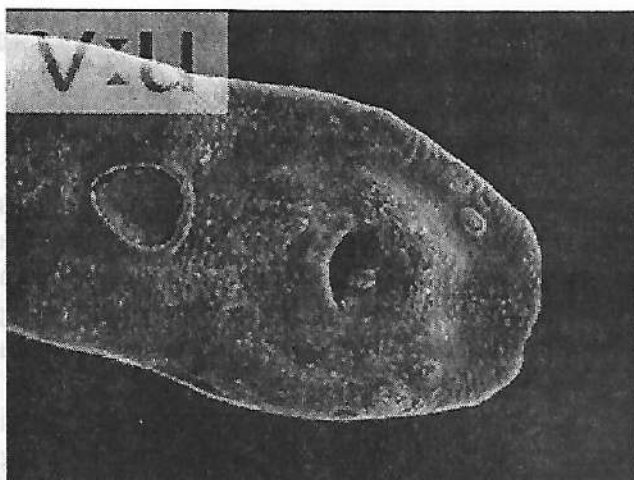
Gambar 2. Siklus Hidup *D. immitis* dalam tubuh hospes alamiah.^{1a}

Faktor Virulen

Stadium Dewasa

Umumnya kelainan pada manusia disebabkan oleh cacing dewasa. Beaver (dikutip dari Markel et al)⁷ yang banyak melakukan penelitian mengenai kelainan yang ditimbulkan cacing dewasa *Dirofilaria* melaporkan satu kasus dirofilariasis pada jari telunjuk seorang pria dewasa muda di Kostarika yang menyebabkan penyumbatan pada *Aa. digitalis propria*. Pada kasus tersebut kemungkinan juga terjadi penyumbatan pada pembuluh darah lain tanpa menimbulkan gangguan sirkulasi yang menonjol.

Cacing dewasa bisa menyebabkan gangguan obstruksi mekanis terutama di pembuluh darah yang berukuran relatif kecil seperti *aa. pulmonalis*. Hal itu dapat menyebabkan infark pada bagian organ paru yang diperdarahinya. kadang-kadang menyebabkan terbentuknya lesi granulomatosa berbentuk koin.³



Gambar 3. Bagian kepala cacing dewasa *D. immitis*

Bentuk mikroanatomi parasit ini dalam infeksi zoonosis, tidak berbeda dengan bentuk dalam tubuh hospes alamiahnya. Hal itu sangat membantu dalam menegakkan diagnosis pada potongan jaringan biopsi.³

Kemampuan parasit berubah bentuk/stadium telah diketahui sejak lama merupakan salah satu faktor virulen.⁸ Saat parasit mengalami perubahan bentuk, yaitu perkembangan dari stadium larva menjadi cacing dewasa, maka secara imunologis parasit sedang mengembangkan mekanisme pertahanan yang efektif terhadap sistem kekebalan spesifik hospes.⁹ Perubahan bentuk berarti berubahnya taraf dan jenis antigen yang berpengaruh terhadap kemampuan parasit mengatasi sistem kekebalan spesifik hospes.

Cacing dewasa yang diisolasi dari manusia biasanya menjadi matang secara seksual setelah mengalami pematangan dalam periode waktu tertentu tanpa mengalami gangguan yang berarti dari sistem kekebalan hospes. Cacing dewasa betina biasanya infertil walaupun pernah dilaporkan ditemukan cacing betina gravid.³ Sejauh ini belum pernah ditemukan adanya cacing dewasa yang mampu menghasilkan mikrofilaria diluar tubuh hospes definitifnya.³

Produk sekresi, eksresi dan enzimatik

Jejas pada hospes yang ditimbulkan oleh cacing dewasa *Dirofilaria* secara umum diakibatkan faktor yang beberapa diantaranya juga dimiliki oleh mikroorganisme lain seperti bakteri, virus dan jamur. Jenis jejas yang paling sering ditemukan mengganggu proses vital dalam tubuh hospes terjadi melalui mekanisme sekresi, eksresi dan atau produk enzimatik lain yang dihasilkan parasit.⁷

Alergen Poliprotein Nematoda

Alergen Poliprotein Nematoda (APN) merupakan poliprotein produk ekskresi-sekresi (ES) cacing non spesifik yang ditemukan dalam sejumlah spesies nematoda. Berat poliprotein tersebut <15 kDa dan bersifat sebagai alergen bagi hospes.¹⁰ Gen penyandi APN terdiri atas 10-50 unit berulang (*tandem repeat*). Setelah transkripsi, APN awalnya dibentuk sebagai prekursor poliprotein berukuran besar yang memicu unit pemecah enzim protease serine (Arg-Arg-Lys-Arg) yang ujungnya mempunyai gugus C terminal. Prekursor tersebut kemudian mengalami proteolisis menjadi polipeptida berukuran < 15 kDa (dalam ukuran monomer) sehingga menghasilkan kopi polipeptida identik dalam jumlah besar.¹¹ APN tidak hanya berada dalam bentuk monomer, namun juga bisa oligomer pada cacing dewasa.¹⁰ Hal itu terbukti pada cacing dewasa yang menghasilkan sejumlah APN dalam bentuk yang sangat bervariasi mulai dari monomer sampai 50-mer, yang umumnya ditemukan sebagai komponen kutikular dinding tubuh. Karena proses pemecahan tersebut, pada akhirnya hanya dihasilkan produk ES APN dalam dua ukuran yang berbeda, <15 kDa dan 30 kDa (protein dimer).¹⁰

APN merupakan antigen *D. immitis* yang juga disebut *D. immitis antigen* (DiAg). DiAg berbentuk dimer karena merupakan hasil ekspresi unit berulang yang terdiri atas dua unit dan bukan merupakan hasil agregasi monomer. APN terutama terdapat di cairan

pseudocoelomic cacing subfamili Ascarids (terutama cacing usus yang ditemukan pada babi, *Ascaris suum*) atau pada permukaan tubuh filaria (termasuk *D. immitis*). APN atau DiAg disekresi sebagai komponen utama produk ekskresi-sekresi. DiAg identik dengan protein yang disebut *polyradderprotein* atau *neutrophil chemotactic factor* (GenBank D88757).

DiAg memiliki efek imunogenik berupa kemampuan untuk berikatan dengan molekul CD40 manusia dan menginduksi pembentukan imunoglobulin E (IgE). DiAg adalah antigen poliklonal nonspesifik, yang menginduksi pembentukan IgE oleh sel B dengan adanya interleukin-4.¹¹⁻¹³ CD40 manusia terdapat pada sel B, makrofag, sel dendritik dan sel endotel. Molekul itu berperan dalam perubahan kelas imunoglobulin (dalam sel B), proliferasi sel dan pembentukan sitokin pada sel tersebut. Selain itu, efek imunogenik DiAg lainnya berupa kemampuan merangsang pembentukan nitrit oksida (NO) oleh sel makrofag. NO bersifat pleiotropik, diantaranya berperan dalam mekanisme vasodilatasi, neurotransmisi dan imunomodulasi.^{11,14} CD40 baru-baru ini diketahui juga menyebabkan pembentukan NO pada makrofag dan sel dendritik.¹² Pada respons kekebalan, NO terutama dihasilkan oleh makrofag yang teraktivasi untuk mengatur keseimbangan sel T helper1/sel T helper2 (Th1/Th2) dan menyebabkan immunosupresi.¹⁴ Pada infeksi bakteri atau protozoa, NO bersifat sebagai molekul toksik terhadap patogen tersebut. Dalam hal infeksi cacing, NO berperan dalam menimbulkan keadaan 'imunosupresi' melalui mekanisme pencegahan berkembangnya respons imun sel T spesifik terhadap cacing.¹¹

Respons kekebalan terhadap cacing biasanya ditandai oleh dominasi kekebalan selular spesifik sel Th2 dan sekresi antigen IgE nonspesifik. Antibodi IgE nonspesifik yang terbentuk terkait dengan usaha pertahanan diri parasit terhadap sistem kekebalan hospes.¹⁵ Dalam darah tepi penderita ditemukan hiperplasia sel Mast, eosinofilia dan peningkatan kadar total IgE, termasuk antigen IgE spesifik parasit. Hal itu merupakan usaha eliminasi oleh sistem kekebalan hospes terhadap cacing yang menginvasi jaringan. IgE poliklonal nonspesifik tidak memberikan respons terhadap antigen parasit dan dianggap berhubungan dengan bentuk pertahanan diri cacing terhadap sistem kekebalan hospes.^{13, 15}

Perubahan kelas imunoglobulin menjadi IgE terjadi melalui dua mekanisme. Pertama, melalui induksi

IL-4, suatu sitokin tipe Th2, yang menyebabkan perubahan kelas imunoglobulin menjadi IgE. Th2 menekan sel Th1 penghasil IFN- γ , yang bisa menghambat pembentukan IgE.¹⁰ IgE nonspesifik yang terbentuk selama infeksi tergantung pada produk metabolit/ES parasit dan IL-4. Mekanisme yang kedua, merupakan hasil interaksi CD40 pada permukaan sel B dengan ligan CD40 tereksresi pada sel T teraktivasi. Interaksi tersebut menyebabkan pematangan sel IgE. Pembentukan IgE juga diperkuat oleh IL-5, IL-6, IL-9 atau IL-10.¹⁰ Diantara keempat sitokin itu, hanya IL-10 yang dapat memperkuat pembentukan IgE nonspesifik dengan IL-4 plus monoklonal antibodi anti-CD40.¹³ IL-10 dihasilkan oleh sejumlah sel, termasuk sel B, untuk memperkuat pembentukan sel Th2 dengan menekan aktivasi sel Th1 secara tidak langsung serta membantu proliferasi dan diferensiasi sel B.¹⁰ Artinya dalam infeksi cacing, IL-10 berhubungan dengan rendahnya induksi respons antigen spesifik hospes. IL-10 juga berperan dalam pembentukan IgE nonspesifik.¹⁵

Selain itu, pembentukan IgE nonspesifik juga dikendalikan oleh sitokin Th2, IL-4, namun bagaimana mekanismenya belum sepenuhnya dipahami, kecuali bahwa respons itu tergantung pada kadar IL-4 dan produk ES cacing.

Fosfofruktokinase

Enzim itu merupakan enzim kunci dalam proses glikolisis. Aktivitasnya dipengaruhi oleh sejumlah molekul berukuran kecil. Enzim tersebut telah berhasil dipurifikasi dari mamalia, bakteri dan tanaman. Fungsi kinetik dan regulasinya telah dipelajari secara luas. Fosforilasi enzim itu berperan dalam pengaturan metabolisme karbohidrat, baik pada *D. immitis* maupun *A. suum*.

Enzim fosfofruktokinase *A. suum* telah berhasil dipurifikasi dan dikarakterisasi berdasarkan fungsi katalitik dan regulasi. Aktivitas katalitik enzim tersebut dirangsang oleh proses fosforilasi subunit katalitik enzim protein kinase. Sekuens peptida yang terfosforilasi, enzim yang bertanggungjawab terhadap proses fosforilasi dan defosforilasi fosfofruktokinase juga telah berhasil diisolasi dan dipurifikasi.¹⁶

Srinivasan *et al*¹⁶ berhasil memurnikan enzim fosfofruktokinase *D. immitis* menggunakan kromatografi pertukaran ion dan afinitas. Enzim bereaksi silang dengan antibodi terhadap enzim fosfofruktokinase *A. suum*. Berat molekul enzim yang berasal dari *D. immitis* identik dengan enzim fosfofruktokinase *A. suum* yaitu 90 kDa. Pada pH 6,8,

kurva saturasi substrat enzim fosfofruktokinase dengan ATP menunjukkan enzim itu diinhibisi oleh ATP. Enzim yang mengalami fosforilasi lebih mudah diinhibisi oleh ATP dibanding enzim yang tidak terfosforilasi. Diduga, fosforilasi enzim fosfofruktokinase berperan penting dalam pengaturan metabolisme karbohidrat, baik pada filaria maupun nematoda usus.

Penutup

D. immitis merupakan cacing filaria pada jantung dan pembuluh darah pulmonal anjing dan kucing yang bersifat zoonosis. Penularan ke manusia terjadi jika tergigit nyamuk zooantropofilik yang mengandung larva infeksius. Kemampuan cacing tersebut menginfeksi hospes yang bukan hospes alamiahnya serta menimbulkan gangguan berupa jejas pada organ dalam menunjukkan adanya faktor virulensi yang menyebabkan sistem kekebalan tubuh hospes kesulitan untuk mengeliminasinya. Faktor virulen *D. immitis* yang saat ini diketahui adalah stadium cacing dewasa, dengan produk sekresi, ekskresi dan enzimatis yang dihasilkan berupa APN, yang mampu memodulasi respons kekebalan hospes, dan enzim fosfofruktokinase yang berperan dalam metabolisme karbohidrat.

Daftar Pustaka

1. a. Atkins CE. Feline heartworm disease. Diunduh dari tanggal 15 Februari 2007
b. Diunduh dari <http://www.visualulimited.com/images/heartworm> © Dr. Dennis Kunkel / Visuals Unlimited tanggal 15 Februari 2007
2. Chatterje KD.(Ed). Superfamily FILARIOIDEA. In Parasitology protozoology and helminthology. Calcutta; 1969. p 179-80
3. Orihe TC, Eberhard ML. Zoonotic filariasis. Clin Microbiol Rev. 1998; 11(2): 366-81
4. *Dirofilaria immitis*. Diunduh dari tanggal 15 Februari 2007
5. Feline and Canine Heart worm. Diunduh dari <http://www.acs.appstate.edu/dept.Htm> tanggal 15 Februari 2007
6. Nozais, JP, Bain O, Gentilini M. A case of subcutaneous *Dirofilaria (Nochtiella) repens* with microfilaremia originating in Corsica. Bull Soc Pathol Exot. 1994; 87:183-185.
7. Markel EK, Voge M, John DT. (Eds) Other filarial infections in humans. In Medical parasitology. 7th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1992. p: 322-3
8. Markel EK, Voge M, John DT. (Eds) Parasites, parasitism and host relationship. In Medical parasitology. 7th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1992. p: 5-21
9. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. (Eds). Immunity to parasites. In cellular and molecular immunology. Philadelphia: WB Saunders; 1994. p 330-6
10. Tezuka H, Imai S, Hidano S, Tsukidate S, Fujita K. Various types of *Dirofilaria immitis* polyproteins selectively induce a Th2-type immune response. Infect Immun. 2003; 71 (7): 3802-11
11. Tezuka H, Imai S, Tsukidate S, Fujita K. A *Dirofilaria immitis* polyprotein up-regulates nitric oxide production. Infect Immun. 2002; 70 (9): 5283-6
12. van Kooten C, Banchereau J. CD40-CD40 ligand. J Leukoc Biol. 2000; 67: 2-17.
13. Tezuka H, Imai S, Muto R, Furuhashi Y, Fujita K. Recombinant *Dirofilaria immitis* polyprotein that stimulates murine B cells to produce nonspecific polyclonal immunoglobulin E antibody. Infect Immun. 2002; 70 (3): 1235-44
14. Bogdan C. Nitric oxide and the immune response. Nat Immunol. 2001; 2: 907-16.
15. Imai S, Tezuka H, Furuhashi Y, Muto R, Fujita K. A Factor of Inducing IgE from a filarial parasite is an agonist of human CD40. J Biol Chem. 2001; 276 (49): 46118-24
16. Srinivasan NG, Wariso BA, Kulkarni G, Jagannatha Rao GS, Harris BG. Phosphofructokinase from *Dirofilaria immitis*: Stimulation of activity by phosphorylation with cyclic AMP-dependent protein kinase. J Biol Chem. 1988; 7 (5): 3482-5