

Efek Stres Fisik dan Psikologis pada Kortisol, PGE₂, BAFF, IL-21, sIgA, dan *Candidiasis Vulvovaginal*

Physical and Psychological Stres Effect on Cortisol, PGE₂, BAFF, IL-21, sIgA, and Vulvovaginal Candidiasis

Edy Mustofa

Laboratorium Obstetri dan Ginekologi Rumah Sakit Umum Dr.Saiful Anwar Malang

ABSTRAK

Kandidiasis vagina dapat menghasilkan morbiditas signifikan terhadap kualitas hidup. *Stresor* dapat mempengaruhi sistem imun ini melalui efek kerja kortisol, namun mekanismenya masih belum jelas. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah peningkatan kadar kortisol karena stres kronis akan meningkatkan *Candidiasis vulvovagina* tikus melalui peningkatan kadar PGE₂ dan penurunan kadar BAFF, IL-21, serta kadar sIgA. Rancangan penelitian ini adalah eksperimental laboratorik *post test only control group* pada tikus betina *Rattus norvegicus* strain Wistar. Tikus dibagi dalam kelompok kontrol positif dan negatif, kelompok perlakuan '*electric foot shock*' dan paparan predator kucing pada tiga waktu pengamatan. Setelah 7, 14 dan 28 hari (kronis), dilakukan pemeriksaan kadar kortisol plasma, BAFF, IL-21, PGE-2, sIg A dengan ELISA dan Koloni *C. albicans* mukosa dengan pengecatan kimia. Analisis data diuji menggunakan uji t tidak berpasangan, *One Way ANOVA*, *Kruskal Wallis*, dan analisis jalur. Hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian rangsang listrik dan paparan predator selama 7, 14 dan 28 hari meningkatkan kadar kortisol, PGE₂, jumlah kandida, jumlah sel radang pada biopsi mukosa vagina, serta menurunkan kadar IL21, BAFF dan sIgA. Analisis jalur menunjukkan stres fisik dan psikis kronis meningkatkan kortisol yang memiliki efek tidak langsung terhadap jumlah Kandida melalui penurunan BAFF dan IL-21 sebesar -0,565 dan -0,447 yang akan mempengaruhi sIgA sebesar 0,460 dan 0,364 sehingga jumlah Kandida meningkat. Stres juga memiliki efek tidak langsung terhadap jumlah kandida melalui PGE-2 sebesar 0,481 yang meningkatkan sel radang dan menyebabkan gejala *Candidiasis* sebesar 0,404. Penelitian ini menunjukkan bahwa stres fisik dan psikis terbukti meningkatkan jumlah kandida dan reaksi radang melalui penurunan BAFF, IL21 dan sIgA serta peningkatan PGE₂.

Kata Kunci: BAFF, *Candida albicans*, IL21, kortisol, mukosa vagina, PGE₂, sel radang, sIgA

ABSTRACT

Vaginal candidiasis gives significant morbidity on quality of life. Stresor can affect the immune system through cortisol, but the mechanism remains unclear. This research was aimed to investigate the effect of cortisol levels increase resulted from chronic stres on increase of vulvovaginal candidiasis through increase of PGE₂ levels and decrease of BAFF, IL-21 and sIgA. This is an experimental laboratory research post test only control group in female rats. Rats were divided in positive and negative groups, and two treatment groups in 3 times observation. After 7, 14 and 28 days, plasma cortisol levels was examined, as well as BAFF, IL-21, PGE-2, sIg A by ELISA and mucosal C. albicans colonies. Data were analyzed using unpaired t test, one way ANOVA, Kruskall Wallis and path analysis. The results of this study indicate that electrical stimulation and exposure to predators for 7,14 and 28 days will increase levels of cortisol, PGE 2, the number of Candida and inflammatory cells in vaginal mucosa, but resulted in lower levels of IL21, BAFF and sIg A. Path analysis show stres increases cortisol level that has an indirect effect on the number of Candida through the reduction of BAFF and IL-21 at -0,565 and -0,447, will affect the sIgA for 0,460 and 0,364 and increase the colony of Candida. Stres also has an indirect effect on the number of Candida by PGE for 0.481. PGE-2 also enhance the inflammatory cells which in turn causes the symptoms of Candidiasis. It can be concluded that physical and psychological stres shown to increase the number of Candida and inflammation reactions through the reduction of BAFF, IL21 and sIg A and increased PGE₂.

Keywords: BAFF, *Candida albicans*, cortisol, IL-21, inflammation cells, PGE-2, sIg A.

Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. 27, No. 1, Februari 2012; Korespondensi: Edy Mustofa. Laboratorium Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Jl. Jaksa Agung Suprpto No.2 Malang (0341) 366242 Email: rezdy.tofan.bhaskara@gmail.com

PENDAHULUAN

Kandidiasis vulvovagina (KVV) seringkali hanya dianggap sebagai infeksi yang mengganggu bukan sebagai topik yang memerlukan penelitian ilmiah yang serius. Dalam dua dekade ini, KVV memerlukan perhatian serius karena semakin meningkat dan menjadi 4 besar angka kejadian nosokomial di dunia (1). Dalam masyarakat modern, banyaknya *stresor* fisik dan psikis dapat meningkatkan angka kejadian stres pada masyarakat, terutama wanita yang bekerja. Stres yang terus berlangsung dapat mengganggu kerja seluruh sistem imunitas. Imunitas alami, imunitas humoral, dan imunitas seluler (*Celluler Mediated Immunity*) terlibat dalam pertahanan pejamu terhadap infeksi *C. albicans*. *Stresor* fisik dan psikis akan mempengaruhi aksis hipotalamus-pituitari-adrenal (Aksis HPA) sehingga menghasilkan kortisol. Berbagai efek *pleiotropic* kortisol kemudian didistribusikan ke berbagai reseptor sehingga membuat seseorang lebih rentan terhadap infeksi, salah satunya KVV (2).

Pada KVV terdapat peranan kuat terganggunya pertahanan IgA serta meningkatnya patogenisitas *C. albicans* yang semuanya dapat diinduksi stres. Efek ini terutama ditentukan oleh sejumlah faktor yang sangat kompleks dan melibatkan peranan interleukin, BAFF dan PGE₂, *Transforming growth factor* β 1 (TGF β 1), dan *interleukin-21* (IL-21) yang diproduksi oleh *follicular helper T cells* (T_{fh}), bersinergi untuk menghasilkan IgA-plasmablasts dalam jumlah besar. Dengan adanya IL-21, *Transforming Growth Factor beta* (TGF- β) akan mempromosi proliferasi dan diferensiasi sel B *naive* melalui pengaruhnya IL-21 yang akan menginduksi perubahan IgM menjadi IgA (*IgG class switching*). TGF β 1 dan IL-21 juga akan menurunkan (*downregulated*) reseptor yang dikenal sebagai CXCR5 (*CXC Receptor 5*) dan meningkatkan (*upregulating*) reseptor yang dikenal sebagai CCR10 (*CC Receptor 10*) pada plasmablasts. Hal ini akan menyebabkan keluarnya IgA dan migrasinya dari *germinal center* ke mukosa vagina (2,3,4). Oleh karena itu, stres kronis dengan peningkatan kortisol akan dapat mempengaruhi BAFF, IL-21, sIgA, TGF β 1, PGE₂, yang pada akhirnya mempengaruhi IgA dan meningkatkan koloni *Candida* mukosa vagina yang menjadi dasar patomekanisme KVV berulang. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek stres pada peningkatan kadar KVV tikus, peningkatan kadar PGE₂ dan penurunan kadar BAFF, IL-21, serta kadar sIgA. Analisis dilakukan untuk menguji model hipotetik mekanisme jalur pengaruh peningkatan kortisol pada stres terhadap KVV. Hipotesis penelitian ini adalah: a) ada pengaruh stres terhadap peningkatan kadar kortisol, b) ada pengaruh stres (peningkatan kadar kortisol) pada peningkatan PGE₂, penurunan BAFF, IL-21, sIgA, dan peningkatan *C. albicans* pada mukosa vagina, c) ada pengaruh stres kronis terhadap peradangan mukosa vagina tikus.

METODE

Penelitian ini adalah eksperimental laboratorik *post test only control group* pada tikus betina dari jenis *Rattus norvegicus* strain Wistar berusia 10-12 minggu dengan berat badan 150–185 gram dan berjumlah 50 ekor. Hewan coba diberikan perlakuan renjatan listrik (RL) selama 7, 14 dan 28 hari masing-masing 5 ekor. Untuk penelitian paparan predator (PP) juga diperlukan 15 ekor tikus yang digunakan dalam eksperimen 7, 14 dan 28 hari masing-masing 5 ekor. Untuk hewan coba kontrol dipergunakan

20 ekor tikus (kontrol positif 15 ekor dan kontrol negatif 5 ekor). Kontrol positif adalah tikus yang diinokulasi intravaginal dengan larutan *phosphate-buffered* (PBS) 20 μ l yang mengandung 10^{10.4} *C. albicans blastoconidia* yang berasal dari kultur (kultur semalaman pada suhu 25°C di medium *Phytone-pepton + 0,1 % glucose*). Kontrol negatif tidak diberikan perlakuan mengikuti peneliti terdahulu (5).

Perlakuan *stresor* renjatan listrik sebesar 16 mA diberikan dengan alat *Electric Foot Shock* di lantai kandang, diberikan setiap hari pada jam 08.00 WIB, frekuensi dan sesi renjatan listrik meningkat bertahap agar *stresor* tidak mudah diadaptasi oleh tikus (5). Perlakuan lainnya adalah paparan predator (*predator exposure*) dengan masa paparan satu jam setiap hari pukul 08.00 WIB dengan frekuensi menetap. Kandang (pertama) merupakan tempat tinggal kucing sehari-harinya dan mempunyai ukuran 120 cm, lebar 80 cm, tinggi 80 cm. Kandang kedua berukuran lebih kecil, panjang 50 cm, lebar 40 cm, tinggi 30 cm yang berfungsi sebagai tempat tikus-tikus yang dipapar predator; kandang ini dimasukkan dalam kandang pertama mengikuti peneliti terdahulu (5). Perlakuan berlangsung selama 7 hari (akut), 14 hari (subakut), dan 28 hari (kronis), diberikan setiap hari pada jam 08.00 WIB.

Penelitian pendahuluan meliputi pengukuran berat badan tikus dan reratanya, serta pencatatan usia tikus sekaligus reratanya; pembuatan model *stres kronis* dengan *electric foot shock* dan *predator exposure*; proses identifikasi strain *Candida albicans* pre Inokulasi; inokulasi *Candida albicans*.

Pada hari ke-7, 14 dan 28, dilakukan pemeriksaan kadar kortisol plasma secara ELISA untuk membuktikan peningkatan stres (yang diwakili peningkatan kortisol) pada pemberian perlakuan. Pada hari ke-7, 14, dan 28 juga dilakukan pemeriksaan kadar BAFF, IL-21, PGE₂, sIgA, secara ELISA dan Koloni *C. albicans* pada mukosa dengan kultur (CFU/100 μ l) dan peradangan dengan biopsi dan pengecatan HE. Koloni *C. albicans* diambil dari bilasan atau *Lavase* vaginal yang dilakukan dengan menggunakan 100 μ l PBS steril kemudian dilakukan penyedotan atau aspirasi cairan pada detik 30 dan 40 dan ditempatkan pada *plate* berisi agar *Sabouraud-dextrose*. Koloni dihitung dengan *colony counter* setelah inkubasi pada suhu 35°C selama 48 jam dan diekspresikan sebagai CFU/100 μ l.

Pada penelitian ini, data hasil penelitian diuji menggunakan dua metode analisis statistik, yaitu metode komparasi, dan metode asosiasi. Pada metode komparasi digunakan uji beda (uji t), uji *Mann-Whitney*, uji *Kruskal-Wallis*, analisis ragam (ANOVA), uji beda nyata terkecil (*Least Significant Difference/LSD*) dan untuk uji asosiasi digunakan uji analisis jalur.

HASIL

Hubungan Stres terhadap Peningkatan Kadar Kortisol

Hasil penelitian (uji t tidak berpasangan) menunjukkan bahwa pada pada kelompok dengan paparan *C. albicans* mempunyai kadar kortisol yang lebih tinggi (29,4 \pm 4,3) dibandingkan kontrol negative (14,72 \pm 3,10; p<0,001). Pemberian *stresor* berupa renjatan listrik maupun paparan predator juga menunjukkan kadar kortisol yang lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kontrol baik pada pengamatan 7 hari, 14 hari maupun 28 hari. Pemberian paparan predator menyebabkan kadar kortisol yang lebih tinggi secara signifikan dibandingkan renjatan listrik pada semua waktu pengamatan (Tabel 1).

Tabel 1. Perbedaan kadar kortisol akibat pemberian stresor rangsangan listrik, paparan predator pada pengamatan 7 hari, 14 hari dan 28 hari

Waktu Pengamatan	Rerata kadar kortisol di masing-masing perlakuan			p
	Renjatan listrik	Paparan predator	Kontrol positif	
7 hari	50,17±12,4(b)	64,64±15,66(c)	*29,4±4,3(a)	0,002
14 hari	34,09±15,04(ab)	55,38±18,17(c)	26,43±6,39(a)	0,019
28 hari	52,98±6,18(b)	70,44±19,77(c)	30,02±9,13(a)	0,001

Keterangan:

abc: notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna dimasing-masing waktu pengamatan

Hubungan Stres terhadap Peningkatan Jumlah Candida, PGE₂, Penurunan BAFF, IL-21, dan slgA

Paparan stres memberikan dampak pada jumlah koloni *Candida* yang lebih besar. Stres psikis memberikan jumlah koloni *Candida* yang lebih tinggi dibanding stres fisik (Tabel 2).

Tabel 2. Perbandingan jumlah koloni Candida akibat pemberian stresor pada pengamatan hari 7, 14, dan 28

Waktu Pengamatan	Rerata koloni <i>Candida</i> di masing-masing perlakuan			p
	Renjatan listrik	Paparan predator	Kontrol positif	
7 hari	125900±17882,9(b)	149400±40053,7(b)		0,002
14 hari	197400±39551(b)	273800±46660(c)	62200±10010(a)	0,012
28 hari	198000±38987(b)	250000±23452(c)	118800±22742(a)	0,001

Keterangan:

abc superscript menunjukkan perbedaan signifikan pada notasi berbeda

Pemberian stres terbukti memberikan pengaruh pada peningkatan kadar kortisol. Uji beda juga dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian stresor pada kadar PGE₂, BAFF, IL-21 dan slgA. Hasil menunjukkan bahwa paparan stresor psikis lebih memberikan dampak pada peningkatan kadar PGE₂ sejak 7 hari. Pada paparan renjatan listrik perbedaan baru didapatkan pada hari ke 28. Stres juga memberikan kadar BAFF yang lebih rendah sejak hari ke 7, dengan efek stresor psikis memberikan kadar BAFF yang lebih rendah dibandingkan stresor fisik. Paparan stres fisik dan psikis juga memberikan kadar IL-21 dan slgA yang lebih rendah sejak hari pengamatan ke 7 (Tabel 3).

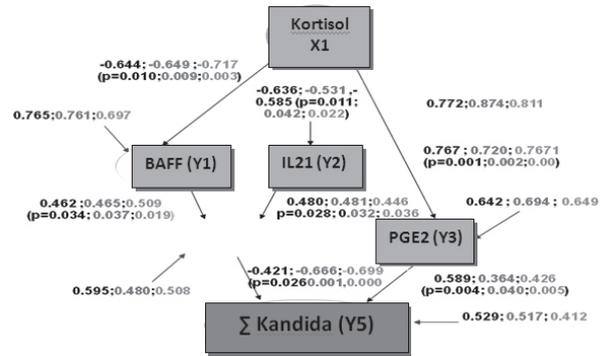
Tabel 3. Efek stres (renjatan listrik dan paparan predator) pada kadar PGE₂, BAFF, IL-21 dan slgA pada pengamatan 7 hari, 14 hari dan 28 hari

Waktu pengamatan	Perlakuan	Kadar PGE2	p	Kadar BAFF	p	Kadar IL-21	p	Kadar slgA	p
7 hari	Kontrol positif	49,279(a)		45,88±5,69(a)		*2399,5±376,52(a)		*284,2±56,5(b)	
	Renjatan listrik	58,27±8,43(ab)	0,04	35,02±3,87(b)	0,042	1455,77±246,35(b)	0,000	143,5±35,88(b)	0,000
	Paparan predator	68,03±15,46(b)		35,54±9,38(b)		1342,17±292,26(b)		147,65±31,3(b)	
14 hari	Kontrol positif	31,03±9,36(a)		51,97±9,01(a)		2288,79±205,18(a)		221,8±29,53(a)	
	Renjatan listrik	20,23±8,01(ab)	0,000	34,09±5,92(b)	0,000	1183,5±142,11(b)	0,000	122,5±24,99(b)	0,000
	Paparan predator	80,97±15,82(c)		22,22±7,82(c)		1183,7±244,86(b)		120,4±20,54(b)	
28 hari	Kontrol positif	22,02±94,12(a)		53,79±5,41(a)		2768,5±869,9(a)		246,9±21,7(a)	
	Renjatan listrik	29,73±10,21(ab)	0,031	25,30±11,4011(b)	0,000	1731,8±650,6(b)	0,006	208±31(a)	0,000
	Paparan predator	44,03±16,63(c)		13,11±2,59(c)		1056,8±417,7(c)		140,95±33,7(b)	

Keterangan:

abc: notasi berbeda menunjukkan perbedaan signifikan

Analisis Jalur Pengaruh Kadar Kortisol terhadap PGE₂, BAFF, IL-21, slgA dan Jumlah Koloni Candida albicans pada Mukosa Vagina



Gambar 1. Analisis jalur kadar kortisol, BAFF, PGE₂, IL-21 dan slgA

Keterangan:

Gambar pengaruh langsung dan tidak langsung kadar kortisol terhadap PGE₂, IL-21, BAFF, slgA, dan jumlah kandida dengan r (koefisien jalur) dan p (nilai/tingkat probabilitas kesalahan empiris) (warna hitam 7 hari, merah 14 hari, hijau 28 hari)

Kadar kortisol berpengaruh langsung terhadap kadar BAFF pada hari 7,14,28 ditunjukkan dengan koefisien pengaruh sebesar BAFF_{7 hari} -0,644, BAFF_{14 hari} -0,649, BAFF_{28 hari} -0,717. Nilai negatif pada -0,644,-0,649,-0,717 dapat diartikan ada pengaruh hubungan yang negatif atau berlawanan arah antara kadar kortisol terhadap kadar BAFF. Dengan kata lain peningkatan kadar kortisol dalam penelitian ini akan menurunkan kadar BAFF.

Penurunan slgA secara bersama – sama dipengaruhi oleh penurunan BAFF dan penurunan IL-21 sebesar slgA_{7 hari} 64,6%_{7 hari}, slgA_{14 hari} =77%_{14 hari}, slgA_{28 hari} =74,2%_{28 hari}. Sedangkan peningkatan jumlah koloni *Candida albicans* dipengaruhi secara bersama-sama oleh peningkatan PGE₂ dan penurunan slgA sebesar, koloni *Candida albicans*_{7 hari} 72%_{7 hari}, koloni *Candida albicans*_{14 hari} = 73,2%_{14 hari}, dan koloni *Candida albicans*_{28 hari} = 83%_{28 hari} (Tabel 4).

Tabel 4. Pengaruh peningkatan kadar kortisol terhadap peningkatan PGE₂, dan penurunan BAFF, IL-21, slgA dan peningkatan jumlah koloni *Candida albicans* pada mukosa vagina

Langsung %	%	Tidak Langsung	%
PGE ₂	58,8% _{7 hari}	slgA $\Sigma C.albicans$	72% _{7 hari}
	51,8% _{14 hari}		73,2% _{14 hari}
	57,8% _{28 hari}		83% _{28 hari}
BAFF	41,5% _{7 hari}	slgA	64,6% _{7 hari}
	42,1% _{14 hari}		77% _{14 hari}
	51,5% _{28 hari}		
IL-21	40,4% _{7 hari}		74,2% _{28 hari}
	28,2% _{14 hari}		
	34,3% _{28 hari}		

Hasil analisis dengan uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna/signifikan ($p=0,008<\alpha$, $p=0,009<\alpha$, $p=0,007<\alpha$) *mean rank* jumlah sel radang kelompok kontrol positif, kelompok renjatan listrik/RL, dan kelompok paparan predator/PP pada pengamatan 7, 14, 28 hari (Tabel 5).

Tabel 5. Hubungan stres dan peradangan

	Kelompok	Rerata Ranking	p
7 Hari	Kontrol Negatif*	3,00	0,008
	Kontrol Positif*	8,00	
	Kontrol Positif	3,00	0,003
	RL	9,60	
	PP	11,40	
14 Hari	Kontrol Positif	3,00	0,007
	RL	11,20	
	PP	9,80	
28 hari	Kontrol Positif	3,00	0,002
	RL	9,00	
	PP	12,00	

Keterangan:

RL: Rangsang Listrik; PP: Paparan Predator

DISKUSI

Penelitian ini menunjukkan bahwa stres memberikan efek pada peningkatan kadar kortisol, PGE₂, jumlah koloni *C. albicans* dan menurunkan BAFF, IL-21, dan slgA. Hasil juga menunjukkan adanya pengaruh stres kronis terhadap peradangan mukosa vagina tikus. Analisis jalur menunjukkan bahwa peningkatan kadar kortisol oleh pemberian rangsang listrik dan paparan predator pada lama paparan 7, 14, 28 hari akan meningkatkan , PGE₂, jumlah koloni kandida dan menurunkan BAFF, IL-21, slgA.

Perlakuan dengan renjatan listrik dan paparan predator dapat meningkatkan kadar PGE₂ pada tikus betina dan ada perbedaan yang signifikan pada perlakuan 7, 14, 28 hari. PGE₂ merupakan sitokin yang menghambat kemampuan proteksi vagina pada *C. albicans*, menghambat aktivitas makrofag, menghambat proliferasi dan produksi interleukin-2 sehingga terjadi *down regulation response modified*. Prostaglandin E₂ juga akan menimbulkan tanda-

tanda peradangan. Prostaglandin E₂ juga merangsang *C. albicans* berubah menjadi *germ tube*, *blastophore* dan *hifa* sehingga merangsang terjadinya Candidiasis beserta reaksi keradangannya (3).

Th2 dominan terdapat pada stres kronis dan *Recurrent Vulvo Vagina Candidiasis* ditemukan keadaan Th2 dominan. Th2 menghasilkan IL-4, IL-5, IL-10. Interleukin-4 merangsang sel B menghasilkan IgE dan menghambat IgA (*mucosal immunity*). Berkaitan dengan sel mast akan terjadi degranulasi pada sel mast menghasilkan histamin. Histamin merangsang makrofag menghasilkan PGE₂. Prostaglandin E₂ menghambat kemampuan proteksi vagina pada *C. albicans*, menghambat aktivitas makrofag, menghambat proliferasi dan produksi interleukin 2 sehingga terjadi *down regulation response modified* yaitu penurunan makrofag dan IL-2. Prostaglandin E₂ juga akan menimbulkan tanda-tanda peradangan. PGE₂ juga merangsang *Candida albicans* berubah menjadi *germ tube*, *blastophore* dan *hifa* sehingga merangsang terjadinya Candidiasis Vulvovagina beserta reaksi keradangannya(3).

Perlakuan dengan renjatan listrik dan paparan predator pada perlakuan 7, 14, 28 hari mampu menurunkan kadar IL-21 pada tikus betina. Adanya *Candida albicans* yang ditangkap makrofag akan merangsang produksi Interleukin-21 (IL-21) oleh *follicular helper T cells* (T_{FH}), dan bekerjasama dengan sitokin lain untuk meningkatkan IgA-plasmablasts (PBs). Dengan adanya IL-21, TGFβ1 mempromosikan proliferasi dan diferensiasi naive B cell untuk meningkatkan IgA. *Transforming Growth Factor* β1 dan IL-21 berperan penting dalam tiga titik, yaitu diferensiasi dan proliferasi B cell, *IgA class switching* dan peningkatan reseptor *homing* Imunoglobulin A seperti CXCR10. Oleh karena stres dapat mempengaruhi *T-helper* yang berfungsi menginduksi sitokin untuk imunitas mukosa vagina, maka sangat mungkin bahwa stres juga mempengaruhi TGFβ1 dan IL-21 dan merupakan peran utama terjadinya kerentanan terhadap infeksi *Candidiasis Vulvovagina* (2,4).

Terdapat dua peran penting IL-21, yaitu perannya terhadap B sel dan perannya terhadap T helper. IL-21 merupakan sitokin penting yang dihasilkan oleh T *Follicular helper* (TFH). Fungsi dari IL-21 ini adalah menstimulasi sel B berdiferensiasi menghasilkan antibodi. Stimulasi ini terjadi bila IL-21 berikatan dengan IL-21 reseptor pada sel B (6). Penelitian terbaru juga mengungkapkan bahwa IL-21 berperan penting pada migrasi sel Th2 dan sel-sel TFH. Hal ini mengungkapkan peran sitokin IL-21 yang signifikan daripada sitokin-sitokin dari Th1 atau Th2 lainnya. Interleukin-21 juga merupakan sitokin yang menstimulasi proliferasi limfosit dan diferensiasi sel-sel NK secara *in vitro*. Reseptor untuk IL-21 (IL-21R) selain ditemukan pada sel B juga terdapat pada beberapa NK sel dan sel T. Selain itu, IL-21 mampu meningkatkan fungsi IFN-γ dan fungsi sitotoksik CD8 + sel T dan NK sel. IL-21 menghasilkan sinyal-sinyal tersebut melalui jalur Jak-STAT, MAPK, dan PI3K. IL-21 juga diperlukan dalam produksi sel TFH melalui kemampuannya memodulasi ekspresi kemokin pada reseptor CXCR5 dan CCR7 pada Sel T. Kemokin ini akan memicu pergerakan sel TFH ke dalam folikel sel B untuk mempengaruhi produksi antibodi. Sel TFH memberikan bantuan sel B untuk diferensiasi menjadi sel plasma. Aksi IL-21 pada diferensiasi sel B manusia ke Ig dapat dikurangi dengan IL-4, melalui kemampuan IL-4 dalam menurunkan ekspresi IL-21, sedangkan kombinasi IL-4 dan IL-21

mengakibatkan peningkatan produksi IgE (2,4).

Hasil studi ini menjelaskan bahwa stres akan mengganggu imunitas melalui gangguan respon imun humoral (B sel) dan T helper melalui penurunan IL-21. Stres psikis memberikan total penurunan IL-21 yang lebih besar daripada stres fisik. Hal ini disebabkan karena stres psikis melibatkan luasnya komponen susunan saraf pusat seperti korteks, amigdala, dan thalamic yang kemudian tentu saja secara langsung lebih mudah merangsang hypothalamus dan pituitary menghasilkan kaskade produksi kortisol secara besar-besaran. Pada akhirnya kortisol kemudian akan mendeprisi produksi IL-21.

Perlakuan dengan renjatan listrik dan paparan predator dapat dikatakan mampu menurunkan kadar BAFF pada tikus betina serta paparan predator/PP lebih cepat menurunkan kadar BAFF pada tikus betina pada perlakuan 7, 14, 28 hari. *B-cell Activating Factor* (BAFF) merupakan suatu faktor yang meningkatkan IgA mukosa. Efek BAFF berhubungan dengan perubahan kelas IgA di dalam mukosa. Bersamaan dengan tertangkapnya antigen oleh DC akan mempresentasikan antigen kepada *CD4+ T cell* dan kemudian menginduksi *naive B* untuk *IgA class switching recombination* (CSR) dan *somatic hipermutation* (SHM) sehingga menghasilkan lebih banyak IgA. Jadi, sel-sel *epithelial*, DCs, dan *tiDCs* mempromosikan diferensiasi sel plasma melalui APRIL dan BAFF. Bersamaan dengan tertangkapnya antigen oleh DC akan tumbuh *tiDC* (DC yang mengekspresikan TNF dan iNOS) yang mempresentasikan antigen kepada *CD4+ T cell* dan membawa antigen kepada *follicular IgM+IgD naive B cell* dan menginduksi mereka. Selama interaksi B cell dengan *CD4 T cell* khususnya terhadap *CD40 /ligand* (*CD40L*), B cell melakukan *IgA class switching recombination* (CSR) dan *somatic hipermutation* (SHM). Ekspresi IgA memerlukan B- cell activating factor (BAFF) dan faktor yang menginduksi proliferasi, yaitu *a proliferation-inducing ligand* (APRIL) yang dihasilkan *tiDCs*. Diferensiasi IgA efektor B cell berdiferensiasi menjadi IgA diperkuat oleh APRIL yang disekresikan oleh sel-sel *epithelial*, DCs, dan *tiDCs*. Jadi, sel-sel *epithelial*, DCs, dan *tiDCs* mempromosikan diferensiasi sel plasma melalui APRIL dan BAFF (2). Paparan predator sangat berpengaruh terhadap *slgA* dan lebih dapat cepat menurunkan *slgA* pada tikus betina dibanding paparan renjatan listrik. *Secretory Immunoglobulin A* merupakan Ig A permukaan tubuh atau mukosa yang berfungsi sebagai imun proteksi pertama pada permukaan mukosa. *Secretory Immunoglobulin A* berikatan dengan afinitas yang tinggi terhadap toksin dan mikroba patogen lainnya dan kemudian terjadi reaksi netralisasi (7,8). *Immunoglobulin A* (IgA), antibody *isotype* yang paling dominan di mukosa, dan paling penting dalam sistem imun. Fungsi utama IgA adalah menetralkan patogen dan toxin tanpa menyebabkan inflamasi karena tidak mengaktifkan complement (8,9,10). Imunitas IgA mukosa tergantung pada induksi sel plasma di mukosa yang mensekresi antibodi (8,10-12). Ig A migrasi ke dalam lamina propria, dimana mereka berdiferensiasi menjadi sel plasma yang mensekresi Ig A. Diferensiasi ini diperbesar oleh BAFF dan APRIL yang selanjutnya memicu CSR IgA (9).

Perlakuan dengan renjatan listrik dan paparan predator dapat dikatakan mampu meningkatkan jumlah kandida pada tikus betina. Paparan predator mampu dan lebih

cepat meningkatkan jumlah kandida dibandingkan perlakuan renjatan listrik/RL pada tikus betina. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Patel *et al*, 2005, hubungan status mental termasuk stres dengan *Candidiasis* menunjukkan hubungan yang sangat erat (13). Berdasarkan temuannya ini, Patel membuat suatu model hubungan stres dengan keluhan *vaginal discharge* termasuk *Candidiasis Vulvovagina* (13). Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian Ehrstrom *et al*. yang mengukur kadar kortisol pagi hari pada wanita dengan *Candidiasis Vulvovagina* berulang, dan ditemukan bahwa kadar kortisolnya tinggi, hal ini mengindikasikan adanya stres kronik pada wanita dengan *Candidiasis Vulvovagina* berulang (14). Hasil ini tidak menunjukkan analisis jalur sehingga mungkin saja peningkatan kortisol terjadi setelah kejadian *Candidiasis* sebagaimana penelitian Irving and Gillian, 1998 (15). Irving and Gillian, 1998 mengemukakan bahwa wanita dengan *Candidiasis vulvovagina* berulang mengalami ketidakpuasan dalam hidupnya dibanding kelompok pembanding, dimana kehidupan mereka lebih stres dibanding kelompok pembanding dengan rataan skor stres lebih tinggi dibanding populasi umum (15). Hasil juga menunjukkan bahwa stres kronik akan meningkatkan jumlah sel radang yang nantinya akan menyumbangkan gejala KVV.

Hubungan Peningkatan Kadar Kortisol terhadap Peningkatan PGE₂, Penurunan BAFF, IL-21, slgA serta Peningkatan Jumlah Candida

Pada analisis jalur hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan stres fisik dan psikis memberikan dampak peningkatan kadar kortisol. Peningkatan kadar kortisol mempunyai pengaruh langsung pada penurunan BAFF. Bersama dengan penurunan IL-21, penurunan kadar BAFF berdampak pada penurunan *slgA*. Penurunan *slgA* bersama dengan peningkatan PGE₂ memberikan dampak pada peningkatan jumlah koloni *C.albicans*. *Stresor* adalah sumber stres yang dapat bersifat fisik (renjatan listrik) maupun *stresor* psikologik (paparan predator) serta menimbulkan dampak kejadian stres. Penampilan kelelahan atau stres dapat berwujud apoptosis atau suatu respons yang patologis. Kondisi neuron-neuron yang patologis dapat menimbulkan disfungsi pada neurotransmitter yang diproduksinya serta berakibat malfungsi neurotransmisi (16).

Paparan predator/PP sangat berpengaruh terhadap kortisol dan lebih dapat meningkatkan kortisol pada tikus betina dibanding paparan renjatan listrik. Stres kronis dalam penelitian ini merupakan respon biologis terhadap *stresor* (fisik, psikologik) dengan perwujudan kelelahan (*exhausted*), atau respon psikologis dengan manifestasi gejala kejiwaan seperti kecemasan, depresi, takut, kuatir dan tegang. Stres kronik ini merupakan keadaan patologis yang mengancam homeostasis dan persisten atau berulang sehingga mengakibatkan penyakit, gangguan metabolisme dan imunokompeten. Awal stres akan menyebabkan mekanisme respon adaptif individu, namun bila terjadi berkepanjangan akan terjadi respon maladaptif terhadap stres. Pada stres akut, individu masih dapat mengontrol, namun pada stres kronik tidak dapat mengontrol lagi (16).

Kortisol adalah hormon yang disekresikan pada keadaan stres. Hormon ini merupakan efektor akhir dari *Hipotalamus Pituitari Axis*. Stres kronis dapat

bermanifestasi pada berbagai sistem dalam tubuh termasuk system imun melalui perantara kortisol. Berbagai efek *pleiotropic* kortisol didistribusikan ke berbagai reseptor. *Stresor* fisik dan psikis yang mengakibatkan suatu distres, akan merangsang pembentukan hormon kortisol. Melalui ikatan ligan, reseptor kortisol terdisosiasi kemudian mengalami homodimerisasi dan translokasi ke dalam nukleus, di mana mereka berinteraksi dengan kortisol-responsive elements spesifik dalam DNA yaitu *Glucocorticoid-Responsive Elements* (GREs) positif/negatif menghasilkan transaktivasi/transrepresi gen (16). Kortisol merepresi *T follicular helper* (T_{FH}), *T regulator*, imunitas selular dan limfosit T-helper 1 (Th1) (tipe 1 sitokin, misalnya, TNF- α , INF- γ , IL-2, IL-12)). Represi T_{FH} akan menurunkan IL-21, sedangkan represi Treg akan menurunkan TGF1. Penurunan IL-21 dan TGF1 akan menghambat diferensiasi sel B menjadi sel plasma dan pada akhirnya menghambat *IgA class switching* yang sangat penting dalam pertahanan melawan candida. Sementara pada saat yang sama menstimulasi imunitas humoral dan produksi Th2 limfosit (tipe 2 sitokin, seperti, IL-10, IL-4, IL-13). Melalui perantaraan IL 10 dan IL-4, sel Th2 akan menghambat aktivasi makrofag, sehingga jumlah dari beberapa sitokin seperti TNF- α , BAFF, TGF1 akan mengalami penurunan, sehingga menghambat proses "*regulation of IgA class switching*", yang akan menurunkan jumlah IgA. Jadi dapat disimpulkan bahwa kortisol ini akan menstimulasi sel Th2 dan menghambat Ig A (*mucosal immunity*). Interleukin-4 juga akan menstimulasi *B cells* untuk meningkatkan kadar Ig E dalam kaitannya dengan aktifitas sel mast (2,4,10). Dalam hal ini, akan terjadi degranulasi pada sel mast menghasilkan histamin. Histamin merangsang makrofag menghasilkan PGE₂. Prostaglandin E₂ menghambat proliferasi dan produksi IL-2, kemampuan proteksi vagina pada *C. albicans*, menghambat aktivitas makrofag, menghambat interleukin-2 sehingga terjadi *down regulation response modified* (3).

Immunoglobulin E merupakan reaksi tipe cepat/tipe I. Fragmen Fc-IgE berafinitas tinggi terhadap mastosit dan basofil. Jika terjadi reaksi antara *C. albicans* dan banyak IgE yang berikatan pada sel mast atau basofil akan terjadi degranulasi sehingga mengeluarkan modulator kimiawi primer yaitu histamine dan sekunder yaitu PGE₂, yang akan menimbulkan tanda-tanda peradangan. Prostaglandin E₂ juga merangsang *Candida albicans* berubah menjadi *germ tube*, *blastophore* dan *hifa* sehingga merangsang terjadinya *Candidiasis vulvovagina* beserta reaksi keradangannya (3). Interleukin-5 dapat merangsang eosinofil yang teraktivasi ke mast sel melalui proses kemotaktik untuk mendetoksifikasi peradangan. Penurunan TGF β 1 dan IL-21 menyebabkan CCR10 menurun, CCR10 berperan dalam "*regulation of IgA class switching*", yang akan menurunkan jumlah dari IgA (2).

Pada keadaan yang normal respons Th1 yang utuh akan menjaga adanya kolonisasi *C. albicans* yang asimtomatik. Faktor-faktor tertentu dapat meningkatkan jumlah

patogen (antigen), dan merangsang jalur reaktivitas Th2. Pengaktifan jalur Th2 selain menyebabkan hipersensitivitas tipe cepat (yang mengakibatkan gejala vaginitis pada *Candidiasis Vulvovagina*) juga akan menurunkan respons jalur Th1. Respons Th1 akan mencegah Kandidiasis, sedangkan jalur Th2 akan mengakibatkan gejala vaginitis (16).

Selain pengaruh diatas, kondisi stres kronis, kadar kortisol dan glukokortikoid yang tinggi memberikan efek inhibisi terhadap produksi dan respon limfosit terhadap sitokin proinflamasi, menekan diferensiasi sel T, aktivasi proses awal sel B dan diferensiasi monosit-makrofag, dan inhibisi ekspresi *Major Histocompatibility Complex-1* (MHC-1) (17-19). Kortisol juga menghambat *migrasi polimorfonuclear* (PMN), monosit, dan limfosit ke daerah yang mengalami peradangan, dan hal ini menjadi dasar mekanisme anti-inflamasi. Pemberian kortisol dalam jangka waktu lama memudahkan seseorang untuk mendapat infeksi oleh karena penekanan sistem imunologik ini (20). Selain itu, kombinasi antara kortisol dan katekolamin selama stres menghasilkan pergeseran dari respon imun selular ke humoral sehingga meningkatkan kerentanan terhadap infeksi yang pertahanan primernya melalui respon imun selular seperti *Candidiasis* (18,19,21,22).

Penelitian ini menunjukkan bahwa pada *Candidiasis vulvovaginal* terdapat peranan kuat terganggunya pertahanan sIgA serta meningkatnya patogenisitas *C. albicans* yang semuanya dapat diinduksi stres. Efek ini terutama ditentukan oleh sejumlah faktor yang sangat kompleks dan melibatkan peranan interleukin, BAFF dan PGE₂. *Transforming growth factor β 1* (TGF β 1), dan *interleukin 21* (IL-21) yang diproduksi oleh *follicular helper T cells* (T_{FH}), bersinergi untuk menghasilkan IgA-plasmablasts dalam jumlah besar. Dengan adanya *interleukin-21*, *Transforming Growth Factor beta 1* (TGF β 1) akan mempromosi proliferasi dan diferensiasi *naive B* sel, melalui pengaruhnya IL-21 yang akan menginduksi perubahan IgM menjadi IgA (*IgG class switching*). TGF β 1 dan IL-21 juga akan menurunkan (*downregulated*) reseptor yang dikenal sebagai CXCR5 dan meningkatkan (*upregulating*) reseptor yang dikenal sebagai CCR10 pada plasmablasts. Hal ini akan menyebabkan keluarnya IgA dan migrasi dari *germinal center* ke mukosa vagina (2,4,21).

Dapat disimpulkan bahwa stres fisik dan psikis kronis terbukti meningkatkan kadar kortisol, PGE₂, jumlah *Candida*, menurunkan kadar IL-21, BAFF, sIgA pada tikus betina, serta pada akhirnya meningkatkan jumlah sel radang pada biopsi mukosa vagina. Berdasarkan analisis jalur, stres fisik dan psikis kronis terbukti meningkatkan kadar kortisol yang kemudian menurunkan kadar BAFF dan IL-21 sehingga menurunkan kadar sIgA. Kortisol juga meningkatkan kadar PGE₂ yang bersama-sama penurunan kadar sIgA akan meningkatkan jumlah koloni *Candida albicans*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Marrazzo J. *Vulvovaginal Candidiasis: Over the Counter Treatment Doesn't Seem to Lead to Resistance*. British Medical Journal. 2003; 326: 993-994.
2. Dullaers M, Li D, Xue Y, et al. *A T Cell Dependent Mechanism for the Induction of Human Mucosal Homing Immunoglobulin A-Secreting Plasmablast*. Immunity. 2009; 30: 120-129.
3. Fidel PL and Sobel JD. *Immunopathogenesis of*

- Recurrent Vulvovaginal Candidiasis*. Clinical Microbiology Reviews. 1996;9(3):335-348
4. Abbas AK and Lichtman AH. *Functions and Disorders of the Immune System*. In Basic Immunology. 3rd edition. Elsevier: 2009.
 5. Suparno. *Pengaruh Stresor Psikologik Terhadap Distribusi Transporter Serotonin (SERT) dan Indeks Apoptosis Hipokampus yang Dimediasi oleh Kortisol dan Interleukin-6*. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 2007; 23(3):107-115.
 6. Zotos D, Coquet JM, Zhang Y et al. *IL-21 Regulates Germinal Center B Cell Differentiation and Proliferation through a B Cell-intrinsic Mechanism*. The Journal of Experimental Medicine. 2010; 207(2): 365-378.
 7. Brandtzaeg P and Johansen FE. *Mucosal B Cells: Phenotypic Characteristics, Transcriptional Regulation, and Homing Properties*. Immunol Rev. 2005; 206: 32–63.
 8. Fagarasan S, Kinoshita K, Muramatsu M, Ikuta K, and Honjo T. *In Situ Class Switching and Differentiation to IgA-Producing Cells in the Gut Lamina Propria*. Nature. 2003; 413: 639–643.
 9. Cerutti A. *The Regulation of IgA Class Switching*. Nature Reviews. Immunol. 2008; 8: 421–434.
 10. Macpherson AJ and Slack E. *The Functional Interactions of Commensal Bacteria with Intestinal Secretory IgA*. Current Opinion in Gastroenterology. 2007; 23: 673–678.
 11. He B, Xu W, Santini PA, et al. *Intestinal Bacteria Trigger T Cell-Independent Immunoglobulin A (2) Class Switching by Inducing Epithelial-cell Secretin of the Cytokine APRIL*. Immunity. 2007; 26(6): 812-826.
 12. Uematsu S, Fujimoto K, Jang MH, et al. *Regulation of Humoral and Cellular Gut Immunity by Lamina Propria Dendritic Cells Expressing Toll-like Receptor*. Nature Immunology. 2008; 9: 769–776.
 13. Patel V, Pednekar S, Weiss H, et al. *Why Do Women Complain of Vaginal Discharge? A Population Survey of Infectious and Psychosocial Risk Factors*. International Journal of Epidemiology. 2005; 34: 853-862.
 14. Ehrstorm S, Kornfeld D, and Rylander E. *Perceives Stress in Women with Recurrent Vulvovaginal Candidiasis*. Journal Psychosomatic Obstetrics and Gynecology. 2007; 28(3): 169-176.
 15. Irving and Gillian. *Psychological Factors Associated with Recurrent Vaginal Candidiasis: A Preliminary Study*. Sexually Transmitted Infections. 1998; 74: 334-338.
 16. Kyrou J, Chrousos GP, and Tsigos C. *Stress, Visceral Obesity and Metabolic Complications*. Annals of New York Academy of Sciences. 2006; 1083: 77-110.
 17. Hobel, Calvin, and Culhane J. *Role of Psychosocial and Nutrition Stress*. The Journal of Nutrition. 2003; 133: 1709S-1717S.
 18. Hobel CJ, Schetter C, Scott R, and Lony D. *Maternal Plasma Corticotropin- Releasing Hormone*. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2003; 180: S257-263.
 19. Christiaens I, Zaragova DB, Guilbert L, Robertson SA, Mitchell BF, and Olso DM. *Inflammatory Processes in Preterm and Term Parturition*. Journal of Reproductive Immunology. 2008; 79: 50-57.
 20. Sholeh M. *Pendekatan Psiconeuroimunologi dalam Terapi Tahajud*. Jakarta: Mizan; 2008.
 21. Cassone A, Bernardis FD, and Santoni G. *Anti C.albicans Immunity and Vaginitis: Novel Opportunities for Immune Intervention*. Infection and Immunity. 2007; 75(10): 4675-4686.