

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang Masalah

Alergi makanan didefinisikan sebagai reaksi merugikan akibat paparan protein makanan tertentu yang dimediasi oleh berbagai faktor imunitas (Nowak-Wegrzyn *et al.*, 2017). Prevalensi alergi makanan diperkirakan 2–10% populasi dunia dan terus meningkat dalam beberapa dekade terakhir (Abrams and Sicherer, 2016; Feng *et al.*, 2021; Wai *et al.*, 2021). Alergi makanan laut (*seafood*) merupakan salah satu alergi makanan yang sangat tinggi prevalensinya. Peluang alergi dapat bervariasi yang tergantung pada tingkat konsumsi, usia, dan lokasi geografis. Di Asia, konsumsi *seafood*, terutama krustasea, mencapai dua-pertiga dari produksi makanan global. Kondisi ini menjadikan *seafood* sebagai penyebab alergi makanan di Asia dengan prevalensi mencapai 7,7% (Wai *et al.*, 2021). Sementara di US, sekitar 2,3% populasinya dilaporkan mengalami alergi *seafood*, dimana laporan terbaru menyebutkan sekitar 1–2% terjadi pada populasi orang dewasa (Leung *et al.*, 2008; Iweala *et al.*, 2018). Hasil studi Wang *et al.* (2020) kemudian menambahkan bahwa prevalensi alergi *seafood* pada populasi anak-anak di US terjadi sekitar 1,3% –dengan 1,2% di antaranya disebabkan oleh krustasea. Hal ini sejalan dengan studi meta-analisis yang menunjukkan bahwa alergi krustasea lebih tinggi prevalensinya dibandingkan moluska secara global. Udang merupakan salah satu krustasea yang menjadi penyebab paling dominan alergi *seafood* di seluruh dunia (Wai *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2021).

Pada kasus alergi makanan, termasuk alergi udang, saluran gastrointestinal merupakan rute utama yang terpapar alergen. Hal ini karena sistem gastrointestinal

memainkan peran kunci dalam mekanisme kompleks imunoregulasi melalui peran *gut-associated lymphoid tissue* (GALT) (Burks *et al.*, 2020). GALT terdiri dari berbagai sel imun dan sitokin yang terlibat dalam respons imun. Paparan alergen dapat menginduksi GALT untuk berinteraksi dengan sistem gastrointestinal yang kemudian memicu timbulnya reaksi alergi baik lokal maupun sistemik berupa gejala gastrointestinal, dermatologis, dan okular serta reaksi pernapasan dan anafilaksis. Adapun manifestasi klinis yang ditimbulkan juga bervariasi, mulai dari tingkat keparahan yang ringan hingga berat. Manifestasi pada gastrointestinal, antara lain: *oral tingling*, pruritus, mual, muntah, sakit perut serta pembengkakan pada mulut dan tenggorokan. Selain itu, manifestasi pada pernapasan berupa laringospasme dan mengi, pada kulit berupa gatal-gatal dan ruam ringan (urtikaria) serta pada okular berupa konjungtivitis. Respon sistemik juga dapat terjadi, seperti hipotensi dan hipotermia. Anafilaksis adalah reaksi alergi serius yang melibatkan banyak sistem organ dan dapat dengan cepat mengancam jiwa (Khora, 2016; Nowak-Wegrzyn *et al.*, 2016; Burks *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2021).

Pada alergi udang, berbagai kondisi tersebut berkaitan dengan reaksi hipersensitivitas tipe I yang diperantarai oleh immunoglobulin E (IgE). Patogenesis alergi diawali dengan sensitisasi alergen pada saluran gastrointestinal. Setelah konsumsi, alergen yang masuk akan melintasi sel epitel mukosa usus melalui sel *microfold* (M) yang menutupi GALT. Tahap ini dapat menginduksi produksi alarmin, pusat pengatur imunitas-2 yang bekerja pada sel dendritik (*dendritic cell*, DC), untuk mengaktivasi *innate lymphoid cell type-2* (ILC2) dan menginduksi respons Th2. Alergen yang melewati sel epitel akan diproses oleh DC kemudian bermigrasi menuju nodus limfa. Secara bersamaan, sel epitel usus juga

mengekspresikan *major histocompatibility complex* (MHC)-II. Interaksi antara DC dengan MHC-II akan menginduksi sel T  $CD4^+$  *naive* (T helper 0; Th0) berdiferensiasi menjadi sel T-spesifik alergen (Th2). Aktivasi sel Th2 menghasilkan beberapa sitokin tipe 2. Adapun sitokin yang dihasilkan, antara lain: IL-5 yang terkait dengan perekrutan eosinofil, IL-9 yang terkait dengan perkembangan sel mast serta IL-4 dan IL-13 yang terkait dengan produksi IgE-spesifik alergen oleh sel B. Pada tahap selanjutnya, IgE-spesifik alergen yang dihasilkan akan berikatan langsung dengan reseptor afinitas tinggi IgE, FcεR1, pada permukaan sel mast. Proses tersebut secara bersamaan membentuk sensitisasi sehingga tubuh menjadi reaktif terhadap alergen makanan. Setelah sensitisasi, adanya paparan berulang alergen akan mendorong pembentukan *cross-linking* antara alergen dengan IgE spesifik yang terikat FcεR1 pada sel mast. Pembentukan *cross-linking* ini menyebabkan terjadinya degranulasi sel mast pada jaringan ikat dan mukosa usus serta pelepasan beberapa mediator inflamasi seperti sitokin, histamin, dan *platelet-activating factor* (PAF), dan prostaglandin. Kondisi ini pada gilirannya memicu reaksi hipersensitivitas (Lee, 2016; Yu *et al.*, 2016; Satitsuksanoa *et al.*, 2018; Jiang *et al.*, 2019; Kanagaratham *et al.*, 2020).

Degranulasi sel mast pada jaringan ikat terkait dengan manifestasi sistemik dan syok anafilaksis. Studi eksperimental pada model hewan rodensia anafilaksis menunjukkan bahwa anafilaksis yang dimediasi IgE sangat bergantung pada FcεR1/sel mast. Hal ini karena dipengaruhi oleh peran IL-4, salah satu sitokin yang terkait dengan perilsan IgE-spesifik alergen. IL-4 mendukung peningkatan ekspresi FcεRI dan kandungan granula sel mast serta mempercepat pertumbuhan sel mast matur yang menyebabkan terjadinya ekspansi sel mast di saluran intestinal.

Kondisi ini memicu peningkatan permeabilitas usus dan absorpsi antigen sistemik sehingga mengaktifasi sel mast sistemik dan menstimulasi kolaps pernapasan dan kardiovaskular. Sebagai tambahan, sel mast juga dapat meningkatkan produksi IgE melalui perilsan IL-4 dan IL-13 (Burton *et al.*, 2012; Hogan *et al.*, 2012; Reyes-Pavon *et al.*, 2020). Sementara, degranulasi sel mast pada mukosa dikaitkan dengan gejala gastrointestinal, seperti diare. Gejala pada tahap ini bersifat fungsional, akut, dan reversibel secara cepat (Stone *et al.*, 2010; Hogan *et al.*, 2012). Aktivasi sel mast yang tidak bergantung pada alergen juga dapat terjadi dengan melibatkan aktivasi TLR dan reseptor kemokin untuk menginduksi pembentukan dan pelepasan mediator inflamasi dari sel mast ke saluran intestinal sehingga meningkatkan peradangan alergi (Kraneveld *et al.*, 2012; Reyes-Pavon *et al.*, 2020). Apabila kondisi peradangan tersebut dipertahankan terus-menerus oleh IL-4, IL-5, dan IL-13 disertai perekrutan sel inflamasi lainnya, maka akan menyebabkan reaksi fase akhir alergi makanan berupa peradangan kronis. Kondisi ini selanjutnya memicu kerusakan jaringan dengan perbaikan yang lambat. Proliferasi dan akumulasi sel mast yang diperantarai oleh IL-9 dapat menyebabkan mastositis. Perkembangan peradangan ini dapat mengarah pada kondisi *eosinophilic esophagitis* (EoE) (Reyes-Pavon *et al.*, 2020).

Manajemen terapi untuk alergi makanan saat ini masih terbatas pada penghindaran alergen makanan dan pengobatan simptomatik menggunakan adrenalin dan antihistamin. Imunoterapi merupakan strategi terapeutik yang menjanjikan untuk mengobati alergi makanan melalui tahap desensitisasi alergi. Pada tahap desensitisasi, akan terjadi perubahan rasio Th2/Th1 dimana jumlah sel Th2 menurun oleh adanya apoptosis dan mengalami anergi. Kondisi ini disertai

dengan peningkatan jumlah sel efektor Treg yang berperan penting dalam menjaga homeostasis sel epitel (Yu *et al.*, 2016). Sel yang mengekspresikan faktor transkripsi *forkhead box protein p3* (Foxp3)<sup>+</sup> ini memiliki kapasitas dalam mengatur respons sel T dan B adaptif yang diinduksi alergen melalui berbagai mekanisme. Aktivasi sel Treg akan memicu produksi IL-10 dan *transforming growth factor-β* (TGF-β) untuk menginduksi produksi IgG dan IgA serta mensupresi IgE (Reyes-Pavon *et al.*, 2020; Michelet *et al.*, 2021). IgG-spesifik alergen bekerja sebagai penetral antigen yang menurunkan responsivitas basofil dan sel mast melalui supresi pada produksi IgE-spesifik antigen (Burbank *and* Burks, 2015; Mori *et al.*, 2019). Selain itu, Rivas dan Chatila (2016) juga menambahkan, bahwa sel Treg secara langsung bekerja pada DC dengan memodulasi ekspresi permukaan ekspresi CD80/CD86 dan selanjutnya memblokir pembentukan respons imun sel Th2.

*Allergen-specific immunotherapy* (AIT) merupakan pendekatan terapeutik yang paling menjanjikan untuk alergi makanan yang dimediasi oleh IgE. Strategi ini melibatkan pemberian alergen makanan tertentu –baik melalui injeksi subkutan maupun aplikasi oral, sublingual, atau epikutan- dalam dosis yang ditingkatkan secara bertahap sampai tercapainya dosis pemeliharaan (Bublin *and* Breiteneder, 2014; Burbank *and* Burks, 2015; Schoos *et al.*, 2020). AIT terdiri dari fase eskalasi awal (atau desensitisasi akut), diikuti oleh fase pemeliharaan (atau konsolidasi). Keberhasilan pada fase desensitisasi sangat penting untuk membatasi reaksi alergi dan mengarah pada pembentukan toleransi oral atau desensitisasi klinis (Takasato *et al.*, 2020). Adapun rute pemberian yang menguntungkan dan saat ini masih dalam investigasi adalah melalui per oral (*oral immunotherapy*; OIT) dan sublingual

(*sublingual immunotherapy*; SLIT) (Bublin *and* Breiteneder, 2014). Pemberian OIT ovalbumin pada studi yang menggunakan mencit model diare alergi menunjukkan adanya penekanan reaksi alergi melalui ekspansi populasi Treg yang dapat mensupresi produksi IgE-spesifik alergen, sel basofil, sel mast, dan IL-4 yang diproduksi sel mast (Takasato *et al.*, 2020). Penelitian lainnya pada pasien alergi kacang menunjukkan bahwa pemberian SLIT kacang tanah menunjukkan dapat menginduksi desensitisasi yang mungkin dimediasi melalui penurunan reaktivitas sel mast dan peningkatan respons IgG4 dan IgA (Bublin *and* Breiteneder, 2014).

Ekstrak alergen udang atau *shrimp allergen extract* (SAE) merupakan agen imunoterapi yang saat ini sedang dikembangkan di Indonesia. Udang mengandung beberapa komponen, antara lain: tropomiosin, *calcium-binding sarcoplasmic protein*, *myosin light chain*, dan *arginine kinase*. Tropomiosin merupakan alergen utama yang terkandung dalam udang. Protein ini sering digunakan sebagai marker utama ekstrak udang dan telah dikembangkan sebagai agen imunoterapi pada kasus alergi makanan karena memiliki sifat yang stabil terhadap pemanasan dan enzim-enzim pencernaan. Adapun produk SAE yang telah dikembangkan saat ini diketahui memiliki basis alergen berupa *crude* ekstrak alergen udang 2 mg/mL, dengan kandungan tropomiosin sebesar 0,16–0,27 ng/mL. Produk ini telah digunakan secara klinis dan diberikan secara invasif pada pasien melalui rute parenteral, yaitu subkutan. Penelitian sebelumnya telah memanfaatkan produk SAE tersebut dan melaporkan efektivitasnya sebagai agen imunoterapi dan kit diagnostik pada mencit model *gastro-food allergy* (Sagitaras *et al.*, 2021). Adapun parameter yang diamati adalah perbedaan kadar IgE dan IgG2a serta ekspresi relatif mRNA IL-5 dan IL-10 pada mencit model alergi makanan.

Mengingat durasi penggunaan imunoterapi yang panjang, maka ada kebutuhan untuk mengembangkan desain produk SAE non-invasif menggunakan rute sublingual. Upaya ini dilakukan untuk menjamin kemudahan penggunaan dan kenyamanan pasien, terutama pada pasien anak, karena tidak menimbulkan kerusakan jaringan kulit. Dengan demikian, *outcome* terapi menjadi lebih optimal. Selain itu, adanya berbagai produsen ekstrak alergen yang berbeda dapat mempengaruhi kandungan alergen dan potensi produk. Oleh karena itu, standarisasi terhadap produk SAE yang sedang dikembangkan perlu dilakukan untuk menjamin keamanan dan keberhasilan terapi. Lebih lanjut, evaluasi efektivitas SAE dan mekanismenya dalam mengatasi alergi makanan juga perlu diselidiki.

Berdasarkan ulasan tersebut, pada penelitian ini akan dikembangkan produk SAE yang terstandar dan dilakukan evaluasi tentang perubahan seluler dan molekuler pada desensitisasi SAE pada mencit model *gastro-food allergy*. Beberapa parameter yang dievaluasi meliputi: kadar sitokin IL-4 yang terkait dengan produksi IgE dan perkembangan sel mast, ekspresi relatif mRNA FcεR1 dan jumlah sel mast terdegranulasi yang terkait dengan respons sel mast, serta ekspresi relatif Foxp3 yang terkait dengan respons Treg di jaringan ileum mencit. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menunjang pengembangan produk SAE terstandar sebagai agen imunoterapi pada kasus alergi makanan di Indonesia.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan di atas, maka rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Apakah pemberian SAE dapat menurunkan ekspresi relatif mRNA FcεR1 pada fase desensitisasi pada mencit model *gastro-food allergy*?
2. Apakah pemberian SAE dapat menurunkan degranulasi sel mast pada fase desensitisasi pada mencit model *gastro-food allergy*?
3. Apakah pemberian SAE dapat menurunkan kadar IL-4 pada fase desensitisasi pada mencit model *gastro-food allergy*?
4. Apakah pemberian SAE dapat meningkatkan ekspresi relatif mRNA Foxp3 pada fase desensitisasi pada mencit model *gastro-food allergy*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Secara umum, penelitian ini bertujuan untuk memahami tentang perubahan seluler dan molekuler pada desensitisasi SAE pada mencit model *gastro-food allergy*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

Secara khusus, penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengevaluasi penurunan kadar IL-4 pada fase desensitisasi dengan pemberian SAE pada mencit model *gastro-food allergy*.
2. Mengevaluasi penurunan ekspresi relatif mRNA FcεR1 pada fase desensitisasi dengan pemberian SAE pada mencit model *gastro-food allergy*.
3. Mengevaluasi peningkatan ekspresi relatif mRNA Foxp3 pada fase desensitisasi dengan pemberian SAE pada mencit model *gastro-food allergy*.

4. Mengevaluasi penurunan degranulasi sel mast pada fase desensitisasi dengan pemberian SAE pada mencit model *gastro-food allergy*.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang perubahan seluler dan molekuler pada desensitisasi SAE pada mencit model *gastro-food allergy*.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan SAE yang terstandar sebagai agen imunoterapi pada kasus alergi makanan di Indonesia.