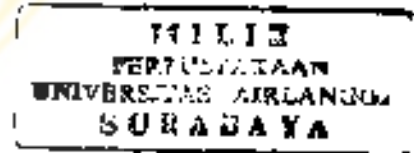


Disertasi  
M. Sc. Ariyanta Harsana

# DISERTASI

## MODULASI RESPONS IMUN PADA PEMBERIAN KORTIKOSTEROID HIRUPAN JANGKA PANJANG PADA PENDERITA ASMA ANAK YANG MENDAPAT IMUNOTERAPI

Dis  
K 29/04  
Har  
m



**ARIYANTA HARSANA**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2004**



**Promotor:** Prof.Dr. H Soegeng Soegijanto dr. SpAK, DTM&H

**Ko-promotor I:** Prof.Dr.PG Konthen dr.SpPD KAJ

**Ko-promotor II:** Prof.Dr.Subartono Taat Putra dr.MS



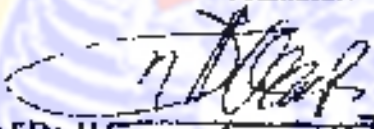
## Lembar Pengesahan

Naskah untuk Ujian Tahap II (Terbuka) atas nama dr. Ariyanta Harsana,  
NIM: 0900137461)  
Dengan judul:


**"PROFIL SITOKIN PADA PEMBERIAN KORTIKOSTEROID HIRUPAN  
JANGKA PANJANG PADA PENDERITA ASMA ANAK YANG MENDAPAT  
IMUNOTERAPI"**

Telah disetujui pada tanggal  
18-Mei-2004

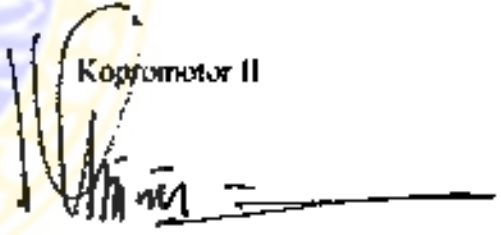
Promotor:

  
(Prof. Dr. H Soegeng Soegijanto dr SpAK, DTM&H)  
NIP: 140047002

Kopromotor I

  
(Prof. Dr. PG Komben dr SpPD KAF)  
NIP 130189825

Kopromotor II

  
(Prof. Dr. Suhartono Taat Pura dr. MS)  
NIP 130934628

Telah diuji pada Ujian Doktor Tahap I (Tertutup)  
Hari: Senin, tanggal: 29 Maret 2004

Tim Penguji:

Ketua: Prof.Dr Joes Priyatna Dachlan dr MSc

Anggota.

Prof.Dr. Soegeng Soegijanto dr, SpAK DTM&H

Prof.Dr.Pitono Soeparto dr.SpAK

Prof.Dr.PG Konthen dr.SpPD KAI

Prof.Dr.Suhartono Taat Putra dr. MS

Prof.Dr.Kuntoro dr. MPH

Prof.Dr. Harsoyo Notoatmodjo dr. SpAK

Dr.Judayana dr.SpPK



Ditetapkan dengan Surat Keputusan  
Rektor Universitas Airlangga  
Nomor : 2601/J03/PP/2004  
Tanggal 7 April 2004

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama tama saya panjatkan puji syukur kehadirat Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmad dan karuniaNya sehingga disertasi ini dapat diselesaikan.

Terima kasih tidak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Profesor Dr. Soegeng Soegijanto dr. SpAK DTM&H sebagai promotor yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan, saran dan koreksi, sehingga saya dapat menyelesaikan disertasi ini.

Terimakasih sedalam-dalamnya dan penghargaan setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Profesor Dr. PG Konthen dr. SpPD KAI sebagai ko-promotor I yang dengan penuh pengertian, perhatian, dan kesabaran telah memberikan dorongan , bimbingan dan saran sehingga disertasi ini dapat diselesaikan tepat pada waktunya.

Terima kasih sedalam-dalamnya dan penghargaan setinggi-tingginya juga saya ucapkan kepada Profesor Dr. Suhartono Taat Putra dr. MS sebagai ko-promotor II yang dengan penuh pengertian, perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan, saran, pengarahan, analisis yang tajam dan tidak kurang pentingnya dukungan mental yang sangat berguna bagi saya dalam menyelesaikan disertasi ini.

Dengan selesainya disertasi ini perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

Rektor Universitas Airlangga, Profesor Dr.Med Punhito dr. SpBT, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Saya ucapkan terimakasih kepada dosen saya: Prof H Eddy Pranowo Soedibjo dr, MPH (almaerum) semoga jasa beliau diterima oleh Tuhan Yang Maha Esa sebagai amal ibadah. Saya ucapkan terimakasih dan penghargaan kepada para dosen saya Prof Soetandyo MPA, Prof Dr Glinca SVD, Prof Dr Koento Wibisono Siswomihardjo, Prof Dr Pitono Soeparto dr SpAK, Prof Dr Suhartono Taat Putra dr MS, Prof Dr M. Zainuddin Apt, Dr L Dyson P MA, Fuad Amsyari dr MPH PhD, Siti Pariansi dr MS MPH PhD, Widodo J Fudjirahardjo dr MS MPH DrPH, Prof H Bambang Rahino S dr, Prof Poernomo Suryohudoyo dr.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof Dr. M Amin dr. SpP atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk menjadi mahasiswa program doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Prof Dr Juliati Hood Alsagaff dr. MS. FIAC selaku Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Program Doktor Pascasarjana Universitas Airlangga, yang telah membantu dalam proses pelaksanaan ujian kualifikasi, proposal dan disertasi.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof Dr. HMS Wiyadi dr SpTHT yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan program doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Direktur RSUD Dr. Soetomo Surabaya Abdus Syukur dr.SpBD dan Mantan Direktur RSUD Dr. Soetomo Prof. Dikman Angsar dr.SpOG yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Prof Kuntoro dr. MPH.DrPH yang telah memberikan bimbingan serta saran yang sangat berharga dalam metodologi penelitian dan analisis data hingga selesai penulisan disertasi ini.

Dr.FM Judayana dr. SpPK, yang walaupun bukan promotor tetapi telah banyak memberi saran, kritik yang positif dan analisis yang tajam.

Seluruh tim penguji, Prof Dr Yoes Priyatna D, dr, MSc. Prof.Dr.Soegeng Soegijanto dr, SpAK DTM&H, Prof.Dr.Pitono Soeparto dr.SpAK, Prof.Dr.PG Konthen dr.SpPD KAI, Prof.Dr.Suhartono Taat Putra dr. MS, Prof.Dr. Harsoyo Notoatmodjo dr. SpAK, Widodo JP dr, MPH, DrPH yang telah memberikan arahan, masukan, kritik yang positif dan membantu sehingga disertasi ini menjadi sempurna seperti sekarang ini.

Ketua Bagian Ilmu Kesehatan Anak Bambang Permono dr.SpAK yang telah memberi kesempatan untuk mengikuti program Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga, serta Prof.Dr.Soegeng Soegijanto dr.SpAK DTM&H mantan Ketua Bagian Ilmu Kesehatan Anak yang pertama kali mendorong dan memberi izin dan akhirnya menjadi promotor sampai selesainya disertasi ini.



Seluruh teman senasib seperjuangan program Studi Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga khususnya angkatan 2000, Dr Mardji drs MKes, Sugiarto drs MS, Dr Anwar Ma'rif drh MKes, CA Nidom drh MS, Indah Krisandani drg MKes, Pudji Sianto drh MKes, Dr Teddy Ontoseno dr SpJP SpAK, Achmad Syarwani dr SpBC, Hudi Winarso dr MKes SpAnd, Hadi Ismono dr MKes, M Syaiful Islam dr SpS, Ikeu Ekayanti Ir MKes, Dr Sri Wahyuningsih Ir Msi, Moh Hasan Machfoed dr MS SpSK, Slamet Riyadi drh Msi, Retno Puji Rahayu drg MKes, Sri Kunarti drg MKes, Djelita Richkum SKM MKes, Dodi Wahyuningsih dr MKes, Sulistiana Prabowo dr MS, Dr Minsya T Djaling drs MKes, Dr Sulistyorini dra MPd, dan Didik Budijanto drh MKes, Dr Aulaniam drh DES yang telah bahu membahu dan saling memberi motivasi untuk selesainya pendidikan ini.

Segenap teman sejawat di Bagian/SMF Ilmu Kesehatan Anak atas dukungan, toleransi dan kerjasama yang baik selama pendidikan saya sampai selesai.

Para PPDS I yang telah banyak memberi bantuan terutama mengenai komputer yang sangat mendukung kelancaran pendidikan saya

Para orang tua pasien yang telah memberi izin pada putra putrinya untuk ikut dalam penelitian, para pasien yang penuh antusias dan senang hati mengikuti penelitian hingga selesai

Akhirnya pada kesempatan ini saya sampaikan rasa hormat dan kasih sayang kepada:

Orang tua saya ayahanda Roesmadi (alm) dan ibunda Soepartini yang telah mengasuh, mendidik, mengayomi, menafkahi, Tut wuri handayani memberi tauladan yang baik dengan penuh kasih sayang sehingga saya berhasil seperti ini.

Seluruh adik saya yang karena banyaknya tidak saya sebut satu persatu, atas dukungan moril sehingga selesainya pendidikan saya ini.

Kepada istri saya Zakiah, dan semua anak saya Anisa, Yusuf, Beny, Dini, Lia dan Sitta yang penuh pengertian, pengorbanan dan dukungan selama pendidikan dan penyelesaian disertasi ini.

Terima kasih saya haturkan kepada semua fihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang telah memberikan bantuan dan motivasi hingga disertasi ini dapat diselesaikan. Semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas semua budi baik yang telah diberikan kepada saya.

Semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi umat manusia pada umumnya dan ilmu kedokteran khususnya. Semoga Allah Subhana wa Ta'alla melimpahkan taufik hidayahnya kepada semua fihak yang telah membantu dalam bentuk apapun dalam penyelesaian disertasi ini Amin.

## Ringkasan

**Latar belakang:** Kortikosteroid hirupan telah banyak digunakan dalam penatalaksanaan asma pada anak termasuk pada asma anak yang mendapat imunoterapi. Laporan saat ini mengisaratkan bahwa kombinasi kedua pengobatan ini menunjukkan perbaikan pada uji fungsi paru, kualitas hidup dan sedikit atau sama sekali tanpa efek samping. Mekanisme imunologi keberhasilan sampai saat ini belum pernah terungkap.

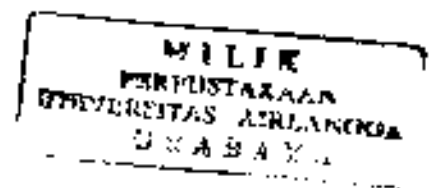
**Tujuan penelitian:** Untuk mengungkapkan modulasi respons imun pada penggunaan kortikosteroid hirupan jangka panjang pada asma anak yang mendapat imunoterapi.

**Materi dan Metode:** Orang tua menandatangani formulir persetujuan mengikuti penelitian setelah mendapat penjelasan mengenai penelitian sebelum anak diikutkan dalam penelitian. Dilakukan randomisasi dengan metode "*systematic random sampling*", dalam dua strata yaitu umur 6-11 tahun dan 11-16 tahun. Besarnya sampel dihitung, diketemukan 20 untuk tiap grup untuk memenuhi perhitungan statistik. Jenis penelitian adalah studi observasional analitik pada asma anak derajat sedang dengan lama sakit kurang dari 2 tahun. Untuk mengetahui efek pemberian kortikosteroid hirupan jangka panjang pada asma anak yang mendapat imunoterapi yang tidak mendapat kortikosteroid sebelumnya. Pasien dibagi menjadi tiga grup: grup A mendapat kortikosteroid hirupan, grup B mendapat imunoterapi, grup C mendapat kombinasi budesonid hirupan dan imunoterapi. Semua grup mendapat perlakuan selama 3 bulan. Pasien berusia 6-11 tahun mendapat budesonid hirupan dengan dosis 200 µg, pasien berusia 11-16 mendapat budesonid hirupan dengan dosis 400 µg. Variabel tergantung adalah IL-4, IL-5, IFN-γ, IL-2 dan reversibilitas FEV-1. Persetujuan Etik diperoleh dari Komite Etik RSU Dr. Soetomo Surabaya.

**Hasil hasil:** terdapat perbedaan bermakna anatara pemeriksaan awal dan akhir pada semua grup ( $p < 0.05$ ). Pasien yang mendapat kortikosteroid hirupan menunjukkan penurunan IL-4, IL-5, IFN-γ, IL-2 dan terdapat kegagalan perbaikan reversibilitas FEV-1 sebesar 29%. Pasien yang mendapat imunoterapi menunjukkan penurunan IL-4, IL-5, peningkatan IFN-γ, IL-2 dan kegagalan perbaikan reversibilitas FEV-1 sebesar 24%. Pasien yang mendapat kombinasi kortikosteroid hirupan dan imunoterapi menunjukkan penurunan IL-4, IL-5, peningkatan IFN-γ, IL-2 dan 100% perbaikan reversibilitas FEV-1. Analisis diskriminan menunjukkan IL-2 sebagai determinator utama dan berkorelasi dengan penurunan IL-5.

**Kesimpulan:** Pemberian kortikosteroid hirupan jangka panjang pada asma anak yang mendapat imunoterapi menyebabkan peningkatan IFN-γ, IL-2 dan penurunan IL-4 dan IL-5. Penambahan kortikosteroid hirupan pada asma anak yang mendapat imunoterapi menyebabkan peningkatan IL-2 yang berkorelasi dengan penurunan IL-5 mengakibatkan modulasi respons imun yang menyebabkan perbaikan reversibilitas FEV-1.

*Kata kunci: Asma anak, kombinasi kortikosteroid hirupan dan imunoterapi, modulasi respons imun, reversibilitas FEV-1.*



### Abstract

**Background:** Inhaled corticosteroid is widely used in the management of mild to moderate persistent asthma including those receiving specific immunotherapy. Results of recent studies indicate the improvement of lung functions test, quality of life and lack of minimal side effects. Immunological mechanism underlie the improvement until now has not fully elucidated.

**Objective:** To elucidate the modulation of immune response in long-term use of budesonide inhalation in asthmatic children receiving specific immunotherapy.

**Material and Method:** Parents signed informed consent after receiving information of the study prior to enrollment. Randomization was done using "systematic random sampling", stratified into two strata according to age, less than 11 years and more than 11 years. Sample size was calculated to be 20 patients each group to meet the statistical analysis. We did a randomized observational analytic study in moderate asthmatic children to assess the effect of inhaled budesonide in children receiving immunotherapy who had had moderate persistent asthma for less than 2 years and who had not had previous regular treatment with corticosteroids. Patients were divided into three groups: group A receiving inhaled budesonide, group B receiving specific immunotherapy, and Group C receiving both specific immunotherapy and inhaled budesonide. Patients aged 6-16 years received either inhaled budesonide or specific immunotherapy for 3 months. The daily budesonide dose was 400 µg for children aged 11 to 16 years or 200 µg; for children younger than 11 years. The primary outcome was IL-4, IL-5, IFN-γ, and IL-2 and FEV-1 reversibility. Ethical clearance was approved by Ethical Committee of Dr. Soetomo Hospital Surabaya.

**Results:** Significant differences were observed between pre and post treatment in all group ( $p < 0,05$ ). Patients receiving inhaled corticosteroid showed attenuation of IL-4, IL-5, IFN-γ, IL-2 and 29% failure of FEV-1 reversibility. Patients receiving immunotherapy showed attenuation of IL-4, IL-5, elevation of IFN-γ, IL-2 and 24% failure of FEV-1 reversibility. Patients receiving inhaled corticosteroid and immunotherapy showed attenuation of IL-4 and IL-5, elevation of IFN-γ and IL-2, and improvement of FEV-1 reversibility. Analysis of discriminant yielded IL-2 as primary discriminator and correlated with the decrease of IL-5.

**Conclusion** Long-term use of inhaled corticosteroid in childhood asthma receiving immunotherapy results in elevation of IFN-γ and IL-2, diminish IL-4 and IL-5. Addition of inhaled corticosteroid to immunotherapy results in elevation of IL-2 correlates with attenuation of IL-5 and play an important role in the modulation of immune response resulting in the improvement of FEV-1 reversibility.

*Key words: Childhood asthma, combined specific immunotherapy and inhaled corticosteroid, immune modulation, FEV-1 reversibility.*

**Daftar Isi**

	halaman
<b>Bab 1</b> Pendahuluan	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
<b>Bab 2</b> Tinjauan Pustaka	5
2.1 Batasan	5
2.2 Epidemiologi	5
2.3 Patofisiologi	6
2.4 Diagnosa Asma	37
2.5 Penatalaksanaan Asma	38
2.5.1 Farmakoterapi	38
2.5.2 Imunoterapi	43
<b>Bab 3</b> Kerangka Konseptual dan Hipotesis Penelitian	58
3.1 Kerangka Konseptual	58
3.2 Hipotesis Penelitian	59
<b>Bab 4</b> Metode Penelitian	60
4.1 Jenis Penelitian	60
4.2 Waktu Penelitian	60
4.3 Tempat Penelitian	60
4.4 Populasi Penelitian	60
4.5 Kriteria Inklusi	60
4.6 Kriteria Eksklusi	62
4.7 Perkiraan besar sampel	63
4.8 Systematic Random sampling	64
4.9 Identifikasi variabel	64
4.10 Definisi operasional	65
4.11 Uji Fungsi paru	67
4.12 Cara Kerja	68
4.13 Protokol Penelitian	69

<b>Bab 5</b>	<b>Analisis Hasil Penelitian</b>	<b>72</b>
	5.1 Profil Penelitian	72
	5.2 Uji Homogenitas varian antar kelompok	74
	5.3 Adverse Event	80
	5.4 Uji Normalitas Distribusi	82
	5.5 Variabel Pemeriksaan akhir	84
	5.6 Uji Beda Pemeriksaan awal dan akhir	85
<b>Bab 6</b>		
<b>Bab 7</b>	<b>Pembahasan</b>	<b>90</b>
	Penutup	118
	8.1 Kesimpulan	118
	8.2 Saran	119
<b>Kepustakaan</b>		<b>120</b>



Daftar Gambar	Hal
Gambar 2.1. Data dari Melbourne Asthma Study	9
Gambar 2.2. Ketidakseimbangan I <sub>1</sub> -I <sub>2</sub> /I <sub>1</sub> -I <sub>3</sub> pada Asma	13
Gambar 2.3. Spiral dan Curshman, kristal Charcot Leiden, Creola Body	18
Gambar 2.4 Peranan Eotaxin dalam penarikan Eosinofil dan basofil	21
Gambar 2.5 Interaksi IgE, FcεRI dan Sel Mast	25
Gambar 2.6 Interaksi antara Sel B dan Sel T pada proses alergi pada Asma	26
Gambar 2.7 Interaksi antara Sel Mast dan Sel T	27
Gambar 2.8 Airway remodelling pada Asma	33
Gambar 2.9 Skema imunoterapi yang menggambarkan terjadinya apoptosis Th-2	45



Gambar 5.2.1 Homogenitas seks antar kelompok	Halat
Gambar 5.2.2 Homogenitas umur antar kelompok	75
Gambar 5.2.3 Perbedaan riwayat atopi	75
Gambar 5.2.4 Rerata kadar IgE total	77
Gambar 5.2.5 Rerata hitung eosinofil darah tepi	77
Gambar 5.2.6 Rerata FEV-1 %Prediksi Normal	78
Gambar 5.3.1 Asthma related adverse event	79
Gambar 5.4.1 Variabel Pemeriksaan awal	80
Gambar 5.5.1 Variabel pemeriksaan akhir	83
Gambar 5.5.1 Delta variabel pemeriksaan awal dan akhir	84
Gambar 5.6.1 Pola diskriminan IL-2 dan IL-5	86

Daftar Skema

I Skema 6.1 Profil Penelitian.....	67
------------------------------------	----



**Daftar Tabel**

	<b>Hal</b>
Tabel 5.2.1 Homogenitas varian antar kelompok	74
Tabel 5.2.2 Kadar IgE	77
Tabel 5.2.3 Rerata hitung eosinofil darah tepi	78
Tabel 5.3.1 Adverse event	80
Tabel 5.4.1 Normalitas distribusi	81
Tabel 5.4.2 Perbedaan antar grup data awal	81
Tabel 5.5.1 Variabel Pemeriksaan Akhir	83
Tabel 5.6.1 Uji beda	84
Tabel 5.6.2 Wilks' Lambda	85
Tabel 5.6.3 Delta variabel awal dan akhir	85
Tabel 5.6.4 Step Wilks' Lambda	86
Tabel 5.6.5 Variabel diskriminan setelah step 2	86
Tabel 5.6.6 Koefisien fungsi klasifikasi	87



**Daftar Lampiran**

<b>1</b>	<b>Lampiran 1. Sertifikat Kelayakan Etik</b>	<b>145</b>
<b>2</b>	<b>Lampiran 2. Formulir Pernyataan Persetujuan</b>	<b>147</b>
<b>3</b>	<b>Lampiran 3. Pemeriksaan Sitokin</b>	<b>154</b>
<b>4</b>	<b>Lampiran 4. Analisa Statistik.....</b>	<b>167</b>



### **Daftar Singkatan**

**APC: Antigen Presenting Cell**

**CD: Cluster of Differentiation**

**ECP: Eosinophil Cationic Protein**

**Elisa: Enzyme linked immunosorbent assay**

**FEV-1: Force Expiratory Volume in 1 second**

**FVC: Force Volume Capacity**

**GM-CSF: Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor**

**ICAM-1: Intercellular adhesion molecule**

**IFN- $\gamma$ : Interferon- $\gamma$**

**IgE: Immunoglobuline E**

**IgG: Immunoglobuline G**

**LTB-4: Leukotriene B-4**

**LTC-4: Leukotriene C-4**

**MBP: Major Basic Protein**

**MCP-1: Monocyte chemotatic protein-1**

**MHC klas II: Major histocompatibility klas II**

**MIP-1 $\alpha$ : Macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$**

**NANC: Non Adrenergic Non Cholinergic**

**NFAT-c: Nuclear Factor of Activated T Cell-c**

**NF $\kappa$ -B: Nuclear factor kappa-B**

**NK Cell: Natural killer cell**

**PAF: Platelet activating factor**

**PEFR: Peak expiratory flow rate**

**PGD-2: Prostaglandine D-2**

**RANTES: Regulation and activation of normal T cell expression and stimulation**

**RAST: Radio allergo sorbent test**

SP-D: Surfactant protein-D

STAT-1: Signal Transducer of activation and Transcription-1

TCR: T cell receptor

TGF- $\beta$ : Transforming growth factor- $\beta$

TLR-2: Toll like receptor-2

TNF- $\alpha$ : Tumor necrosis factor- $\alpha$

VCAM-1: Vascular cell adhesion molecule-1

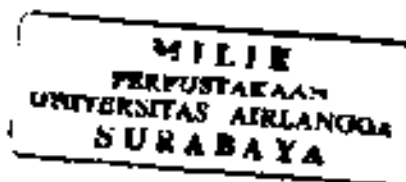


## Bab 1 Pendahuluan

### 1.1 Latar belakang

Secara umum asma bronkial disebut Asma, adalah penyakit saluran nafas kronis pada seorang atopi dengan gejala utama batuk dan sesak. Pada seorang yang atopi, rangsangan dari luar berupa alergen, iritan, polutan, infeksi virus tertentu, menimbulkan respons imun yang berbeda dengan seorang yang tidak atopi, yaitu terjadi reaksi peradangan pada saluran nafas disertai udem mukosa, hipersekresi mukus dan bronkokonstriksi. Diagnosis Asma 80-90% dibuat pada usia 6 tahun (Weiss, 2001). Asma merupakan penyakit kronik dengan kekambuhan akut yang berulang. Penatalaksanaan Asma masih merupakan masalah diseluruh dunia. Penderita yang sensitif terhadap debu rumah diberi pengobatan dengan imunoterapi dengan ekstrak debu rumah. Kombinasi imunoterapi dan kortikosteroid hirupan juga telah digunakan dengan hasil yang baik dengan indikator perbaikan klinis, perbaikan kualitas hidup dan sedikit atau sama sekali tanpa efek samping (CAMP, 2000). Sejauh ini mekanisme modulasi respons imun tentang keberhasilan kombinasi imunoterapi dan kortikosteroid hirupan belum pernah diungkapkan secara rinci.

Mekanisme keberhasilan ini perlu diungkapkan karena kortikosteroid sebagai immunosupresor, sedangkan imunoterapi sebagai immunomodulator bila digunakan bersama dikhawatirkan akan timbul efek samping yang tidak diinginkan misalnya kandidiasis dan aphonia pada penggunaan kortikosteroid hirupan, urtikaria.



serangan sesak dan renjatan pada penggunaan imunoterapi sub kutan. Kekhawatiran ini diharapkan bisa dihilangkan kalau mekanisme modulasi respons imun diungkap.

Masalah ini masih tetap ada karena kecenderungan saat ini penelitian beralih pada penggunaan imunoterapi sub lingual karena diharapkan lebih bisa dipatuhi oleh pasien daripada sub kutan (Bosquet, 2002; Orifice, 2004; Scolozzi, 2004), sedangkan penelitian mengenai mekanisme keberhasilan kombinasi imunoterapi dengan kortikosteroid hirupan tidak pernah dilakukan.

Pemikiran filosofis penggunaan kombinasi imunoterapi sub kutan dengan kortikosteroid hirupan adalah bahwa secara etiologis atopi belum bisa disembuhkan. Penggunaan kortikosteroid hirupan diharapkan akan memperbaiki inflamasi yang disebabkan dominasi Th-2, sehingga ketika diberikan imunoterapi terjadi perbaikan keseimbangan Th-1/Th-2, yang secara klinis tercermin pada penurunan reversibilitas FEV-1. Perbaikan modulasi respons imun pada pemberian kortikosteroid hirupan pada asma anak yang mendapat imunoterapi, yang dicerminkan oleh peningkatan IFN- $\gamma$  dan IL-2 serta penurunan IL-4 dan IL-5. Penelitian ini akan mengungkap profil sitokin pada pemberian kortikosteroid hirupan jangka panjang pada penderita asma anak yang mendapat imunoterapi, sebuah kajian imunologi dengan menggunakan paradigma Th-1/Th-2.

## **I.2 Rumusan Masalah**

1. Apakah terjadi peningkatan  $\text{IFN-}\gamma$ ,  $\text{IL-2}$  dan penurunan  $\text{IL-4}$ ,  $\text{IL-5}$  pada penderita Asma anak setelah mendapat pengobatan imunoterapi dikombinasikan dengan kortikosteroid hirupan selama tiga bulan?
2. Apakah terjadi penurunan reversibilitas  $\text{FEV-1}$  pada penderita asma anak setelah mendapat pengobatan imunoterapi dikombinasikan dengan kortikosteroid hirupan selama tiga bulan?

## **I.3 Tujuan Penelitian**

### **I.3.1 Tujuan umum**

Menjelaskan efek pemberian kortikosteroid hirupan selama 3 bulan pada penderita asma anak yang mendapat imunoterapi.

### **I.3.2 Tujuan khusus**

1. Membuktikan peningkatan  $\text{IL-2}$  dan  $\text{IFN-}\gamma$  pada pemberian kortikosteroid hirupan selama 3 bulan pada asma anak yang mendapat imunoterapi.
2. Membuktikan penurunan  $\text{IL-4}$  dan  $\text{IL-5}$  pada pemberian kortikosteroid hirupan selama 3 bulan pada asma anak yang mendapat imunoterapi
3. Membuktikan terjadi perbaikan reversibilitas  $\text{FEV-1}$  pada pemberian kortikosteroid hirupan selama 3 bulan pada asma anak yang mendapat imunoterapi.
4. Membuat pola diskriminan untuk menjelaskan perbaikan gejala akibat



pengobatan kortikosteroid hirupan selama 3 bulan pada asma anak yang mendapat imunoterapi.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

##### **1.4.1 Manfaat teoritis**

Memberi sumbangan penjelasan (Imunopatogenesis) pengaruh kortikosteroid hirupan selama 3 bulan terhadap perbaikan gejala pada penderita asma anak yang mendapat imunoterapi.

##### **1.4.2 Manfaat praktis**

Temuan penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penyempurnaan penatalaksanaan asma pada anak.

## **BAB 2**

### **Tinjauan Pustaka**

#### **2.1 Batasan**

Batasan Asma telah banyak dikemukakan oleh baik perhimpunan Alergi Imunologi, Perhimpunan Ahli Respirologi, WHO dan kesepakatan internasional maupun Nasional, namun tidak ada yang menyebut secara khusus untuk Asma anak. Nelson's Textbook of Pediatrics edisi 17, tahun 2004 secara tegas memberi batasan Childhood Asthma ( Asma Anak) sebagai berikut:

Asma adalah penyakit paru dengan karakteristik penyempitan saluran nafas yang reversibel, walaupun tidak sempurna, baik spontan atau dengan pengobatan, ditemukan inflamasi saluran nafas dan peningkatan reaktivitas saluran nafas terhadap berbagai rangsangan (Liu, 2004).

#### **2.2 Epidemiologi**

Prevalensi : Prevalensi penyakit Asma bervariasi antar peneliti. Pada anak-anak di Amerika berkisar antara 3,6% - 9,5% (Gergen, 1988).

Beberapa penelitian menyebutkan peningkatan prevalensi penyakit asma ini. Beberapa faktor disebut berperan dalam peningkatan ini antara lain diagnosis yang makin baik dan perhatian masyarakat sendiri terhadap Asma.

Faktor usia Asma pada umumnya mulai pada usia anak, walaupun dapat juga pada usia dewasa. Biasanya pada anak terjadi pada usia dibawah lima tahun dengan kemungkinan laki-laki dua kali lebih sering dari pada perempuan. Bila mulai pada usia remaja perbandingan laki-laki sama dengan perempuan, demikian pula jika mulai

pada usia dewasa (Gergen, 1998). Sebanyak 50% dari Asma yang mulai pada masa anak akan bebas gejala pada usia 10 – 20 tahun dimana beberapa akan mengalami sesak berulang pada pengamatan lebih lanjut (Aberg, 1990). Asma merupakan penyebab kesakitan yang mendunia (*Worldwide*). Sampai saat ini tercatat peningkatan penggunaan kortikosteroid hirupan bukan saja di Amerika, tetapi juga di Eropa dan bagian lain di dunia termasuk Asia dan Afrika (Apter, 2004). Keberhasilan program imunisasi, semakin cakupan meningkat yang diikuti makin banyaknya vaksin yang tersedia, maka angka kejadian penyakit infeksi makin menurun. Di negara belahan barat dan utara keadaan ini telah tercapai lebih dulu. Penelitian disana kemudian menunjukkan meningkatnya angka kejadian penyakit alergi dan metabolik, sehingga dikenal "Hygiene Hypothesis" yang antara lain menyatakan bahwa dengan peningkatan sosial ekonomi dan hygiene sanitasi maka angka kejadian penyakit alergi dan metabolik makin meningkat. Angka kejadian asma meningkat seiring dengan angka kejadian obesitas pada anak, hanya saja tidak diketahui hubungan keduanya (Chen, 2004; To, 2004).

### 2.3 Patofisiologi

#### Paradigma Th-1/Th-2 pada Asma.

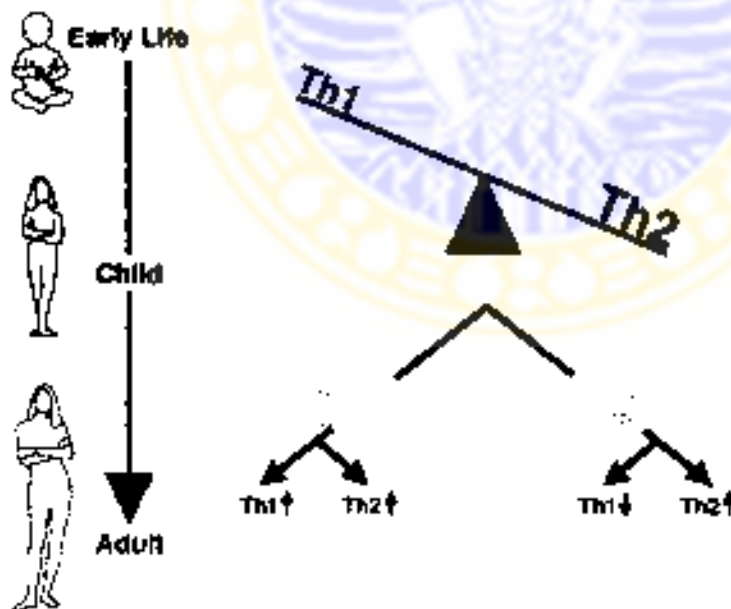
Sel limfosit T berkembang dari sumsum tulang, berbeda dengan sel B yang mengalami pematangan di sumsum tulang, sel T bermigrasi ke timus untuk pematangan. Selama pematangannya dalam timus sel ini mengekspresikan molekul pengikat antigen yang unik disebut reseptor sel T (*T-cell receptor*). Reseptor ini

berbeda dengan reseptor sel B yang mampu mengenal antigen, reseptor sel T hanya dapat mengenali antigen yang terikat pada protein membran sel yang disebut protein *Major Histocompatibility Complex* (MHC). Ada 2 macam MHC yaitu MHC Class I yang diekspresikan oleh kebanyakan sel berinti, molekul ini terdiri dari sebuah rantai berat yang dihubungkan pada protein invariant yang disebut  $\beta$ -2 mikroglobulin. MHC class II yang hanya diekspresi oleh APC, terdiri dari sebuah rantai  $\alpha$  dan sebuah rantai  $\beta$  glikoprotein. Ketika sel T berinteraksi dengan MHC pada sebuah sel, maka proliferasi dan diferensiasi dimulai, menjadi sel T memori dan efektor. Ada dua sub-populasi sel T yang sudah diketahui: *T-helper* (Th) dan *T Cytotoxic* (Tc). Sel ketiga disebut sel T supresor (Ts) masih dalam taraf postulat, bukti-bukti menunjukkan bahwa sel ini tidak berbeda dengan Th maupun Tc. Th dan Tc dibedakan oleh ekspresi protein membran. Sel T yang mengekspresi CD4 berfungsi sebagai Th, sedangkan yang mengekspresi CD8 berfungsi sebagai Tc. Sel Th mensekresi berbagai macam sitokin yang memegang peranan penting dalam aktivasi sel B, sel T dan sel lain yang berperan dalam respons imun. Perubahan pola sekresi sitokin akan menimbulkan respons imun di antara lekosit yang lain. Sel Th mempunyai 2 sub-set yaitu Th-1 dan Th-2 (Clancy, 1998) Respons Th-1 memproduksi profil sitokin yang terutama mendukung inflamasi dan mengaktifasi sel T dan makrofag, sedangkan respons Th-2 mengaktifasi terutama sel B dan respons imun yang tergantung pada antibodi (Goldsby, 2000; Romagnani, 2004). IL-4 sangat berperan pada perkembangan Th-2, sedangkan IL-12 esensial dalam perkembangan Th-1. Pada

percobaan dengan binatang dengan model asma alergi, ovalbumin dipakai untuk sensitisasi sel dendritik, yang kemudian disuntikkan kedalam kelenjar limfe mediastinum binatang coba. Sebagai kontrol adalah disuntikkan sel dendritik yang tidak disensitisasi. Dua minggu kemudian dilakukan provokasi dengan aerosol ovalbumin. Ternyata ditemukan pada binatang coba  $CD4^+$  dan  $CD8^+$ , eosinofil dan netrofil pada jaringan paru. Sel  $CD4^+$  memproduksi IL-4, IL-5 dan juga IFN- $\gamma$ , sedangkan  $CD8^+$  menghasilkan IFN- $\gamma$ . Analisis histologi menunjukkan infiltrasi perivaskular dan peribronkial oleh eosinofil dan hiperplasi sel goblet. Fakta ini membuktikan bahwa sel dendritik mengalami sensitisasi terhadap alergen hirupan dan molekul yang diekspresikan menunjang pertumbuhan sel Th-2 (Lambrecht, 2000). Sel Th-1 dan Th-2 merupakan topik utama yang banyak dipelajari dalam 50 tahun terakhir. Sel Th-1 menghasilkan IL-2, lymphotoxin dan IFN- $\gamma$ , sedangkan sel Th-2 menghasilkan IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 dan IL-13. Masih sedikit diketahui mengenai sel Th-3 dan T Regulatory (TR), yang masing masing memproduksi TGF- $\beta$  dan IL-10. Sel Th-1 dan Th-2 berkembang dari sel T *naive* dengan pengaruh lingkungan mikro. Di bawah pengaruh sel dendritik  $CD8\alpha^+$  dan IL-12, IL-18, dan IFN- $\gamma$  diferensiasi terjadi kearah Th-1. Evolusi perkembangan sel sangat dipengaruhi oleh mekanisme yang melalui jalur *Signal Transducer of Activator and Transcription-1* (STAT-1) dan faktor transkripsi T-bet. Di bawah pengaruh sel dendritik  $CD8\alpha^-$  dan IL-4 yang bisa berasal dari sel Mast yang aktif, maka perkembangan sel menuju kearah Th-2. Mekanisme perkembangan ini melalui jalur yang kompleks yang melibatkan STAT-

6, GATA-3, *Nuclear Factor of Activated T cells-c (NFATc)* dan *c-maf*. Regulasi silang terjadi antara Th-1 dan Th-2, subset yang satu menghambat atau mengatur subset yang lain. Respons polarisasi Th-1 berperan pada aktivasi makrofag dalam reaksi hipersensitifitas tipe lambat (*Delayed Type Hypersensitivity*), yang merupakan gambaran dasar penyakit seperti rheumatoid arthritis, sakoidosis dan tuberkulosis. Di lain pihak Th-2 menyebabkan aktivasi pembuatan antibodi, aktivasi sel mast dan infiltrasi eosinofil pada jaringan (Elias, 2003)

Pada masa intra-uterin, sel Th-2 mendominasi, karena respons immune Th-2, ini terutama imunitas humoral, sangat diperlukan menghadapi antigen yang menembus sawar plasenta. Keadaan ini masih bertahan sampai masa bayi (Gambar 2.1). Pada keadaan non atopi, keseimbangan akan berubah berpolarisasi ke arah sel Th-1,



Gambar 2.1 Data dan *Melbourne Asthma Study*, mengevaluasi sitokin Th-2 IL-5 dan sitokin Th-1, IFN- $\gamma$  dalam hubungan dengan perbaikan asma dan asma yang menetap (Busse, 2003).

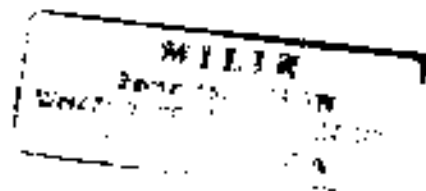
sedangkan pada penderita atopi keseimbangan ini cenderung menetap pada jalur Th-2 (Busse, 2003). Interaksi sel T naïve dengan IL-4 pada awal respons imun memacu sel berkembang menjadi Th-2. Pada level IL-4 yang cukup perkembangan sel lebih menjurus pada Th-2 daripada Th-1 walaupun ada IL-12. Pada percobaan dengan menghambat gen yang menyandi IL-4, Th-2 tidak berkembang, membuktikan bahwa IL-4 memegang posisi sentral dalam perkembangan Th-2. Dari mana IL-4 memulai rangsangannya pada Th-2, padahal IL-4 sendiri dibuat oleh Th-2. Penelitian saat ini menunjukkan bahwa rangsangan antigen spesifik pada baik T sel naïve dan CD4<sup>+</sup>T juga menghasilkan IL-4. Sel lain seperti sel mast, basofil, eosinofil dan sel NK1<sup>+</sup>T juga memproduksi IL-4. Sitokin IL-4 mempunyai fungsi yang banyak dalam pengendalian respons imun. Bekerjanya tergantung pada ikatan dan sinyal melalui kompleks reseptor yang terdiri dari IL-4R rantai  $\alpha$  dan  $\gamma$ , menimbulkan proses fosforilasi dengan mediasi kinase reseptor. Akibatnya adalah penarikan mediator pertumbuhan sel, ketahanan terhadap apoptosis, dan aktivasi gen pertumbuhan dan diferensiasi (Nelms K, 1999). Kalau perkembangan sel Th-2 memerlukan IL-4, maka

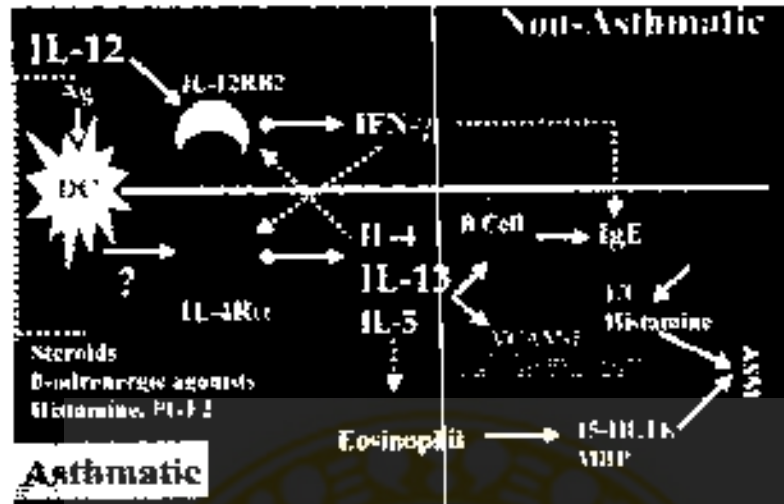
Th-1 memerlukan IL-12 dan IFN- $\gamma$  dalam perkembangannya. Makrofag yang diaktifkan oleh interaksi sel yang terinfeksi mikro-organisme, produk mikro-organisme seperti LPS, parasit intrasel adalah sumber IL-12. Sebagai APC makrofag dan sel dendritik menangkap dan menyampaikan informasi dari luar kepada sel imun adaptif. Bekerja sebagai penginduksi respons imun primer, penginduksi toleransi

imun, dan regulasi imun respons sel T (Banhercau, 2000). Aktifasi memerlukan interaksi simultan antara epitop-antigen, TCR dan MHC kelas II (Li, 1999). Sitokin IL-12 berikatan dengan reseptor IL-12 pada sel T dan mulailah terjadi diferensiasi menjadi fenotip Th-1. Peran IFN- $\gamma$  dalam hal ini adalah upregulasi IL-4 oleh makrofag dan sel dendritik dan mengaktifkan reseptor IL-12 pada sel T yang mengalami aktivasi. Pada permulaan respons imun, IFN- $\gamma$  dihasilkan oleh stimulasi sel T dan sel NK yang teraktivasi. Masih ada yang berperan yaitu IL-18 (IGIF: Interferon gamma inducing factor) yang merangsang produksi dan proliferasi IFN- $\gamma$  oleh sel Th-1 dan sel NK. Mekanisme feedback positif terjadi dengan kehadiran IL-18 yang memacu produksi IFN- $\gamma$  kemudian memacu Th-1 lebih banyak, memacu makrofag menghasilkan IL-12, memacu kembali Th-1 menghasilkan IFN- $\gamma$  (Murphy, 2000). IL-18 juga merangsang produksi sitokin Th-2 dan inflamasi ketika regulasi oleh IL-12 menurun (Nakanishi, 2001). Diantara sel Th-1 dan Th-2 terjadi regulasi silang oleh sitokin. Pertama sitokin memacu perkembangan subset yang menghasilkannya, kedua sitokin menekan perkembangan dan aktifitas subset yang berlawanan. IFN- $\gamma$  menghambat perkembangan Th-2, sedangkan IL-4 dan IL-10 mengadakan downregulasi terhadap IL-12. Pada Asma atopi regulasi oleh CD40 mengalami penekanan. Disamping itu terdapat juga kegagalan B7-1 dan B7-2, suatu molekul protein yang menstimulasi Th-1 dan aktivasi CD40. Sebagian ahli meyakini melalui bukti empirik yang ada, bahwa CD40 berinteraksi dengan CD40L pada sel T merangsang produksi IL-12 yang berfungsi mengadakan *downregulation* terhadap



Th-2 dan *upregulation* Th-1 (Tang, 2001). Pada penderita Asma yang mengalami infeksi virus ternyata IL-10 menurun, membuktikan adanya down regulasi oleh sitokin Th-1 (Gentile, 1999). Hal ini terjadi terhadap sel lain. Sitokin IFN- $\gamma$  memacu produksi IgG2a oleh sel B tetapi menghambat produksi IgG1 dan IgE, sedangkan IL-4 memacu produksi IgG1 dan IgE tetapi menghambat produksi IgG2a oleh sel B. Walaupun demikian Th-2 mempunyai sisi lain sebagai anti-inflamasi, IL4 dan IL-13 selain sebagai sitokin inflamasi yang kuat, mempunyai efek anti-inflamasi yaitu pengendalian inflamasi akibat sitokin Th-1 dengan cara penekanan produksi IL-1, IL-2, TNF- $\alpha$ , dan IFN- $\gamma$ . Juga pengendalian aktifitas makrofag akibat rangsangan IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$  sehingga mengurangi aktifitas enzim seperti NO synthase II yang menghasilkan nitrogen reaktif (Finkelman, 2001). Pada penderita Asma yang sensitif terhadap alergen hirupan, termasuk debu rumah, diketahui adanya ketidakseimbangan poros IL-12/IL-13 (Gambar 2.2). Produksi IL-13 meningkat, sebaliknya terjadi penurunan produksi IL-12 (Wills-Karp, 2001). Suatu penelitian yang dilakukan di Jepang menunjukkan bahwa IL-12 dapat menyebabkan penurunan produksi IL-4 pada anak Asma yang sensitif terhadap *Dermatophagoides-Farmeri*, dengan demikian dapat mengendalikan produksi IgE dan menurunkan gejala Asma. Penelitian itu juga menemukan bahwa dosis rendah dan sedang dari IL-12





Gambar 22. Cytokine profil pada IL-12, IL-13, dan IL-5 pada Asma. Profil IL-12 meningkat sebanyak 10-12 kali pada Asma (Karp, 2007).

meningkatkan  $IL-12$  sedangkan dosis tinggi menyebabkan rangsangan terhadap baik  $IL-12$  dan  $IL-13$  maupun  $IL-10$  (Noma, 1999). Penelitian lain membuktikan, terdapat kelenjar air mata  $IL-2$   $IL-5$   $IL-6$   $IL-8$   $IL-13$   $IL-15$   $IL-17$   $IL-18$   $IL-20$   $IL-21$   $IL-22$   $IL-23$   $IL-24$   $IL-25$   $IL-26$   $IL-27$   $IL-28$   $IL-29$   $IL-30$   $IL-31$   $IL-32$   $IL-33$   $IL-34$   $IL-35$   $IL-36$   $IL-37$   $IL-38$   $IL-39$   $IL-40$   $IL-41$   $IL-42$   $IL-43$   $IL-44$   $IL-45$   $IL-46$   $IL-47$   $IL-48$   $IL-49$   $IL-50$   $IL-51$   $IL-52$   $IL-53$   $IL-54$   $IL-55$   $IL-56$   $IL-57$   $IL-58$   $IL-59$   $IL-60$   $IL-61$   $IL-62$   $IL-63$   $IL-64$   $IL-65$   $IL-66$   $IL-67$   $IL-68$   $IL-69$   $IL-70$   $IL-71$   $IL-72$   $IL-73$   $IL-74$   $IL-75$   $IL-76$   $IL-77$   $IL-78$   $IL-79$   $IL-80$   $IL-81$   $IL-82$   $IL-83$   $IL-84$   $IL-85$   $IL-86$   $IL-87$   $IL-88$   $IL-89$   $IL-90$   $IL-91$   $IL-92$   $IL-93$   $IL-94$   $IL-95$   $IL-96$   $IL-97$   $IL-98$   $IL-99$   $IL-100$   $IL-101$   $IL-102$   $IL-103$   $IL-104$   $IL-105$   $IL-106$   $IL-107$   $IL-108$   $IL-109$   $IL-110$   $IL-111$   $IL-112$   $IL-113$   $IL-114$   $IL-115$   $IL-116$   $IL-117$   $IL-118$   $IL-119$   $IL-120$   $IL-121$   $IL-122$   $IL-123$   $IL-124$   $IL-125$   $IL-126$   $IL-127$   $IL-128$   $IL-129$   $IL-130$   $IL-131$   $IL-132$   $IL-133$   $IL-134$   $IL-135$   $IL-136$   $IL-137$   $IL-138$   $IL-139$   $IL-140$   $IL-141$   $IL-142$   $IL-143$   $IL-144$   $IL-145$   $IL-146$   $IL-147$   $IL-148$   $IL-149$   $IL-150$   $IL-151$   $IL-152$   $IL-153$   $IL-154$   $IL-155$   $IL-156$   $IL-157$   $IL-158$   $IL-159$   $IL-160$   $IL-161$   $IL-162$   $IL-163$   $IL-164$   $IL-165$   $IL-166$   $IL-167$   $IL-168$   $IL-169$   $IL-170$   $IL-171$   $IL-172$   $IL-173$   $IL-174$   $IL-175$   $IL-176$   $IL-177$   $IL-178$   $IL-179$   $IL-180$   $IL-181$   $IL-182$   $IL-183$   $IL-184$   $IL-185$   $IL-186$   $IL-187$   $IL-188$   $IL-189$   $IL-190$   $IL-191$   $IL-192$   $IL-193$   $IL-194$   $IL-195$   $IL-196$   $IL-197$   $IL-198$   $IL-199$   $IL-200$   $IL-201$   $IL-202$   $IL-203$   $IL-204$   $IL-205$   $IL-206$   $IL-207$   $IL-208$   $IL-209$   $IL-210$   $IL-211$   $IL-212$   $IL-213$   $IL-214$   $IL-215$   $IL-216$   $IL-217$   $IL-218$   $IL-219$   $IL-220$   $IL-221$   $IL-222$   $IL-223$   $IL-224$   $IL-225$   $IL-226$   $IL-227$   $IL-228$   $IL-229$   $IL-230$   $IL-231$   $IL-232$   $IL-233$   $IL-234$   $IL-235$   $IL-236$   $IL-237$   $IL-238$   $IL-239$   $IL-240$   $IL-241$   $IL-242$   $IL-243$   $IL-244$   $IL-245$   $IL-246$   $IL-247$   $IL-248$   $IL-249$   $IL-250$   $IL-251$   $IL-252$   $IL-253$   $IL-254$   $IL-255$   $IL-256$   $IL-257$   $IL-258$   $IL-259$   $IL-260$   $IL-261$   $IL-262$   $IL-263$   $IL-264$   $IL-265$   $IL-266$   $IL-267$   $IL-268$   $IL-269$   $IL-270$   $IL-271$   $IL-272$   $IL-273$   $IL-274$   $IL-275$   $IL-276$   $IL-277$   $IL-278$   $IL-279$   $IL-280$   $IL-281$   $IL-282$   $IL-283$   $IL-284$   $IL-285$   $IL-286$   $IL-287$   $IL-288$   $IL-289$   $IL-290$   $IL-291$   $IL-292$   $IL-293$   $IL-294$   $IL-295$   $IL-296$   $IL-297$   $IL-298$   $IL-299$   $IL-300$   $IL-301$   $IL-302$   $IL-303$   $IL-304$   $IL-305$   $IL-306$   $IL-307$   $IL-308$   $IL-309$   $IL-310$   $IL-311$   $IL-312$   $IL-313$   $IL-314$   $IL-315$   $IL-316$   $IL-317$   $IL-318$   $IL-319$   $IL-320$   $IL-321$   $IL-322$   $IL-323$   $IL-324$   $IL-325$   $IL-326$   $IL-327$   $IL-328$   $IL-329$   $IL-330$   $IL-331$   $IL-332$   $IL-333$   $IL-334$   $IL-335$   $IL-336$   $IL-337$   $IL-338$   $IL-339$   $IL-340$   $IL-341$   $IL-342$   $IL-343$   $IL-344$   $IL-345$   $IL-346$   $IL-347$   $IL-348$   $IL-349$   $IL-350$   $IL-351$   $IL-352$   $IL-353$   $IL-354$   $IL-355$   $IL-356$   $IL-357$   $IL-358$   $IL-359$   $IL-360$   $IL-361$   $IL-362$   $IL-363$   $IL-364$   $IL-365$   $IL-366$   $IL-367$   $IL-368$   $IL-369$   $IL-370$   $IL-371$   $IL-372$   $IL-373$   $IL-374$   $IL-375$   $IL-376$   $IL-377$   $IL-378$   $IL-379$   $IL-380$   $IL-381$   $IL-382$   $IL-383$   $IL-384$   $IL-385$   $IL-386$   $IL-387$   $IL-388$   $IL-389$   $IL-390$   $IL-391$   $IL-392$   $IL-393$   $IL-394$   $IL-395$   $IL-396$   $IL-397$   $IL-398$   $IL-399$   $IL-400$   $IL-401$   $IL-402$   $IL-403$   $IL-404$   $IL-405$   $IL-406$   $IL-407$   $IL-408$   $IL-409$   $IL-410$   $IL-411$   $IL-412$   $IL-413$   $IL-414$   $IL-415$   $IL-416$   $IL-417$   $IL-418$   $IL-419$   $IL-420$   $IL-421$   $IL-422$   $IL-423$   $IL-424$   $IL-425$   $IL-426$   $IL-427$   $IL-428$   $IL-429$   $IL-430$   $IL-431$   $IL-432$   $IL-433$   $IL-434$   $IL-435$   $IL-436$   $IL-437$   $IL-438$   $IL-439$   $IL-440$   $IL-441$   $IL-442$   $IL-443$   $IL-444$   $IL-445$   $IL-446$   $IL-447$   $IL-448$   $IL-449$   $IL-450$   $IL-451$   $IL-452$   $IL-453$   $IL-454$   $IL-455$   $IL-456$   $IL-457$   $IL-458$   $IL-459$   $IL-460$   $IL-461$   $IL-462$   $IL-463$   $IL-464$   $IL-465$   $IL-466$   $IL-467$   $IL-468$   $IL-469$   $IL-470$   $IL-471$   $IL-472$   $IL-473$   $IL-474$   $IL-475$   $IL-476$   $IL-477$   $IL-478$   $IL-479$   $IL-480$   $IL-481$   $IL-482$   $IL-483$   $IL-484$   $IL-485$   $IL-486$   $IL-487$   $IL-488$   $IL-489$   $IL-490$   $IL-491$   $IL-492$   $IL-493$   $IL-494$   $IL-495$   $IL-496$   $IL-497$   $IL-498$   $IL-499$   $IL-500$   $IL-501$   $IL-502$   $IL-503$   $IL-504$   $IL-505$   $IL-506$   $IL-507$   $IL-508$   $IL-509$   $IL-510$   $IL-511$   $IL-512$   $IL-513$   $IL-514$   $IL-515$   $IL-516$   $IL-517$   $IL-518$   $IL-519$   $IL-520$   $IL-521$   $IL-522$   $IL-523$   $IL-524$   $IL-525$   $IL-526$   $IL-527$   $IL-528$   $IL-529$   $IL-530$   $IL-531$   $IL-532$   $IL-533$   $IL-534$   $IL-535$   $IL-536$   $IL-537$   $IL-538$   $IL-539$   $IL-540$   $IL-541$   $IL-542$   $IL-543$   $IL-544$   $IL-545$   $IL-546$   $IL-547$   $IL-548$   $IL-549$   $IL-550$   $IL-551$   $IL-552$   $IL-553$   $IL-554$   $IL-555$   $IL-556$   $IL-557$   $IL-558$   $IL-559$   $IL-560$   $IL-561$   $IL-562$   $IL-563$   $IL-564$   $IL-565$   $IL-566$   $IL-567$   $IL-568$   $IL-569$   $IL-570$   $IL-571$   $IL-572$   $IL-573$   $IL-574$   $IL-575$   $IL-576$   $IL-577$   $IL-578$   $IL-579$   $IL-580$   $IL-581$   $IL-582$   $IL-583$   $IL-584$   $IL-585$   $IL-586$   $IL-587$   $IL-588$   $IL-589$   $IL-590$   $IL-591$   $IL-592$   $IL-593$   $IL-594$   $IL-595$   $IL-596$   $IL-597$   $IL-598$   $IL-599$   $IL-600$   $IL-601$   $IL-602$   $IL-603$   $IL-604$   $IL-605$   $IL-606$   $IL-607$   $IL-608$   $IL-609$   $IL-610$   $IL-611$   $IL-612$   $IL-613$   $IL-614$   $IL-615$   $IL-616$   $IL-617$   $IL-618$   $IL-619$   $IL-620$   $IL-621$   $IL-622$   $IL-623$   $IL-624$   $IL-625$   $IL-626$   $IL-627$   $IL-628$   $IL-629$   $IL-630$   $IL-631$   $IL-632$   $IL-633$   $IL-634$   $IL-635$   $IL-636$   $IL-637$   $IL-638$   $IL-639$   $IL-640$   $IL-641$   $IL-642$   $IL-643$   $IL-644$   $IL-645$   $IL-646$   $IL-647$   $IL-648$   $IL-649$   $IL-650$   $IL-651$   $IL-652$   $IL-653$   $IL-654$   $IL-655$   $IL-656$   $IL-657$   $IL-658$   $IL-659$   $IL-660$   $IL-661$   $IL-662$   $IL-663$   $IL-664$   $IL-665$   $IL-666$   $IL-667$   $IL-668$   $IL-669$   $IL-670$   $IL-671$   $IL-672$   $IL-673$   $IL-674$   $IL-675$   $IL-676$   $IL-677$   $IL-678$   $IL-679$   $IL-680$   $IL-681$   $IL-682$   $IL-683$   $IL-684$   $IL-685$   $IL-686$   $IL-687$   $IL-688$   $IL-689$   $IL-690$   $IL-691$   $IL-692$   $IL-693$   $IL-694$   $IL-695$   $IL-696$   $IL-697$   $IL-698$   $IL-699$   $IL-700$   $IL-701$   $IL-702$   $IL-703$   $IL-704$   $IL-705$   $IL-706$   $IL-707$   $IL-708$   $IL-709$   $IL-710$   $IL-711$   $IL-712$   $IL-713$   $IL-714$   $IL-715$   $IL-716$   $IL-717$   $IL-718$   $IL-719$   $IL-720$   $IL-721$   $IL-722$   $IL-723$   $IL-724$   $IL-725$   $IL-726$   $IL-727$   $IL-728$   $IL-729$   $IL-730$   $IL-731$   $IL-732$   $IL-733$   $IL-734$   $IL-735$   $IL-736$   $IL-737$   $IL-738$   $IL-739$   $IL-740$   $IL-741$   $IL-742$   $IL-743$   $IL-744$   $IL-745$   $IL-746$   $IL-747$   $IL-748$   $IL-749$   $IL-750$   $IL-751$   $IL-752$   $IL-753$   $IL-754$   $IL-755$   $IL-756$   $IL-757$   $IL-758$   $IL-759$   $IL-760$   $IL-761$   $IL-762$   $IL-763$   $IL-764$   $IL-765$   $IL-766$   $IL-767$   $IL-768$   $IL-769$   $IL-770$   $IL-771$   $IL-772$   $IL-773$   $IL-774$   $IL-775$   $IL-776$   $IL-777$   $IL-778$   $IL-779$   $IL-780$   $IL-781$   $IL-782$   $IL-783$   $IL-784$   $IL-785$   $IL-786$   $IL-787$   $IL-788$   $IL-789$   $IL-790$   $IL-791$   $IL-792$   $IL-793$   $IL-794$   $IL-795$   $IL-796$   $IL-797$   $IL-798$   $IL-799$   $IL-800$   $IL-801$   $IL-802$   $IL-803$   $IL-804$   $IL-805$   $IL-806$   $IL-807$   $IL-808$   $IL-809$   $IL-810$   $IL-811$   $IL-812$   $IL-813$   $IL-814$   $IL-815$   $IL-816$   $IL-817$   $IL-818$   $IL-819$   $IL-820$   $IL-821$   $IL-822$   $IL-823$   $IL-824$   $IL-825$   $IL-826$   $IL-827$   $IL-828$   $IL-829$   $IL-830$   $IL-831$   $IL-832$   $IL-833$   $IL-834$   $IL-835$   $IL-836$   $IL-837$   $IL-838$   $IL-839$   $IL-840$   $IL-841$   $IL-842$   $IL-843$   $IL-844$   $IL-845$   $IL-846$   $IL-847$   $IL-848$   $IL-849$   $IL-850$   $IL-851$   $IL-852$   $IL-853$   $IL-854$   $IL-855$   $IL-856$   $IL-857$   $IL-858$   $IL-859$   $IL-860$   $IL-861$   $IL-862$   $IL-863$   $IL-864$   $IL-865$   $IL-866$   $IL-867$   $IL-868$   $IL-869$   $IL-870$   $IL-871$   $IL-872$   $IL-873$   $IL-874$   $IL-875$   $IL-876$   $IL-877$   $IL-878$   $IL-879$   $IL-880$   $IL-881$   $IL-882$   $IL-883$   $IL-884$   $IL-885$   $IL-886$   $IL-887$   $IL-888$   $IL-889$   $IL-890$   $IL-891$   $IL-892$   $IL-893$   $IL-894$   $IL-895$   $IL-896$   $IL-897$   $IL-898$   $IL-899$   $IL-900$   $IL-901$   $IL-902$   $IL-903$   $IL-904$   $IL-905$   $IL-906$   $IL-907$   $IL-908$   $IL-909$   $IL-910$   $IL-911$   $IL-912$   $IL-913$   $IL-914$   $IL-915$   $IL-916$   $IL-917$   $IL-918$   $IL-919$   $IL-920$   $IL-921$   $IL-922$   $IL-923$   $IL-924$   $IL-925$   $IL-926$   $IL-927$   $IL-928$   $IL-929$   $IL-930$   $IL-931$   $IL-932$   $IL-933$   $IL-934$   $IL-935$   $IL-936$   $IL-937$   $IL-938$   $IL-939$   $IL-940$   $IL-941$   $IL-942$   $IL-943$   $IL-944$   $IL-945$   $IL-946$   $IL-947$   $IL-948$   $IL-949$   $IL-950$   $IL-951$   $IL-952$   $IL-953$   $IL-954$   $IL-955$   $IL-956$   $IL-957$   $IL-958$   $IL-959$   $IL-960$   $IL-961$   $IL-962$   $IL-963$   $IL-964$   $IL-965$   $IL-966$   $IL-967$   $IL-968$   $IL-969$   $IL-970$   $IL-971$   $IL-972$   $IL-973$   $IL-974$   $IL-975$   $IL-976$   $IL-977$   $IL-978$   $IL-979$   $IL-980$   $IL-981$   $IL-982$   $IL-983$   $IL-984$   $IL-985$   $IL-986$   $IL-987$   $IL-988$   $IL-989$   $IL-990$   $IL-991$   $IL-992$   $IL-993$   $IL-994$   $IL-995$   $IL-996$   $IL-997$   $IL-998$   $IL-999$   $IL-1000$

yang menginduksi IFN- $\gamma$  oleh sel NK, Th-1, dan CD8<sup>+</sup>Tc. Produksi IL-18 diinduksi oleh histamin dan IL-18 bisa berfungsi baik sebagai penginduksi Th-1 maupun Th-2. Pada Asma IL-18 berperan dalam aktivasi respons imunologi dan menunjukkan aktivitas penyakit pada Asma ringan dan sedang (Tanaka, 2001). Pada percobaan binatang hasilnya sangat mengejutkan karena respons Th-1 yang timbul ternyata tidak mampu mengendalikan hiperaktivitas saluran nafas (Hansen, 1999). IL-5 dan IL-1 $\beta$  tidak saja bertindak sebagai imunomodulator tetapi juga berefek langsung terhadap perubahan hiperaktivitas saluran nafas. Hal ini dibuktikan pada percobaan *in vitro* dengan menggunakan kultur jaringan otot polos saluran nafas yang diinkubasi dengan serum penderita Asma, dibanding jaringan kontrol yang tidak diinkubasi dengan serum penderita Asma, menunjukkan peningkatan kontraktilitas terhadap asetilkolin dan relaksasi setelah diberi isoproterenol. Hal ini tidak terjadi ketika percobaan yang sama diberi perlakuan dulu dengan IL-5ra atau IL-1ra tetapi tidak terpengaruh dengan pemberian IL-4. Disimpulkan sitokin Th-2 IL-5 difeaskan endogen oleh otot polos saluran nafas, kemudian menginduksi pengeluaran IL-1 $\beta$  oleh otot polos saluran nafas yang telah mengalami sensitisasi dan menyebabkan rangsangan ototkrin gejala Asma (Hakonarson, 1999). Sensitisasi terhadap terhadap satu atau beberapa alergen dalam rumah secara konsisten ada hubungannya dengan Asma pada anak dan dewasa muda. Untuk alergen debu rumah ada hubungan dosis dengan respons antara paparan dan sensitisasi. Paparan alergen pada tahun pertama kehidupan agaknya menginduksi sensitisasi terutama terhadap sel Th-2 dan

pembentukan IgE. Pengaruh sitokin Th-2 terutama IL-4 dan IL-5 pada proses inflamasi dan struktur sel dalam perubahan saluran nafas telah banyak dipelajari. Peran mereka sangat penting dalam maturasi sel, aktivasi dan proliferasi, produksi IgE ekspresi kemokin, sekresi mukus dan hipereaktivitas bronki. Sitolin IL-4 mempunyai segi positif dalam hal merangsang produksi surfaktan *collectin protein D*. Hal ini dibuktikan *in vitro* pada kultur sel dari *broncho alveolar lavage* dengan *immunocytochemistry* dibuktikan bahwa IL-4 menyebabkan ekspresi *surfactant protein-D (SP-D)*, dan diduga mekanismenya terjadi pada level mRNA sel epitel alveoli. Surfaktan ini mempunyai efek anti-inflamasi yang kuat sehingga disimpulkan hal ini sebagai mekanisme umpan balik yang berfungsi sebagai regulator keseimbangan imunitas *innate* dan imunitas didapat pada proses inflamasi alergi (Cao, 2004). Penelitian saat ini menunjukkan peran sitokin Th-2 yang lain yaitu IL-9. Selain fungsi yang sama dengan IL-4 dan IL-5, IL-9 juga berpengaruh pada Sel T Sel B, Sel Mast, eosinofil, netrofil dan sel epitel. Walaupun penelitian masih pada model binatang sangat mungkin IL-9 juga berpengaruh pada patofisiologi Asma (Soussi-Gounni, 2001).

### **Eosinofil, Sel Mast dan IgE**

Penyakit alergi ditandai dengan adanya eosinofilia darah tepi dan jaringan (Leung, 2004). Paparan alergen menyebabkan sensitisasi system imun yang menyebabkan aktivasi sel termasuk eosinofil yang mengalami kemotaktik menuju organ sasaran menimbulkan inflamasi. Paparan yang terus menerus menyebabkan inflamasi yang

berkelanjutan pada mukosa hidung dan saluran nafas bawah (Platts-Mills, 2000). Walaupun sangat kurang hasil diperoleh dari otopsi, tetapi kemajuan dibidang bronkoskopi fiber optik untuk biopsi dan pengambilan materi dari saluran nafas, banyak mengisi kekurangan sehingga diketahui bahwa inflamasi adalah dasar patologi Asma. Hal ini ditunjang oleh kemajuan dibidang imunologi dan biologi molekuler, analisis yang lebih cermat terhadap sel inflamasi dan mediator menunjukkan bahwa ada banyak macam sel berperan dalam patofisiologi Asma dan bahwa tidak hanya satu mediator yang berperan dalam spasme dan hipereaktivitas bronkus

Pada pemeriksaan biopsi saluran nafas penderita yang meninggal karena Asma didapatkan hipertrofi otot polos, peningkatan jumlah kelenjar mukus dan sel goblet. Sel radang terlihat pada submukosa terutama eosinofil, dan terlihat pengelupasan epitel, sedangkan rongga saluran nafas penuh dengan mukus, sisa sel dan protein plasma (Dunill, 1990). Pada penelitian kasus penderita yang masih hidup dengan penyakit yang lebih ringan dengan biopsi melalui bronkoskopi ditemukan adanya pengelupasan epitel dan penebalan membrana basalis. Penelitian lebih jauh kedalam dengan elektron mikroskop ditemukan sel mast, eosinofil limfosit dan makrofag. Di lapisan submukosa didapatkan eosinofil limfosit, makrofag dan sel plasma (Laitinen, 1993). Penelitian awal dengan menggunakan bronkoskopi fiber optik secara kuantitatif membuktikan adanya infiltrasi eosinofil dan secara kualitatif peningkatan degranulasi sel mast dan eosinofil, serta penumpukan leukosit dan kolagen dibawah membrana basalis dengan efekron mikroskop diketahui adanya degranulasi sel Mast

Eosinofil terlihat dengan penampilan granula yang lebih terang dari pada matrik dibanding eosinofil normal yang lebih gelap (Beasley, 1989). Penggunaan teknik antibodi monoklonal didalam *immunohistochemistry* secara definitif dapat menentukan ada peningkatan jumlah eosinofil pada epitel dan submukosa sekaligus mengetahui ada peningkatan sel dengan IL-2R positif (IL-2R, CD25) (Azzawi, 1990). Jumlah CD25 dan eosinofil (Eg2<sup>+</sup>) ini sebanding (berhubungan) erat dengan reaktivitas bronkus pada uji profokasi metacholin (Bradley, 1991). Suatu penelitian immunohistokemika mendapatkan peningkatan jumlah makrofag pada mukosa. Pada pemeriksaan monoklonal antibodi makrofag ini tergolong fenotip monosit, sehingga disimpulkan bahwa terjadi penarikan aktif sel ini dari sirkulasi (Poston, 1992). Penyusupan eosinofil pada jaringan bronkus merupakan gambaran utama patologi Asma. Pengerahan eosinofil ke jaringan bronkus sangat tergantung pada IL-5, termasuk diferensiasi, proliferasi dan maturasi sel progenitor eosinofil didalam sumsum tulang (Hogan, 2000). Eosinofil merupakan sel penting dalam perubahan mukosa saluran nafas, petunjuk pertama adalah adanya hubungan bermakna antara eosinofilia dengan derajat berat ringannya asma. Hal ini didukung dengan ditemukannya "Creola bodies", Spiral dari Curshmann (Veza, 1998) dan kristal "Charcot Leyden" (Gambar 2.3) suatu produk eosinofil didalam cairan bronkus penderita Asma (Bousquet, 1990).



Gambar 2.3 Spiral dari Cushman,, kristal "Churcot Leiden" dan "Creola body" yang didapatkan dari bronchial lavage penderita Asma (Veza, 1998)

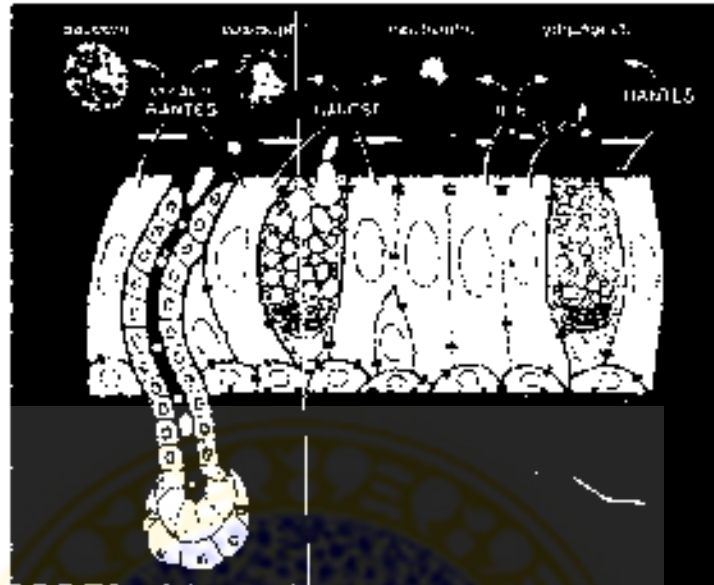
Perkembangan saat ini menunjukkan adanya peranan molekul adesi dan kemokin saling berinteraksi yang menyebabkan pengerahan leukosit pada jaringan spesifik (Bochner, 2000). Telah diketahui adanya peningkatan 50-100 kali eosinofil lebih banyak dibanding neutrofil pada mukosa saluran nafas penderita Asma. Kenaikan ini bukan suatu akibat dari satu kejadian, tetapi kumulatif suatu rangkaian 4 kali lipat migrasi eosinofil, terjadi dalam beberapa stadium sepanjang siklus hidup eosinofil. Stadium ini meliputi pertama, pada sumsum tulang yang dimotori oleh terutama IL-5 menyebabkan kenaikan eosinofil dalam sirkulasi sebanyak 4 kali lipat. Kedua perlekatan selektif eosinofil pada endotel venula karena pengaruh P-selectin/P-selectin glycoprotein ligand-1 dan aktivasi lambat antigen-4/vascular cell adhesion molecule-1 yang menyebabkan adesi eosinofil 10 kali neutrofil. Ketiga, kemotaksis selektif oleh CC-chemokines dan keempat, pemanjangan usia hidup eosinofil oleh IL-5. Rangkaian ini terjadi karena rangsangan aergen spesifik terhadap Th-2 yang melepaskan IL-5, IL-4, dan IL-13 (Wardlaw, 1999). Pada percobaan binatang IL-5 menyebabkan reaksi lambat dan menyebabkan infiltrasi eosinofil (Cieslewicz, 1999). Ekspresi IL-13 menyebabkan respons inflamasi monosit dan eosinofil, metaplasia sel

mukus, deposisi kristal Charcot-Leyden, fibrosis, produksi eotaxin, obstruksi saluran nafas dan hiper-reaktivitas saluran nafas non spesifik (Zhu, 1999). Penarikan, penyusupan, aktivasi dan eosinofil dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain C5a, *platelet activating factor* (PAF), LTB<sub>4</sub>, IL-2, IL-3, IL-5, IL-8, IL-16, *macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$*  (MIP-1 $\alpha$ ), *monocyte chemoattractant protein-2* (MCP-2), MCP-3, MCP-4, RANTES (*Response and Activation of Normal T cell Expression and Stimulation*) dan eotaxin (Resnick, 1993). Eotaxin adalah suatu kemokin dengan cistein ganda yang merupakan penarik eosinofil utama dan spesifik, mengerahkan eosinofil ke mukosa saluran nafas setelah paparan alergen (Gambar 2.4). Kadar Eotaxin mRNA diketahui meningkat setelah paparan alergen. TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  menginduksi mRNA eotaxin (Lilly, 1997). Ekspresi eotaxin selalu berhubungan dengan penyakit paru yang dimediasi oleh profil sitokin Th-2, sedangkan IP-10 (*IFN- $\gamma$  inducible protein 10*) ditemui pada penyakit paru yang dimediasi oleh profil sitokin Th-1 (Miotto, 2001). Eotaxin berperan dalam penarikan eosinofil dan basofil. Selain itu RANTES, GM-CSF, IL-6 dan IL-8 dihasilkan oleh epitel atas rangsangan alergen berperan dalam penarikan sel radang yang lain (Gambar 2.4). Beberapa penelitian membuktikan bahwa pemanjangan usia eosinofil disebabkan oleh pengaruh GM-CSF. Percobaan *in vitro* menunjukkan bahwa  $\beta$ -2 agonis juga menyebabkan pemanjangan usia eosinofil (Kankaanranta, 2000). Walaupun diketahui terjadi peningkatan eosinofil pada mukosa saluran nafas dalam 4 jam setelah terjadi paparan alergen, adanya IL-5 pada mukosa saluran nafas baru terjadi setelah 24 jam



kemudian. Hal ini membuktikan bahwa kehadiran eosinofil pada mukosa saluran nafas dipengaruhi oleh faktor lain atau sel mukosa saluran nafas berperan dalam pelepasan IL-5 (Liu, 2000). Penelitian selanjutnya membuktikan bahwa eosinofil berhubungan erat dengan derajat hipereaktifitas bronkus. Pada percobaan uji provokasi bronkus dengan alergen terjadi eosinopenia yang membuktikan bahwa ada penarikan eosinofil dari pembuluh darah ke mukosa saluran nafas yang kemudian diikuti eosinofilia lagi pada penderita Asma reaksi lambat (Cookson, 1989). Selain IL-5, IL-11 juga berperan dalam pengerahan eosinofil. IL-11 adalah sitokin yang diproduksi oleh berbagai sel stroma (Minshah, 2000). Pada penelitian dengan menggunakan kortikosteroid hirupan dibuktikan adanya penurunan jumlah eosinofil sangat erat hubungannya dengan penurunan hipereaktifitas bronkus. Eosinofil mempunyai sejumlah mediator yang menyebabkan inflamasi.

Ada empat mediator utama yang dikeluarkan oleh eosinofil yaitu pertama adalah "*Major basic Protein*" (MBP) yang mempunyai sifat sitotoksik terhadap epitel bronkus, menyebabkan kerusakan epitel. Tingginya kadar MBP dalam dahak berhubungan erat dengan derajat penyakit (Wardlaw, 1988) "*Eosinophil Cationic Protein*" juga sebagai mediator eosinofil, dapat diketemukan pada dahak dan serum pada waktu serangan asma dan provokasi alergen.



Gambar 2.4. Peranan Eotaxin dalam penarikan eosinofil dan basofil. Selain itu, RANTES, GM-CSF, IL-5 dan IL-8 dihasilkan oleh epitel atas rangsangan alergen berperan dalam penarikan sel radang yang lain. (Kankaranra 2000)

Kadar ECP menurun dengan pemberian kortikosteroid lebih cepat daripada penurunan jumlah eosinofil. Mediator ini sangat berperan pada kerusakan epitel mukosa saluran nafas. Selain itu juga dapat merubah struktur dan fungsi surfaktan saluran nafas pada penderita asma mengakibatkan penyumbatan jalan nafas bertambah buruk. Pada penelitian menggunakan antibodi monoclonal pada cairan bilas bronko-alveolar, kadar ECP berkorelasi kuat dengan perubahan struktur dan fungsi surfaktan (Höhlfeld, 2004). Penyusupan eosinofil kedalam submukosa merupakan suatu enigma. Salah satu sitokin eosinofil TGF- $\beta$ 1 merangsang miofibroblast mengeluarkan matriks ekstra seluler menyebabkan perbaikan epitel mukosa, di pihak lain TGF- $\beta$ 1 juga merangsang miofibroblast berproliferasi menyebabkan hiperplasi sehingga terjadi *airway remodeling* (Williams, 2004). Pada

percobaan binatang untuk mengetahui peranan IL-5 pada proses perubahan mukosa saluran nafas dipakai tikus yang defisiensi IL-5. Tikus ini disensitisasi dengan ovalbumin, kemudian dengan pemberian ovalbumin berulang selama 3 bulan. Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan bermakna pada tikus yang defisiensi IL-5 dalam hal fibrosis dan penebalan otot peribronkial disbanding dengan tikus normal. Hal ini membuktikan bahwa eosinofil berperan dalam terjadinya proses perubahan mukosa saluran nafas (Cho, 2004). Mediator yang lain adalah "*Eosinophil-derived neurotoxin*" (EDN) dan "*Eosinophil peroxidase*" (EPO) juga merupakan mediator inflamasi yang sering dipakai sebagai indeks aktifitas eosinofil. Eosinofil juga mengeluarkan metabolit asam arakidonat: terutama LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> dan PAF sehingga eosinofil bisa menyebabkan pelebaran pembuluh darah, kebocoran pembuluh darah dan spasme otot polos bronkus. Pada penderita Asma, eosinofil mempunyai usia hidup yang lebih panjang. Penelitian gabungan ahli dari Inggris dan Finlandia membuktikan kegagalan apoptosis eosinofil:

*"The results suggest that eosinophil apoptosis is delayed in Asthma. The delay may be partly explained by production of GM-CSF. The invitro use of  $\beta$ -2 agonists suggest that  $\beta$ -2 agonist use might contribute to the prolonged eosinophil survival through inhibition of apoptosis and thus may worsen eosinophilia in asthmatic patients. Use of inhaled glucocorticoids seems totally reverse the delayed eosinophil apoptosis in Asthma" (Kankuanranta, 2000).*

Dalam penelitian ini ingin diketahui apakah IL-3, IL-5 dan GM-CSF yang menyebabkan penundaan apoptosis eosinofil. Ternyata netralisasi GM-CSF, tidak IL-3 dan IL-5, meningkatkan kecepatan apoptosis eosinofil. Peneliti juga membuktikan

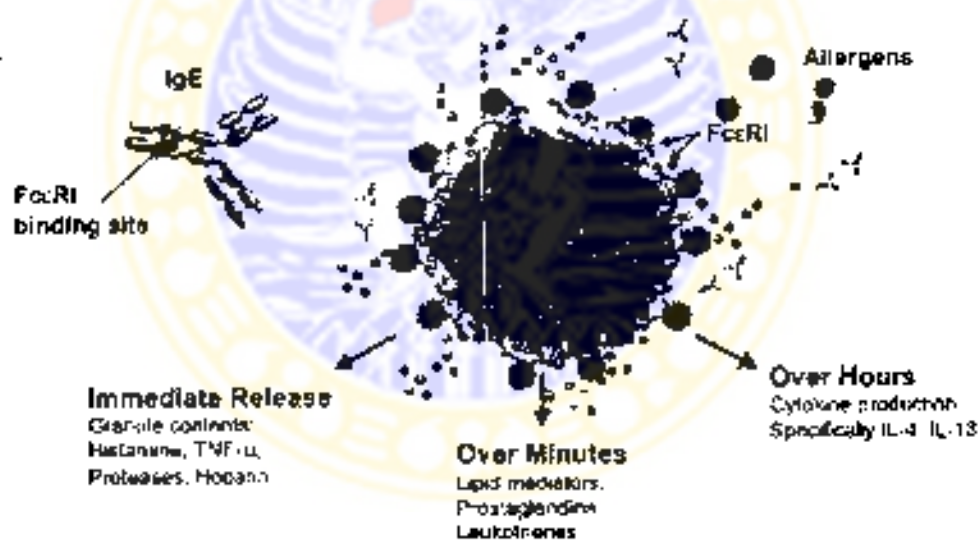
secara *in vitro* bahwa  $\beta$ -2 agonis menghambat apoptosis eosinofil. Dibuktikan pula bahwa pada penderita yang diobati dengan steroid hirupan, usia hidup eosinofil lebih pendek daripada pada penderita yang tidak diobati dengan steroid hirupan. Selain Eosinofil, sel mast mempunyai andil yang besar didalam peradangan mukosa dan telah lebih banyak dikemukakan lebih dulu daripada eosinofil. Sel Mast mempunyai reseptor pada permukaan sel yang sangat tinggi afinitasnya terhadap IgE (Fc $\epsilon$ RI). Sel ini ditemukan dalam jumlah besar kedalam dahak penderita asma. Derajat tingginya kadar histamin dan jumlah sel Mast didalam dahak setara dengan derajat penyempitan saluran nafas (Wardlaw, 1988).

Penelitian lain menunjukkan bahwa sel mast terdapat pada epitel saluran nafas (Laitinen, 1993). Sel mast yang ada di mukosa biasanya diberi nomenklatur MC<sub>F</sub> sedangkan yang berada di jaringan yang lebih dalam diberi tanda MC<sub>FC</sub>. Sel MC<sub>FC</sub> mengalami aktivasi juga oleh rangsang selain IgE misalnya C<sub>3a</sub>, C<sub>5a</sub>, MBP. Rangsangan ini cepat sekali melepaskan mediator siap bentuk, tetapi sedikit dari generasi eicosanoid. Sedangkan aktivasi MC<sub>F</sub> lebih banyak melepaskan mediator dari generasi eicasanoid dari asam arakidonat terutama PGD<sub>2</sub> (Wenzel, 1991). Peneliti lain menemukan peningkatan 9 $\alpha$  11  $\beta$  PGF<sub>2</sub> yang bersifat sebagai bronkokonstriktor (Liu, 1991). Pengobatan dengan kortikosteroid hirupan diketahui dapat menurunkan jumlah sel mast epitel dan submukosa (Djukanovic, 1992). Basofil juga bisa ditemukan pada cairan sekresi hidung dan saluran nafas penderita alergi. Sel ini mengalami kemotaksis oleh IL-3 dan GM-CSF, C5a, LTB<sub>4</sub>, PAF, IL-5 dan IL-8

(Tanimoto, 1992). Seperti sel mast, basofil akan melepaskan histamin karena rangsangan silang dari FcεR<sub>1</sub>. Bedanya hanya lebih banyak LTC<sub>4</sub> daripada PGD<sub>2</sub>. Pada Asma reaksi lambat, diketahui peningkatan kadar histamin dan PGD<sub>2</sub> dalam serum dan cairan bronkoalveolar 19 jam setelah paparan alergen. Ditemukan juga banyak sel basofil yang diduga mempunyai peranan besar terhadap tingginya kadar histamin (Liu 1991). Pola yang sama juga ditemukan pada reaksi kulit tipe lambat terhadap alergen dimana ada korelasi yang erat antara histamin dan sel basofil. Didalam jaringan paru, bukti bahwa basofil berperan dalam Asma didukung oleh penelitian lavage bronkoalveolar yang menunjukkan populasi sel yang memiliki morfologi, fenotip, dan kesamaan fungsi dengan basofil. Basofil mengadakan migrasi ke jaringan paru setelah terjadi paparan alergen. Pada percobaan in vitro basofil mensekresi IL-4 yang selanjutnya memacu proses inflamasi selanjutnya (Schroeder, 2001)

Pada Asma hampir selalu ditemukan kenaikan kadar IgE. Analisa genetic dari keluarga penderita menunjukkan bahwa hiper-reaktivitas bronkus berhubungan erat dengan kadar IgE. Didalam praktek, IgE spesifik sebagaimana ditunjukkan oleh uji kulit baik in vivo maupun in vitro pada umumnya dipakai sebagai pedoman untuk mendeteksi adanya induksi gejala alergi pada saluran nafas atas dan sebagai panduan pelaksanaan sanitasi lingkungan pada alergen hirupan. Degranulasi sel Mast yang diinduksi oleh IgE melalui FcεR<sub>1</sub> mencetuskan pengeluaran mediator vaso-aktif, merangsang sintesis prostaglandin dan leukotrin dan transkripsi sitokin (Gambar 2.5).

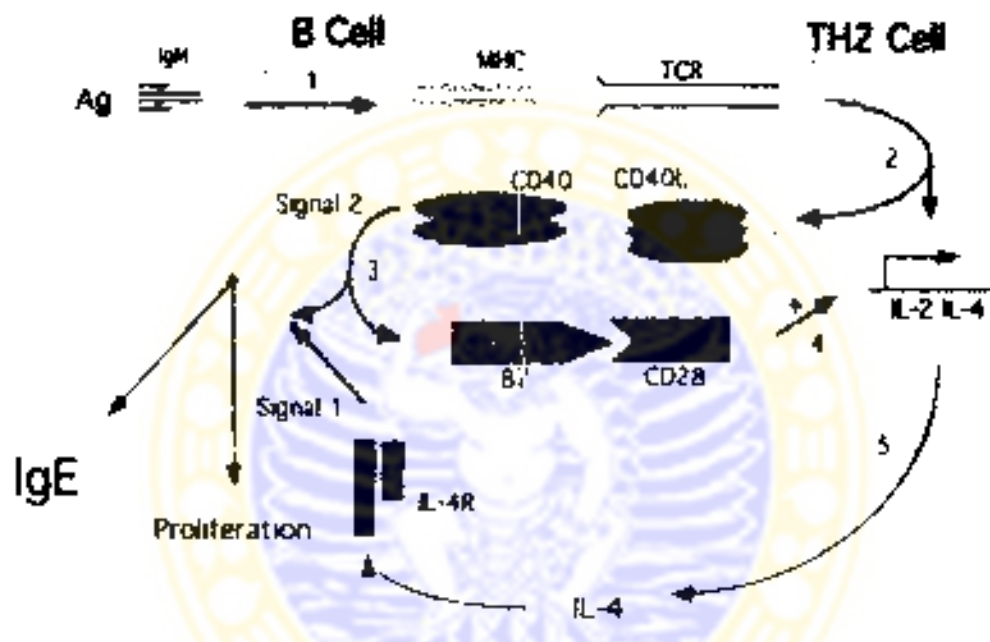
Pada mukosa saluran nafas hal ini menimbulkan reaksi cepat yang menyebabkan sembab mukosa, produksi mukus, konstriksi otot polos dan penyusupan sel inflamasi. Reaksi cepat seringkali disusul oleh reaksi fase lambat, suatu gelombang hipersensitivitas kedua yang terjadi beberapa jam setelah paparan alergen, pada Asma manifestasinya terjadi setelah 4-8 jam. Dipostulasikan bahwa gejala saluran nafas yang kronik adalah akibat dari reaksi lambat yang persisten pada keadaan paparan alergen yang terus menerus. Terdapat bukti pada penelitian pada manusia dan model binatang bahwa interaksi IgE dan sel Mast menimbulkan baik reaksi cepat maupun reaksi lambat. Sebagai tambahan aktivasi sel Mast oleh IgE melalui FcεR1, IgE juga beri.



Gambar 2.5 Interaksi IgE, FcεR1 dan Sel Mast dalam reaksi cepat dan reaksi lambat (Brisie, 2001)

Interaksi IgE-CD23 memungkinkan terjadinya mekanisme dimana interaksi IgE-alergen spesifik mengaktifkan respons seluler dan humoral bilamana paparan alergen berulang terjadi. Interaksi ini meningkatkan kapasitas penampilan antigen oleh sel B

yang berakibat meningkatnya respons Th-2. Produksi IL-4 oleh sel Mast dipacu oleh interaksi IgE melalui FcεRI. Sitokin IL-4 mendukung diferensiasi dan penyebaran Th-2 yang kemudian menyajikan 2 sinyal yaitu IL-4 dan CD40L yang meningkatkan produksi IgE oleh sel B (Oettgen, 1999) (Gambar 2.6)



Gambar 2.6 Interaksi antara Sel B dan Sel T pada proses Alergi pada Asma. IgM memfasilitasi pengambilan antigen oleh Sel B spesifik menyebabkan proses pengenalan (1) dan presentasi pada Sel T dalam konteks MHC kelas II dan TCR menyebabkan ekspresi CD40L (2). Setelah mengadakan agregasi dengan CD40 menyebabkan ekspresi B7 (CD80) (3). Interaksi CD80 dengan CD28 dipermukaan sel T menyebabkan sinyal (4) dan sintesis sitokin (5) dan proliferasi Sel T berakibatkan meningkatkan penampakan antigen oleh sel B yang berakibat meningkatnya respons Th 2. IL-4 mendukung diferensiasi dan penyebaran Th 2 yang kemudian menyajikan 2 sinyal yaitu IL-4 dan CD40L meningkatkan produksi IgE oleh sel B (Oettgen, 1999)

Sel Mast sebagai sel efektor inflamasi alergi memerlukan aktivasi dari berbagai macam proses inflamasi yang dimediasi oleh sel T. Sel T juga berkemampuan memproduksi IL-3 yang merangsang sel Mast dan TGF- $\beta$  yang menghambat sel Mast. Ekspresi CD40L pada sel Mast dan kemampuannya melepaskan IL-4 dan IL-13 melengkapi rangsangan sintesis IgE oleh sel B. Aktivasi terhadap sel Mast ini

menyebabkan migrasi secara langsung oleh kemotaktik seperti lymphotactin dan IL-16 atau secara tidak langsung melalui induksi ekspresi molekul adesi pada sel endotel. Sel Mast juga mempunyai kemampuan untuk menginteraksikan antigen pada sel T sehingga terjadi aktivasi MHC klas I ataupun MHC klas II dan faktor kostimulasi yang lain (Gambar 2.7)



Gambar 2.7. Interaksi beberapa sel dan mediatornya dalam pathogenesis asma (Mekori, 1999)

Kontak interseluler yang diperantarai oleh molekul adesi maupun MHC klas II menyebabkan degranulasi sel Mast dan pengeluaran sitokin oleh sel T. Salah satunya adalah  $\beta$ -chemokin dapat menyebabkan degranulasi sel Mast tanpa adanya antigen. Sedangkan IL-4 yang dikeluarkan oleh sel Mast menyebabkan polarisasi sel T menjadi Th-2 (Mekori, 1999)



Limfosit didalam asma berperan sebagai kordinator proses peradangan walaupun jumlah absolutnya tidak banyak dilaporkan perannya, bintik menunjukkan bahwa aktifitas sel limfosit mengalami aktifitas dan terdapat peran yang berbeda pada subklasnya.  $Th_2$  berperan pada asma. Biopsi bronkus yang dilakukan 24 jam setelah hirupan alergen menunjukkan peningkatan jumlah sel yang berisi mRNA untuk IL-5 dan GM-CSF (Bentley, 1993). Cairan bronkus penderita asma ringan dengan pemeriksaan "*in situ hybridization*" menunjukkan ekspresi mRNA untuk IL-2, IL-3, IL-4, IL-5 dan GM-CSF dibanding kontrol, dan dapat dibuktikan sitokin ini berasal dari sel limfosit (Robinson, 1992). Netrofil adalah sel keradangan yang kuat, keradangan didalam asma banyak diteliti. Granulnya mengandung enzim lisosom hidrolase, protease, lysozim, myeloperoksidase dan kolagenase. Jika mengalami aktifitas, netrofil mengeluarkan superoksid dan derivat eicosanoid termasuk LTB<sub>4</sub> dan PAF, juga mediator dan sitokin yang sangat berperan dalam keradangan. Faktor kemotaktik untuk netrofil adalah C5a, LTB<sub>4</sub>, PAF, FMLP dan IL-8. Pengerahan netrofil diawali dengan pelekatan pada endotel dijembatani oleh famili selectin dari molekul adesi. Adesi yang kuat memerlukan aktifitas  $\beta_2$  integrin pada permukaan sel netrofil yang dipacu oleh faktor dari endotel seperti IL-8, PAF, dan netrofil (Smith, 1991). Untuk aktifitas integrin diperlukan rangsangan IL-8 yang dipacu oleh CD44 endotel. Perlekatan yang kuat pada endotel pembuluh darah dipacu oleh  $\beta_2$  integrin aktif dan ICAM-1 (Tanaka, 1993). Pada asma reaksi lambat beberapa peneliti menemukan peningkatan jumlah netrofil pada cairan bronkoalveolar (Metzger, 1987).

Makrofag dan monosit didalam proses peradangan pada Asma peranannya belum jelas peranannya lebih banyak pada aktivasi kembali " T memory cell". Makrofag alveolar paru berfungsi sebagai imunomodulator dan menekan sel T terhadap rangsang antigen, sedangkan sel yang matang lebih banyak merangsang sel T (Holt, 1993). Makrofag dapat melepaskan derivat eicosanoid terutama TXA<sub>2</sub>, LTB<sub>4</sub>, PAF, fragmen komplemen, dan sitokin antara lain TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, GM-CSF, "*Platelet derived growth factor*" (PDGF) dan TGH- $\beta$ . Juga dapat membuat superoksida dan enzim proteolitik, akan tetapi perannya didalam asma belum jelas. Monosit darah tepi menunjukkan peningkatan ekspresi FC $\epsilon$ R2, reseptor komplemen (C1)-1, CR-3, HLA - DD dan formasi roset setelah provokasi alergen. Kultur sel ini juga menunjukkan peningkatan TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8 dan GM-CSF. Sel-sel peradangan diatas tidak berfungsi sendiri-sendiri bukti menunjukkan bahwa interaksi antar sel terjadi didalam patofisiologi asma.

Interaksi antar sel ini selain melancarkan penyusupan eosinofili juga menimbulkan kerusakan epitel hipereaktifitas saluran nafas, kebocoran pembuluh darah sekresi berlebihan dari lendir, dan kontriksi bronkus.

Beberapa penelitian menyimpulkan bahwa kerusakan epitel pada asma disebabkan oleh proses peradangan. Kerusakan epitel ini diawali dengan kerusakan sambungan antar sel sehingga memudahkan alergen masuk dan mengadakan paparan dengan syaraf tepi pada beberapa biopsi dapat perlihatkan jaringan syaraf di beberapa lokasi, terdapat pengelupasan total permukaan epitel yang mungkin bisa

menerangkan terjadinya hipereaktifitas terhadap metakolin (Jeffroy, 1989). Peradangan pada submukosa yang mempengaruhi integritas epitel terutama oleh mediator eosinofil seperti MBP, ECP dan peroksidase. Terbukanya sel selindris, melebarnya rongga antar sel berhubungan dengan meningkatnya rongga hipereaktifitas saluran nafas dalam peningkatan jumlah eosinofili (Okashi, 1992).

Sel epitel dapat menghasilkan metabolit asam arakidonat antara lain 15-HETE yang bisa meningkatkan produksi lendir, PGE2 dan PGF. Selain itu endothelin juga menyebabkan vasokonstriksi. Nitric okside (NO) yang dihasilkan oleh epitel lebih berfungsi efek bronkokontraksi. Pada keadaan inflamasi pengeluaran NO terjadi lebih banyak. Hal ini juga terjadi pada asma yang sudah terjadi airway remodelling, pengeluaran NO terjadi lebih hebat (Mahut, 2004). Selain brokokonstriksi, NO mempunyai efek yang bermanfaat yaitu mempercepat apoptosis eosinofil dengan cara menghambat IL-5 dalam fungsinya sebagai aktivator dan *prolong life span eosinofil*. "Neural endopeptidase (NEP) dijumpai pada basal epitel berfungsi untuk memecah tachykinin, berperan untuk mengendalikan peradangan nerogenik (Nadel, 1992). Penggunaan kortikosteroid akan mengurangi peradangan nerogenik dengan mengaktifkan NEP. Ekspresi molekul adesi epitel sangat penting dalam patogenesis asma. Biopsi bronkus menunjukkan ekspresi ICAM-1 pada penderita asma dan kontrol, pada epitel sedangkan ICAM-1 dan E selectin pada endotel, epitel bronkus adalah sumber potensial sitokin. Dengan pemeriksaan immunohistochemistry, PCR dan Elisa pada biopsi bronkus dapat dibuktikan kadar yang tinggi dari GM-CSF, IL-6 dan IL-8 pada penderita asma (Marini, 1992). Kortikosteroid mencegah pembuatan

sitokin ini. Platelet Activating Factor (PAF), pertama kali dikenal sebagai suatu faktor yang dikeluarkan oleh leukosit yang bisa merangsang platelet untuk mengadakan agregasi dan mengeluarkan histamin. Disintesa pada membran sel dari phospholipid oleh phospholipase A<sub>2</sub>. Kasiat PAF yang terpenting pada Asma adalah bronkokonstriksi saluran nafas (Spencer, 1992).

Keradangan neurogenik mempunyai kontribusi pada peradangan saluran nafas. Mekanismenya diduga karena terjadinya peningkatan paparan dan sensitifitas komponen aferen dari refleks saluran nafas, distribusi yang abnormal dari neuron, jumlah dan pengeluaran neurotransmitter yang abnormal, ketidak seimbangan jumlah dan fungsi "pre" dan "post junctional receptor". Konsep lain yang menerangkan hal ini adalah pengembangan jalur "Nonadrenergic non cholinergic" (NANC) dengan neurotransmitter yang menunjukkan kelainan-kelainan ini memberi sumbangan penting pada peradangan saluran nafas (Daniele 1992) Syaraf otonom dan resepto-reseptornya juga mempunyai peran didalam asma. Syaraf parasimpatik mempunyai rangsangan bronkokonstriksi pada saluran nafas. Tonus kolinerjik yang abnormal sudah banyak diketahui sebagai penyebab penyempitan saluran nafas terutama pada asma dengan pencetus serangan berupa udara dingin, sulfur dioksida dan refluk esofagus. Adanya penderita asma yang dapat diinduksi dengan pilokarpin dan membaik dengan pemberian obat antikolinergik mendukung teori ini. Hanya sedikit bukti yang mendukung adanya tonus vagus pada asma walaupun hal ini masih relevan untuk asma malam (*Nocturnal Asthma*). Teori lain menyebutkan bahwa beberapa mediator seperti histamin, prostaglandin dan bradikinin merangsang

reseptor sensori pada saluran nafas yang terbuka sehingga menimbulkan reflek spasme bronkus terutama jika akson terpapar karena kerusakan epitel atau hipersensitif pada jaringan yang mengalami peradangan. Aktifitas kolinergik yang berlebihan juga bisa disebabkan efek modulasi sistem simpatis dan NANC.

Jadi peradangan merupakan proses dasar dalam patofisiologi asma yang mengakibatkan terjadinya sembab mukosa hipersekreasi lendir, spasme otot polos bronkus dan inflamasi yang menyebabkan hipereaktifitas saluran nafas . Inflamasi kronik menyebabkan kerusakan jaringan dan penyembuhan dengan perbaikan jaringan, terjadi regenerasi yaitu penyembuhan dengan jaringan yang sama, atau penggantian dengan jaringan lain menyebabkan jaringan parut. Proses yang terjadi disebut "*Airway remodelling*" (Gambar 2.8), suatu proses yang heterogen dimulai dari diferensiasi sel, migrasi, dan maturasi hingga perubahan disposisi jaringan ikat. Penyempitan saluran nafas diperberat dengan terjadinya hiperplasia kelenjar mukus, vaskularisasi baru, fibrosis dan penambahan masa otot polos (Vignola, 2000). Otot polos saluran nafas kelihatannya merupakan faktor yang penting dalam tonus bronco motor dan mungkin sekali berperan dalam modulasi peradangan saluran nafas. Kemajuan saat ini menunjukkan bahwa sitokin merangsang sel-sel otot polos saluran nafas untuk mengeluarkan sitokin, kemokin, faktor pertumbuhan dan merangsang ekspresi molekul adesi sel. Ini semua akan memacu terjadinya peradangan sub-mukosa. Bukti-bukti terakhir menunjukkan bahwa provokasi alergen merangsang otot polos saluran nafas dan sel interstisial mengadakan *upregulation* terhadap *RANTES* dan *VICAM-1* pada penderita Asma.(Busse, 2000). "*Airway remodelling*" terjadi

karena beberapa kelainan anatomis yang diakibatkan interaksi sel, mediator yang timbul dan kerusakan akibat keduanya

. Kelainan anatomis yang terjadi adalah penebalan saluran nafas, *fibrosis subepitel*, bertambahnya masa miosit otot dan *hiperplasia miofibroblast* (Elias, 1999).



Gambar 3.3. Airway remodeling pada Asma: a. Mucus plug, b. hiperplasi otot dan kelenjar, c. penebalan sub-epitel dan penyusupan sel radang (Elias, 1999)

#### Toleransi imun pada asma.

Percobaan pada tikus menunjukkan bahwa provokasi dengan alergen dalam waktu 3 hari berturut-turut menyebabkan hiporesponsif pada sel T dan berkaitan dengan timbulnya sel T regulator. Produksi IgE spesifik terhadap ovalbumin menurun, tetapi IgG1 dan IgG2a tidak menurun mengindikasikan bahwa toleransi imun dipicu dengan provokasi ini, dan hiper-reaktivitas jalan nafas diturunkan. Stimulasi selanjutnya menimbulkan penurunan produksi IL-4 oleh sel T yang sensitif terhadap ovalbumin dalam interaksinya dengan sel dendritik, namun produksi IL-10 tidak menurun. Untuk mempelajari sel T yang memproduksi IL-10 lebih lanjut, maka sel ini ditransfer pada tikus yang lain yang sensitif terhadap ovalbumin, ternyata hiper-reaktifitas jalan nafas dan peradangan menurun. Penelitian ini menunjukkan

bahwa sel T regulator yang menghasilkan IL-10 mempunyai efek menghambat pada sel Th-2. Diduga paparan normal dengan alergen hirupan akan menimbulkan toleransi imun. Terjadi perkembangan menjadi Th-2 oleh karena kegagalan produksi IL-10, atau penyimpangan produksi berlebihan IL-4 dan IL-13. Selain T regulator (TR), sel lain yang berfungsi sebagai regulator adalah sel Th-1, TR-1, CD4+CD25+, Th-3 dan (NK)T. Sel Th-3 dirangsang oleh alergen oral kemudian menghasilkan TGF- $\beta$ , IL-4 dan IL-10. Pada penelitian eksperimental sel ini menghambat auto imun ensefalitis. Diduga kuat sel ini mempunyai efek menghambat sel T patogen-auto antigen spesifik. Sel TR-1 dibawah pengaruh IL-10 menghasilkan kadar tinggi IL-10, IL-2 yang rendah dan tanpa produksi IL-2. Pada penelitian eksperimental sel ini mencegah terjadinya kolitis. Berbeda dengan Th-3, sel ini tidak memproduksi TGF- $\beta$ . Sel TR berkembang selama kultur sel dendritik, memproduksi IL-10 dan selama proses toleransi saluran pernafasan. Sel ini diketahui menghambat *airway hyper-reactivity*. Sel CD4+CD25+, mengekspresi IL-2Ra, menghambat auto imunitas organ spesifik, penolakan allograf dan menginduksi *self-tolerance*. Sel (NK)T memproduksi cepat dalam jumlah banyak IL-4, IL-13 dan IFN- $\gamma$ . Sel ini menghambat penyakit auto imun, pada tikus menyebabkan serangan asma (Umetsu, 2004).

#### Alergen.

Alergen adalah benda asing dalam lingkungan penderita yang menimbulkan respons imun menyimpang dan menyebabkan gejala alergi. Alergen bukan satu-

satunya pencetus serangan Asma. Ada beberapa faktor lain misalnya infeksi virus, polusi, psikis dan fisik. Alergen penyebab serangan Asma bisa berupa makanan, obat, alergen suntikan, alergen kontak dan alergen hirupan misalnya tepung sari bunga, debu rumah. Di negeri barat diteliti bahwa dalam debu rumah terdapat bermacam komponen alergen antara lain serpih kulit kucing, anjing, tepung sari bunga, *Alternaria*, *Cladosporium*, dan tungau (Barnes, 2001). Sayang di Indonesia belum pernah diteliti mengenai hal ini. Dibagian dunia yang beriklim tropis dan kelembaban udara yang tinggi tungau merupakan sumber alergen utama dalam debu rumah. Tungau debu rumah termasuk suborder *Astigmata*, famili *Pyroglyphidae*, terdiri dari 16 genus dan 46 spesies. Tigabelas spesies ditemukan pada debu rumah, 3 diantaranya paling banyak ditemukan diseluruh dunia dan merupakan alergen utama debu rumah yaitu *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus* dan *Euroglyphus maynei*. Makanan utama tungau adalah serpih kulit. Dalam 20 tahun terakhir ini telah banyak diketahui bahwa alergen utama dari tungau adalah serpih badan dan tinja tungau (Arlan, 2001). Setelah mati bahan cair badan tungau keluar. Beberapa protein yang terkandung merupakan alergen. Pemberian nama alergen dengan cara menulis tiga huruf genus diikuti satu huruf depan spesies terakhir angka urutan alergen diisolasi atau karakteristik alergen menurut homologi dan berat molekul. Contoh: Der p 1, Der f 2, Alt a 70kD. Menurut komposisi biokimia, homologi berat molekulnya alergen tungau dibagi menjadi dua grup. Grup 1: suatu glikoprotein dengan aktivitas enzim protease kistein. Alergen ini berasal dari bahan-bahan saluran cerna tungau. Der p 1 dapat memecah reseptor CD23 IgE pada dinding



sel B dan CD25 reseptor Sel T. Der p 1 dan der f 1 80% secara homologi mempunyai reaktivitas silang. Grup 1 dikeluarkan dalam bentuk *preprotein* yang diaktifkan kemudian oleh glutation yang ditemui pada mukus saluran nafas. Grup 2 merupakan alergen dengan berat molekul 14 kd, protein non glikosilat rupanya protein yang berasal saluran reproduksi tungau jantan. Der p 2 dan *Der f 2* memiliki 88% kesamaan homologi. *Der p 2* dan *Eur m 2* mempunyai kesamaan epitop yang tidak dipunyai oleh *Der f 2*. Sebagai alergen produk tungau ini membangkitkan reaksi melalui induksi IgE. Ada reaktivitas silang diantara alergen beberapa spesies tungau *Lepidoglyphus destructor*, *Glycyphagus domesticus* dan *Tyrophagus putrescentiae* yang sering menyebabkan alergi pada petani, pembuat roti dan petani gandum dilaporkan saling mempunyai reaksi silang. Dalam penelitian dengan menggunakan RAST ternyata ada reaksi silang yang kuat antara *Gly d 2*, *Lep d 2* dan *Tyr p 2*, tetapi hanya sedikit reaksi silang dengan *Der p 2* (Gavfelin, 2001). Peneliti lain menemukan reaksi silang yang kuat antara *Der p 2*, *Der f 2* dan *Lep d 2* (Park, 1999). Akhir-akhir ini, bukti makin banyak bahwa endotoksin dalam debu rumah mempunyai peran dengan dua sisi yang berbeda pada Asma. Satu sisi terbukti bahwa kadar endotoksin yang tinggi dalam lingkungan rumah menunjukkan peningkatan derajat Asma, disisi lain diketahui bahwa endotoksin merupakan induser sitokin Th-1 antara lain IL-12 dan IFN- $\gamma$  dengan demikian menekan efek sitokin Th-2. Kadar endotoksin tinggi dalam rumah yang ada hewan piaraan misalnya anjing atau kucing, rendah jika dalam rumah ada AC sentral (Gereda, 2001).

## 2.4. Diagnosis Asma

Secara klinis diagnosis asma dibuat dengan adanya batuk dan mengi yang berulang. Pada beberapa kasus dengan gejala batuk non produktif menetap, bersifat kronik terutama malam hari batuk dan nafas pendek waktu latihan, walaupun belum ada tanda-tanda mengi. Penderita penderita semacam ini akan mengalami perbaikan dengan obat-obat yang biasa digunakan untuk asma (Ellis, 1987). Uji fungsi paru dengan menggunakan spirometer pada anak-anak yang sudah bisa kooperatif akan mempertegas diagnosis walaupun pada asma derajat ringan. Pada umumnya digunakan "*peak expiratory flow rate*" (PEFR) dan "*Forced expiratory volume at one second*" (FEV<sub>1</sub>). PEFR adalah volume aliran udara maksimal selama hembusan nafas yang sekuat-kuatnya, dinyatakan dalam satuan liter per detik (L/sec). Pada penderita asma ringan yang tanpa gejala pada waktu kunjungan dapat dilakukan dirumah selama 14 hari pagi dan sore dicatat, akan diperoleh variabilitas PEFR dengan rumus:

$$\frac{A_1 + A_2 - B_1 - B_2}{A_1 + A_2} \times 100\%$$

A<sub>1</sub> adalah PEFR tertinggi, A<sub>2</sub> adalah PEFR tertinggi kedua, B<sub>1</sub> adalah PEFR terendah B<sub>2</sub> adalah PEFR terendah kedua.

Variabilitas PEFR pada asma ringan adalah lebih besar dari 15%.

FEV<sub>1</sub> merupakan pengukuran yang paling sensitif dan bisa diulang lagi untuk pengamat yang lain. Pengukuran FEV<sub>1</sub> dapat diperoleh dari hembusan maksimal

sekuat-kuatnya dari hirupan sedalam-dalamnya. Untuk diagnosis asma  $FEV_1$  diukur sebelum dan sesudah hirupan bronkodilator. Perbaikan sebesar lebih dari 12% menunjukkan adanya penyempitan yang reversible. Sebagaimana penyakit saluran nafas obstruktif dimana terjadi hambatan hambusan aliran udara maksimal rasio  $FEV_1/FVC$  sering juga digunakan dimana pada Asma terdapat penurunan umumnya rasio  $FEV_1/FVC$  sebesar 0.80 dianggap normal (Wenzel, 1996). Uji latihan (*Exercise test*), digunakan untuk menunjukkan labilitas jalan nafas pada penderita Asma. Dilakukan latihan selama 6 menit pada nadi 120/menit, didapatkan penurunan  $FEV_1$  lebih dari 15% dari sebelum latihan.  $FEV_1$  80% atau lebih dari prediksi normal dimasukkan kedalam asma ringan,  $FEV_1$  antara 60%-80% dari prediksi normal termasuk Asma sedang,  $FEV_1$  kurang dari 60% prediksi Normal termasuk kedalam asma berat (Fuhlbrigge, 2001). Uji provokasi hirup dipakai untuk menentukan derajat hipereaktifitas jalan nafas. Pada uji ini serial fungsi paru biasanya  $FEV_1$  diambil sebelum dan sesudah hirupan beberapa tingkat konsentrasi obat bronkokonstriktor. Pada umumnya penurunan 20%  $FEV_1$  pada konsentrasi bronkodilator 8 mg/ml menunjukkan adanya hipereaktifitas (Cropp, 1980, Ellis 1987, Wenzel, 1996).

## **2.5. Penatalaksanaan Asma**

### **2.5.1. Farmakoterapi**

Penatalaksanaan Asma pada saat ini meliputi edukasi, penghindaran alergen, farmakoterapi, dan imunoterapi pada penderita yang sensitif terhadap alergen hirupan. Namun belum bisa diterapkan dengan baik sehingga pengobatan masih

mengandalkan farmakoterapi. Mengingat patofisiologi penyakit Asma yang pada dasarnya proses peradangan merupakan komponen utama, maka penggunaan kortikosteroid adalah paling rasional dalam penatalaksanaan Asma. Obat-obat bronkodilator harus tetap diberikan terutama  $\beta$ -2 agonis dan teofilin, pada beberapa penderita non atopi kadang perlu ditambahkan obat-obat antikolinergik.

Pada asma ringan peranan kortikosteroid sebagai imunomodulator dan mengurangi hipereaktifitas bronkus biasanya diserahkan pada kromolin sodium atau nedokromil (Simon, 1996). Pada saat ini kortikosteroid digunakan untuk serangan asma akut, asma kronis maupun status asmatikus. Tetapi kortikosteroid hirupan untuk pencegahan maupun pengobatan digunakan pada asma sedang (Simon, 1996). Pada Asma ringan dan sedang budesonid hirupan memberikan hasil yang baik seperti nedokromil, hanya saja budesonid mempunyai kasiat menurunkan hipereaktifitas bronkus dan mengontrol gejala Asma lebih baik (The Childhood Asthma Management Program Research Group, 2000). Budesonid memberikan kasiat kerja yang panjang dibanding Fluticasone propionat. Setelah 6 jam penyemprotan pada trachea tikus percobaan, budesonide masih menunjukkan penurunan TNF- $\alpha$ , dan jumlah monosit pada cairan bilas bronkus, dan tidak terjadi pada fluticasone propionat. Hal ini membuktikan bahwa Budesonide mempunyai kasiat lebih panjang pada pemberian lokal dan selektifitas yang lebih tinggi, kemungkinan disebabkan karena esterifikasi asam lemak yang reversible (Miller-Larson, 2000). Untuk tujuan menurunkan peradangan ini kortikosteroid yang dipakai adalah glukokortikoid. Cara

kerja glukokortikoid adalah: pertamakali glukokortikoid masuk kedalam dinding selaput plasma sel bergabung dengan reseptor glukokortikoid membentuk suatu kompleks disebut glucocorticoid receptor complex (GRC). Komplek ini kemudian masuk kedalam inti, berikatan dengan "*glucocorticoid response elements (GRE)*" yang merupakan perangsang gen sehingga terjadi transkripsi gen. GRE juga menyebabkan terjadinya ekspresi "*glucocorticoid response mRNA*". Hasilnya adalah rangsangan terhadap reseptor beta dan menurunnya kepekaan sel terhadap rangsangan mediator peradangan. Penulis lain mengatakan, dengan proses trans-represi glukokortikoid menghambat faktor transkripsi NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor kappa B) dan AP-1 (Activator Protein-1) berakibat menurunnya ekspresi gen yang menyandi sitokin inflamasi seperti RANTES (Jaffuel, 2000). Sebaliknya mediator peradangan mengaktifkan faktor transkripsi "*activating protein-1*" (AP-1) yang mempengaruhi gen yang menghasilkan mediator peradangan, glukokortikoid melalui GRC dapat mengikat AP-1 sehingga tidak aktif dan mencegah efek transkripsi pro inflamasi (Baraniuk, 1996). Dexamethasone menghambat induksi eotaxin mRNA oleh TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  dengan akibat menurunnya produksi dan sekresi protein eotaxin (Lilly, 1997). Glukokortikoid juga mempunyai titik tangkap pada monosit. Hal ini diteliti pada penderita Asma atopi dibandingkan Asma non atopi. Ekspresi rantai  $\alpha$  Fc $\epsilon$ RI pada monosit diukur dengan "*flow cytometry*", diberi perlakuan dengan glukokortikoid Fc $\epsilon$ RI juga diukur in vitro dengan dan tanpa stimulasi IL-4, IL-13, GM-CSF dan Glukokortikoid. Hasilnya adalah modulasi ekspresi Fc $\epsilon$ RI pada dua

jalur yang berbeda. Pertama peningkatan ekspresi oleh IL-4 dan IL-13. Kedua penekanan ekspresi oleh glukokortikoid (Gosset, 2001). Pada pengobatan 3 hari dengan prednison oral menunjukkan hambatan pada ekspresi mRNA, protein dari sitokon Th-2 terutama IL-4 dan IL-5, sitokin Th-1 antara lain IL-1 dan TGF- $\alpha$ , tetapi tidak GM-CSF. Studi ini membuktikan bahwa prednison menghambat banyak komponen inflamasi saluran nafas termasuk pengerahan sel, ekspresi molekul adesi, permeabilitas vaskuler saluran nafas dan sitokin yang berperan dalam imunitas saluran nafas dan remodelling (Liu, 2001). Lebih lanjut diketahui bahwa kortikosteroid menghambat transkripsi IL-4, IL-5 dan IL-13 yang rupanya merupakan kunci keberhasilan kortikosteroid dalam pengobatan alergi (Barnes, 2001)

Karena glukokortikoid sistemik banyak dipertimbangkan efek sampingnya yang banyak, maka akhir-akhir ini banyak dipakai glukokortikoid hirupan yang bekerja lokal. Di antaranya yang banyak diteliti adalah budesonid. Pada penelitian acak buta ganda kontrol plasebo silang, yang ingin membuktikan apakah kasiat dosis tunggal budesonide pada penurunan eosinofil sputum dengan apoptosis. Terjadi penurunan hiper-reaktifitas saluran nafas, tetapi tidak terbukti adanya apoptosis eosinofil pada pemberian budesonide tunggal setelah 6 jam (Gibson, 2001). Pada penelitian lain terbukti bahwa budesonide menghambat aktivasi eosinofil melalui hambatan pada fibroblas jaringan paru yang mungkin sekali karena pengaruh budesonide pada hambatan produksi GM-CSF. Pada pemberian yang lebih lama budesonide menghambat langsung pada aktivasi eosinofil (Spoelstra, 2000). Pada penelitian

menggunakan budesonid selama 2 bulan pada anak-anak Asma dengan dosis 400-800 $\mu$ g dibuktikan adanya penurunan ICAM-1 sirkulasi dan perbaikan uji fungsi paru secara bermakna (Cengizlier, 2001). Budesonid hirupan diberikan dengan dosis yang bervariasi. Umumnya dipakai pedoman dosis rendah antara 100-400 $\mu$ g, dosis sedang antara 400-1000 $\mu$ g, dosis tinggi antara 1000-1600 $\mu$ g (Nuhoglu, 2001; Shapiro, 2001; Turkas, 2001). Pada penderita Asma yang diobati dengan budesonide hirupan dengan dosis 200  $\mu$ g dua kali sehari selama 7-8 hari, diketahui dapat menekan jumlah eozinofil dan basofil dalam darah tepi, kadar GM-CSF pada koloni eozinofil/basofil, tetapi tidak IL-4 pada koloni eozinofil/basofil (Gavreau, 2000).

Glukokortikoid mempunyai sejumlah efek samping yang serius terutama pada pemberian sistemik jangka panjang antara lain terjadinya peningkatan tekanan darah, hiperglikemia, gangguan pertumbuhan, gangguan kalsifikasi tulang, katarak, aktivasi tb paru, penekanan poros HPA, gejala Cushing dan gejala lokal kandidiasis dan aphoni karena atrofi plica vokalis. Untuk menghindari efek samping ini maka digunakan glukokortikoid lokal dengan cara dihirup. Penggunaan budesonid hirupan sampai dosis 400 $\mu$ g selama 3-6 tahun pada anak tidak menunjukkan gejala gangguan pertumbuhan:

*"We conclude that inhaled budesonide in doses up to 400 $\mu$ g per day does not stunt growth in children with asthma and that early intervention with this treatment may prevent the development of irreversible airway obstruction and reduce the risk of under-treatment. Finally, continuous long-term treatment is not associated with the development of tachyphylaxis (Agertoft, 1994)".*

Pada penelitian ini 116 penderita Asma anak diberi perlakuan dengan budesonid 400 $\mu$ g per hari selama 2-6 tahun dibandingkan dengan 62 penderita Asma anak dengan pengobatan teofilin,  $\beta$ -2 agonis dan sodium kromoglikat tanpa budesonid selama 3-7 tahun. Selain tidak ada gangguan pertumbuhan, grup budesonid menunjukkan keunggulan bahwa FEV-1 akhir penelitian lebih tinggi secara bermakna daripada grup kontrol.

Pengobatan asma dimasa datang sedang giat dilakukan penelitian. "*Site-specific Intervention*" yang sedang dikembangkan, dilhami oleh pandangan baru patogenesis asma yang bersumber dari paradigma Th-1/Th-2. Terapi semacam ini bisa dimulai dari hambatan pengenalan pertama pada sel dendritik semacam hambatan pada factor kostimulator B7.2 atau *Inducible Costimulator (ICOS)*. Blokade proliferasi Th-2 misalnya anti IL-4, GATA-3 atau pemberian IL-12 dan IFN- $\gamma$ . Pada jalur efektor Th-2, terapi ditujukan pada blokade IL-5, IL-9 dan IL-13, mengakibatkan penurunan penyusupan eosinofil. Pada penelitian awal, antibodi anti-IgE tampaknya juga menjanjikan dalam merubah jalur efektor Th-2. Blokade terhadap STAT-6 dalam penelitian awal efektif menghambat jalur efektor IL-3 (Elias, 2003).

### 2.5.2. Imunoterapi

WHO dan berbagai organisasi profesi alergi, imunologi dan Asma seluruh dunia mengadakan pertemuan pada tanggal 27-29 Januari, 1997 di Geneva untuk





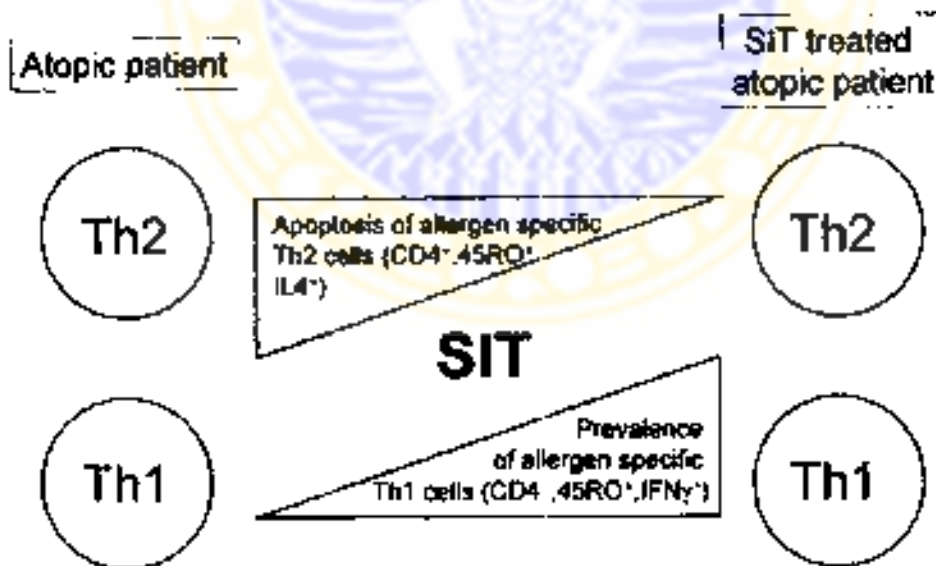
mengeluarkan petunjuk pelaksanaan imunoterapi. Pada pertemuan itu dikeluarkan "WHO position Paper" mengenai imunoterapi alergen sebagai vaksin untuk pengobatan penyakit alergi. Satu hal penting dalam rekomendasi menandakan bahwa cara pengobatan ini digunakan dalam ilmu kedokteran sebagai usaha modifikasi imun (Bosquet, 1998). Pada Asma atopi yang dominan adalah sel Th-2 dengan sitokin yang diproduksi, interaksi dengan sel mast dan eosinofil (Muro, 2000; Colavita, 2000; Mazarella, 2000; Romagnani, 2000; Matsui, 2000; Magnan, 2000; Wills-Karp, 2001). Imunoterapi dapat menyebabkan pergeseran pola Th-2 ke Th-1 (Majori, 2000, Nelson, 2000; Creticos, 2000), namun masih ada kegagalan. Pengobatan dengan kortikosteroid telah diketahui memotong jalur Th-2 terutama produksi sitokin IL-4 dan IL-5 (Liu, 2001; Barnes, 2001). Imunoterapi menyebabkan regulasi turun proses inflamasi, menurunkan produksi IgE dan menekan gejala penyakit. Jika dilakukan pada fase awal penyakit dapat menahan progresi penyakit, merubah beratnya penyakit dan mencegah terjadinya proses kelainan paru selanjutnya (Creticos, 2000). Penelitian di Spanyol membuktikan bahwa imunoterapi menyebabkan apoptosis sel limfosit pada penderita Asma. Apoptosis terjadi terutama pada sel Th-2 dengan fenotip IL-2/CD4+ :

*"These results suggest that the shift from Th-2 to Th-1 induced by specific immuno therapy in atopie patients may be mediated, at least in part, by the induction of an activation-induced cell death process in allergen-responder Th-2 cells" (Guerra, 2001).*

Pada penelitian ini limfosit dari subjek non atopi dan limfosit dari penderita atopi yang sebagian mendapat imunoterapi dikultur pada media yang diberi ekstrak tepung

sari *Lotium perenne*. Fenotip sel dan sitokin intraseluler diukur dengan indikator fluoresensi monoclonal antibody. Apoptosis diukur menggunakan "terminal deoxynucleotidyl transferase-deoxyuridine triphosphate nick end labelling". Floresensi yang timbul dianalisa dengan FACScan flowcytometer dan data diolah dengan *Consort 3D Software*. Hasilnya menunjukkan adanya apoptosis limfosit dari penderita yang diberi imunoterapi. Apoptosis terjadi terutama pada limfosit Th-2 fenotip IL4+/CD4+ diikuti peningkatan fenotip limfosit IFN- $\gamma$  pada kultur

Apoptosis Th-2 disertai penurunan sitokin-sitokin yang dihasilkan oleh Th-2 yang kemudian diambil alih oleh Sel Th-1 beserta sitokin-sitokinya (Gambar 2.9). Penemuan ini membantah teori mengenai prematuritas sel makrofag pada penderita atopi.



Gambar 2.9. Skema imunoterapi yang menggambarkan terjadinya apoptosis Th-2 sehingga terjadi pergeseran pola kearah Th-1 (Gueira, 2001)

Teori lain menyatakan bahwa efektifitas imunoterapi dihasilkan dari induksi ekspresi reseptor IL-2 (IL-2R) pada sel limfosit T pada anak yang sensitif terhadap tungau debu rumah:

*"Our data suggest that horse dust immunotherapy may have induced Df-specific CD8+ T lymphocytes in patients with mite-sensitive Asthma and that the efficacy of immunotherapy may be attributed to the generation of Df-specific CD8+ T lymphocytes" (Honno, 1996).*

Pada penelitian ini dibuktikan peningkatan reseptor IL-2 pada CD8+ Sel T sedangkan pada penderita yang tidak diberi imunoterapi terjadi peningkatan pada CD4+ Sel T yang berhubungan erat dengan beratnya penyakit. Peneliti lain membuktikan penurunan IL-1 $\beta$  dan TNF- $\alpha$  pada penderita yang mendapat imunoterapi dan kenaikan IL-2 dan IL-6 dibanding penderita yang tidak mendapat imunoterapi (DeAmici, 2001). Selain apoptosis Th-2 dan peningkatan IL-2 konsep penurunan mieloperoksidase oleh netrofil pada penderita Asma yang mendapat imunoterapi menunjukkan bukti empiris yang cukup kuat. Telah diketahui bahwa netrofil penderita Asma melepaskan mieloperoksidase. Dalam suatu penelitian dengan objektif untuk mengevaluasi hubungan antara degranulasi netrofil dengan FEV-1 dan pengaruh imunoterapi terhadap pelepasan mieloperoksidase, ternyata pada penderita yang mendapat imunoterapi terjadi penurunan mieloperoksidase dan kenaikan FEV-1 dibanding pada penderita yang tidak mendapat imunoterapi. Peneliti menyimpulkan:

*"Our study suggests that immunotherapy actively modifies the release of MPO in vitro by neutrophils from allergic asthmatic patients (Monteserin, 2001)"*

Penderita Asma yang sensitive terhadap debu rumah dan/atau tungau debu rumah dan riwayat alergi hirupan positif, dilakukan imunoterapi dengan ekstrak debu rumah. Sebelum dimulai imunoterapi, dilakukan kendali debu rumah (house dust control), yaitu tindakan sanitasi lingkungan terutama kamar tidur dari bahan-bahan kapuk atau apa saja yang bisa menimbulkan debu rumah, misalnya tumpukan buku, gantungan baju, lemari pakaian dan karpet, mengurangi populasi tungau dengan bahan kimia acarisidal atau keduanya. Kendali debu rumah dalam beberapa hal dapat mengurangi frekuensi serangan Asma terutama pada Asma ringan akan tetapi secara keseluruhan hasilnya tidak memuaskan. Evaluasi keberhasilan kendali debu rumah menggunakan meta-analisis menyimpulkan bahwa:

*"Current chemical and physical methods aimed at reducing exposure to allergens from house dust mites seem to be ineffective and cannot be recommended as prophylactic treatment for Asthma patients sensitive to mites (Gorzshe, 1998).*

Evaluasi ini diambil dari 23 penelitian yang terdiri dari 6 penelitian menggunakan metode kemikal, 13 penelitian menggunakan metode fisik dan 4 penelitian dengan metode gabungan keduanya. Hasilnya menunjukkan hasil yang sama pada ketiga grup dalam hal indeks klinis dan uji fungsi paru. Walaupun di Skandinavia usaha untuk menurunkan populasi tungau berhasil menurunkan angka kesakitan asma pada penderita yang sensitiv terhadap tungau namun metode yang sama yaitu "mechanical ventilation heat pump recovery" (MVHR), kurang berhasil diterapkan dinegara lain. Bahkan di Inggris dimodifikasi dengan "central dehumidification" (MVHRcd) tidak berhasil mendapat manfaat dari penurunan populasi tungau dalam usaha menurunkan

angka kesakitan asma (Niven, 1999). Namun ada baiknya memperhatikan hasil penelitian di Amerika dalam usaha eradikasi tungau debu rumah dengan penguapan dan pengaturan suhu. Dalam penelitian ini diikutsertakan 30 rumah penderita Asma dibagi dalam 3 grup: grup pertama dan kedua kasur dan peralatan tidur lainnya diberi pemanasan  $110^{\circ}\text{C}$ , kemudian penguapan, lalu dipanasi lagi. Karpet diberi perlakuan pembersihan dengan penguapan. Pada grup kedua ditambahkan ventilasi yang dipasang diatas tempat tidur. Grup ketiga bertindak sebagai kontrol, seperti apa adanya sehari-hari digunakan. Hasilnya adalah bahwa pada grup kesatu dan kedua terdapat penurunan kadar *Der p 1* dan *Der p 2* secara bermakna. Hipereaktivitas bronkus menurun 4 kali lipat selama 9 bulan pada grup pertama dan 4 kali lipat sampai laporan penelitian ini dilaporkan pada grup kedua. Tidak terjadi perubahan pada grup kontrol (Htut, 2001). Penelitian ini masih sulit diterapkan pada populasi umum oleh karena itu penatalaksanaan dengan imunoterapi masih diperlukan. Cara yang lebih praktis dengan memelihara kelembaban kamar tidur dibawah 50% didaerah tropik dimana kelembaban bisa mencapai 90%. Setelah kelembaban dijaga 51% selama 17 bulan, maka konsentrasi tungau dan *Der p 1* menurun secara bermakna, tetapi tidak dijelaskan disini apakah hal ini memberikan perbaikan indeks klinis Asma (Arlan, 2001)

Pada penderita Asma yang sensitif terhadap tungau dan debu rumah, imunoterapi dengan ekstrak debu rumah dilakukan dengan menyuntikkan ekstrak debu rumah. Biasanya dilakukan dengan penyuntikan. Penelitian dekade terakhir ini mengklaim bahwa imunoterapi sublingual merupakan alternatif untuk penyuntikan. Ada dua

konsep yang mendasari imunoterapi topikal. Pertama bahwa jika alergen diberikan pada permukaan mukosa maka akan diperlakukan lain oleh sistem imun, tidak seperti bila melalui saluran nafas, menyebabkan bentuk khusus toleransi imun. Kedua bahwa jika alergen diberikan pada organ sasaran, misalnya mukosa hidung, maka akan memberikan downregulation respons efektor lokal (Frew, 2001). Akan tetapi dosis imunoterapi topikal lebih besar yaitu 20 sampai 375 kali dosis suntikan, maka imunoterapi dengan suntikan sampai sekarang masih dipakai secara luas. Penyuntikan dilakukan subkutan dengan selang waktu satu minggu sekali dengan dosis meningkat sedikit demi sedikit, dimulai dengan konsentrasi 0,05 mg/ml 0,1 ml; 0,15 ml; 0,22 ml; 0,32 ml; 0,48 ml; 0,72 ml; 1ml dilanjutkan dengan konsentrasi 0,5mg/ml 0,1 ml; 0,15 ml; 0,22 ml; 0,32 ml; 0,48 ml; 0,72 ml, 1 ml dilanjutkan dengan konsentrasi 5 mg/ml dengan dosis 0,1 ml sebagai dosis rumatan dengan selang waktu 3 minggu sekali, selama 2-3 tahun. Imunoterapi sangat efektif pada penderita Asma atopi. Secara klinis, imunoterapi menurunkan gejala cepat yang ditimbulkan oleh mediator inflamasi histamin dan prostaglandin D<sub>2</sub>. Sangat karakteristik adalah khasiatnya dalam menurunkan respons fase lambat. Sebagai akibat penekanan inflamasi, imunoterapi menurunkan produksi IgE dan mengurangi gejala klinis. Pemberian immunoterapi dini dapat menghentikan progresifitas, merubah beratnya penyakit dan menghindari proses penyakit saluran nafas selanjutnya (Creticos, 2000). Dalam pengamatan laboratorium terlihat pertama kenaikan IgE yang kemudian diikuti penurunan dalam beberapa tahun. Sementara itu terlihat kenaikan IgG spesifik (*blocking antibody*). Penelitian pada darah tepi dan organ sasaran menunjukkan pergeseran keseimbangan

Walaupun pada penelitian ini sebagai alergen spesifik adalah sengat lebah, namun dapat kita ekstrapolasikan pada imunoterapi yang menggunakan debu rumah. Peneliti ini membuktikan bahwa dengan imunoterapi spesifik maka IL-10 meningkat, fosfolipase A2 dan epitop sel T yang mengekspresi fosfolipase A2 menurun setelah suntikan ke tujuh. Setelah suntikan ke 28 maka terjadi anergi sel T. Dengan menggunakan teknik "Intracytoplasmic cytokine staining" dikombinasikan dengan deteksi petanda permukaan sel ditunjukkan bahwa IL-10 mula-mula diproduksi oleh CD24<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Sel T yang spesifik terhadap alergen kemudian diikuti oleh Sel B dan monosit.

Terdapat variasi dosis yang besar mengenai efektifitas imunoterapi. Dosis median untuk ekstrak debu rumah hanya sedikit lebih rendah dari dosis efektif (Nelson, 2000), mengisyaratkan perlunya standarisasi dosis untuk imunoterapi spesifik. Jika dilakukan dengan benar pada penderita yang benar maka hasil akhir imunoterapi sangat memuaskan. Penyuntikan selama 2 tahun dengan ekstrak debu rumah pada penderita Asma yang sensitif terhadap debu rumah, perbaikan klinis terjadi pada 78% penderita dibanding 34% dengan plasebo (Creticos, 2001). Suatu meta analisis dari 20 penelitian yang bersifat buta ganda, random kontrol plasebo mendapatkan :

*"Based on the review of published data concerning meta-analyses of published clinical studies using IT to treat asthma, it is an effective treatment. IT can significantly reduced asthma symptoms and medication requirements. Both specific and non specific bronchial hyperresponsiveness were decreased, but improvement as measured by lung function tests was inconsistent" (Finegold , 2001).*

Meta analisis ini menunjukkan keberhasilan imunoterapi dalam mengurangi serangan Asma dan kebutuhan obat. Terdapat hasil yang beraneka pada uji fungsi paru. Seperti kita ketahui uji fungsi paru adalah pemeriksaan sesaat. Sangat mungkin satu penderita diperiksa dalam keadaan serangan Asma sedang penderita lain diperiksa dalam keadaan sehat. Satu kenyataan lagi bahwa *FEV-1 reversibility* bisa menunjukkan kelainan walaupun penderita tidak dalam keadaan serangan Asma. Imunoterapi pada Asma mendapat reaksi dengan pengobatan Asma yang lain terutama kortikosteroid. Suatu penelitian yang dilakukan di Jepang menunjukkan bahwa IL-12 dapat menyebabkan penurunan produksi IL-4 pada anak-anak Asma yang sensitif terhadap *Dermatophagoides-Farinae*, dengan demikian dapat mengendalikan produksi IgE dan menurunkan gejala Asma. Penelitian itu juga menemukan bahwa dosis rendah dan sedang dari IL-12 merangsang Th-1, sedangkan dosis tinggi menyebabkan rangsangan terhadap baik Th-1, Th-2 maupun Th-0. Penelitian lain membuktikan, terdapat kelainan jalur IL-12>IFN- $\gamma$ . Kenaikan IgE pada penderita-penderita Atopi disebabkan karena penurunan IFN- $\gamma$  terhadap rangsangan IL-12 dan/atau terdapat penurunan dari IL-12 sendiri (Matsui, 2000). Peneliti dari Perancis menemukan bahwa pada penderita-penderita Asma atopi terjadi peningkatan IL-4 yang berkorelasi dengan tingginya kadar IgE sedangkan kadar IFN- $\gamma$  diketemukan rendah, tetapi masih diketemukan peningkatan sel CD8<sup>+</sup>T yaitu sel yang memproduksi IFN- $\gamma$ . Jadi walaupun ada dominasi sel Th-2, tetapi sel Th-1 kuantitatif masih cukup, namun dikendalikan oleh IL-12 (Magnan, 2000). Pada penderita Asma yang sensitiv



terhadap debu rumah, karena paparan alergen selalu terjadi, maka dilakukan imunoterapi dengan ekstrak debu rumah. Penyuntikan ekstrak debu rumah menimbulkan rangsangan terhadap IL-12 yang selanjutnya mengaktifkan Th-1. Bukti menunjukkan kenaikan kadar IgG pada pemberian Imunoterapi (Nelson, 2000, Creticos, 2000). Penelitian lain menunjukkan perbaikan skor klinis dan terapi selama 1 tahun imunoterapi, dan terjadi peningkatan rasio IFN- $\gamma$ /IL-4 (Majori, 2000). Terdapat variasi dosis yang besar mengenai efektifitas imunoterapi. Dosis median untuk ekstrak debu rumah hanya sedikit lebih rendah dari dosis efektif (Nelson, 2000), mengisyaratkan perlunya standarisasi dosis untuk imunoterapi spesifik. Sementara itu diketahui bahwa dexametason mempunyai kasiat menekan pembentukan sitokin dari Th-1 (Jirapongsananurak, 2000). Pemberian kortikosteroid pada penderita Asma menyebabkan imunomodulasi pada sumbu Th-1/Th-2. Sebuah penelitian di Kanada menunjukkan bahwa kortikosteroid menurunkan ekspresi IL-13 mRNA dan meningkatkan ekspresi IL-12:

*There was an increased number of IL-13 and a decreased number of IL-12 mRNA positive cells in Asthmatic subjects compared with normal control subjects ( p<0.001 ). After steroid treatment, the increase of FEV-1 values observed in SS Asthmatics was accompanied by a significant decrease in cells expressing IL-13 mRNA ( p<0.05 ) and an increase in cells expressing IL-12 mRNA ( p<0.05 )." (Naseer, 1997).*

Pada penelitian ini pemberian kortikosteroid menurunkan ekspresi IL13 mRNA pada penderita Asma yang sensitiv terhadap kortiko steroid dan meningkatkan ekspresi IL-12 mRNA. Penelitian ini memberi kontribusi positif terhadap penggunaan kortikosteroid dalam penatalaksanaan Asma. Dijumpai juga kontroversi pada

penggunaan dexametason pada penelitian endobronkial biopsy dimana disimpulkan bahwa IL-4, IL-13 dan dexametason menyebabkan proliferasi fibroblas yang memberatkan remodelling saluran nafas (Kraft, 2001).

Walaupun sangat kurang hasil-hasil diperoleh dari otopsi, tetapi kemajuan dibidang bronkoskopi fiber optik untuk biopsy dan pengambilan materi dari saluran nafas, banyak mengisi kekurangan sehingga diketahui bahwa inflamasi adalah dasar pathologi Asma. Hal ini ditunjang oleh kemajuan dibidang imunologi dan biologi molekuler, analisis yang lebih cermat terhadap sel-sel inflamasi dan mediator-mediatornya menunjukkan bahwa ada banyak macam sel berperan dalam patofisiologi Asma dan bahwa tidak hanya satu mediator yang berperan dalam terjadinya spasme dan hipercaktifitas bronkus.

Pada pemeriksaan biopsy saluran nafas penderita-penderita yang meninggal karena Asma didapatkan adanya hipertrofi otot polos, peningkatan jumlah kelenjar mukus dan sel goblet. Sel-sel radang terlihat pada submukosa terutama eosinofil, dan terlihat pengelupasan epitel, sedangkan rongga saluran nafas penuh dengan mukus sisa-sisa sel dan protein plasma. Infiltrasi eosinofil pada jaringan bronkus merupakan tanda utama pada Asma. Pengerahan eosinofil ini dipengaruhi oleh IL-5, mulai dari diferensiasi, proliferasi, dan maturasi dalam sumsum tulang (Hogan, 2000). Selain Eosinofil ada beberapa sel lain yang berperan dalam patofisiologi Asma, antara lain basofil netrofil dan limfosit. Kelainan patologi dan biologi yang timbul adalah akibat dari mediator sel, sitokin dan interaksi antar sel. Secara klinis terlihat sebagai bronkokonstriksi, udem, hipersekresi mukus dan inflamasi. Kelainan-kelainan ini

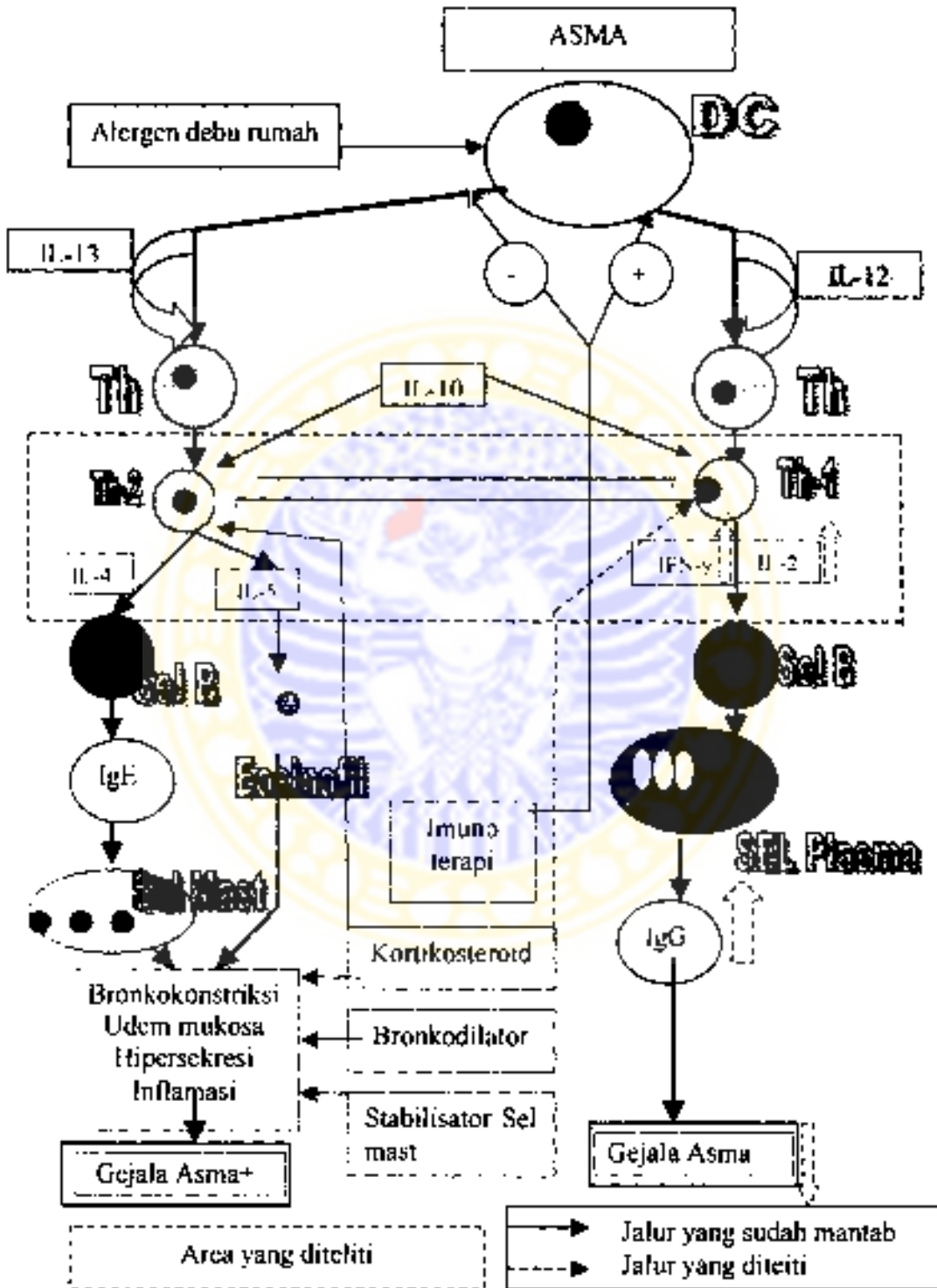
memberikan implikasi pada penatalaksanaannya. Obat-obat golongan xantin dan  $\beta$ -2 agonis banyak digunakan sebagai bronkodilator, sedangkan untuk mengatasi inflamasi yang pada Asma ringan digunakan nedokromil atau budesonid hirupan (CAMP Research group, 2000). Steroid hirupan saat ini banyak dipakai sejak dini dan diberikan dalam jangka waktu lama, dimaksudkan untuk mencegah terjadinya "airway remodelling". Penelitian di Jepang membuktikan penggunaan budesonid hirupan selama 6 bulan dapat mengurangi deposisi kolagen sub epitel (Hoshino, 2000). Telah diketahui pada penderita Asma terjadi "downregulation" dari ekspresi *IL-12mRNA* dan "upregulation" ekspresi *IL-13mRNA*. Dengan pemberian Kortikosteroid maka terjadi peningkatan ekspresi *IL-12mRNA* dan penurunan ekspresi *IL-13mRNA* pada penderita-penderita yang sensitif terhadap steroid. Penggunaan steroid jangka lama ini efektif menurunkan frekuensi dan intensitas serangan Asma, tanpa menimbulkan efek samping sebagaimana pemberian oral atau parenteral (Agertoft, 2000, Covar, 2000). Efek samping penggunaan steroid hirupan yang sudah banyak dilakukan adalah mengenai gangguan pertumbuhan, kepadatan tulang dan osteoporosis, terjadinya katarak, tekanan darah tinggi, kenaikan kadar gula darah, tekanan pada poros IIPA, aktivasi tb paru, gejala Cushing, dan gejala lokal terjadinya candidiasis mulut, terjadinya aphoni karena atropi plica vokalis dan sebagainya, tetapi pengaruhnya terhadap Th-1 pada penderita Asma yang mendapat imunoterapi luput dari perhatian. Pemikiran mengenai masalah ini kita ekstrapolasi dari pengaruh steroid sistemik terhadap imunitas seluler

*"Systemic glucocorticoid therapy may affect cellular immunity by inhibition of the synthesis and secretion of cytokines and other mediators; by depletion of lymphocytes, basophils, and eosinophils; by attenuation of T-lymphocytes' reactions to various mitogens" (Rinehart, 1975).*

Fakta empirik ini menunjukkan bahwa kortikosteroid mengendalikan sintesis dan sekresi sitokin. Mekanisme kortikosteroid adalah menghambat ekspresi sitokin inflamasi, pengurangan limfosit, basofil dan eosonofil. Penekanan reaksi limfosit terhadap rangsangan beberapa mitogen, sehingga proliferasi limfosit dapat dikendalikan.



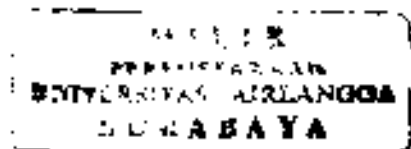
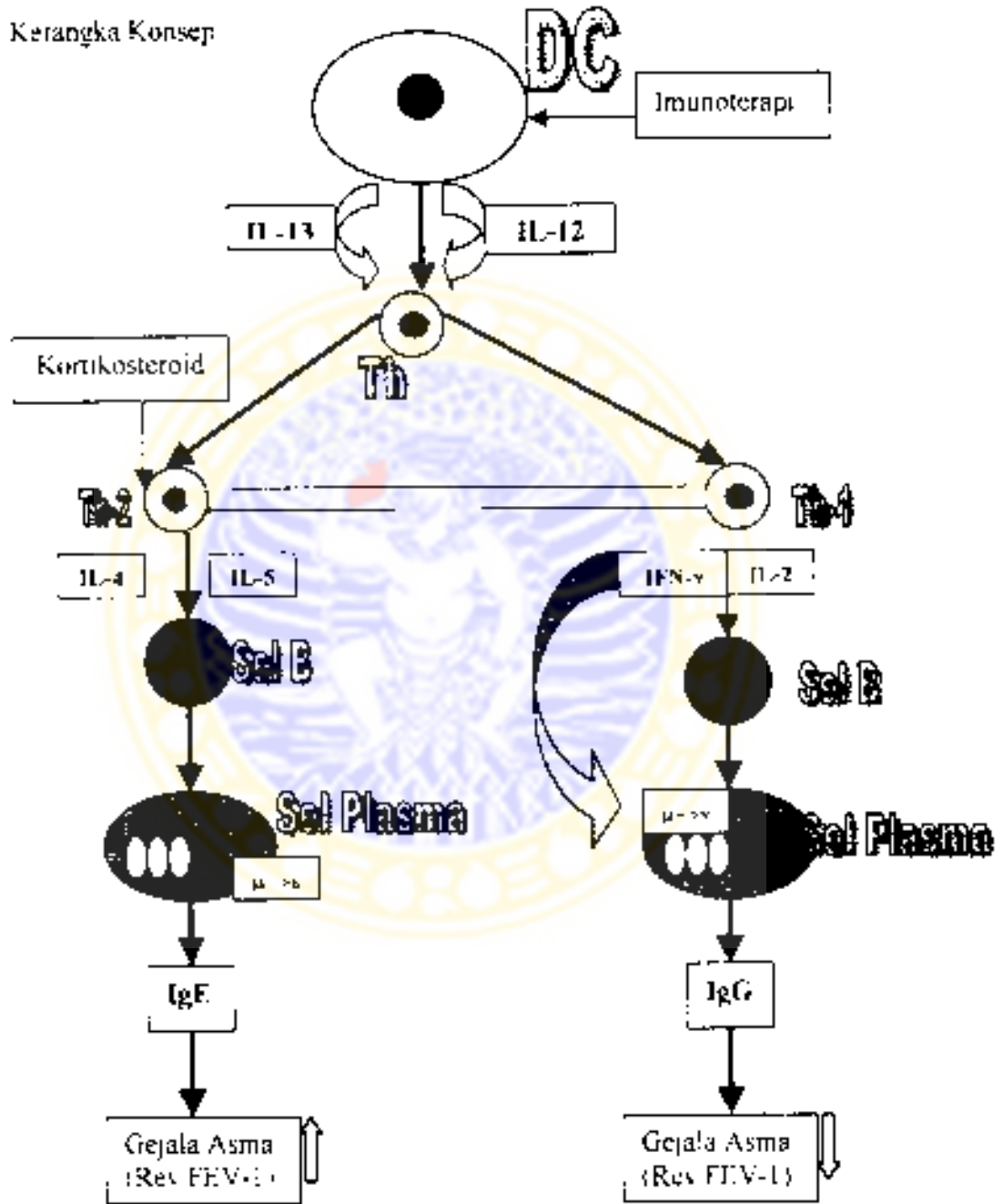
**Kerangka Teoritis**



Rab 3

Kerangka Konseptual dan Hipotesis Penelitian

3.1 Kerangka Konsep



### 2. Penjelasan Bagan Kerangka Konseptual

Pada penderita atopi yang sensitif terhadap debu rumah, paparan dengan debu rumah akan direspons oleh sel dendritik sebagai APC mengekspresikan epitop antigen debu rumah berinteraksi dengan Th-0 dalam konteks MHC kelas II-TCR yang selanjutnya berproliferasi dan diferensiasi menjadi sel Th-2 dengan profil sitokin utama IL-4 dan IL-5. Sitokin IL-4 menyebabkan sel B berproliferasi dan diferensiasi menjadi sel plasma, dan merubah sintesis rantai  $\mu$  menjadi rantai  $\epsilon$  yang menyebabkan produksi IgE. Sitokin IL-5 menyebabkan migrasi dan aktivasi eosinofil menyebabkan inflamasi alergi. Kesemuanya ini menimbulkan patologi asma berupa penyempitan bronkus, sembab mukosa, hiper sekresi lendir dan inflamasi yang menyebabkan gejala asma yang digambarkan dengan peningkatan reversibilitas FEV-1. Pemberian kortikosteroid hirupan akan menekan sintesis IL-4 dan IL-5 sehingga produksi IgE dan pengerahan eosinofil ditekan menyebabkan perbaikan gejala asma.

Imunoterapi menyebabkan polarisasi IL-13 kearah IL-12 yang menyebabkan proliferasi dan diferensiasi Th-0 kearah Th-1 dengan profil sitokin IFN- $\gamma$  dan IL-2. Sitokin IL-2 menyebabkan proliferasi dan diferensiasi Sel B menjadi sel Plasma, sedangkan IFN- $\gamma$  menyebabkan perubahan sintesis rantai  $\mu$  menjadi rantai  $\gamma$  sehingga terjadi sekresi IgG, dengan demikian kaskade inflamasi alergi tidak terjadi, menyebabkan perbaikan asma yang digambarkan dengan perbaikan reversibilitas FEV-1.

### **3.2. Hipotesis Penelitian**

1. Terjadi peningkatan IFN- $\gamma$ , IL-2 dan penurunan IL-4, IL-5 pada pemberian kortikosteroid hirupan selama 3 bulan pada penderita Asma anak yang mendapat imunoterapi.
2. Terjadi penurunan terendah reversibilitas FEV-1 pada pemberian kortikosteroid hirupan selama 3 bulan pada penderita Asma anak yang mendapat imunoterapi.





## **Bab 4**

### **Metode Penelitian**

#### **4.1. Jenis Penelitian**

Penelitian ini adalah suatu studi observasional analitik selama 3 bulan.

#### **4.2. Waktu Penelitian**

Penelitian dimulai setelah mendapat persetujuan etik.

Lama penelitian diperkirakan 6 bulan.

#### **4.3. Tempat Penelitian**

Poli Alergi Anak Lab/SMF Ilmu Kesehatan Anak FK. Unair/RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

#### **4.4. Populasi Penelitian**

Penderita rawat jalan Poli Alergi Anak Lab/SMF Ilmu Kesehatan Anak FK. Unair/RSUD Dr. Soetomo Surabaya dengan diagnosis Asma yang memenuhi kriteria inklusi dan bersedia mengikuti penelitian. Pengobatan Asma pada poli Alergi ada 3 kelompok. Kelompok A adalah penderita yang mendapat budesonid hirupan, kelompok B adalah penderita yang mendapat imunoterapi, kelompok C adalah penderita yang mendapat imunoterapi dan budesonid hirupan.

#### **4.5. Kriteria Inklusi**

- 1 Penderita Asma ringan/sedang laki atau perempuan berusia 6-16 tahun dengan onset penyakit kurang dari 2 tahun.
- 2 Penderita atau orang tuanya menyetujui ikut dalam penelitian dengan

menandatangani "*informed consent*", setelah mendapat penjelasan sebelum *informed consent*.

3. Diagnosis Asma secara klinis diperjelas dengan adanya pengalaman 3 bulan terakhir menderita sedikit - tidaknya sekali seminggu tetapi tidak setiap hari satu dari gejala berikut ini : mengi, batuk, sesak perasaan sempit pada dada , atau bangun malam karena gejala-gejala ini . Batuk sebagai gejala tunggal boleh terjadi setiap hari.
4. Penyempitan jalan nafas yang reversibel sebagai data riwayat atau pada pemeriksaan kunjungan pertama dinyatakan dengan salah satu dari berikut :
  5. Peningkatan FEV<sub>1</sub> lebih dari 12% dibanding sebelum dan sesudah hirupan bronkodilator terbutalin 0.5 mg.
  6. Uji latihan (Exercise Test) : penurunan FEV<sub>1</sub>  $\geq$  15% dibanding sebelum latihan.
  7. Variabilitas PEFR diperhitungkan dari 14 hari dengan menghilangkan 3 hari pertama sebesar  $> 15\%$

$$A_1 \times A_2 - B_1 \times B_2$$

$$\text{PEF var } \frac{\quad}{A_1 \times A_2} \times 100\%$$

$$A_1 \times A_2$$

A<sub>1</sub> = PEF tertinggi

A<sub>2</sub> = PEF tertinggi kedua

B<sub>1</sub> = PEF terendah

$B_2$  = PEF terendah kedua

8. Penderita bisa melakukan "*Turbuhaler Utilization Trainer*" (TUT)
9. Uji kulit positif terhadap ekstrak debu rumah dan/atau tungau.
10. Riwayat timbulnya salah satu gejala Asma karena paparan dengan kapuk atau debu rumah.
11. Riwayat penyakit atopi yang lain atau penyakit atopi dalam keluarga.
12. Uji kulit positif terhadap debu rumah dan tungau debu rumah.

#### 4.6 Kriteria Eksklusi

Penderita tidak memenuhi kriteria eksklusi sebagai berikut

- 1 Gejala yang memenuhi diagnosis Asma lebih dari 2 tahun sebelum kunjungan pertama. Mengi yang terjadi dua tahun pertama kehidupan tidak termasuk kriteria eksklusi
- 2 Penderita yang mendapat pengobatan glukokortikoid jangka lama
- 3 Penderita yang mendapat pengobatan glukokortikoid hirupan lebih dari 30 hari dalam 1 tahun atau per oral atau dapat suntikan glukokortikoid 1 kali dalam 1 tahun untuk penyakit apapun dalam 2 tahun sebelum kunjungan pertama.
- 4 Secara teratur setidaknya-tidaknya sekali sebulan menggunakan obat-obat asma untuk lebih dari 2 tahun sebelum kunjungan pertama
- 5 FEV<sub>1</sub> sebelum bronkodilator kurang dari 60% prediksi normal pada kunjungan pertama
- 6 FEV<sub>1</sub> sesudah bronkodilator kurang dari 80% prediksi normal pada kunjungan pertama

7. Penyakit penyerta : tbc aktif yang tidak diobati , penyakit jantung bawaan yang diketahui sebelum penelitian; penyakit panas, batuk, pilek selama kurun penelitian .
- 8 Penderita yang mendapat pengobatan imunosupresi
9. Penderita yang dimasukkan dalam penelitian lain 1 bulan sebelum kunjungan pertama, atau sebelumnya ikut direkrut dalam penelitian ini tetapi saat itu tidak memenuhi.
- 10.Penderita yang tidak bisa mengikuti protokol penelitian karena penyalahgunaan obat atau alkohol atau keadaan lain yang sulit patuh dalam penelitian dikeluarkan dari sampel.
- 11 Ditemukan telur cacing dalam pemeriksaan tinja.
- 14 Penderita malnutrisi.

#### 4.7. Perkiraan besar sampel

Ditentukan dengan perhitungan Uji pendahuluan dengan menggunakan rumus :

$$n = \left| \frac{(Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta}) \tau}{\delta} \right|^2$$

n - besar sample

Z = nilai standard normal yang besarnya tergantung  $\alpha$  .

bila  $\alpha$  0,05  $z= 1.67$  , bila  $\alpha$  0,01  $z= 1,96$

$\alpha$  = peluang untuk menolak  $H_0$  bila  $H_0$  salah, besarnya  $\alpha= 0,05$

$\beta$  = peluang untuk menerima  $H_0$  bila  $H_0$  salah, besarnya  $\beta= 0,10$

$\tau$  = standar deviasi kadar IFN- $\gamma$  atau IL-2 pada penderita Asma Anak

Maksimum-Minimum : 4

$\delta$  = selisih rata-rata IFN- $\gamma$  atau IL-2 penderita Asma anak yang tidak diterapi dengan yang diterapi

Dari rumus ini didapat besar sampel= 19.7 (dibulatkan 20)

Jika  $\delta$  tidak dapat ditentukan maka dipakai jumlah sampel untuk distribusi normal.

Maka jumlah sampel ditentukan sebagai berikut :

#### 4.8. *Systematic Random Sampling*

Jumlah penderita Asma anak selama 1 tahun di Poli Alergi Anak= 419. Memilih 90 dari 400, interval=  $400/90= 5$ . Memilih selang secara random dari angka 1-5 misalnya 5 Jadi sampel diambil mulai dari nomor 5 kemudian selang 5 , dibagi dalam dua strata yaitu umur 6-11 tahun dan 11-16 tahun

#### 4.9. Identifikasi Variabel

##### 4.9.1 Variabel Bebas.

Pemberian Budesonid hirupan dengan dosis 100 $\mu$ g atau 200 $\mu$ g selama 3 bulan pada penderita Asma anak yang mendapat imunoterapi .

#### 4.9.2. Variabel tergantung :

1. Kadar IFN- $\gamma$  pada akhir penelitian.
2. Kadar IL-2 pada akhir penelitian.
3. kadar IL-4 pada akhir penelitian
4. Kadar IL-5 akhir penelitian.

#### 4.10. Definisi operasional

1. Asma ringan : penderita dengan keluhan batuk mengi, sesak, perasaan sempit pada dada atau bangun malam karena gejala-gejala ini dengan FEV<sub>1</sub> lebih dari 80% prediksi normal.
2. Asma sedang : penderita dengan keluhan batuk mengi, sesak, perasaan sempit pada dada atau bangun malam karena gejala-gejala ini dengan FEV<sub>1</sub> 60 – 80% prediksi normal.
3. Asma berat : Penderita dengan keluhan batuk, mengi, sesak, perasaan sempit pada dada atau bangun malam karena gejala-gejala ini, dengan FEV<sub>1</sub> kurang dari 60% prediksi normal
4. Atopi: faktor yang menyebabkan reaksi yang menyimpang dengan kecenderungan terjadinya keadaan berikut ini: eosinofilia, peningkatan IgE, uji kulit positif, riwayat penyakit asma, rinitis alergika, dermatitis atopika dan urtikaria, atau riwayat penyakit ini dalam keluarga.
5. "% Predicted" FEV<sub>1</sub> : FEV<sub>1</sub> terbaik dari tiga FEV<sub>1</sub> tertinggi yang dilakukan

- dengan benar dibandingkan FEV<sub>1</sub> normal untuk usia, kelamin dan tinggi badan.
6. Reversibilitas FEV-1 adalah selisih FEV-1 sebelum dan sesudah inhalasi beta-2 agonis dibanding FEV-1 normal untuk seks, umur tinggi dan ras.
  7. Pengobatan Asma konvensional: obat untuk mengatasi gejala asma (*reliever*) termasuk aminofilin, beta 2 agonis antihistamin, ekspektoransia, nedokromil dan sodium kromoglikat. Pada penderita yang alergi makanan boleh diberikan diet eliminasi, termasuk edukasi bagaimana caranya melakukan diet eliminasi; pada penderita yang alergi debu rumah boleh diberikan kendali debu rumah, termasuk edukasi bagaimana caranya melakukan kendali debu rumah.
  8. Kortikosteroid hirupan: Budesonid 200µg untuk anak usia 6-11 tahun, 400µg untuk anak lebih dari 11 tahun.
  9. Penderita Asma yang alergi debu rumah: penderita Asma yang pada uji kulit positif terhadap ekstrak debu rumah dan atau tungau debu rumah.
  10. Imunoterapi: penyuntikan dengan ekstrak debu rumah subkutan dimulai dari dosis 0,1ml meningkat tiap minggu sehingga dosis maksimal, dipertahankan 3 minggu sekali selama 2 tahun.
  11. Pemberian Kortikosteroid hirupan jangka panjang: pemberian Budesonid hirupan dengan dosis 200µg sekali sehari untuk anak berusia dibawah 11 tahun dan 400µg sekali sehari untuk anak diatas 11 tahun selama 3 bulan.
  12. Penderita Asma Anak: Penderita Asma yang berusia 6 tahun-16 tahun.

13. Penderita malnutrisi: berat badan kurang dari 60 persentile dan atau tanda-tanda kwashiorkor.
14. *Adverse event*: gejala yang menyimpang selama penelitian. Terdiri dari: *Asthma related adverse event*, yaitu gejala memburuknya status asma yaitu serangan sesak yang memerlukan epinefrin, rawat darurat, rawat inap, penyuntikan steroid dan nebulasi beta-2 agonis atau steroid. *Non Asthma related event*: gejala panas, batuk, pilek. *Medication related adverse event*: gejala yang berhubungan dengan pengobatan penelitian. Untuk imunoterapi berupa urtikaria, renjatan dan serangan sesak. Untuk steroid hirupan berupa kandidiasis, serak, afoni, nyeri tenggorok, aktifasi tbc.
15. Keberhasilan pengobatan: reversibilitas FEV<sub>1</sub> kurang dari 12%.

#### 4.11. Uji Fungsi Paru

Penderita duduk pada waktu melakukan uji fungsi Paru. diperbolehkan menggunakan penjepit hidung. Sebelum hirupan terbutalin 0.5 mg dilakukan pengukuran FEV<sub>1</sub> dan FVC terbaik dan 3 FEV<sub>1</sub> terbaik dan teknik hembusan nafas yang benar. FEV<sub>1</sub> dan FVC terbaik dan FEV<sub>1</sub> dan FVC terbaik kedua variasinya tidak boleh lebih dari 5% setelah itu penderita menghirup terbutalin 0.5 mg. Lima belas menit kemudian melakukan hal yang sama.

Reversibilitas FEV<sub>1</sub> diperhitungkan dari rumus :

$$\frac{FEV_1 \text{ sesudah hirupan Terbutalin} - FEV_1 \text{ sebelum hirupan}}{FEV_1 \text{ prediksi normal}} \times 100\%$$



## **4.12. Cara Kerja**

4.12.1 Persetujuan Etik diajukan kepada Komite Etik RSUD Dr. Soetomo.

4.12.2. Permintaan persetujuan orang tua penderita (informed consent) untuk mengikuti prosedur

4.12.3. Penderita yang telah mendapat persetujuan dicatat nama, umur (tanggal lahir) dan jenis kelamin, ras, tingkatan sekolah, status sosial orang tua, berat badan, tinggi badan, pengobatan asma, saat itu, kapan mulai menderita asma, riwayat penyakit lain selain asma dan pengobatannya kini, riwayat keluarga atopi, vaksinasi BCG, mantoux test, pemeriksaan air kemih tinja, darah tepi, foto dada, uji kulit alergi, kadar IgE, IgG, hitung eosinofil.

4.12.4. Pemeriksaan uji fungsi paru awal untuk menentukan inklusi dan eksklusi dan randomisasi.

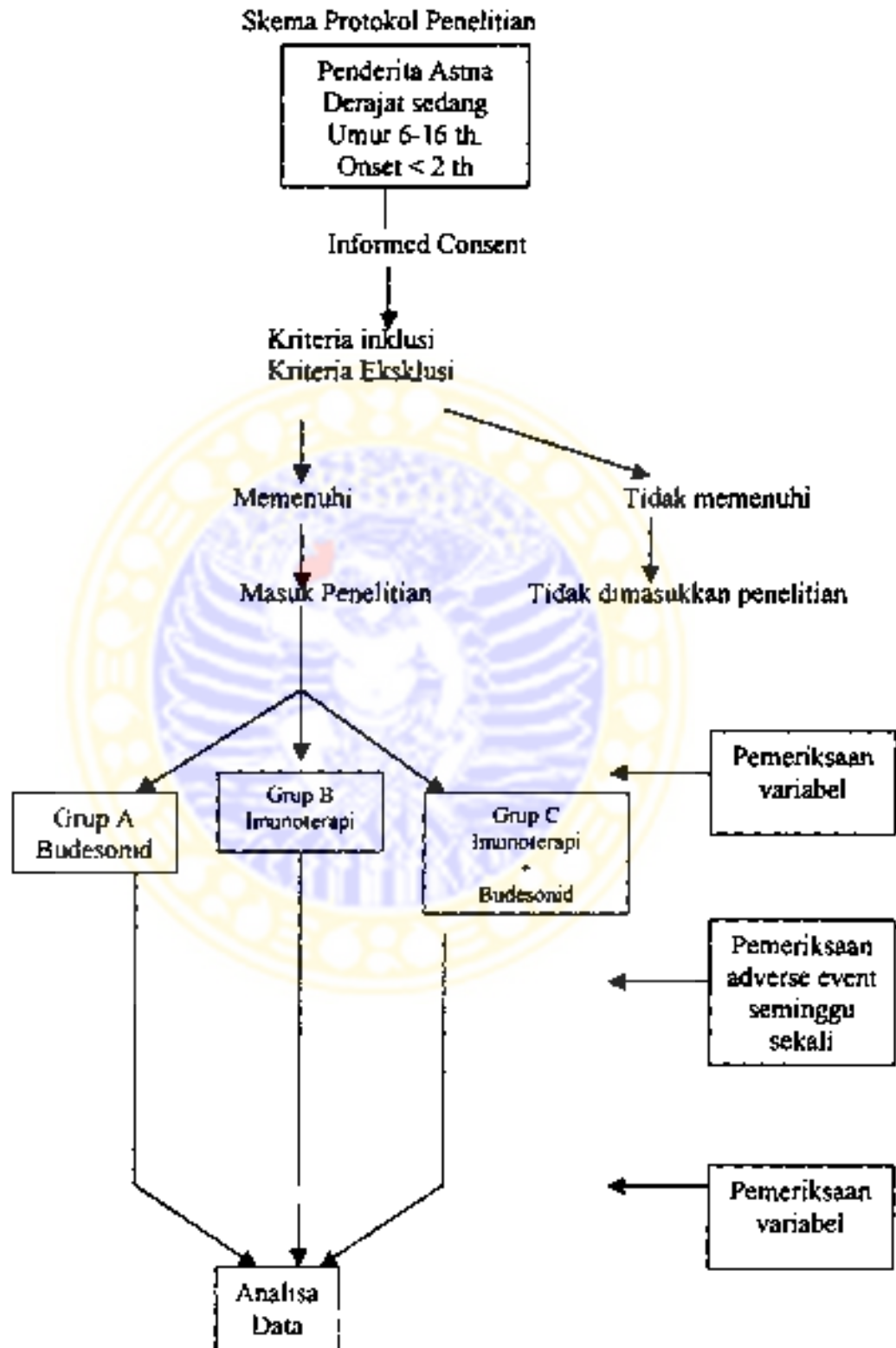
4.12.5. Pemeriksaan pada kunjungan pertama meliputi semua variabel tergantung.

4.12.6. Penderita Asma yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak ada kriteria eksklusi dibagi menjadi tiga grup. Grup A sebagai grup kontrol diberi perlakuan pengobatan budesonid hirupan selama 3 bulan. Grup B sebagai grup kontrol diberi perlakuan pengobatan dengan imunoterapi ekstrak debu rumah. Grup C diberi perlakuan dengan pengobatan imunoterapi dan budesonid hirupan. Ketiga grup boleh mendapat pengobatan konvensional

4.12.7. Pemeriksaan adanya adverse event seminggu sekali

4.12.8. Pemeriksaan pada kunjungan terakhir meliputi semua variabel tergantung.

### 4.13. Protokol Penelitian



#### **4.14. Pengumpulan, penyajian dan analisa statistik**

##### **4.14.1. Pengumpulan data**

Dibuat lembar pengumpul data (LPD) khusus

##### **4.14.2. Penyajian Data**

Data hasil penelitian disajikan dalam bentuk : tabel, grafik, diagram, teks atau tulisan apabila tabel maupun grafik kurang jelas.

##### **4.14.3. Analisa statistik**

##### **4.14.4. Analisa data.**



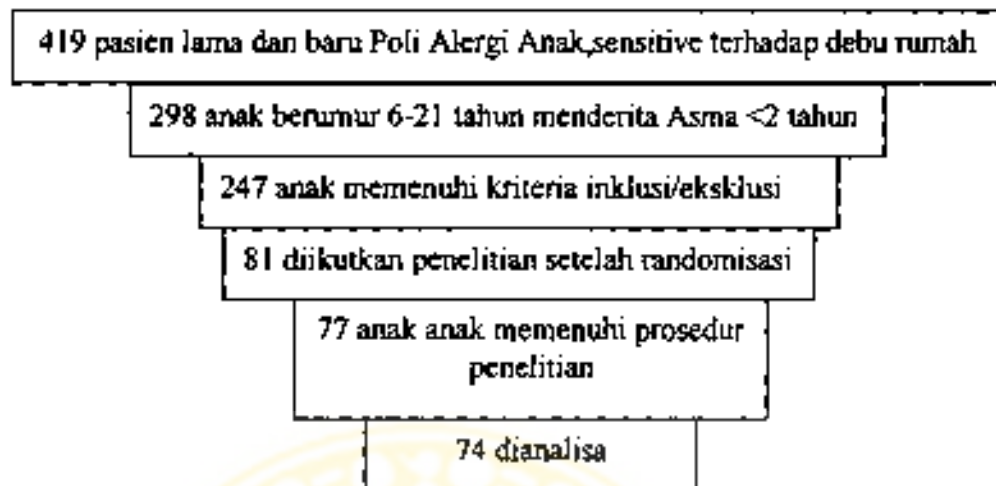
## Bab 5

### Analisis Hasil Penelitian

#### 5.1 Profil Penelitian.

Penelitian dimulai setelah mendapat persetujuan Etik dari Komite Etik RSUD, Dr. Soetomo Surabaya. Subyek penelitian memberikan inform consent setelah mendapat penjelasan untuk menyetujui ikut dalam penelitian. Pada saat dimulai penelitian, tercatat 419 penderita asma lama dan baru di Poli Alergi Ana RSUD Dr. Soetomo. Dari jumlah itu 298 anak berumur 6-21 tahun menderita asma kurang dari 2 tahun, 247 anak memenuhi kriteria inklusi dan tidak ada kriteria eksklusi. Pada randomisasi didapatkan 81 anak, 27 anak dialokasikan pada grup yang mendapat imunoterapi (Grup A), 27 anak pada grup yang mendapat steroid hirupan (Grup B) dan 27 anak pada grup yang mendapat steroid hirupan dan imunoterapi (Grup C). Dalam kurun waktu penelitian 1 anak dari grup A menderita batuk pilek dan panas, 1 anak dari grup B masuk rumah sakit karena sesak nafas dan panas tinggi, 1 anak dari grup C menderita batuk, pilek dan panas, semuanya dikeluarkan dari penelitian. Satu anak dari grup A tidak bisa memenuhi pemeriksaan paska perlakuan, 1 anak dari grup B pindah alamat sehingga tidak bisa mengikuti sampai akhir penelitian, satu anak tidak memenuhi pemeriksaan 3 bulan paska perlakuan. 1 anak dari grup C tidak memenuhi pemeriksaan 3 bulan paska perlakuan, satu lagi dikeluarkan karena mempunyai kadar  $0.2$  yang ekstrem, sehingga pada akhir penelitian dianalisa 25 anak dari grup A, 24 anak dari grup B dan 24 anak dari grup C (Skema 6.1)

## Skema 5.1. Profil Penelitian



Penelitian telah dilakukan mulai Februari sampai dengan Desember 2003, dengan lokasi penelitian Poli Alergi Anak RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Dimulai dengan persetujuan tertulis mengikuti penelitian (*Informed Consent*) didahului dengan penjelasan mengenai pernyataan persetujuan mengikuti penelitian. Jumlah penderita yang disaring adalah 419, dari jumlah ini 298 anak memenuhi kriteria asma sedang, onset kurang dari 2 tahun, atopi, dan usia antara 6-16 tahun. Status Atopi ditunjukkan dengan kadar IgE lebih dari 100 IU/ml, hitung eosinofil lebih dari 300 /cmm, serta uji kulit terhadap debu rumah positif, riwayat atopi lain pada penderita dan riwayat atopi pada keluarga. Dua yang terakhir tidak mutlak harus ada. Dari 298 penderita, 51 anak dieksklusi karena ada kriteria eksklusi yaitu 15 anak dengan FEV-1 % prediksi normal kurang dari 60% sebelum pemberian bronkodilatator, 26 anak dengan FEV-1 % prediksi normal kurang dari 80% setelah pemberian bronkodilatator, dan 10 anak dengan reversibilitas FEV-1 kurang dari 12%. Dari jumlah ini dirandomisasi masuk sebanyak 81 anak. 4 anak tidak bisa mengikuti prosedur

penelitian, 3 anak tidak dianalisa karena menderita batuk, pilek dan panas selama mengikuti penelitian. Pada grup A ada 25 penderita, grup B 24 penderita dan grup C 24 penderita.

## 5.2 Uji Homogenitas Varian antar kelompok.

Dalam analisis statistik, beberapa pengujian menghendaki homogenitas varian antar kelompok perlakuan. Dalam penelitian ini pengujian homogenitas dilakukan terhadap umur, jenis kelamin, riwayat atopi, kadar IgE total, hitung eosinofil dan FEV-1 % prediksi normal. Pengujian dilakukan dengan menggunakan uji Cochran's Q dan uji Levens. Hasil pengujian menunjukkan bahwa variabel umur, jenis kelamin, Riwayat atopi lain, riwayat atopi keluarga, kadar IgE total, hitung eosinofil darah tepi dan FEV-1 % prediksi normal adalah homogen dengan  $p > 0.05$  (Lampiran 4)

Tabel 5.2.1 Homogenitas Varian antar kelompok

	Grup A	Grup B	Grup C	F
<b>Jenis Kelamin</b>				
Laki-laki	14	13	14	2
Perempuan	11	11	10	0,05
Usia	11±2,46	11±2,50	11±2,50	0,05
Demayot Atopi	2	2	2	0,05
Demayot Atopi pada keluarga	5	5	6	0,05
IgE	973,49±562,58	944,79±362,78	959,55±356,32	0,05
Eosinofil	996,72±107,27	974,67±123,88	988,68±112,42	0,05
FEV-1 Normal	70,52±4,66	71,26±4,72	70,48±4,73	0,05

Tidak ada perbedaan bermakna pada data dasar mengenai jenis kelamin yakni laki-laki 14, perempuan 11 pada grup A, laki-laki 13, perempuan 11 pada grup B, laki-laki 14, perempuan 10 pada grup C ( $p > 0,05$ ), riwayat atopi dalam keluarga  $p > 0,05$ , kadar IgE total  $p > 0,05$ , hitung eosinofil darah tepi  $p > 0,05$ .

Uji homogenitas FEV-1 % prediksi normal menunjukkan bahwa ketiga grup homogen ( $p > 0,05$ )



FEV-1 % prediksi normal tidak berbeda bermakna antara grup A, B dan C dengan rerata 70.52% $\pm$ 4.66, minimum 62%, maksimum: 79% pada grup A; rerata 71.25% $\pm$ 4.72, minimum 62%, maksimum

(Gambar 5.2.6)

Gambar 5.2.6 Rerata FEV-1% Prediksi normal

79% pada grup C, rerata 70.48% $\pm$ 4.73, minimum 62%, maksimum 79% pada grup C.

**5.3 Adverse event.** *Asthma related adverse event* terjadi pada 6 penderita Grup A, 1 penderita grup B dan tidak satupun dari grup C. *Non Asthma related event* terjadi pada semua grup masing-masing 1 penderita. *Medication related adverse event* tidak terjadi pada semua grup (Tabel 5.3.1)

*Non Asthmatic Adverse Event* adalah variabel yang diamati untuk memonitor keberhasilan pengobatan dan merupakan salah satu kriteria eksklusi, dimana jika terjadi penyakit panas batuk, pilek selama penelitian penderita ini akan dieksklusi.

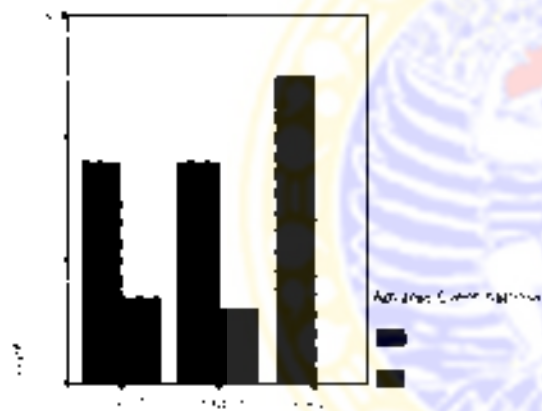
*Medication Related Adverse Event*, variabel yang diamati untuk memantau adanya efek samping pengobatan. Pada penelitian ini tidak ditemukan pada semua grup.



Tabel 5.3.1 Adverse Event

	Group A	Group B	Group C
<i>Asthma related adverse event</i>	7 (29%)	6 (24%)	0 (0%)
<i>Non Asthma related adverse event</i>	1 (4%)	1 (4.1%)	1 (4%)
<i>Medication related adverse event</i>	0	0	0

Terjadi *Asthma related adverse event* sebesar 29% pada grup A, 24% pada grup B dan 0% pada grup C (Tabel 5.3.1).



0% 100%

Gambar 5.3.1 *Asthma related adverse event*

pada grup C. *Non-Asthmatic adverse event* terjadi pada semua grup sebesar 4%, semuanya tidak diikutkan dalam analisa. Tidak terjadi *medication related adverse event* pada semua grup.

### 5.4. Uji Normalitas distribusi

Label 5.4.1 Normalitas distribusi.

	Grup A	Grup B	Grup C
Rev FEV-1	-14.00± 8.16	-13.58±9.56	-15.29±7.61
IL-4	-8.209±5.680	-8.411±4.804	-12.859±12.101
IL-5	-37.245±24.604	-32.833±32.141	-41.347±19.545
IFN- $\gamma$	-2.40±1.762	1.346±4.052	1.738±4.102
IL-2	-14.364±15.493	170.791±85.581	181.359±36.271

Penggunaan beberapa analisis statistik mensyaratkan data berasal dari distribusi normal, dengan demikian harus dilakukan uji normalitas. Pada Uji Normalitas distribusi, Reversibilitas FEV-1, IL-4, IL-5, IFN- $\gamma$  dan IL-2 dalam distribusi normal dengan nilai probabilitas statistik adalah  $p > 0,05$  (Gambar 1)

Artinya sebaran data data dasar normal dan antara sample satu dengan yang lain tidak saling tergantung (*Independent, identical, normal*), sebagai persyaratan uji statistik parametric yaitu MANOVA dan analisis diskriminan

Uji Normalitas distribusi

Perbedaan antar grup A, B dan C awal (tabel 5.4.2)

Tabel 5.4.2 Perbedaan antar grup data awal

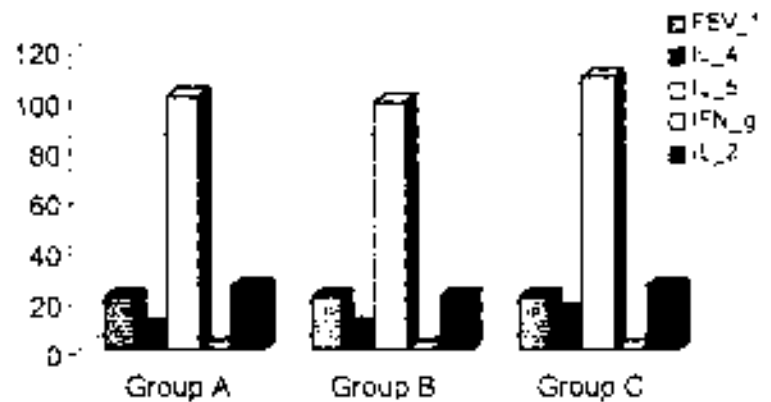
Descriptive Statistics					
	Group	Mean	Std. Deviation	N	
EPR-1 Responability Pre	Group A	22.26	7.54	25	
	Group B	21.25	7.41	24	
	Group C	21.90	7.43	24	
	Total	21.23	7.36	73	
E-4 Pre	Group A	9.41230	5.27165	25	
	Group B	9.30125	3.58704	24	
	Group C	14.64375	12.29841	24	
	Total	11.09671	8.24258	73	
E-5 Pre	Group A	100.80504	11.45213	25	
	Group B	98.41563	28.60804	24	
	Group C	100.11188	17.06009	24	
	Total	102.42179	20.37582	73	
EPR-4 Pre	Group A	.2242000	1.274101E-04	25	
	Group B	.2242292	1.267629E-04	24	
	Group C	.2242583	1.262547E-04	24	
	Total	.2242301	1.276768E-04	73	
E-2 Pre	Group A	25.01768	15.92880	25	
	Group B	20.86575	14.76542	24	
	Group C	24.97217	14.41728	24	
	Total	23.63770	14.98116	73	

dengan menggunakan analisa multi variat metode Wilks' Lambda didapatkan  $F = 0.846$

dengan tingkat kemaknaan  $p = 0.327$  (a = 0.05), menunjukkan bahwa kelima variabel

dalam grup A, B dan C homogen (Tabel 5.4.2) juga untuk melihat bahwa data

dianalisa dimulai dari keadaan yang sama



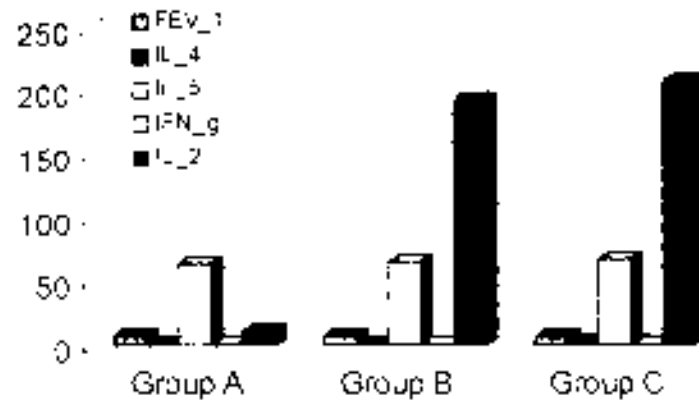
Gambar 5.4.1 Variabel pemeriksaan awal

### 5.5 Variabel pemeriksaan akhir

Tabel 5.5.1 Data variabel pemeriksaan akhir

Descriptive Statistics

	GROUP	Mean	Std. Deviation	N
FEV-1 Reversibility Post	Group A	7.36	4.81	25
	Group B	7.87	4.83	24
	Group C	6.79	2.60	24
	Total	4.86	4.28	73
I_4 Post	Group A	1.20000	1.24297	25
	Group B	.88668	.99473	24
	Group C	1.78800	1.10640	24
	Total	1.29233	1.16606	73
I_5 Post	Group A	63.89000	19.28212	25
	Group B	64.89342	16.42591	24
	Group C	66.76375	6.46157	24
	Total	65.27852	14.98704	73
IFN-y Post	Group A	.2243890	1.154701E-04	25
	Group B	.2266750	4.027541E-03	24
	Group C	.2289600	4.112386E-03	24
	Total	.2263380	3.347610E-03	73
I_2 Post	Group A	10.68343	10.77520	25
	Group B	191.86790	81.31022	24
	Group C	286.33196	31.68386	24
	Total	134.48402	102.98527	73



Gambar 5.5: variabel pemeriksaan akhir

5.6.4 uji beda pemeriksaan awal dan akhir

5.7. Diakibatkan uji kelompok A, B dan C terhadap perbedaan delta antara pemeriksaan awal

(Grafik 5.4.1) dan akhir (Grafik 5.5.1). Tujuan uji ini adalah untuk melihat adanya pengaruh dari setiap perlakuan terhadap variabel (Tabel 5.6.1)

Label 5.6: Descriptive Statistics

GROUP	Mean	Std. Deviation	N
<b>Delta FEV_1</b>			
Group A	-14,00	8,16	25
Group B	-13,50	9,56	24
Group C	-15,29	7,61	24
Total	-14,29	8,39	73
<b>Delta IL_4</b>			
Group A	-8,3092	5,6806	25
Group B	-8,4117	4,0043	24
Group C	-12,8583	12,1012	24
Total	-9,8844	8,2035	73
<b>Delta IL_5</b>			
Group A	-37,24504	24,60489	25
Group B	-32,83321	32,14132	24
Group C	-41,34733	19,54533	24
Total	-37,14327	25,80559	73
<b>Delta IFN-g</b>			
Group A	-2,40970000E-05	1,7625739E-04	25
Group B	1,3458333E-03	4,0529087E-03	24
Group C	1,7375000E-03	4,1025774E-03	24
Total	1,0056793E-03	3,3495394E-03	73
<b>Delta IL_2</b>			
Group A	-14,36455	15,49389	25
Group B	170,79125	85,58164	24
Group C	181,35979	36,27141	24
Total	110,85632	105,54059	73

Dengan multivariat Wilks' Lambda didapatkan nilai  $\lambda = 0,000$  dengan tingkat kemungkinan  $0,000$  ( $p < 0,05$ ), artinya antara data awal dan akhir ada perbedaan yang bermakna (Tabel 5.6.1).

Multivariate Tests (Tabel 5.6.2)

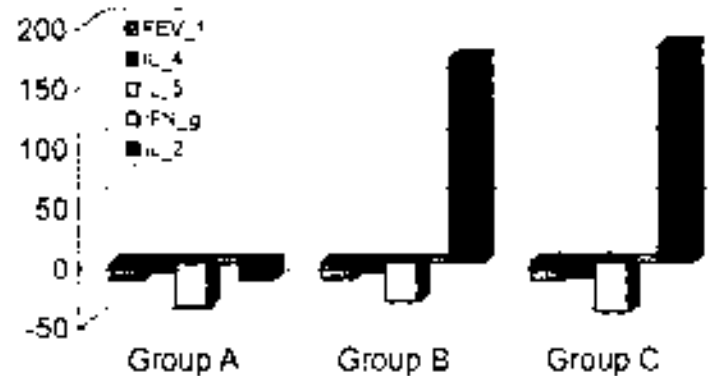
		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
<b>Intercept</b>	Pillai's Trace	.928	171.301	5.000	66.000	.000
	Wilks' Lambda	.072	171.301	5.000	66.000	.000
	Hotelling's Trace	12.977	171.301	5.000	66.000	.000
	Roy's Largest Root	12.977	171.301	5.000	66.000	.000
<b>GROUP</b>	Pillai's Trace	.032	9.536	10.000	134.000	.000
	Wilks' Lambda	.216	15.207	10.000	132.000	.000
	Hotelling's Trace	3.412	22.176	10.000	130.000	.000
	Roy's Largest Root	3.368	44.836	5.000	67.000	.000

- Exact statistic
- The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level
- Design: Intercept+GROUP

Untuk mengetahui variabel mana yang paling dominan dalam membedakan ketiga kelompok maka dilakukan analisa diskriminan (Tabel 5.6.3).

Group Statistics (Tabel 5.6.3)

GROUP		Mean	Std. Deviation	Valid N (listwise)	
				Unweighted	Weighted
<b>Group A</b>	Delta FEV	-15.00000000	8.15986111	25	25.000
	Delta IL_4	-8.20000000	5.68059557	25	25.000
	Delta IL_5	-37.20000000	24.60488765	25	25.000
	Delta IFN-g	-3.40000000E-05	1.7625739E-04	25	25.000
	Delta IL_2	-14.20000000	15.49388980	25	25.000
<b>Group B</b>	Delta FEV	-13.20000000	9.56404802	24	24.000
	Delta IL_4	-8.21000000	4.00427018	24	24.000
	Delta IL_5	-32.00000000	32.14132418	24	24.000
	Delta IFN-g	1.30000000E-03	4.0529087E-03	24	24.000
	Delta IL_2	170.70000000	85.58163707	24	24.000
<b>Group C</b>	Delta FEV	-15.20000000	7.61279910	24	24.000
	Delta IL_4	-12.00000000	12.10118367	24	24.000
	Delta IL_5	-41.50000000	19.54533362	24	24.000
	Delta IFN-g	1.70000000E-03	4.1025774E-03	24	24.000
	Delta IL_2	105.20000000	36.27141482	24	24.000
<b>Total</b>	Delta FEV	-14.20000000	8.39391223	73	73.000
	Delta IL_4	-8.20000000	8.20348994	73	73.000
	Delta IL_5	-37.14000000	25.80558715	73	73.000
	Delta IFN-g	1.00000000E-03	3.3495394E-03	73	73.000
	Delta IL_2	110.00000000	105.54058673	73	3.000



Gambar 5.6.1 Delta variabel awal dan akhir

pemeriksaan awal dan akhir

Dari 5 variabel yang diuji didapatkan 2 variabel yang bisa membedakan (sebagai diskriminator) yaitu IL\_2 dan IL\_5 (Tabel 5.6.1) dengan analisa Wilks' Lambda didapatkan nilai .000 (Tabel 5.6.2)

Analisis diskriminan

Tabel 5.6.4 Tabel variabel diskriminan setelah step 2

	Tolerance	Sig.	Of F to Remove	Wilks' Lambda
1 Delta IL_2	.994	.000		
2 Delta IL_2	.994	.000	.982	
Delta IL_5	.994	.020	.288	

Dari variabel yang bisa membedakan, ditampilkan model yang mewakili setiap kelompok yang disebut Fisher linear discriminant function (Model Regresi) (Tabel 5.6.5)

Tabel 5.6.5 Koefisien fungsi klasifikasi (Classification Function Coefficients)

	GROUP		
	Group A	Group B	Group C
Delta IL_5	-5.871E-02	-.103	-.119
Delta IL_2	4.687E-03	7.910E-02	8.163E-02
(Constant)	-2.158	-8.399	-10.971

Fisher's Linear discriminant functions

Tabel 5.6.5 Hasil klasifikasi (Classification Results)

	Original Count	Predicted Group Membership			Total
		Group A	Group B	Group C	
Original Count	Group A	25	0	0	25
	Group B	4	11	9	24
	Group C	1	8	15	24
%	Group A	100.0	.0	.0	100.0
	Group B	16.7	45.8	37.5	100.0
	Group C	4.2	33.3	62.5	100.0
Cross-validated Count	Group A	25	0	0	25
	Group B	4	9	11	24
	Group C	1	8	15	24
%	Group A	100.0	.0	.0	100.0
	Group B	16.7	37.5	45.8	100.0
	Group C	4.2	33.3	62.5	100.0

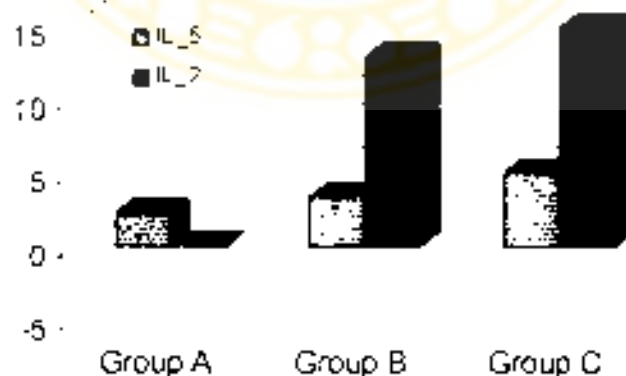
a. Cross validation is done only for those cases in the analysis. In cross validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.

b. 69.9% of original grouped cases correctly classified.

c. 67.1% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Dari hasil model tersebut didapatkan validasi rata-rata sebesar 69.9% artinya ketiga kelompok mempunyai validasi rata-rata sebesar 69.9%. Fungsi diskriminan dengan 2 diskriminator delta IL-2 dan delta IL-5 mampu memisahkan subyek kedalam ketiga kelompok dengan persentase klasifikasi secara benar sebesar 69.9%.

Untuk mendapatkan pola, dilakukan perkalian nilai konstanta dan Fisher linear dengan data asli delta (Gambar 5.6.2).

Gambar 5.6.2 Pola perkalian  $|L_1|^{-2}$  dan  $|L_1|^{-5}$



Gambar 6.2 menggambarkan IL-2 sebagai diskriminator yang menunjukkan kontribusi diskriminator terhadap modulasi imunitas yang menurunkan gejala asma. Peningkatan IL-2 berkorelasi dengan penurunan IL-5

Pemberian imunoterapi dan kortikosteroid hirupan meningkatkan IL-2 sebesar  $181.36 \pm 38.27$ , IFN- $\gamma$   $1.73 \pm 4.10$ , menurunkan IL-5 sebesar  $41.35 \pm 19.54$ , IL-4  $12.86 \pm 12.10$  dan reversibilitas FEV-1 sebesar  $15.29\% \pm 7.61\%$ . Dengan perubahan tersebut ternyata peningkatan IL-2 dan penurunan IL-5 mempunyai kontribusi positif terhadap modulasi imunitas yang menurunkan reversibilitas FEV-1, dengan demikian perubahan yang terjadi pada kelompok kombinasi imunoterapi dan kortikosteroid akan semakin menurunkan gejala asma. Penurunan ini dicerminkan penurunan reversibilitas FEV-1 sebesar  $15.29 \pm 7.61\%$  yang merupakan penurunan terbesar.

Pemberian imunoterapi menaikkan IL-2 sebesar  $170.79 \pm 85.58$ , IFN- $\gamma$  sebesar  $1.34 \pm 4.05$ , menurunkan IL-4 sebesar  $8.41 \pm 4.00$ , IL-5 sebesar  $32.83 \pm 32.14$ , Reversibilitas FEV-1 sebesar  $13.58 \pm 9.56\%$ .

Pemberian kortikosteroid menurunkan kadar IL-2 sebesar  $14.48 \pm 15.40$ , IFN- $\gamma$  sebesar  $2.40 \pm 1.76$ , IL-4 sebesar  $8.20 \pm 5.68$ , IL-5 sebesar  $37.25 \pm 24.60$  dan reversibilitas FEV-1 sebesar  $14.00\% \pm 8.16\%$ .

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian sebelum munculnya paradigma Th-1/Th-2, menitik beratkan pada sel Mast sebagai posisi sentral. Konsep ini dengan mediator sel Mast menyebabkan reaksi cepat pada penderita asma (Liu, 1991). Selanjutnya konsep "*T-dependent Mast cell*" yang lebih kompleks menekankan selain sel Mast juga peran sel T dan interaksi antar sel yang lain (Mekori, 1999). Kedua konsep diatas masih dipakai dalam penelitian ini karena masih berperan pada reaksi fase cepat. Paradigma yang banyak dipakai saat ini adalah paradigma Th-1/Th-2 yang mendominasi pengertian mengenai patofisiologi asma dan penyakit alergi lain. Dalam paradigma ini sel Th-1 dan sel Th-2 saling mengadakan regulasi silang, dan mengontrol penyimpangan imun yang terjadi pada asma dan penyakit alergi lainnya. Sel Th-1 mempunyai peran yang baik dalam patogenesis asma karena berfungsi kontrol pengendali terhadap sel Th-2 (Umetsu, 2003). Paradigma Th-1/Th-2 dipakai dalam penelitian ini karena konsep keseimbangan dalam paradigma ini bisa menerangkan fenomena klinis yang rumit, dan masih mengakomodasi konsep Sel Mast dan *T dependent Mast Cell*, dalam kerangka konsep penelitian ini berada lebih hilir seperti terlihat pada kerangka konsep

Berdasarkan fakta empirik yang telah ada maka dilakukan abstraksi dan ekstrapolasi, disusun kerangka konsep yang telah dipaparkan diatas. Kebenarannya masih bersifat rasional. Maka setelah mendapat persetujuan Etik, konsep ini dioprasinolkkan dalam bentuk penelitian untuk mendapatkan kebenaran yang empirik.

Penelitian telah dilakukan mulai Februari sampai dengan Desember 2003, dengan lokasi penelitian Poli Alergi Anak RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Dimulai dengan persetujuan tertulis mengikuti penelitian (*Informed Consent*) didahului dengan penjelasan mengenai pernyataan persetujuan mengikuti penelitian. Jumlah penderita yang disaring adalah 419, dari jumlah ini 298 anak memenuhi kriteria asma sedang, onset kurang dari 2 tahun, atopi, dan usia antara 6-21 tahun. Status Atopi ditunjukkan dengan kadar IgE total lebih dari 100IU/ml, hitung eosinofil darah tepi lebih dari 300 /cmm, riwayat atopi lain pada penderita dan riwayat atopi pada keluarga. Dua yang terakhir tidak mutlak harus ada. Dari 298 penderita, 51 anak dieksklusi karena ada kriteria eksklusi yaitu 15 anak dengan FEV-1 % prediksi normal kurang dari 60% sebelum pemberian bronkodilator, 26 anak dengan FEV-1 % prediksi normal kurang dari 80% setelah pemberian bronkodilator, dan 10 anak dengan reversibilitas FEV-1 kurang dari 12%. Dari jumlah ini dirandomisasi masuk sebanyak 81 anak, 4 anak tidak bisa mengikuti prosedur penelitian, 3 anak tidak dianalisa karena menderita batuk, pilek dan panas selama mengikuti penelitian. Hal ini dimaksudkan sebagai pengendalian terhadap variabel pengganggu, karena gejala batuk, pilek dan panas pada anak dapat disebabkan oleh infeksi virus RSV dan Rhinovirus. Pada infeksi kedua virus ini, terjadi peningkatan IL-2 dan IFN- $\gamma$  dalam proses sitotoksik (McIntosh, 2004). Di daerah tropik dan subtropik infeksi *Respiratory Syncytial Virus* penyebab terbesar gejala sesak dengan mengi pada bayi (Camara, 2004). Bahkan

makin banyak fakta empirik terkumpul bahwa RSV mempunyai hubungan kausal dengan kejadian asma (Peebles, 2004).

Pada penelitian ini 25 penderita asma anak diberi budesonid hirupan, 24 penderita diberi imunoterapi sebagai grup kontrol dan 24 penderita diberi imunoterapi dan budesonid hirupan disamping pengobatan konvensional. Perbaikan terjadi pada pemeriksaan Reversibilitas FEV-1 baik pada pemberian kortikosteroid hirupan, imunoterapi maupun kombinasi keduanya, akan tetapi penurunan terbesar terjadi pada pemberian kombinasi kortikosteroid hirupan dan imunoterapi,

Pemeriksaan IL-4 pada pemberian kombinasi kortikosteroid hirupan dengan imunoterapi menunjukkan delta sebesar -12.858 (Tabel 5.6.1), artinya terjadi penurunan bermakna ( $p,0,05$ ) antara pemeriksaan awal dan pemeriksaan akhir. Hal ini terjadi karena terjadi peningkatan IL-12 menyebabkan modulasi imun yang menurunkan IL-13 yang dipacu oleh imunoterapi, menyebabkan peningkatan IFN- $\gamma$  (Umetsu, 2003) yang diperkuat oleh kortikosteroid hirupan (Naseer, 1987; Anhoj, 2002, Pauwel, 2003). Hal ini akan menimbulkan *switching* sinyal transkripsi pada gen yang menyandi rantai  $\epsilon$  menjadi rantai  $\gamma$  menyebabkan penurunan pembuatan IgE. Disamping itu juga terjadi penurunan sinyal proliferasi sel B menjadi sel plasma (Oetgen, 1999). Mekanisme penurunan ini terjadi seperti terlihat pada pola diskriminan, delta IL-4 disini terlihat menurun namun. Pada pemberian imunoterapi IL-4 terlihat menurun walaupun tidak sebesar kombinasi dengan kortikosteroid hirupan dengan delta sebesar -9.411, artinya terjadi penurunan sebesar 8.411 antara

pemeriksaan awal dan pemeriksaan akhir. Hal ini terjadi karena modulasi kenaikan IL-12 yang diimbangi modulasi penurunan IL-13. selanjutnya terjadi penurunan proliferasi Th-2 dan penurunan IL-4. Penurunan IL-4 juga sebagai akibat apoptosis Th-2 karena imunoterapi (Guerra, 2001). Mekanisme penurunan ini seperti terlihat pada gambar 5.5.1 tetapi tidak sebesar seperti pada pemberian kombinasi imunoterapi dengan kortikosteroid hirupan. Pada pemberian kortikosteroid, IL-4 terlihat menurun masih dalam distribusi normal seperti pemberian imunoterapi maupun kombinasi imunoterapi dengan kortikosteroid hirupan. Hal ini terjadi karena hambatan kortikosteroid terhadap NF- $\kappa$ -B yang berlanjut pada hambatan transkripsi gen yang menyandi IL-4 pada inti sel Th-2 (Leung, 2003)

Pemeriksaan IL-5 pada pemberian kombinasi kortikosteroid hirupan dengan imunoterapi menunjukkan delta sebesar -51.347, artinya terjadi penurunan bermakna antara pemeriksaan awal dan pemeriksaan akhir. Hal ini terjadi karena terjadi peningkatan IL-12 yang disebabkan imunoterapi, menimbulkan modulasi penurunan IL-13 (Umetsu, 2003) yang diperkuat oleh kortikosteroid hirupan (Naseer, 1987; Arhøj, 2002; Pauwel, 2003). Kortikosteroid meningkatkan mRNA IL-12, dengan demikian terjadi transkripsi protein yang menyandi IL-12. Penurunan IL-13 akan menimbulkan penurunan sinyal sintesis IL-5, dengan akibat aktivasi terhadap eosinofil menurun. Sitokin IL-5 bersama IL-13 dan GM-CSF memacu pematangan eosinofil pada stem sel dan kemotaktik menuju tempat peradangan. Mekanisme penurunan ini seperti terlihat pada pola diskriminan. Delta IL-5 disini terlihat negatif

dengan diskriminan yang positif, artinya terjadi penurunan IL-5 yang memicu modulasi imunitas pada asma anak. Pada pemberian imunoterapi IL-5 terlihat menurun walaupun tidak sebesar kombinasi dengan kortikosteroid hirupan dengan delta sebesar -32.833, artinya terjadi penurunan sebesar 32.833 antara pemeriksaan awal dan pemeriksaan akhir. Hal ini terjadi karena kenaikan IL-12 yang diimbangi modulasi penurunan IL-13. selanjutnya terjadi penurunan proliferasi Th-2 dan penurunan IL-5. Penurunan IL-5 juga sebagai akibat apoptosis Th-2 karena imunoterapi (Guerra, 2001). mekanisme penurunan ini seperti terlihat pada pola diskriminan seperti pada pemberian kombinasi imunoterapi dengan kortikosteroid hirupan. Pada pemberian kortikosteroid, IL-5 terlihat menurun masih dalam distribusi normal seperti pada pemberian imunoterapi maupun kombinasi imunoterapi dengan kortikosteroid hirupan. Hal ini terjadi karena hambatan kortikosteroid terhadap NF- $\kappa$ B yang berlanjut pada hambatan transkripsi gen yang menyandi IL-5 pada inti sel Th-2 (Jung, 2003). Mekanisme penurunan ini terjadi seperti terlihat pada gambar 5.6.1 dimana delta IL-5 menurun dengan pola diskriminan positif, artinya terjadi modulasi respons imun yang menurunkan IL-5 pada pemberian kortikosteroid hirupan.

Pemeriksaan IFN- $\gamma$  pada pemberian kombinasi kortikosteroid hirupan dengan imunoterapi menunjukkan delta sebesar 1.737, artinya terjadi penurunan bermakna antara pemeriksaan awal dan pemeriksaan akhir. Hal ini terjadi karena terjadi peningkatan IL-12 yang disebabkan imunoterapi memacu transkripsi gen yang menyandi IFN- $\gamma$  oleh Th-1 (Umetsu, 2003) yang diperkuat oleh kortikosteroid

hirupan (Naseer, 1987; Anhoj, 2002; Pauwel, 2003). Kortikosteroid meningkatkan mRNA IL-12, dengan demikian terjadi transkripsi protein yang menyandi IL-12. Mekanisme penurunan ini seperti terlihat pada pola diskriminan (Gambar 5.6.1 dan 5.6.2). Delta IFN- $\gamma$  terlihat positif artinya terjadi kenaikan IFN- $\gamma$  yang bermakna. Pada pemberian imunoterapi IFN- $\gamma$  terlihat meningkat walaupun tidak sebesar kombinasi dengan kortikosteroid hirupan dengan delta sebesar 1.345, artinya terjadi kenaikan sebesar 1.345 antara pemeriksaan awal dan pemeriksaan akhir. Hal ini terjadi karena kenaikan IL-12 merangsang proliferasi dan diferensiasi Th-0 menjadi Th-1 menghasilkan IFN- $\gamma$ . Mekanisme kenaikan ini seperti terlihat pada gambar 5.6.1 seperti pada pemberian kombinasi imunoterapi dengan kortikosteroid hirupan. Pada pemberian kortikosteroid, IFN- $\gamma$  terlihat menurun masih dalam distribusi normal seperti pada pemberian imunoterapi maupun kombinasi imunoterapi dengan kortikosteroid hirupan. Hal ini terjadi karena hambatan kortikosteroid terhadap NF- $\kappa$ -B yang berlanjut pada hambatan transkripsi gen yang menyandi IFN- $\gamma$  pada inti sel Th-1 (Leung, 2003). Mekanisme penurunan ini seperti dilihat pada gambar 5.6.1 dimana delta IFN- $\gamma$  menurun.

Pemeriksaan IL-2 pada pemberian kombinasi kortikosteroid hirupan dengan imunoterapi menunjukkan delta sebesar 181.359, artinya terjadi kenaikan bermakna ( $p < 0.05$ ) antara pemeriksaan awal dan pemeriksaan akhir. Hal ini terjadi karena terjadi peningkatan IL-12 yang dipacu oleh imunoterapi (Umetsu, 2003) yang diperkuat oleh kortikosteroid hirupan (Naseer, 1987; Anhoj, 2002; Pauwel, 2003).

Hal ini akan menimbulkan penurunan proliferasi dan diferensiasi sel B menjadi sel plasma yang akan menghasilkan IgG. Mekanisme kenaikan ini seperti terlihat pada gambar 5.6.1 dan pola diskriminan yang menggambarkan modulasi repons imun IL-2 terhadap penurunan IL-5 yang menyebabkan perbaikan reversibilitas FEV-1. Pada pemberian imunoterapi IL-2 terlihat meningkat walaupun tidak sebesar kombinasi dengan kortikosteroid hirupan dengan delta sebesar 170.791, artinya terjadi kenaikan sebesar 170.791 antara pemeriksaan awal dan pemeriksaan akhir. Hal ini terjadi karena modulasi kenaikan IL-12 yang selanjutnya terjadi proliferasi Th-1. Mekanisme penurunan ini seperti terlihat pada gambar 5.6.1 dengan pola diskriminan seperti pada pemberian kombinasi imunoterapi dengan kortikosteroid hirupan walaupun lebih kecil. Pada pemberian kortikosteroid, IL-2 terlihat menurun masih dalam distribusi normal seperti pada pemberian imunoterapi maupun kombinasi imunoterapi dengan kortikosteroid hirupan. Hal ini terjadi karena hambatan kortikosteroid terhadap NF- $\kappa$ -B yang berlanjut pada hambatan transkripsi gen yang menyandi IL-2 pada inti sel Th-1 (Leung, 2003). Mekanisme kenaikan ini terjadi terlihat pada gambar 5.6.1 dengan pola diskriminan seperti pada pemberian kombinasi imunoterapi dengan kortikosteroid hirupan walaupun lebih kecil. Delta IL-2 sebesar 170.191 dengan pola diskriminan yang positif (Gambar 5.6.2) berarti terjadi kenaikan bermakna IL-2 pada pemberian imunoterapi. Pada pemberian kortikosteroid, IL-2 terlihat menurun masih dalam distribusi normal seperti pada pemberian imunoterapi maupun kombinasi imunoterapi dengan kortikosteroid



hirupan. Delta penurunan sebesar -13.364, artinya terjadi penurunan IL-2 pada pemberian kortikosteroid hirupan pada pemeriksaan akhir dibanding pemeriksaan awal. Hal ini terjadi karena kortikosteroid menghambat sinyal transkripsi NFκ-B pada gen yang menyandi IL-2 pada inti sel Th-1 (Umetsu, 2003). Mekanisme penurunan ini seperti terlihat pada gambar 5.6.1 dimana delta IL-2 menurun dengan pola diskriminan positif, artinya terjadi penurunan IL-2 namun tidak berperan terhadap modulasi imun pada asma anak pada pemberian kortikosteroid hirupan.

Sebagai rangkuman penelitian ini terlihat pada grup A yaitu grup yang mendapat kortikosteroid hirupan terjadi penurunan Reversibilitas FEV-1 yang bermakna, tetapi masih ada 29% (Tabel 5.3.1) dari penderita dari grup ini dengan Reversibilitas FEV-1 lebih besar dari 12%. Hal ini sesuai dengan *Asthma related adverse event* sebesar 29%. Keberhasilan pengobatan dalam penelitian ini dinyatakan dengan Reversibilitas FEV-1 kurang dari 12%. Pada grup yang mendapat imunoterapi, juga terjadi penurunan Reversibilitas FEV-1 yang bermakna, namun juga masih ada 24% penderita dengan Reversibilitas FEV-1 lebih dari 12%. Pada grup ini *Asthma related Adverse event* terdapat sebesar 24% (Tabel 5.3.1), Pada grup yang mendapat imunoterapi bersama budesonid Reversibilitas FEV-1 semuanya dibawah 12% dan tidak tercatat *Asthma related adverse event*. Hal ini menunjukkan keberhasilan terapi dibanding yang menerima imunoterapi saja maupun kortikosteroid hirupan saja. Tidak ada perbedaan bermakna pada reversibilitas FEV-1 akhir penelitian antara grup yang menerima kortikosteroid hirupan dengan

imunoterapi dan imunoterapi bersama kortikosteroid hirupan, tetapi masih dalam distribusi normal.

Pemberian imunoterapi dan kortikosteroid hirupan meningkatkan kadar IL-2 sebesar 181.36, IFN- $\gamma$  173, menurunkan IL-5 sebesar 41.35, IL-4 12.86 dan reversibilitas FEV-1 sebesar 15.29% (Tabel 5.6.3). Dengan perubahan tersebut ternyata perubahan IL-2 dan penurunan IL-5 mempunyai kontribusi positif terhadap modulasi imunitas yang menurunkan gejala asma. Hal itu terjadi karena peningkatan IL-2 akan menyebabkan sel B menjadi sel Plasma, diikuti peningkatan IFN- $\gamma$  yang mengubah rantai  $\mu$  menjadi rantai  $\gamma$  dalam pembuatan imunoglobulin, sehingga kadar IgG meningkat. Peningkatan IL-2 akan menghambat IL-4 dan IL-5 sehingga akan menghambat produksi IgE, dengan demikian perubahan yang terjadi pada kelompok kombinasi imunoterapi dan kortikosteroid akan semakin menurunkan gejala asma. Penurunan ini dicerminkan penurunan reversibilitas FEV-1 sebesar 15.29% yang merupakan penurunan terbesar.

Pemberian kortikosteroid menurunkan kadar IL-2 sebesar 13.46, IFN- $\gamma$  sebesar 2.40, IL-4 sebesar 8.20, IL-5 sebesar 37.25 dan reversibilitas FEV-1 sebesar 14.00% (Tabel 5.6.3). Penurunan IL-4 menyebabkan hambatan terhadap proliferasi sel B menjadi sel plasma sehingga produksi IgE menurun. Akan tetapi tidak disertai peningkatan IL-2 dan IFN- $\gamma$  sehingga proliferasi sel B menjadi sel plasma yang menghasilkan IgG tidak terpacu, jadi keseimbangan masih condong kearah Th-2. Pemberian imunoterapi menyebabkan kenaikan IL-2 sebesar 170.79, IFN- $\gamma$  sebesar

1.35, penurunan IL-4 sebesar 8.41, IL-5 sebesar 32.83 dan reversibilitas FEV-1 sebesar 13.58% . Keseimbangan sudah mengarah ke Th-1 tetapi tidak sebesar pada grup yang mendapat kombinasi imunoterapi dan kortikosteroid hirupan. Kalau ditinjau pada pemberian kortikosteroid hirupan saja maka rasio IFN- $\gamma$ /IL-4 = 0.02 sebelum perlakuan menjadi 0.16 setelah perlakuan. Berarti keseimbangan telah bergeser kearah Th-1. Ketika diberi kombinasi imunoterapi dan kortikosteroid hirupan maka rasio IFN- $\gamma$ /IL-4 menjadi 0.2 jadi lebih bergeser kearah Th-1, terjadi kenaikan IL-2 dan IFN- $\gamma$  yang lebih besar. Pada penderita asma anak dengan gejala yang berat (*Severe persistent*) diketahui kadar IFN- $\gamma$  dan rasio IFN- $\gamma$ /IL-4 lebih rendah dibanding penderita mild persistent (de Blic, 2004).

Pemeriksaan IL-4 pada grup yang mendapat kortikosteroid hirupan menunjukkan penurunan pada akhir penelitian. Hal ini juga terjadi pada grup yang menerima imunoterapi dan imunoterapi bersama kortikosteroid hirupan. Tetapi ada perbedaan bermakna IL-4 akhir antara grup yang menerima imunoterapi dan imunoterapi bersama kortikosteroid hirupan, pada grup yang menerima imunoterapi bersama kortikosteroid hirupan kadar IL-4 lebih rendah bermakna dari pada grup yang menerima imunoterapi saja. Kadar IL-4 pada penderita asma sangat tinggi. Interleukin ini dihasilkan oleh sel Th-2 sebagai protein sinyal otokrin, jadi membantu diferensiasi sel sendiri, memperkuat IL-13, suatu protein sinyal dari sel dendritik. IL-4 juga dihasilkan oleh sel Mast (Mekori, 1999). Sitokin IL-4 mempercepat diferensiasi sel B pada interaksi sel B-Sel Th-2 dalam konteks TCR-MHC kelas II. Sitokin IL-4

menginduksi dari IL-4R sehingga dimulai proliferasi dan diferensiasi Sel B menjadi sel plasma menghasilkan IgE melalui jalur pertama pengaktifan protein sinyal transduser transkripsi DNA dalam sitoplasma kemudian terjadi transkripsi gen dalam inti membentuk IgE (Oetgen,1999). Dalam sitoplasma IL-4 menghambat sintesis rantai  $\mu$  menjadi rantai  $\epsilon$  pada pembentukan IgE Dengan pemberian kortikosteroid jalur transkripsi dalam sitoplasma dihambat sehingga transkripsi gen pembentukan IgE tidak terjadi. Pada pemberian imunoterapi terjadi apoptosis sel Th-2 sehingga interaksi sel B-sel Th-2 tidak terjadi (Guerra, 2001). Pada penelitian ini, pada grup yang diberi kortikosteroid hirupan dan imunoterapi terjadi penurunan yang bermakna, rupanya terjadi sinergi antara kortikosteroid dan imunoterapi.

Kadar IL-5 mengalami penurunan bermakna pada grup yang mendapat kortikosteroid hirupan pada akhir penelitian Juga terjadi penurunan bermakna pada grup yang menerima imunoterapi saja dan yang mendapat imunoterapi bersama kortikosteroid hirupan Kadar IL-5 tidak terdapat perbedaan bermakna pada ketiga grup. Pemberian kortikosteroid menyebabkan penurunan IL-5 yang memberikan kontribusi kuat terhadap kenaikan IL-2

Kadar IL-5 pada penderita asma sangat tinggi, interleukin ini bersama GM-CSF dan IL-13 memacu sel sumsum tulang untuk memproduksi eosinofil, sekaligus sebagai kemotaktik, aktivator pemanjangan "*life span*". Sitokin IL-5, selain terhadap eosinofili, bersama IL-4 dan IL-9 berpengaruh pada pada sel T, sel B, sel Mast, dan sel epitel dalam menimbulkan inflamasi alergi (Soussi-Gioumi, 2001) Sel T dan eosinofil

bersinergi dalam menimbulkan apoptosis epitel bronkus. Sel epitel bronkus merupakan sasaran utama serangan inflamasi sel T dan eosinofil (Trautmann, 2002). Dengan pemberian kortikosteroid kadar IL-5 diturunkan sehingga penyusupan eosinofil pada saluran nafas berkurang. Pada pemberian imunoterapi seperti halnya IL-4, terjadi apoptosis sel Th-2 sehingga produksi IL-5 berkurang. Kombinasi kortikosteroid dengan imunoterapi telah digunakan selama 2 tahun (Pauwel, 2002) sampai 3 tahun (CAMP, 2000) dengan hasil yang baik dan tanpa efek samping yang serius, tidak menghambat pertumbuhan, tidak terjadi katarak, tidak terjadi hiperglikemia dan glukosuria. Penambahan kortikosteroid dengan imunoterapi tampaknya bersinergi dalam menurunkan IL-5. Penurunan IL-5 dalam penelitian ini bersama peningkatan IL-2 merupakan determinan utama dalam keberhasilan pengobatan. Penemuan ini mempunyai prospek penting di masa mendatang, karena saat ini telah banyak terkumpul fakta empirik bahwa suatu obat antagonis IL-5 sangat efektif dalam mengurangi inflamasi dengan bukti penurunan infiltrasi eosinofil (Jennifer, 2004)

Pemeriksaan awal IFN- $\gamma$  menunjukkan bahwa sampel dalam distribusi normal. Dibanding pemeriksaan awal pada pemeriksaan akhir terdapat penurunan tidak bermakna pada grup yang mendapat kortikosteroid hirupan saja. Pada grup yang mendapat imunoterapi terjadi kenaikan tidak bermakna kadar IFN- $\gamma$ . Pada grup yang mendapat imunoterapi bersama kortikosteroid terjadi kenaikan bermakna. Kadar IFN- $\gamma$  pada asma pada anak memang rendah. Pada penelitian ini terjadi kenaikan

bermakna hanya pada grup yang mendapat imunoterapi bersama kortikosteroid hirupan. IFN- $\gamma$  dihasilkan oleh Th-1 oleh induksi IL-12 pada Th-1. IFN- $\gamma$  memacu produksi IgG2a, IgG4 oleh sel B tetapi menghambat produksi IgG dan IgE. Bersama dengan IL-2, IFN- $\gamma$  memacu Sel B dalam interaksi Th-1-Sel B dalam konteks TCR-MHC kelas II, menjadi sel plasma yang menghasilkan IgG (Abbas, 1996). Regulasi IFN- $\gamma$  diatur oleh IL-10 dan IL-12 (Umetsu, 2004). Pada penelitian ini produksi IFN- $\gamma$  dihambat oleh kortikosteroid pada grup A. Pada imunoterapi kadar IFN- $\gamma$  meningkat tidak bermakna, sedangkan dengan perlakuan imunoterapi bersama kortikosteroid hirupan kadarnya meningkat bermakna walaupun analisis multivariat menunjukkan kadarnya masih homogen dengan grup lain. Jadi kortikosteroid bukan sebagai immunosupresor, tetapi bahkan imuno potensiasi bila digabung dengan imunoterapi

Pada pemeriksaan IL-2 terjadi penurunan bermakna pada grup yang mendapat budesonid hirupan saja, terjadi kenaikan bermakna pada grup yang mendapat imunoterapi dan imunoterapi bersama budesonid hirupan. Kadar IL-2 rendah pada awal penelitian. Pada penderita asma kadar IL-2 memang rendah karena interleukin ini adalah termasuk profil Th-1. Dengan imunoterapi kadar IL-2 meningkat sebagai keseimbangan penurunan IL-4 dan IL-5 karena apoptosis sel Th-2 (Guerra, 2001). Dalam penelitian ini terlihat kortikosteroid hirupan bersinergi dengan imunoterapi dalam peningkatan kadar IL-2. Pada tabel pola perubahan terlihat bahwa penurunan IL-5 mempunyai kontribusi yang kuat pada kenaikan kadar IL-2. Pembenan

budesonid hirupan tidak saja meningkatkan kadar sitokin IL-2 dan IFN- $\gamma$ , tetapi juga meningkatkan kepekaan reseptor  $\beta$ -2 (Tseng, 2002). Hal ini juga berperan dalam keberhasilan pengobatan, karena pada asma terjadi penurunan kepekaan reseptor  $\beta$ -2 karena pengaruh IL-5 dan IL-13 (Shore, 2002). Budesonid hirupan dipilih karena penggunaannya mudah, tidak perlu koordinasi, karena berupa serbuk yang dihirup, tidak mengandung gas CFC, sehingga tidak membahayakan lingkungan. Pada penggunaan jangka panjang obat ini ternyata aman dan efektif (Pauwels, 2003). Efektifitas dan keamanan budesonide hirupan berhubungan dengan farmakokinetik obat ini. Pertama tergantung dari bioavailabilitas obat, yaitu jumlah obat yang terserap secara sistemik melalui mulut dan paru. Bioavailabilitas yang kecil menyebabkan obat kurang efek sampingnya. Kedua klirens dan obat yaitu jumlah yang dikeluarkan dari darah persatuan volume dan waktu. Klirens budesonide adalah cepat sehingga mempengaruhi keamanan obat. Ketiga volume distribusi obat, yaitu distribusi obat pada jaringan tubuh. Faktor ini tergantung pada lipofilisitas obat, makin kecil lipofilisitas obat makin kecil volume distribusinya. Keempat waktu paruh obat yaitu kecepatan obat dikeluarkan dari tubuh (Spahn, 1999). Selain aman, budesonid hirupan jangka panjang tidak mempengaruhi imunitas seluler (Levy, 1995). Pada pemberian Kortikosteroid hirupan peneliti sebelumnya menemukan penurunan IL-4, IL-5 dan IgE, dan tidak pernah mengungkap IL-2 dan IFN- $\gamma$ . Penelitian ini sesuai dalam hal IL-4, IL-5, bahkan mengungkap terjadinya penurunan IL-2 dan IFN- $\gamma$ .

Pada penelitian ini pada grup yang mendapat budesonid hirup masih terjadi kegagalan pengobatan sebesar 29%. Dalam interaksi sel B, dalam hal ini berfungsi sebagai *Antigen Presenting Cell (APC)* dan sel T dalam konteks TCR-MHC kelas II dengan faktor ko-stimulasi CD40-CD40L, sel T akan berdiferensiasi dan proliferasi menjadi Th-2 yang menghasilkan IL-4 dan IL-13. Dibawah pengaruh IL-4 dan IL-13 menyebabkan Sel B berdiferensiasi menjadi sel plasma yang mensintesis IgE, kemudian sensitisasi sel Mast dimulai. Kortikosteroid menekan IL-4 sehingga sintesis IgE menurun. Di pihak lain, disamping menekan IL-4 kortikosteroid mempunyai efek meningkatkan ekspresi CD40L pada sel B dan sel T, sehingga juga meningkatkan sintesis IgE, potensial meningkatkan kepekaan alergi (Barnes, 2001).

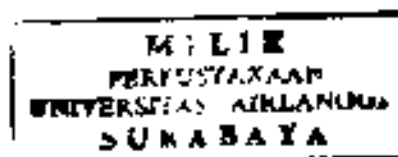
Efek samping obat menempati perhatian khusus dalam penelitian ini seperti pada tabel 5.3.1 mengenai *Adverse event*. Kena grup terlihat tidak menunjukkan *Medication related adverse event* (Tabel 5.3.1). Pada pemberian kortikosteroid hirupan efek samping jangka pendek yang mungkin terjadi adalah kandidiasis, serak, *aphonia* dan mual muntah. Pemakaian jangka panjang kortikosteroid hirupan tidak menyebabkan gangguan pertumbuhan, katarak, hipertensi, glukosuria (Pauwels, 2003) dan gangguan imunitas seluler. Hitung limfosit, netrofil dan eosinofil darah tepi tidak berbeda bermakna dengan yang tidak menerima kortikosteroid hirupan jangka panjang. (Levy, 1995). Efek samping imunoterapi yang mungkin timbul adalah urtikaria, serangan sesak dan renjatan anafilaktik. Pada penelitian ini efek samping pengobatan tidak dijumpai baik pada kelompok yang menerima kortikosteroid hirupan, imunoterapi maupun kombinasi kortikosteroid hirupan dan imunoterapi.



Jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya maka terlihat bahwa pada pemberian imunoterapi temuan penelitian ini sesuai dengan peneliti sebelumnya yaitu terjadi penurunan IL-4, IL-5, IgE dan kenaikan IFN- $\gamma$ , IL-2 dan IgG4. (Noma, 1995, Honno, 1996, Bosquet, 1998; Guerra 2001) Peneliti tidak memeriksa IgE dan IgG karena penelitian terdahulu sudah jelas. Ada kegagalan imunoterapi sebesar 24% pada imunoterapi seperti terlihat pada *asthma related adverse event* dan Reversibilitas FEV-1 > 12%. Hal ini kemungkinan karena kegagalan apoptosis Th2 (Guerra, 2001), subset sel dendritik yang mengarah pada polarisasi Th-2. Pada asma, sel dendritik subset 2 lebih dominan, sel ini mengekspresi *Toll-like receptor 2 (TLR 2)*, yaitu sel dendritik yang menyebabkan diferensiasi dan proliferasi sel Th0 menjadi Th-2 (Kpsenberg, 2003; Eder, 2004; Romagnani, 2004). Kegagalan modulasi IL-13 kearah IL-12 juga merupakan salah satu penyebab kegagalan imunoterapi (Wils-Karp,2002). Kemungkinan lain adalah kegagalan ekspresi mRNA IL-2 (Naseet,1997) atau produksi IL-12 (Reider, 2002). Peneliti lain menemukan kegagalan ekspresi CD25+ dan IFN- $\gamma$  pada Th-1(Frew, 2002) atau kegagalan ekspresi reseptor IL-12 pada Th-1 (Honno, 1996). Sementara itu *Nitric Oxide (NO)* yang berlebihan sebagai akibat *airway remodelling* dan peradangan menyebabkan peningkatan cGMP yang menyebabkan konstiksi bronkus walaupun dengan imunoterapi yang sempurna (Mahut, 2004). Tetapi ternyata dalam penelitian kami kegagalan dapat diperbaiki dengan kortikosteroid hirupan Jadi sekaligus membantah adanya kegagalan apoptosis Th-2, karena apoptosis Th-2 tidak dipengaruhi oleh

kortikosteroid hirupan. Kegagalan modulasi penurunan IL-13 memang masih bisa diperbaiki dengan kortikosteroid dengan keseimbangan peningkatan IL-12 (Naseer, 1997). Subset dendritik tentu tidak bisa diperbaiki dengan kortikosteroid hirupan. Kegagalan ekspresi mRNA IL-12 bisa diperbaiki oleh kortikosteroid, kegagalan ekspresi CD25+ dan IFN- $\gamma$  tidak bisa diperbaiki dengan kortikosteroid. Kegagalan ekspresi IL-12 R tidak bisa diperbaiki dengan kortikosteroid, sedangkan *airway remodelling* lebih sering terjadi pada asma persisten berat. Temuan penelitian kami menunjukkan bahwa kombinasi kortikosteroid hirupan dan imunoterapi memperbaiki keseimbangan Th-1/Th-2 dan memodulasi imunitas kearah positif yang terlihat pada peningkatan reversibilitas FEV-1.

Kegagalan imunoterapi juga mungkin karena peran otonom sel Mast. Kalau kita meninjau kembali paradigma *T-Cell dependent Mast Cell*, sel mast mempunyai otonomi yang cukup luas dalam terjadinya inflamasi alergi, dimana sel Mast yang mengekspresi molekul B7 ketika berinteraksi dengan Th-0 yang mengekspresi CD23 akan menyebabkan proliferasi dan deferensiasi Th-0 kearah Th-2, tidak tergantung pada IL-12 atau IL-13 dan tentu saja tidak terpengaruh oleh imunoterapi. Sebaliknya sel Mast yang mengekspresi CD40, ketika berinteraksi dengan Th-0 yang mengekspresi CD40L, menyebabkan proliferasi dan diderensiasi Th-0 kerah Th-1. Dalam hal ini, perbaikan asma tentu terjadi tanpa pemberian imunoterapi (Mekori, 1999)



Temuan baru yang lain dalam penelitian ini adalah konsep baru yang berbeda dengan kerangka teoritis; modulasi imun terjadinya peningkatan IL-2 dan IFN- $\gamma$ , penurunan IL-4 dan IL-5 pada pemberian Kortikosteroid lebih spesifik lagi kortikosteroid hirupan; korelasi kuat antara penurunan IL-5 dengan IL-2 pada pemberian kortikosteroid hirupan bersama imunoterapi. Pemeriksaan pada mukosa saluran nafas peneliti lain mendapatkan peningkatan IFN- $\gamma$ , peningkatan IL-12, IL-2 dan penurunan IL-4, IL-5, dan IL-13 (Hamid, 2004). Pada penelitian yang peneliti lakukan terjadi penurunan semua variabel diatas dalam serum. Pada pemberian imunoterapi temuan penelitian ini sesuai dengan penelitian lain (Noma, 1995; Bonno, 1996; Guerra, 2001) tetapi penelitian ini menemukan korelasi peningkatan IL-2 dengan penurunan IL5, yang tidak pernah diungkapkan peneliti lain.

Temuan ini akan mempengaruhi beberapa aspek antara lain pendidikan. Dengan temuan ini maka perkuliahan, ceramah dan sebagainya akan memakai konsep temuan ini. Aspek sanitasi lingkungan, dengan temuan ini makin gencar ditekankan perlunya kendali debu rumah untuk mengurangi paparan alergen. Aspek pengobatan akan menekankan penggunaan kombinasi imunoterapi bersama kortikosteroid hirupan untuk mendapatkan efektifitas pengobatan dan menghindari efek samping obat. Aspek penelitian, temuan ini akan menjadi jembatan penghubung penelitian selanjutnya dengan menggunakan konsep yang baru.

Azas manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah memberi sumbangan penjelasan (Imunopatogenesis) pengaruh kortikosteroid hirupan selama 3 bulan

terhadap perbaikan gejala pada penderita asma anak yang mendapat imunoterapi. Hasil penelitian ini mendukung relevansi paradigma Th-1/Th-2 dalam imunopatogenesis asma. Manfaat praktis temuan penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penyempurnaan penatalaksanaan asma pada anak.

Pengobatan konvensional masih digunakan dalam penelitian ini. Semua penderita dalam grup A, B dan C mendapatkan farmakoterapi yang diperlukan bila mengalami serangan sesak. Penderita alergi makanan selain mendapat farmakoterapi, juga diberi diet eliminasi sesuai dengan uji provokasi yang telah dilakukan. Penderita yang sensitif terhadap debu rumah juga diharuskan melakukan kendali debu rumah dengan cara menyingkirkan semua kapuk terutama kamar tidur, buku tua, pakaian lama, memperbaiki ventilasi dan usaha lain yang dapat mengurangi timbulnya debu rumah. Dengan tindakan ini, walaupun tidak seratus persen menolong, seringkali kekambuhan serangan sesak dapat dikurangi.

### **Prospek penelitian**

Sebelum meninjau prospek masa depan dari penelitian ini, akan ditinjau terlebih dahulu masa sebelum penelitian yang relevan. Pertama yang dipikirkan adalah mengenai "Hygiene Hypothesis" yang walaupun sudah lewat beberapa dekade tetapi masih selalu dibicarakan bahkan terjadi pro dan kontra dalam percaturan internasional. Bersama dengan membaiknya keadaan sosial ekonomi di Indonesia disertai dengan perbaikan lingkungan hidup dan sanitasi, maka tingkat kesehatan

masyarakat pun ikut membaik. (Chen, 2004; To, 2004). Hygiene hypothesis mengemukakan bahwa dengan infeksi natural maka menimbulkan keadaan semacam imunisasi natural terhadap populasi. Dengan demikian mengurangi prevalensi asma dan penyakit alergi yang lain. Sebaliknya polusi udara menyebabkan angkesakitan asma meningkat. Hal ini terbukti di Amerika serikat setelah terjadinya tragedy 11 September 2001, kesakitan asma meningkat terutama didaerah radius 5 mil dari kejadian. Kriteria yang dipakai untuk menunjukkan peningkatan kesakitan adalah peningkatan kunjungan klinik, penulisan resep dan penggunaan obat untuk asma, yang kesemuanya meningkat bermakna ( $p < 0.05$ ) (Szema, 2004) Walaupun teori ini masih kontroversial, misalnya ada yang membantah bahwa di Amerika latin walaupun keadaan sosial ekonomi dan hygiene sanitasi masih kurang, angka kejadian penyakit alergi juga tinggi. Ditengah kontroversi semacam itu, di Indonesia walaupun sulit mendapat angka pasti, beberapa peneliti mendapat kesan peningkatan angka kejadian penyakit alergi, walaupun perbaikan diagnostik untuk penyakit alergi dekade terakhir ini juga ikut memegang peranan. Sementara itu riset dibidang farmakoterapi telah banyak menemukan berbagai obat yang makin baik dan makin beragam. Penggunaan antibodi-anti IL-5 telah dibuktikan efektifitasnya terhadap asma (Jecifer, 2004). Dalam trial klinis fase III anti-IgE monoclonal terbukti menurunkan kunjungan klinik dan raway inap penderita asma (Apter, 2004). Penemuan lain dibidang farmakoterapi adalah antagonis IL-4 yang saat ini telah memasuki uji klinis fase III. Kasiatnya menghambat proliferasi sel Th-2, menghambat IL-4R, pelapasan

IL-5 dan IL-13, tetapi tidak menghambat IFN- $\gamma$  (Enefow, 2004). Berbagai pertanyaan timbul sehubungan dengan meningkatnya prevalensi asma dan penyakit alergi yang lain disamping membaiknya pelayanan kesehatan. Meningkatnya angka kejadian penyakit alergi ternyata diikuti dengan meningkatnya angka kematian untuk penyakit ini. Kesepakatan baru dalam pengobatan asma meliputi diagnosis dini dan penanganan dini, disertai kendali lingkungan dan pengendalian penyakit jangka panjang. Langkah ini memperlihatkan perbaikan metode diagnosis dan merubah perjalanan alami penyakit asma. Kortikosteroid hirupan memperbaiki pengendalian gejala asma tetapi belum jelas apakah juga bisa mengendalikan progresifitas penyakit.

Beberapa penelitian prospektif dekade terakhir ini telah banyak membantu menjelaskan timbulnya sensitisasi alergen pada masa bayi dan hubungannya dengan timbulnya penyakit asma. Telah diketahui bahwa sensitisasi terhadap alergen makanan pada usia 2 tahun dan sensitisasi terhadap alergen hirupan pada usia 7 tahun berhubungan dengan meningkatnya prevalensi asma pada usia berikutnya (Liu, 2003). *Asthma guidelines* saat ini menjitik beratkan beberapa hal penting. Pertama pemberian beta  $-2$  agonis sebagai pengobatan simtomatik dengan tambahan kortikosteroid pada gejala yang cukup berat. Kedua, pemberian pengobatan kendali jangka panjang jika gejala timbul 2 kali per minggu, dan FEV $-1$  % prediksi normal atau PEFR kurang dari 80%, atau variabilitas PEFR lebih dari 20%, jika asma malam terjadi lebih dari 2 kali sebulan, atau kambuh terjadi pada anak dalam jangka 6 minggu. Penelitian di berbagai belahan dunia saat ini mengemukakan pentingnya

pemberian kortikosteroid hirupan sebagai pengobatan lini pertama dalam penanganan asma persisten. Tetapi juga dilaporkan keterbatasan kortikosteroid dalam mengatasi serangan asma akut dan berkurangnya fungsi paru (Pauwels, 2003). Pengobatan tambahan yang dianjurkan adalah beta-2 agonis kerja panjang, Antagonis Lekotriene, kromolin atau nedokromil dan teofilin sebagai tambahan begitu kortikosteroid dimulai. Bukti keberhasilan kortikosteroid jangka panjang telah ditunjukkan oleh *Childhood Asthma Management Program*. Pada penelitian ini dibuktikan perbaikan klinis asma pada anak dengan kendali kortikosteroid hirupan selama 5 tahun dan terjadi penurunan hipereaktifitas bronkus (CAMP, 2002). Penelitian CAMP dan penelitian yang lain adalah penelitian klinis dengan variabel klinis pula. Penelitian berlatar belakang imunologi telah banyak dilakukan menemukan bahwa kortikosteroid berkasiat terutama pada jalur Th-2 (Spoelstra, 2000; Gavreau, 2001; Cengztlier, 2001; Barnes, 2001; Liu, 2001)

Salah satu langkah penatalaksanaan asma adalah dengan mengidentifikasi alergen penyebab serangan asma, melacak adanya paparan dalam lingkungan penderita dan langkah penghindaran paparan alergen dengan penderita. Sebagaimana diketahui, bahwa identifikasi alergen tidak selamanya mudah dan menghindari alergen hirupan hampir selalu tidak mungkin, maka WHO dan organisasi Alergi dan imunologi seluruh dunia dalam pertemuan di Austria merekomendasikan imunoterapi spesifik sebagai pengobatan asma yang disebabkan oleh alergen hirupan. Saat ini kita kenal imunoterapi dengan ekstrak polen pada penderita asma yang sensitif terhadap polen. ekstrak jamur pada mereka yang sensitif terhadap jamur dan ekstrak debu

rumah terhadap mereka yang sensitif terhadap debu rumah. Pengobatan ini kelihatannya sangat menjanjikan karena mekanismenya adalah mengalihkan dari pola Th-2 ke pola Th-1. Telah diketahui dalam masa kandungan, Sel T yang dominan adalah Th-2, karena imunitas humoral sangat diperlukan untuk menanggulangi alergen dari lingkungan ibu yang menembus sawar plasenta. Th-2 menghasilkan sitokin antara lain IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 yang menyebabkan inflamasi alergi kronik. Sedangkan peranan poros HPA dan sistim simpatetik terhadap modulasi imun belum jelas (Chrousos, 2000). Transfer alergen melalui plasenta telah terjadi menyebabkan paparan dengan janin dalam jumlah yang cukup untuk menyebabkan pergeseran respons imun kearah pola Th-2. Adapun tidak terjadi gejala klinis pada masa itu menunjukkan adanya defek respons imun (Zepfalusi, 2000). Bayi-bayi dengan resiko atopi menunjukkan defek produksi IL-13. Pada bayi yang tanpa resiko genetik atopi produksi IL-13 adalah normal, pertama oleh plasenta kemudian oleh janin (William, 2000). Bayi premature sepsis relatif lebih sedikit berkembang menjadi asma. Diduga hal ini karena paparan alergen lingkungan ibu lebih dini dalam kandungan seperti yang terjadi dalam *Hygiene Hypothesis* dan periode pasca kelahiran perkembangan paru yang lebih cepat merubah imunitas *innate* (Grisckan, 2004) Pada masa paska kelahiran, pada bayi non atopi keseimbangan lambat laun akan bergeser dari pola Th-2 kearah Th-1. Pada bayi atopi keseimbangan akan bertahan pada pola Th-2 lebih lama, bahkan pada penderita asma persisten, keseimbangan akan tetap pada Th-2. Berdasarkan fakta ini, rupanya imunoterapi merupakan pengobatan yang menjanjikan, karena perjalanan normalnya sebetulnya



keseimbangan itu kearah Th-1 (Busse, 2003). Imunoterapi pada beberapa dekade yang lalu, dalam Hygiene Hypothesis digambarkan sebagai imunoterapi natural yang diperankan oleh mikroba dan endotoksin (Liu, 2002). Imunoterapi spesifik telah diterapkan pada asma dan rinitis alergika dengan tingkat keberhasilan rata-rata 78%. Penelitian mengenai keberhasilan imunoterapi telah banyak dilaporkan dengan indikator klinis. Bagi klinikus kegagalan terapi merupakan masalah yang aktual, sehingga menempati prioritas yang tinggi untuk diteliti. Fakta empirik saat ini membuktikan kasiat imunoterapi dalam menurunkan IL-4, IL-5 pada jalur Th-2 dan meningkatkan IL-12 dan IgG pada jalur Th-1. Penelitian START membuktikan keberhasilan budesonide hirupan selama 3 tahun pada asma ringan sampai sedang dengan variabel klinis, pada penderita asma yang diobati dengan apa saja termasuk yang menjalani imunoterapi. Belum terungkap latar belakang imunologi yang mendasari keberhasilan pengobatan ini sampai penelitian ini dilakukan

#### Prospek masa depan

Penelitian internasional saat ini mulai bergerak menuju pemikiran masa depan yang bisa terjadi sehubungan dengan patogenesis asma. Aspek pengobatan sudah mulai cukup lama misalnya dengan diketemukan anti IL-5 dan telah digunakan dalam klinis (Jennifer, 2004). Dibidang paradigma Th-1/Th-2, mulai diteliti aspek imunologi yang belum bisa diterangkan. Sel Th-1 dan Th-2 telah menjadi topik bahasan yang intensif dimana Th-1 mengeluarkan IFN- $\gamma$ , IL-2 dan Lymphotoxin

sedangkan Th-2 mengeluarkan IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 dan IL-13. Belum diketahui banyak mengenai sel T Regulatory ( $T_R$ ) yang memproduksi IL-10 dan sel Th-3 yang memproduksi TGF- $\beta$ . Sel Th-1 dan sel Th-2 adalah diferensiasi dari precursor sel T-naive yang berdiferensiasi menjadi polarisasi populasi berdasarkan sinyal lingkungan mikro. Jika dibawah pengaruh CD $80\alpha$  dan atau IL-12, IL-8, IFN- $\gamma$  diferensiasi akan mengarah ke sel Th-1. Evolusi perubahan dimediasi oleh mekanisme yang tergantung dari sinyal transduser dan aktifator transkripsi-1 (STAT-1) dan faktor transkripsi T-bet. Dibawah pengaruh CD $80\alpha$  dan atau IL-4 yang bisa datang dari Sel Mast yang aktif atau sel dendritik, maka diferensiasi mengarah pada Th-2. Terjadi dari proses yang kompleks yang melibatkan faktor transkripsi STAT-6, GATA-3, NFATc dan c-maf. Sangat menarik bahwa Th-1 dan Th-2 bisa saling meregulasi satu sama lain, artinya masing-masing sel dapat menghambat atau meregulasi terhadap subset yang lain. Sel Th-1 mempunyai polarisasi respons yang berperan dalam aktivasi makrofag dan hipersensitifitas tipe lambat (*Delayed Type Hypersensitivity*), keduanya mendasari patogenesis beberapa penyakit seperti artritis rematoid, sarkoidosis, Lupus eritematosus dan tuberculosi. Di lain pihak Th-2 mendominasi respons imun humoral, aktivasi sel Mast dan eosinofilia jaringan yang kesemuanya berperan dalam penyakit alergi, asma dan penanggulangan parasit (Elias, 2003). Pandangan kedepan sehubungan pengertian bahwa asma merupakan kesalahan regulasi respons imun yang melibatkan sel T patologis pada individu yang secara genetik rentan, maka perlu dicermati benar mengenai respon peradangan. perubahan yang terjadi pada saluran

nafas, simptomatologi, fisiologi gangguan regulasi, dan progresifitas penyakit. Sangat penting untuk menentukan faktor genetik yang memberi kontribusi kerentanan seseorang terhadap asma, kontribusi terhadap keanekaragaman gejala dan berat ringan derajat asma pada seseorang. Untuk itu dipandang perlu dimasa mendatang dilakukan pemeriksaan DNA pada penderita asma atau pada individu yang beresiko tinggi terhadap asma untuk mendeteksi adanya polimorfisme gen (Elias, 2003; Hoffjan, 2004; Vercelli, 2004).

Temuan penelitian berkisar pada kemampuan Th-1 sebagai regulator terhadap Th-2 sehingga menyebabkan keseimbangan positif modulasi imun yang menyebabkan perbaikan asma pada anak. Peneliti menyimpulkan terjadinya modulasi imun oleh penurunan IL-5 yang berkorelasi kuat dengan peningkatan IL-2 yang berakibat pada keseimbangan Th-2/Th-1. Dalam 5 tahun terakhir ini perhatian diarahkan pada sel T regulator. Sudah diketahui bahwa pasien yang defisiensi sel T regulator CD25+ menderita asma berat, kadar IgE yang tinggi dan alergi makanan, maka dipikirkan bahwa sangat mungkin sel T regulator ini dapat mengendalikan asma dan penyakit alergi lain. Sel T regulator yang merupakan kandidat utama dewasa ini adalah Th-3, TR-1, TR, CD4+CD25+, dan sel (NK)T. Sel Th-3 dirangsang oleh alergen oral kemudian menghasilkan TGF- $\beta$ , IL-4 dan IL-10. Pada penelitian eksperimental sel ini menghambat auto imun ensefalitis. Diduga kuat sel ini mempunyai efek menghambat sel T patogen-auto antigen spesifik. Sel TR-1 dibawah pengaruh IL-10 menghasilkan kadar tinggi IL-10, IL-2 yang rendah dan tanpa produksi

IL-2. Pada penelitian eksperimental sel ini mencegah terjadinya kolitis. Berbeda dengan Th-3, sel ini tidak memproduksi TGF- $\beta$ . Sel TR berkembang selama kultur sel dendritik, memproduksi IL-10 dan selama proses toleransi saluran pernafasan. Sel ini diketahui menghambat *airway hyper-reactivity*. Sel CD4+CD25+, mengekspresi IL-2Ra, menghambat auto imunitas organ spesifik, penolakan allograf dan menginduksi *self-tolerance*. Sel (NK)T memproduksi cepat dalam jumlah banyak IL-4, IL-13 dan IFN- $\gamma$ . Sel ini menghambat penyakit auto imun, pada tikus menyebabkan serangan asma (Umetsu, 2004). Sel regulator yang banyak dipelajari saat ini memang kelihatan aktifnya dalam penelitian baik *in vitro* maupun *in vivo*, tetapi sampai sekarang belum pernah bisa diisolasi dan dikultur.

Modulasi respons imunitas yang memicu Th-1 sebagai regulator keseimbangan dengan Th-2 sebagai temuan disertasi ini, berada didalam kancah penelitian diseluruh dunia mengenai sel regulator, diharapkan dapat menjadi jembatan penelitian selanjutnya. Peneliti menyadari bahwa pemahaman mekanisme pencegahan terhadap terjadinya penyakit asma dan penyakit alergi yang lain relatif masih terbatas. Respons Th-1 lebih banyak bersifat pro-inflamasi daripada anti-inflamasi. Disadari bahwa asma dan penyakit alergi yang lain adalah penyakit atopi. Modulasi respons imun yang dicapai dalam penelitian ini lebih bersifat mengendalikan serangan gejala asma daripada menyembuhkan sambil menunggu terjadinya toleransi imun.

Penelitian ini menggunakan spesimen serum karena mudah dilaksanakan dan telah terbukti pada keadaan lain misalnya *Typhus abdominalis* yang merupakan kelainan lokal pada mukosa usus, tetapi variabel darah tepi yaitu Uji Widal dapat menggambarkan kelainan lokal. Demikian juga pada asma, yang merupakan kelainan mukosa saluran nafas, variabel serum bisa menggambarkan kelainan mukosa saluran nafas. Hubungan kelainan mukosa dengan perubahan sitokin serum telah dibuktikan keterkaitannya. Pada pemberian steroid hirupan ternyata terjadi penurunan ekspresi IL-13, IL-4, IL-5, peningkatan IFN- $\gamma$ , peningkatan atau penurunan IL-2 pada permukaan mukosa saluran nafas (Hamid, 2004). Hal ini mendukung penemuan gambaran dalam serum. Ada perbedaan pada IFN- $\gamma$  dan IL-2, hal ini terjadi karena lamanya perlakuan. Penelitian yang saya lakukan tidak mungkin dilakukan pada mukosa saluran nafas, karena harus melakukan biopsi, suatu tindakan intervensif yang menyakitkan bagi pasien. Penelitian yang akan datang mungkin dilakukan pada mukosa saluran nafas hewan coba.

## Bab 7

### Penutup

#### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan pada hasil penelitian dan analisis data maka dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Pemberian imunoterapi dan kortikosteroid hirupan meningkatkan IL-2, IFN- $\gamma$  menurunkan IL-4, IL-5 dan reversibilitas FEV-1. Dengan perubahan tersebut ternyata kenaikan IL-2 dan penurunan IL-5 mempunyai kontribusi positif terhadap modulasi imunitas yang menurunkan reversibilitas FEV-1, dengan demikian perubahan yang terjadi pada kelompok kombinasi imunoterapi dan kortikosteroid akan semakin menurunkan gejala asma. Penurunan ini dicerminkan penurunan reversibilitas FEV-1 yang merupakan penurunan terbesar.
2. Pemberian kortikosteroid hirupan menurunkan kadar IL-4, IL-5 dan reversibilitas FEV-1, akan tetapi tidak disertai peningkatan IL-2 dan IFN- $\gamma$ , sehingga modulasi imunitas yang menurunkan reversibilitas FEV-1 tidak sebaik pemberian kombinasi imunoterapi dan kortikosteroid hirupan, walaupun rasio IFN- $\gamma$ /IL-4 sudah mengarah ke pola Th-1.
3. Pemberian imunoterapi menyebabkan kenaikan IL-2, IFN- $\gamma$ , penurunan IL-4, IL-5 dan reversibilitas FEV-1. Terjadi modulasi imunitas yang menurunkan reversibilitas FEV-1 walaupun tidak sebaik kombinasi imunoterapi dan

**Kepustakaan.**

- Aaronson D, Kaiser H, Doekham R, Findlay, Korenblat P, Thorsson L, Katlen A, 1998. Effect of budesonide by means of Turbuhaler on hypothalamic - pituitary - adrenal axis in asthma subjects: A dose response study. *J Allergy Clin Immunol* 101: 312 - 319.
- Abbas A, Murphy KM, Sher A, 1996. Functional diversity of helper T lymphosites. *Nature* 383: 787.
- Abey N, Engstrom L, 1990. Natural history of allergic disease in children, *Acta Paediatrica Scand* 79: 206 - 211.
- Agertoft L, Pedersen S, 1994. Effects of long-term treatment with an inhaled corticosteroid on growth and pulmonary function in asthmatic children. *Respir Med* 88: 373 - 81.
- Agertoft L, Pedersen S, 2000. Effect of long-term treatment with inhaled Budesonide on adult height in children with Asthma. *NEJM* 343:1064-9
- Akdis CA, Blesken T, Akdis M, Wutrich B, Blaser K, 1998. Role of interleukin 10 in specific immunotherapy. *J Clin Invest* 102: 98-106.
- Anhoj J, Bisgaard AM, Bisgaard H, 2002. Systemic activity of inhaled steroids in 1- to-3years-old children with asthma. *Pediatrics*, 103 45-48
- Apter AJ, Szefer SJ, 2004. Advances in adult and pediatric asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 113: 407-14.

- Arlian LG, Neal JS, Morgan MS, Viszenci-Mohen DL, Rapp CM, Alexander AK, 2001. Reducing relative humidity is a practical way to control dust mites and their allergens in homes in temperate climates. *J Allergy Clin Immunol* 107: 99-104.
- Arlian LG, Platts-Mills TAE, 2001. The biology of dust mites and the remediation of mite allergens in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 107: S406-13.
- Azzawi M, Bradley B, Jeffery PK, 1990. Identification of activated T lymphocytes and eosinophils in bronchial biopsies in stable atopic Asthma. *Am Rev Respir Dis* 142: 1407 - 1413
- Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu YJ, Pulendran B, Palucka K, 2000. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 18: 767-811.
- Baraniuk JN, 1996. Molecular actions of glucocorticoid: an introduction. *J Allergy Clin Immunol* 97: 141 - 142.
- Barnes C, Tuck J, Simon S, Pacheco F, Hu F, Portnoy J, 2001. Allergenic materials in the house dust of allergy clinic patients. *Ann Allergy Asthma Immunol* 86: 517-23
- Barnes PJ, 1996. Molecular mechanism of steroid action in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 97: 159 - 168.
- Barnes PJ, 1989. New concepts in the pathogenesis of bronchial hyperresponsiveness and Asthma. *J Allergy Clin Immunol* 83: 1013 - 1026.



- Barnes PJ, 1998. Current issues for establishing inhaled corticosteroid as the anti inflammatory agents of Choice in Asthma. *J Allergy Clin Immunol* 101: 427 – 433.
- Barnes PJ, 2001. Corticosteroids, IgE and Atopy. *J Clin Invest*, 107: 265-266
- Beasley R, Roche WR, Roberts JA, 1989. Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. *Am Rev Respir Dis* 139: 808 – 817
- Bentley AM, Meng Q, Robinson DS, 1993: Increases in activated T lymphocytes, eosinophils and cytokine mRNA expression for interleukin-5 and GM-CSF bronchial biopsies after allergen inhalation challenge in atopic asthmatic, *Am J Respir Cell Mol Biol* 8: 35-42.
- Bierman CW, Shapiro GG, 1996: Evaluation and treatment of the patient with Asthma in: Bierman CW, Pearlman DS, Shapiro GG (eds): *Asthma, Allergy and Immunology from infancy to adulthood 3<sup>rd</sup> Ed*, Philadelphia, WB Saunders 498 – 519
- Bochner BS, 2000. Road signs guiding leukocytes along the inflammation superhighway *J Allergy Clin Immunol* 106:817-28.
- Bonno M, Fujisawa T, Iguchi K, Uchida Y, Kanniya H, Komeda Y, Sakurai M, 1996. Mite specific induction of Interleukin-2 receptor on T lymphocyte from children with mite-sensitive asthma: Modified immune response with immunotherapy, *J Allergy Clin Immunol*, 97:680-8.:124-30.
- Bousquet J, Chanaz P, Lacoste JY, 1990 Eosinophilic inflammation in Asthma *N Engl J Med* 323: 1033 ~ 1039.

- Bousquet J, Lockett R, Mekking HJ, 1998. Allergen immunotherapy: Therapeutic vaccines for allergic diseases. A WHO position paper. *J Allergy Clin Immunol*, 102: 558-62.
- Bousquet J, Demoly P, Michel F-B, 2001. Specific immunotherapy in Rhinitis and Asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 87: 38-42.
- Broide DH, 2001. Molecular and cellular mechanisms of allergic disease. *J Allergy Clin Immunol*, 108: S65-71.
- Busse WW, Banks-Schiegel S, Wenzel SE, 2000. Pathophysiology of severe Asthma. *J Allergy Clin Immunol* 106: 1033-42.
- Busse WW, Rosenwasser LJ, 2003: Mechanism of Asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 111: S700-804.
- Camara AA, Silva JM, Verriani VPL, Tobias KRC, Macedo IS, Padovani MA, Harel CM, Cardoso MR, Chapman MD, Arruda E, Platts-Mills TAE, Arruda LK, 2004. Risk factor for wheezing in a subtropical environment: Role of respiratory viruses and allergen sensitisation. *J Allergy Clin Immunol*, 113: 551-7.
- Childhood Asthma Management Program (CAMP), 2000. Efficacy and safety of inhaled budesonide: 5 years experience. *J Pediatr*, 103: 164-73.
- Cao Y, To JQ, Bates SR, Beer MF, Hacsku A, 2004. IL-4 induces production of the lung collectin surfactant protein D. *J Allergy Clin Immunol*, 113: 439-44.
- Cengizlier R, Demirpolat E, Tulek N, Cakmak F, 2001. Circulating ICAM-1 levels in bronchial asthma and the effect of inhaled corticosteroids. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 84: 539-41.



- Chen Y, 2004. Obesity and asthma in children. *J Pediatr*, 144: 146-7
- Chrousos GP. Stress, 2000,, chronic inflammation and emotional and physical well-being: Concurrent effects and chronic sequelae. *J Allergy Clin Immunol*, 106: 275-91.
- Cho JY, Miller M, Baik KJ, Han JW, Nayar J, Lee SY, McElwain K, Friedman S, Broide DH, 2004. In hibition of airway remodelling in IL-5 defficient mice. *J Clin Invest*, 113: 551-560.
- Cieslewicz G, Tomkinson A, Adler A, Duez C, Schawze J, Takeda K, Larson KA, Lee JJ, Irvin CG, Gelfand EW, 1999. The late, but not early, asthmatic response is dependent on IL-5 and correlates with eosinophil infiltration. *J Clin Invest*, 104: 301-8
- Clancy J, 1998. *Basic Concept in Immunology*. New York, McGraw Hill Book Co.
- Chung KF, Clark TJH, 1992: Corticosteroid In: Clark TJH, Godfrey S, Lee TH (eds) 3<sup>rd</sup> Ed, London, Chapman & Hall Medical: 426 - 443.
- Colavita AM, Reinach AJ, Peters SP, 2000. Contributing Factors to the pathobiology of Asthma. The Th-1/Th-2 paradigm. *Clin Chest Med* 21(2): 263-77.
- Cookson WCOM, Croddock CF, Benson MK, 1989: Falls in peripheral eosinophil counts parallel the late asthmatic response. *Am Rev Respir Dis* 139: 458 - 462.
- Covar RA, Leung DYM, McCormick D, Steelman J, Zeitler P, Spahn JD, 2000. Risk factors associated with glucocorticoid-induced adverse effects in children with severe Asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 106: 651-9.

- Creticos PS, 2000. The consideration of immunotherapy in the treatment of allergic Asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 105: S559-74.
- Creticos PS, 2001. The consideration of immunotherapy in the treatment of allergic Asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 87: 13-27.
- Croner S, Kjelman N-IM, 1992. National history of bronchial asthma in childhood. A prospective study from birth up to 12 - 14 years of age. *Allergy* 47: 150 - 7.
- Cropp GJA, Bernstein LZ, Boushey HA, 1980: Guidelines for bronchial inhalation challenges with pharmacologic and antigenic agents. *Am Thor Soc News*, 6: 11 19.
- Danele KP, Barnes PJ, Goetzl EJ, 1992: Neuroimmun interactions in the lung. *Am Rev Resp. Dis* 145: 1230 - 1235.
- DeAmici M, Puggioni F, Casali L, Alesina L, 2001. Variation in serum levels of interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-2, IL-6 and tumor necrosis factor- $\alpha$  during specific immunotherapy. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 86: 311-3.
- DeBlic J, Tille-Leblond I, Tonnel AB, Jaubert F, Schennmann P, Gosset P, 2004 Difficult asthma in children. An analysis of airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, 113: 94-100.
- Des Roches A, Paradis I, Menardo JL, 1997. Immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract, VI. Specific immunotherapy prevents the onset of new sensitisation in children. *J Allergy Clin Immunol*, 89: 450-3.

- Frew AJ, Smith HE, 2001. Sublingual immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*, 107: 441-4.
- Frew AJ, Norman PS, Golden DBK, Adelman DC, 2002. Immunotherapy. In: Holgate ST, Church MK, Lichtenstein LM (eds): *Allergy*. 2<sup>nd</sup> Ed, London, Mosby, 175-189.
- Fuhlbrigge AL, Kitch BT, Paltiel AD, Kuntz KM, Neumann PJ, Dockery DW, Weiss ST, 2001. FEV1 is associated with risk of asthma attacks in a pediatric population. *J Allergy Clin Immunol*, 107: 61-7.
- Gauvreau GM, Wood LJ, Schimi R, Watson RM, Dorman SC, Schleimer RP, Denburg JA, O'Byrne PM, 2000. The effects of inhaled budesonide on circulating eosinophil progenitors and expression of cytokines after allergen challenge in subjects with atopic Asthma. *Am J Crit Care Med* 162: 2139-44
- Gavfelin G, Johansson E, Lundin A, Chapman MD, Benjamin DC, Derewenda U, Smith AM, van Hage-Hamsten M, 2001. Cross reactivity studies of new group 2 allergen from the dust mite *Glycyphagus domesticus*, *Gly d 2* and grup 2 allergens from *Dermatophagoides pterynissinus*, *Lepidoglyphus destructor* and *Tyrophagus putrescentiae* with recombinant allergens. *J Allergy Clin Immunol* 107: 511-8.
- Gentile DA, Payel A, Ollila C, 1999. Diminished IL-10 production in subjects with allergy after infection with influenzae A virus. *J Allergy Clin Immunol* 103: 1045-8.

- Gereda JE, Klinnert MD, Price MR, Leung DYM, Liu HA, 2001. Metropolitan home living conditions associated with indoor endotoxin level. *J Allergy Clin Immunol* 107: 790-6.
- Gergen PJ, Mullaly DJ, Evans R III, 1988: National Survey of prevalence of Asthma among children in the United States 1976 to 1980. *Paediatric* 81: 1 – 7.
- Gibson PG, Saltos N, Fakes K, 2001. Acute anti-inflammatory effects of inhaled budesonide in Asthma. A randomised control trial. *Am J Crit Care Med* 163: 32-36.
- Gosset P, Lamblin-degros C, Tillie-Leblond I, Charbonnier AS, Joseph M, Wallaert B, Kochan JP, Tonnel AB, 2001. Modulation of high affinity IgF receptor expression in blood monocytes: opposite effect of IL-4 and glucocorticoids. *J Allergy Clin Immunol* 107: 114-22.
- Grishkan J, Storfer-Izzer A, RosenCL., Larkin EK, Kirchner HL, South A, Wilson-Costello DC, 2004 Variation in childhood asthma among former preterm infants. *J Pediatr*, 144: 321-6.
- Gotsche PC, Hammarquist C, Burr M, 1998 House dust mite control measures in the management of Asthma: meta-analysis *BMJ* 317: 1105-10.
- Guerra F, Carracedo J, Solana-Lara R, Sanchez-Gurjo P, Ramirez R, 2001. Th-2 lymphocytes from atopic patients treated with immunotherapy undergo rapid apoptosis after culture with specific allergens. *J Allergy Clin Immunol*, 107: 647-53

- Haaktela T, 1997. Airway remodelling takes place in Asthma what are the clinical implications. *Clin Exp Allergy* 27: 351 – 353.
- Hakonarson H, Maskeri N, Carter C, Chuang S, Grunstein MM, 1999. Autocrine interaction between IL-5 and IL-1 $\beta$  mediates altered responsiveness of atopic asthmatic sensitised airways smooth muscle *J Clin Invest*, 104: 657-67.
- Hakonarson H, Maskeri N, Carrie C, Grunstein MM, 1999. Regulation of Th-1 and Th-2 type cytokine expression and action in atopic asthmatic sensitised airway smooth muscle. *J Clin Invest*, 103: 1077-87.
- Hanania NA, Chapman KR, Sturtridge WC, Szalai JP, Kersten S, 1995: Dose related decrease of bone density among asthmatic patients treated with inhaled corticosteroid. *J Allergy Clin Immunol* 96: 571 – 579.
- Hansen G, Berry G, DeKruyff RH, Umetsu DT, 1999. Allergen specific Th-1 cells fail to counterbalance Th-2 cell-induced airway hyperreactivity but cause severe airway inflammation. *J Clin Invest* 103: 175-81
- Hamid Q, 2004 Effect of steroids on inflammation and cytokine gene expression in airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, 103: 636-8
- Haynes RC, Murad F , 1985. Adrenocorticotrophic hormon In : Gilman AG, Goodman LS, Rail TW, Murad F (Eds) . *The Pharmacological basis of therapeutic* 7<sup>th</sup> ed, New York, Mc Millan: 1459 - 1489
- Hoffjan S, Ovtrovnaza I, Nicolas D, Newman DL, Nicolas R, Gangnon R, Steiner L, Walker A, Reynolds R, Greene D, Mirel D, Gem JJ., Lemanske RF, Ober C,

2004. Genetic variation in immunoregulatory pathways and atopic phenotypes in infancy. *J Allergy Clin Immunol*, 113: 511-8.
- Hogan MB, Pickett D, Landreth KS, 2000. IL-5 production by bone marrow stromal cells: Implications for eosinophilia associated with Asthma. *J Allergy Clin Immunol* 106: 329-36.
- Hohlfeld JM, Schmidt A, Erpenbeck VJ, Venge P, Krug N, 2004. Eosinophil cationic protein alters pulmonary surfactant structure and function in asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 113: 496-502.
- Holt PG, 1993. Macrophage Dendritic cell interaction in regulation of the IgE response in asthma. *Clin Exp. Allergy* 23: 4 – 6.
- Hoshino M, Takahashi M, Takai Y, Sim JJ, 1999. Inhaled corticosteroids decrease subepithelial collagen deposition by modulation of the balance between matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 expression in Asthma. *J Allergy Clin Immunol* 104: 356-63.
- Hut T, Higginbotham TW, Gill GW, Darwin R, Anderson PB, Syed N, 2001. *J Allergy Clin Immunol* 107: 55-60.
- Jaffuel D, Demoly P, Gougat C, Balaguer P, Mautino G, Godard P, Bosquet J, Mathieu M, 2000. Transcriptional potencies of inhaled Glucocorticoids. *Am J Crit Care Med* 162: 57-63.
- Jansen J, Uitendaele B, Koper JW, van den Berg TK, 2000. Glucocorticoid Receptor Ligand Binding in Monocyte cells using Microplate Assay. *Pathobiology* 67(5-6): 262-264.



- Jeffery PK, Wardlaw AJ, Nelson FC, 1989. Bronchial biopsies in Asthma. An ultrastructural, quantitative study and correlation with hyperreactivity. *Am Rev Respir Dis* 140: 1745 – 1753.
- Jennifer K, GarrettSean C, Thomsdn JB, Collins MH, Lynne E, 2004. Anti-Interleukin-5 (mepolizumab) therapy for hypereosinophilic syndromes. *J Allergy Clin Immunol*, 113: 115-9.
- Jirapongsananuruk O, Melamed I, Leung DYM, 2000. Additive immuno-suppressive effects of 1,25-dihydrovitamin D<sub>3</sub> and corticosteroids on Th-1 but not Th-2 responses. *J Allergy Clin Immunol* 106: 981-5.
- Kankaantanta H, Lindsay MA, Gjembycz MA, Zhang X, Moilanen E, Barnes PJ, 2000. Delayed Eosinophil apoptosis in Asthma. *J Allergy Clin Immunol* 106: 77-83.
- Kapsenberg ML, 2003. Dendritic-cell control of pathogen-driven T-cell polarization. *Nat Rev Immunol*, 3: 984-993.
- Kelly WFW, Hudson I, Phelan PD, Pain MCF, Olinsky A, 1987. Childhood asthma in adult life: a further study at 28 years of age. *BMJ* 294: 1059 – 62.
- Kraft M, Lewis K, Pham D, Chu W, 2001. IL-4, IL-13 and dexamethason augment fibroblast proliferation in Asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 107: 602-6.
- Kuo ML, Huang JL, Yeh KW, Li PS, Hsieh KH, 2001. Evaluation of TH-1/Th-2 ratio and cytokine production profile during acute exacerbation and convalescence in Asthmatic children. *Ann Allergy Asthma Immunol* 86: 272-6.

- Lambrecht BN, DeVeerman M, Coyle AJ, Gutierrez-Ramos JC, Thielemans K, Pauwels RA, 2000. Myeloid dendritic cells induce Th-2 responses to inhaled antigen, leading to eosinophilic airway inflammation. *J Clin Invest* 106: 451-9.
- Laitinen LA, Laitinen A, Haaktela T, 1993. Airway mucosal inflammation even in patients with newly diagnosed Asthma. *Am Rev Respir Dis* 147: 697 – 704.
- Laitinen LA, Laitinen A, 1996. Remodelling of asthmatic airway by glucocorticosteroids. *J Allergy Clin Immunol* 97: 153 -- 158.
- Laitinen LA, Altraja A, Karjalainen EM, Laitinen A, 2000. Early intervention in Asthma with inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol* 105: S582-5.
- Laitinen AM, 2000. Budesonide Asthma Treatment Not tied to increased intraocular pressure. *Ann Allergy Asthma Immunol* 85: 356-61.
- Leung DT, Bloom JW, 2003. Update on glucocorticoid action and resistance. *J Allergy Clin Immunol*, 111, 3-22.
- Leung DYM, 2004. Allergy and immunologic basis of Atopic Disease. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (Eds): *Nelson Textbook of Pediatrics*. 17<sup>th</sup> ED, Philadelphia, WD Saunders, pp: 743-747
- Levy J, Zalkinder I, Kuperman O, Shubin A, Apte R, 1995. Effect of prolonged use of inhaled steroids on the cellular immunity. *J Allergy Clin Immunol* 95: 806 – 812.
- Li H, Llera Amalchrodi L, Mariuzza L, 2000. The structural basis of T cell activation by super antigens. *Annu Rev Immunol* 17: 435-466.

- Lilly CM, Nakamura H, Kasselmann H, Anderson CN, Asano K, Garcia-Zepeda EA, Rotheberg ME, Drazen JM, Luster AD, 1997. Expression of eotaxin by human lung epithelial cells. *J Clin Invest* 99: 1767-73.
- Liu MC, Hubbard WC, Proud D, 1991. Immediate and late inflammatory responses to ragweed antigen challenge of the peripheral airways in allergic asthmatics. *Am Rev Resp Dis* 144: 51 – 58.
- Liu AH, 2000. Allergy and Asthma: Classic Th-2 diseases. *Allergy Asthma Proc* 21(4): 227-30.
- Liu MC, Proud D, Lichtenstein LM, Hubbard WC, Bochner BS, Stealey BA, Breslin L, Xiao HQ, Freidhoff LR, Schroeder JT, Schleimer RP, 2001. Effect of prednisone on the cellular responses and release of cytokines and mediators after segmental allergen challenge of asthmatic subjects. *J Allergy Clin Immunol* 108: 29-38.
- Liu AH, Murphy JR, 2003: Hygiene Hypothesis: Fact or Fiction?. *J Allergy Clin Immunol*, 111:471-8
- Liu AH, Szefer FJ, 2003: Advances in childhood Asthma: Hygiene Hypothesis, natural history, and management. *J Allergy Clin Immunol*, 111: S785-02.
- Liu X, Besty TH, Deindl P, Huang SK, Lau S, Sommerfeld C, Fallin D, Kao WHL, Wahn U, Nickel R, 2004. Association between specific serum IgE response and 6 variations within the genes IL-4, IL-13, IL-4RA, in German children: The German Multicentre Study *J Allergy Clin Immunol*, 113: 489-95.

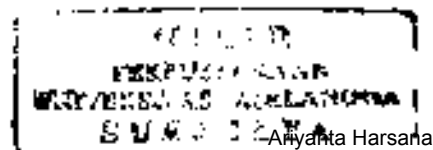
- Liu AH, Spahn JD, Leung DYM, 2004. Childhood Asthma. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (Eds): Nelson Textbook of Pediatrics. 17<sup>th</sup> ED, Philadelphia, WD Saunders, pp: 760-774
- Loren ML; Leung PR, Cooley RL, Chai H, Bell TD, Buck VM, 1978. Irreversibility of obstructive changes in severe asthma in childhood. Chest 74: 126 – 129.
- Magnan AO, Mely LG, Camila CA, Badier MM, Montero-Julian FA, Guilot CM, Casano BB, Prato SJ, Fert V, Bongrand P, Vervloet D, 2000. Assessment of the Th-1/Th-2 paradigm in whole blood in atopy and Asthma. Increased IFN- $\gamma$  - producing CD (+) cells in Asthma. Am J Respir Crit Care Med 161(6): 1790-6.
- Mahut B, Delclaux C, Tille-Leblond J, Gosset P, Delacourt C, Zerah-Lancner F, Harf A, de Blic J, 2004. Both inflammation and remodelling influence nitric oxide output in children with refractory asthma. J Allergy Clin Immunol, 113: 252-6.
- Majori M, Caminati A, Carradi M, Brianti E, Scarpa S, Pesci A, 2000. T-cell cytokine pattern at three time points during specific immunotherapy for mite sensitive asthma. Clin Exp Allergy 30(3): 341-7.
- Marini M, Vittori E, Hollemberg J, 1992. Expression of the potent inflammatory cytokines, GM-CSF and IL-6 and IL-8 in bronchial epithelial cells of patients with Asthma. J Allergy Clin Immunol 89: 1001 – 1009.
- Martin JY; London LI, Phelan PD, 1980. Lung function in young adults who had Asthma in childhood. Am Rev Respir Dis 122: 609 - 616.

- Matzui E, Kaneko H, Fukao T, Inoue R, Kasahara K, Takemura M, Seishima M, Kondo N , 2000. Reduced IFN- $\gamma$  production in response to IL-12 stimulation and/or reduced IL-12 production in atopic patients. *Clin Exp Allergy* 30(9): 1259-6.
- Mazzarella G, Bianco A, Catena E, De Palma R, Abbate GF, 2000. Th-1/Th-2 lymphocyte polarization in Asthma. *Allergy* 55 Suppl 61: 6-9.
- Mc Kenzie C, 1998. Effects of inhaled corticosteroids on growth. *J Allergy Clin Immunol* 101: 5451 – 5455.
- McIntosh, 2004. Rhinovirus. Dalam: Behrman RE, Kliegman PM, Jenson HB (eds): *Nelson Textbook of Pediatrics*. 17<sup>th</sup> Ed, WB Saunders, Philadelphia: 1080-1081
- McIntosh, 2004. Respiratory Syncytial Virus. Dalam: Behrman RE, Kliegman PM, Jenson HB (eds): *Nelson Textbook of Pediatrics*. 17<sup>th</sup> Ed, WB Saunders, Philadelphia: 1076-1079
- Mekori YA, Metcalfe DD, 1999. Mast cell-T cell interaction. *J Allergy Clin Immunol*, 104: 517-523.
- Metzger WJ, Zavala D, Rickerson HB, 1987. Local allergen challenge and bronchoalveolar lavage of allergic lungs. *Am Rev Respir Dis*. 135: 433 – 440.
- Miller-Larson A, Jansson P, Runstrom A, Brattsand R, 2000. Prolonged airway activity and improved selectivity of Budesonide possibly due to etherification. *Am J Crit Care Med*, 162: 1455-61.

- Minshal E, Chakir J, Lavolette M, Molet S, Zhu Z, Olivenstein R, Elias JA, Hamid Q, 2000. IL-11 expression is increase in severe Asthma: Association with epithelial cells and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 105: 232-8.
- Montesirin J, Bonilla J, Camacho J, Conde J, Sobrino F, 2001. Elevated secretion of myeloperoxidase by neutrophils from Asthmatic patients: The effect of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*, 107: 623-6.
- Moore KW, Malefyt RW, Coffman RL, O'Garra A, 2001. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*, 19: 683-765.
- Muro S, Minshal EM, Hamid QA, 2000. The pathology of chronic Asthma. *Clin Chest Med* 21(2): 225-44
- Nadel JA, 1992. Regulation of neurogenic inflammation by neutral endopeptidase. *Am Rev Resp Dis* 145: 548 – 552.
- Nakanishi K, Yoshimoto T, Tsutsui H, Okamura H, 2001. Interleukin-18 regulates both Th-1 and Th-2 responses. *Annu Rev Immunol* 19: 423-74.
- Namazi J, Schatz M, Long L, Lipkowitz M, Lillie MA, Voss M, Deitz RJ, Petitti D, 2004. Use of inhaled steroids by pregnant astmatic women does not reduce intrauterine growth. *J Allergy Clin Immunol*, 113: 427-32.
- Naseer T, Minshal EM, Leung DY, Laberge S, Ernst P, Martin RJ, Hamid Q, 1997. Expression of IL-12 and IL-13 mRNA in Asthma and their modulation in response to steroid therapy. *Am J Respir Crit Care* 155(3): 845-51.
- Nelms K, Keegan AD, Zamorano J, Ryan JJ, Paul WE, 1999. The IL-4. Signalling mechanism and biologic functions. *Annu Rev Immunol* 17: 701-38.

- Nelson HS, 2000. The use of Standardized extracts in allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 106: 41-5.
- Niven RM, Fletcher AM, Pickering AC, Custovic A, Sivour JB, Prece AR, Oldham LA, Francis HC, 1999. Attempting to control mite allergens with mechanical ventilation and dehumidification in British houses. *J Allergy Clin Immunol* 103: 756-62.
- Noma T, 1995, Yoshizawa I, Kou K, Nakayama T, Kawano Y, Itoh M, Ichikawa K, Mukoyama T, Baham, Yata J, 1995. Pattern of cytokine production by T cells from adolescents with asthma in remission, after stimulation with *dermatophagoides farinae* antigen. *Pediatr Res* 38: 187-93.
- Noma T, Yoshizawa I, 1999. IL-12 affects *Dermatophagoides farinae*-induced IL-4 production by T cells from paediatric patients with mite sensitive asthma. *J Allergy Clin Immunol* 103: 850-8.
- Nuhoglu Y, Bahceciiler NN, Barlan RB, Barsaran MM, 2001. The effectiveness of high dose inhaled budesonide therapy in the treatment of acute asthma exacerbation in children. *Ann Allergy Asthma Immunol* 86: 318-22.
- Oettgen HC, Geha RS, 1999. IgE in Asthma and atopy: cellular and molecular connections. *J Clin Invest* 104: 829-35.
- Okashi Y, Motojima S, Takeshi F, 1992. Airway hyperresponsiveness, increased intracellular spaces of bronchial epithelium and increased infiltration of eosinophils and lymphocytes in bronchial mucosa in Asthma. *Am Rev Resp. Dis* 145: 1469-1476.

- Orefice U, 2004. Efficacy of allergoid sublingual immunotherapy in patients with allergic bronchial asthma to house dust mite. *J Allergy Clin Immunol*,113: S111.
- Park JW, Ko SH, Ree HI, Jeoung BJ, Hong CS, 1999. Cross reactivity of *Tyrophagus putrescentiae* with *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pterynossinus* in urban areas. *Ann Allergy Asthma Immunol* 83: 533-9.
- Pauwels RA, Pederson S, Busse WW, Tan WC, Chen YZ, Ohlson SV, Uilman A, Lamm CJ, O'ByrnePM, 2003. Early intervention with budesonide in mild persistent Asthma: a randomised, double-blind trial. *Lancet*, 361; 1071-76
- Platts-Mills TAE, Rakes G, Heyman PW, 2000. The relevance of allergen exposure to the development of Asthma in Childhood. *J Allergy Clin Immunol* 105: S503-8.
- Poston RN; Chanos P; Lacoste JY, 1992. Immunohistochemical characterization of the cellular infiltration in Asthmatic bronchi. *Am Rev Respir Dis* 145: 918 – 921.
- Reider N, Reider D, Ebner S, HolzmannS, Herold M, Fritsch C, RomaniM, 2002 Dendritic cells contribute to the development of atopy by an insufficiency in IL-2 production. *J Allergy Clin Immunol*, 109: 89-95.
- Resnick MB, Weller PF, 1993. Mechanism of eosinophil recruitment. *Am J Respir Cell Mol Biol* 8: 349-55.
- Rinehart JJ, Sagone AJ, Balcerzak SP, Ackerman GA, LoBuglioAF, 1975. Effects of corticosteroid therapy on human monocyte function. *N Engl J Med* 292: 236-41.
- Robinson DS, Hamid Q, Ying S, 1992: Predominant Th-2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic Asthma *N Engl J. Med.* 326: 298 – 304.





- Romagnani S, 2000. T-Cell subsets (Th-1 versus Th-2). *Ann Allergy Asthma Immunol* 85(1): 9-18.
- Romagnani S, 2004. Immunologic influences on allergy and the Th1/Th2 balance. *J Allergy Clin Immunol*, 113: 395-400.
- Schroeder JT, Lichtenstein LM, Roche EM, Xiao HQ, Liu MC, 2001. IL-4 production by human basophiles found in the lung following segmental allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol* 107: 265-71.
- Schweibert LA, Beck LA, Stiletts C, Bickel CA, Bockner BS, Chleimer RP, 1996. Glucorticoid inhibition of cytokine production: Relevance to anti allergic actions. *J Allergy Clin Immunol* 97: 143 - 152.
- Scolozzi RM, 2004. Tolerability of the allergoid sublingual immunotherapy with a monomeric allergoid in patients with allergic rhinitis and/or asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 113: S111.
- Shapiro GG, Mendelson LM, Pearlman DS, 2001. Once daily budesonide inhalation powder (Pulmicort Turbuhaler) maintains pulmonary function and symptoms of asthmatic children previously receiving inhaled corticosteroids. *Ann Allergy Asthma Immunol* 86: 633-40.
- Sheffer AL, 1991. Guidelines for the diagnosis and management of Asthma. National heart, Lung and Blood Institute National Asthma Educational Program Expert Panel Report. *J. Allergy Clin Immunol* 88: 425 - 534.
- Shore SA, 2002. Cytokine regulation of  $\beta$ -adrenergic responses in airway smooth muscle. *J Allergy Clin Immunol*, 110: S255-60

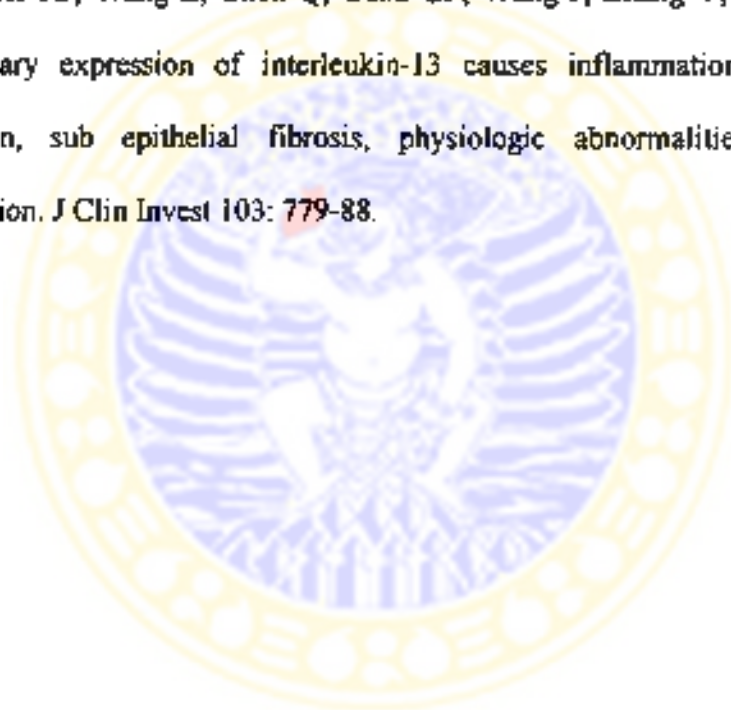
- Simon EF, 1996. Pharmacology and therapeutic in Bierman CW, Pearlman DS, Shapiro GG; Busse WW (Eds): Allergy Asthma and immunology from infancy to Adulthood 3<sup>rd</sup> Ed, Philadelphia, WB Saunders: 208 – 236.
- Skoner DP, Szefer SJ, Welch M, Bowen KW, Rivera MC, Smith JA, 2000. Longitudinal growth in infants and young children treated with budesonide inhalation suspension for persistent Asthma. *J Allergy Clin Immunol* 106: 259-68.
- Smith CW; Kishimoto TK; Abbas O, 1991. Chemo tactic factors regulate lectin adhesion molecule 1 (LECAM-1)-dependent neutrophil adhesion to cytokine – stimulated endothelial cells in vitro. *J Clin Invest* 87: 609 – 618.
- Soussi-Gounni A, Kontolemos M, Hamid Q, 2001. Role of IL-9 in the pathophysiology of Allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*, 107: 575-82.
- Spahn JD, 1999. Glucocorticoid Pharmacokinetics. *Immunol Allergy Clin North Am*, 19: 91-103
- Spencer DA, 1992. An update on PAF. *Clin Exp Allergy* 22 521 – 524.
- Spoelstra FM, Kauffman HF, Hovenga H, Noordhoek JA, deMonchy JR, Postma DS, 2000. Effects of budesonide and fometerol on eosinophil activation induced by human lung fibroblasts. *Am J Respir Crit Care Med* 162: 1229-34.
- Strube G, 2000. Should steroids be the first line treatment for Asthma? . *BMJ* 320: 47-9
- Szcma AM, Khedicar M, Maloney PF, Takach PA, Nickels MS, Patel H, Medugno F, Tao AY, Lin DH, 2004. Clinical deterioration in pediatric patients after September 11, 2001. *J Allergy Clin Immunol*, 113: 420-6.

- Szepfalusi Z, Pichler J, Etsaaser S, van Duren K, Ebner C, Bernaschek G. Transplacental priming of the human immune system with environmental allergens can occur early in gestation. *J Allergy Clin Immunol*, 2000, 106: 530-6.
- Tanaka Y, Adam DH, Shaw S, 1993. Pateoglycans on endothelial cells presents adhesion-inducing cytokines to leukocytes. *Immunology Today* 14: 111 - 115.
- Tanaka H, Miyazaki N, Oashi K, Taramoto S, Shiratori M, Hashimoto M, Ohmchi M, Abe S, 2001. IL-18 might reflect disease activity in mild and moderate Asthma exacerbation. *J Allergy Clin Immunol* 107: 331-6.
- Tang C, Ward C, Reid D, Bish R, O'Byrne PM, Walters H, 2001. Normally suppressing CD40 coregulatory signals: delivered by airway macrophages to Th-2 lymphocytes are defective in patients with atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 107: 863-70.
- Tanimoto Y, Takakashi K, Kimura L, 1994. Effects of cytokines on human basophile chemo taxis. *Clin Exp Allergy* 22: 1020 - 1025.
- The Childhood Asthma Management Program Research Group, 2000. Long-term effects of Budesonide or Nedocromil in Children with Asthma. *NEJM* 343: 1054-63
- To T, Vidykhan TN, Dell, Stassoudji M, Harris JK, 2004. Is obesity associated with asthma?. *J Pediatr*, 114:162-8.
- Trautmann A, Grendelmeler PS, Kruger K, Cranari R, 2002. T Cells and eosinophils cooperate in the induction of bronchial epithelial cell apoptosis in asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 103: 329-37.

- Tseng YT, Wadhawan R, Stabila JP, McGonigal BG, Padbury JF, 2002. Molecular interactions between glucocorticoid and catecholamine signalling pathway. *J Allergy Clin Immunol*, 110: S247-54.
- Turkas I, Ozkaya O, Bostanci I, Bideci A, Cinaz P, 2001. Safety of inhaled corticosteroid therapy in young children with asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 86: 649-56.
- Turkeltaub PC, Gergen PJ, 1991. Prevalence of upper and lower respiratory conditions in the US, population by social and environmental factors: Data from the second national health and nutrition examination survey 1976 – 80 (NHANES II). *An Allergy* 67: 147 – 154.
- Umetsu DT, Akbari O, DeKruiff RH. 2003: Regulatory T Cells control the Development of Allergic Disease and Asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 112:480-7.
- Vercelli D. 2004. Genetics, epigenetics, and the environment: Switching, buffering, releasing. *J Allergy Clin Immunol*, 113: 381-6.
- Veza PR, Montgomery LA, 1998. Curschnann's Spirals. *NEJM*, 339: 819.
- Vignola AM, Chanez P, Campbel AM, Souques F, Lebel B, Enander I, et al, 1998. Airway inflammation in mild intermittent and in persistent Asthma. *Am J Respir Care Med* 157: 403 – 409.
- Vignola AM, Kips J, Bosquet J, 2000. Tissue remodelling as a feature of persistent Asthma. *J Allergy Clin Immunol* 105: 1041-53.

- Wardlaw AJ, Dunnette S, Glerch GI, 1988. Eosinophils and mast cells in bronchoalveolar lavage in subjects with mild Asthma Relationship to Bronchial Hyper reactivity. *Am Rev Respir Dis* 247: 456 – 459.
- Wardlaw AJ, 1999. Molecular basis for selective eosinophil trafficking in Asthma: a multistep paradigm. *Allergy Clin Immunol* 104: 917-26.
- Weiss ST, 2001. Epidemiology and heterogeneity of Asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 87: 5-8.
- Wenzel SE, Westcott JY, Larsen GI, 1991. Bronchoalveolar lavage fluid levels: minutes after allergen challenge in atopic patients with Asthma: Relationship to the development of late asthmatic responses. *J. Allergy clin Immunol* 87: 540 – 584.
- Wenzel SE, Larson GL, 1996. Assessment of Lung Function Pulmonary Function testing in: Bierman CW, Pearlman DS, Shapiro GG, Busse WW (eds): *Allergy Asthma, and Immunology from Infancy to Adulthood*. 3<sup>rd</sup> Ed, Philadelphia, WB Saunders, 157 - 172.
- Williams TJ, Jones CA, Miles EA, Warner JO, Warner JA. Foetal and neonatal IL-13 production during pregnancy and at birth and subsequent development of atopic symptoms. *J Allergy Clin Immunol*, 2000, 105: 951-9.
- Williams EJ, 2004. The eosinophil enigma *J Clin Invest*, 113: 507-509.
- Wills-Karp M, 2001: IL-12/IL-13 axis in allergic Asthma. *J Allergy Clin Immunol* 107: 9-18

- Yunginger JW, Reed CE, O'Connell EJ, Melton LJ III, Ofallon WM, Silverstein MD, 1992. A community-based study of the epidemiology of Asthma. Incidence rate 1964 – 1983. *Am Rev Respir Dis* 146: 888 – 94.
- Zieger RS, Dawson C, 1999. Weiss S, Relationship between duration of Asthma and Asthma severity among children in the childhood Asthma Management Program (CAMP). *J Allergy Clin Immunol* 103 376 – 87.
- Zu Z, Homer RJ, Wang Z, Chen Q, Geba GP, Wang J, Zhang Y, Elias JA, 1999. Pulmonary expression of interleukin-13 causes inflammation, mucus hypersecretion, sub epithelial fibrosis, physiologic abnormalities and eotaxin production. *J Clin Invest* 103: 779-88.



Daftar Lampiran.

Lampiran I.

Sertifikat Kelayakan Etik.





**PANITIA KELAIKAN ETIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
( "ETHICAL CLEARANCE" )**

No. 25/Fakfa.KED/2000

PANITIA KELAIKAN ETIK FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA . RSUD  
Dr. SOETOMO SURABAYA. TELAH MEMPELAJARI SECARA SIKAPAKA MANGANGAM  
PEMELITAN YANG DIJUKKAN. MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAWHA PEMELITAN  
SEKANDIA :

" Profil Sitokin Pada Pemberian Kortikosteroid  
Miripan Jangka Panjang Pada Penderita  
Koma Akut yang Mendapat Intubasi "

PEMELITAN Dr. H. Ariyanta Harsana, Sp(E)

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PEMELITAN RSUD Dr. Soetomo Surabaya

DINYATAKAN LAIK ETIK.

SURABAYA,

KETUA :

(Prof. dr. H. K. Harjanto, SpOG-IPM)



**Lampiran 2. Formulir Pernyataan Persetujuan**



**Formulir Persetujuan Tertulis Orang Tua.**

**Judul Penelitian: "Profil Sitokin pada pemberian kortikosteroid hirupan jangka panjang pada penderita Asma anak yang mendapat imunoterapi"**

**Tempat Penelitian: Poli Alergi Anak RSUD Dr. Soetomo, Surabaya.**

---

Saya, ..... telah mendapat penjelasan, dan telah berdiskusi tentang penelitian ini dengan dr. Ariyanto Harsono SpAK, dan mengerti hal-hal yang menyangkut penelitian.

Saya setuju anak saya ikut serta dalam penelitian.

Nama Anak:

Tanda

tangan..... Tanggal.....

---

Saya, dr. Ariyanto Harsono SpAK, telah menjelaskan maksud dan tujuan dari penelitian ini kepada.....

Tanda tangan.....

Tanggal.....

---

Saksi, nama.....

Tanda tangan.....

Tanggal.....

---

### **Informasi Sebelum Pernyataan Persetujuan.**

(Information For Consent).

---

**Judul Penelitian: "Profil Sitokin pada pemberian Kortikosteroid hirupan jangka panjang pada penderita Asma anak yang mendapat imunoterapi"**

---

### **Penjelasan Umum.**

Kami mengharapkan bapak/ibu untuk ikut serta dalam penelitian yang kami laksanakan. Penelitian ini bermaksud untuk mengungkapkan gambaran zat imun apabila seorang anak Asma yang mendapat imunoterapi diberi inhalasi steroid selama 3 bulan. Kortikosteroid hirupan yang digunakan adalah Pulmicort hirupan dengan takaran 100 µg untuk anak dibawah umur 11 tahun, dan 200 µg untuk anak diatas 11 tahun. Obat ini berkasiat mengurangi peradangan pada saluran nafas yang umumnya selalu terjadi pada penderita Asma. Terjadi efek samping pemberian kortikosteroid apabila diberikan dengan cara diminum atau disuntikkan, misalnya katarak, hiperglikemia, osteoporosis, glaucoma, tetapi tidak terjadi pada pemberian hirupan. Pengobatan imun adalah pengobatan untuk Asma karena alergi debu rumah, dengan cara menyuntikkan ekstrak debu rumah dengan dosis mulai 0,1 ml meningkat menjadi 1ml sampai dosis rumatan. Pengobatan ini efektif pada penderita Asma yang alergi debu rumah, biasanya setelah penyuntikan selama 3 bulan. Efek samping yang mungkin timbul dari pengobatan ini antara lain, biduren, serangan asma dan renjatan,

tetapi jarang sekali terjadi, dan kalau terjadi, mudah diatasi dengan suntikan anti untuk renjatan.

**Apabila putra anda ikut serta.**

Penelitian akan berakhir 3 bulan. Putra anda akan ditentukan secara acak dalam grup yang menerima imunoterapi saja, menerima kortikosteroid hirupan saja dan pengobatan imun plus kortikosteroid hirupan. Obat-obat Asma yang biasanya digunakan untuk mengatasi serangan Asma tetap boleh digunakan selama penelitian andaikata terjadi serangan Asma.

Apabila anda menyetujui untuk ikut serta dalam penelitian, selain pemeriksaan rutin poli alergi, akan ditambah pemeriksaan spirometri, alergi, hitung darah untuk alergi dan pemeriksaan darah untuk zat alergi pada kunjungan pertama, dan spirometri dan zat alergi pada kunjungan 3 bulan kemudian, tanpa dipungut biaya.

Adalah penting apabila anda mengikuti petunjuk pemakaian obat dengan tepat dan tidak membiarkan anak lain untuk memakai obat tersebut. Semua kontainer obat yang sudah terpakai harus dikembalikan kepada dokter.

Sebelum mengikuti penelitian, penting untuk memberitahukan obat-obat Asma yang dipakai dan apakah anak sedang mengikuti penelitian lain. Selama penelitian anda juga harus memberitahukan obat lain yang dipakai, atau perubahan penggunaan obat.

**Apakah obat yang digunakan aman.**

Pulmicort hirupan telah terdaftar dan beredar di Indonesia dan dibanyak negara lain selama bertahun-tahun dan telah dipakai oleh ribuan pasien diseluruh dunia.

**Manfaat penelitian dan resiko yang mungkin terjadi.**

Manfaat yang sangat mungkin terjadi bila putra anda mengikuti penelitian adalah perbaikan gejala Asma meskipun kami harus berterus terang tidak ada jaminan untuk ini. Kemungkinan Asma putra anda tidak membaik juga ada, biar bagaimanapun juga, informasi yang diperoleh dari penelitian ini akan sangat membantu penderita Asma yang lain.

Dalam setiap kunjungan, putra anda akan melakukan pemeriksaan fungsi paru dengan cara meniup alat yang disebut Miniloop Spirometer. Cara ini sangat mungkin menjengkelkan untuk putra anda.

Efek samping obat penelitian sangat jarang dan bila terjadi biasanya bersifat ringan berupa suara parau, ruam, iritasi tenggorok, batuk, infeksi sekunder jamur kandida di mulut dan tenggorok. Untuk mengatasi terjadinya efek samping, putra anda dianjurkan berkumur setelah menghirup obat.

**Apakah putra anda harus ikut dalam penelitian.**

Keputusan untuk ikut dalam penelitian atau tidak ikut, seratus persen terletak pada anda, kami menjunjung tinggi keputusan anda. Andaikata ikutpun anda berhak mengundurkan diri bila merasa tidak menguntungkan. Pengobatan rutin seperti

sediakala tetap terbuka untuk putra anda, obat penelitian hendaknya dikembalikan pada kami..

**Data-data dirahasiakan.**

Data-data yang diperoleh selama penelitian akan disimpan didalam komputer tanpa nama. Hanya dokter yang mengetahui informasi putra anda.. Hasil dari penelitian mungkin akan ditulis di majalah medis tanpa adanya identitas putra anda. Dokter dan stafnya mempunyai jangkauan dari rekam medis dengan identitas nama putra anda.

**Kontak.**

Setiap waktu apabila anda ada masalah sehubungan dengan penyakit putra anda atau dengan penelitian yang sedang berlangsung, anda bisa berhubungan dengan kami:

**Dr.Ariyanto Harsono SpAK**

**Telepon: (031) 5040430, 081330433061**

---

**Peneliti Utama**

**Dr.Anang Indaryanto SpA**

**Telepon 081 1327431**

---

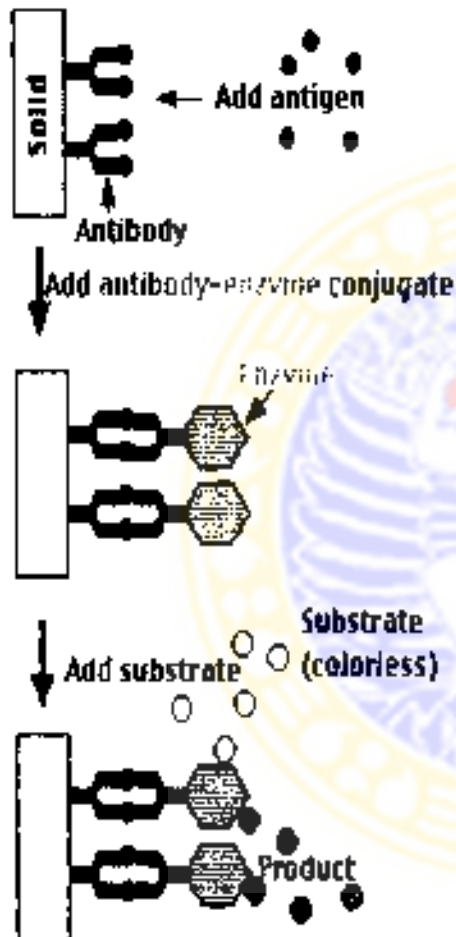
**Staf Seksi Alergi**

### Lampiran 3. Pemeriksaan Sitokin



Pemeriksaan Sitokin dilakukan dengan ELISA.

Kit yang digunakan adalah Bender MedSystems dari Austria, dengan spesimen serum penderita asma



Prinsip dari ELISA adalah mereaksikan antigen, dalam penelitian ini adalah sitokin dalam serum penderita asma, dengan antibodi monoklonal yang telah dilabel dengan enzim. Enzim yang dipakai untuk melabel harus memenuhi syarat antara lain: tidak mengurangi imunogenisitas antigen, dapat diperoleh dalam keadaan murni, stabil sehingga dapat disimpan dalam waktu tertentu. Komplek antigen dan antibody berlabel ini dipisahkan dengan antigen dan antitodi yang bebas, lalu diinkubasikan dengan substrat kromogenik yang semula tidak berwarna, tetapi kemudian menjadi berwarna apabila dihidrolisa oleh enzim. Intensitas warna yang terbentuk dapat diukur dan merupakan parameter untuk antigen yang diuji,

### 1. Pemeriksaan IL-2

ELISA IL-2 adalah "Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay" untuk pemeriksaan kuantitatif untuk IL-2 manusia, spesimen dalam pemeriksaan ini adalah serum..



Persiapan.

1. Wash buffer

Jika ada bentukan kristal pada wash buffer, dipanaskan dengan hati-hati sehingga kristal menghilang. Tuangkan 50 ml konsentrasi wash buffer kedalam silinder 1000ml yang bersih, campurkan kedalam 1000 ml air destilata atau deionisasi, aduk dan jangan sampai terbentuk formasi busa. PH diatur sehingga 7,4.. Pindahkan kedalam botol yang bersih dan simpan pada temperatur 2-20°C.

2. Konjugat Biotin

Membuat larutan 1:100 pelarut sampel pada tabung plastik.

3. IL-2 Standart.

Vial diputar pada mikrosentrifuse agar reagent terletak pada dasar. Ditambahkan pelarut sampel pada standart IL-2, goyangkan dengan hati-hati agar bercampur sempurna, simpan pada -20°C.

4. Streptavidin-HRP.

Membuat larutan 1:100 Streptavidin-HRP dengan pelarut sampel.

5. Larutan Kontrol.

.Dilakukan 800µl pada setiap vial IL-2, diaduk dengan hati-hati sampai homogen, tambahkan pada plate.

6. Larutan TMB substrat..

Dengan menggunakan pipet dan kotener plastik yang bebas logam dicampurkan dalam jumlah yang sama larutan substrat I dan larutan substrat II diaduk hingga

rata akan terbentuk larutan TMB substrat terlihat bintik-bintik kuning sepanjang waktu. Hindarkan penyinaran yang berlebihan.

#### 7. Penambahan zat pewarna.

Ditambahkan zat pewarna pada setiap step pemeriksaan untuk mempermudah proses.

Prinsip pemeriksaan: mereaksikan IL-2 yang akan mengikat konjugat biotin anti IL-2.

Monoklonal antibodi terhadap IL-2 diabsorbsikan pada mikrowel. Serum kemudian ditambahkan kedalam mikrowel; konjugat antibodi poliklonal terhadap IL-2 ditambahkan pada mikrowel dan akan mengikat IL-2 yang telah diikat oleh antibodi terdahulu. Diinkubasi selama 1 jam kemudian konjugat biotin anti IL-2 dipisahkan dengan wash step. Streptavidin-HRP ditambahkan dan akan mengikat konjugat biotin anti IL-2. Diinkubasi selama 1 jam, kemudian Streptavidin-HRP yang tak terikat dipisahkan dengan wash step. Substrat reaktif terhadap HRP ditambahkan kedalam mikrowel.

Produk yang berwarna terbentuk sesuai dengan proporsi IL-2 yang ada dalam spesimen. Proses diakhiri dengan menambahkan asam dan absorbent diukur dalam counter 450nm. Kurva standart disiapkan dari 7 larutan standart IL-2 yang telah ditentukan



Monoklonal antibodi terhadap IL-2  
diabsorbsikan pada mikrowel



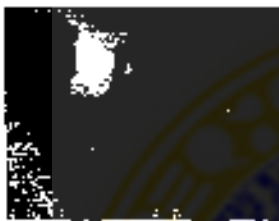
Serum kemudian ditambahkan ke dalam  
mikrowel; konjugat antibodi poliklonal terhadap  
IL-2 ditambahkan pada mikrowel dan akan  
mengeklat IL-2 yang telah diikat oleh antibodi  
terdahulu..



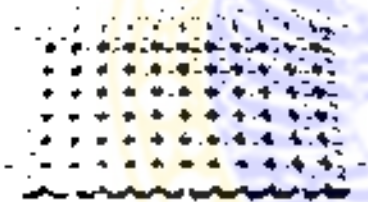
Diinkubasi selama 1 jam.



kemudian konjugat biotin anti IL-2 dipisahkan dengan wash step. Streptavidin-HRP ditambahkan dan akan mengikat konjugat biotin anti IL-2.



Dinkubasi selama 1 jam, kemudian Streptavidin-HRP yang tak terikat dipisahkan dengan wash step. Substrat reaktif terhadap HRP ditambahkan ke dalam mikrowel.



Produk yang berwarna terbentuk sesuai dengan proporsi IL-2 yang ada dalam spesimen.



Proses diakhiri dengan menambahkan asam dan absorbent diukur dalam counter 450nm. Kurva standart disiapkan dari 7 larutan standart IL-2 yang telah ditentukan.

## 2. Pemeriksaan IL-4

ELISA IL-4 adalah "Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay" untuk pemeriksaan kuantitatif untuk IL-4 manusia. spesimen dalam pemeriksaan ini adalah serum

Persiapan,

**A. Wash buffer**

Jika ada bentukan kristal pada wash buffer, dipanaskan dengan hati-hati sehingga kristal menghilang. Tuangkan 50 ml konsentrasi wash buffer ke dalam silinder 1000ml yang bersih, campurkan ke dalam 1000 ml air destilata atau deionisasi, aduk dan jangan sampai terbentuk formasi busa. PH diatur sehingga 7,4.. Pindahkan ke dalam botol yang bersih dan simpan pada temperatur 2-20°C.

**B. Konjugat Biotin**

Membuat larutan 1:100 pelarut sampel pada tabung plastik.

**C. IL-4 Standart.**

Vial diputar pada mikrosentrifuse agar reagent terletak pada dasar. Ditambahkan pelarut sampel pada standart IL-4, goyangkan dengan hati-hati agar bercampur sempurna, simpan pada -20°C.

**D. Streptavidin-HRP.**

Membuat larutan 1:100 Streptavidin-HRP dengan pelarut sampel.

**E. Larutan Kontrol.**

.Dilartkan 800µl pada setiap vial IL-4, diaduk dengan hati-hati sampai homogen, tambahkan pada plate.

**F. Larutan TMB substrat..**

Dengan menggunakan pipet dan kontener plastik yang bebas logam dicampurkan dalam jumlah yang sama larutan substrat I dan larutan substrat II diaduk hingga rata akan terbentuk larutan TMB substrat terlihat bintik-bintik kuning sepanjang waktu. Hindarkan penyinaran yang berlebihan.

G. Penambahan zat pewarna.

Ditambahkan zat pewarna pada setiap step pemeriksaan untuk mempermudah proses.

Prinsip pemeriksaan:mereaksikan IL-4, mengikat konjugat biotin anti IL-4.

Monoklonal antibodi terhadap IL-4 diabsorbsikan pada mikrowel. Serum kemudian ditambahkan kedalam mikrowel; konjugat antibodi poliklonal terhadap IL-4 ditambahkan pada mikrowel dan akan mengikat IL-4 yang telah diikat oleh antibodi terdahulu. Diinkubasi selama 1 jam kemudian konjugat biotin anti IL-4 dipisahkan dengan wash step.Streptavidin-HRP ditambahkan dan akan mengikat konjugat biotin anti IL-4. Diinkubasi selama 1 jam, kemudian Streptavidin-HRP yang tak terikat dipisahkan dengan wash step. Substrat reaktif terhadap HRP ditambahkan kedalam mikrowel.

Produk yang berwarna terbentuk sesuai dengan proporsi IL-4 yang ada dalam spesimen. Proses diakhiri dengan menambahkan asam dan absorbent diukur dalam penghitung dengan panjang gelombang 450nm. Kurva standart disiapkan dari 7 larutan standart IL-4 yang telah ditentukan.

## 2. Pemeriksaan IL-5

ELISA IL-5 adalah "Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay" untuk pemeriksaan kuantitatif untuk IL-5 manusia, spesimen dalam pemeriksaan ini adalah serum..

### Persiapan.

#### A. Wash buffer

Jika ada bentukan kristal pada wash buffer, dipanaskan dengan hati-hati sehingga kristal menghilang. Tuangkan 50 ml konsentrat wash buffer kedalam silinder 1000ml yang bersih, campurkan kedalam 1000 ml air destitata atau deionisasi, aduk dan jangan sampai terbentuk formasi busa. PH diatur sehingga 7,4.. Pindahkan kedalam botol yang bersih dan simpan pada temperatur 2-20°C.

#### B. Konjugat Biotin

Membuat larutan 1:100 pelarut sampel pada tabung plastik.

C IL-5 Standart. Vial diputar pada mikrosentrifuse agar reagent terletak pada dasar. Ditambahkan pelarut sampel pada standart IL-5, goyangkan dengan hati-hati agar bercampur sempurna, simpan pada -20°C

#### D Streptavidin-HRP.

Membuat larutan 1:100 Streptavidin-HRP dengan pelarut sampel.

#### E. Larutan Kontrol.

Dilartukan 800µl pada setiap vial IL-5, diaduk dengan hati-hati sampai homogen, tambahkan pada plate.



F. Larutan TMB substrat..

Dengan menggunakan pipet dan kontener plastik yang bebas logam dicampurkan dalam jumlah yang sama larutan substrat I dan larutan substrat II diaduk hingga rata akan terbentuk larutan TMB substrat terlihat bentuk-bentuk kuning sepanjang waktu. Hindarkan penyinaran yang berlebihan.

G. Penambahan zat pewarna.

Ditambahkan zat pewarna pada setiap step pemeriksaan untuk mempermudah proses.

Prinsip pemeriksaan: mereaksikan IL-5 mengikat konjugat biotin anti IL-5.

Monoklonal antibodi terhadap IL-5 diabsorbsikan pada mikrowel. Serum kemudian ditambahkan kedalam mikrowel; konjugat antibodi poliklonal terhadap IL-5 ditambahkan pada mikrowel dan akan mengikat IL-5 yang telah diikat oleh antibodi terdahulu.. Diinkubasi selama 1 jam kemudian konjugat biotin anti IL-5 dipisahkan dengan wash step Streptavidin-HRP ditambahkan dan akan mengikat konjugat biotin anti IL-5 Diinkubasi selama 1 jam, kemudian Streptavidin-HRP yang tak terikat dipisahkan dengan wash step. Substrat reaktif terhadap HRP ditambahkan kedalam mikrowel

Produk yang berwarna terbentuk sesuai dengan proporsi IL-5 yang ada dalam spesimen. Proses diakhiri dengan menambahkan asam dan absorbent diukur dalam 450nm Kurva standart disiapkan dan 7 dilusi standart IL-5 yang telah ditentukan



#### 4. Pemeriksaan IFN- $\gamma$

ELISA IFN- $\gamma$  adalah "Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay" untuk pemeriksaan kuantitatif IFN- $\gamma$  manusia, spesimen dalam pemeriksaan ini adalah serum..

Persiapan.

##### A. Wash buffer

Jika ada bentukan kristal pada wash buffer, dipanaskan dengan hati-hati sehingga kristal menghilang. Tuangkan 50 ml konsentrasi wash buffer kedalam silinder 1000ml yang bersih, campurkan kedalam 1000 ml air destilata atau deionisasi, aduk dan jangan sampai terbentuk formasi busa. PH diatur sehingga 7,4.. Pindahkan kedalam botol yang bersih dan simpan pada temperatur 2-20°C.

##### B. Konjugat Biotin

Membuat dilusi 1:100 pelarut sampel pada tabung plastik.

##### C IFN- $\gamma$ Standart.

Vial diputar pada mikrosentrifuse agar reagent terletak pada dasar. Ditambahkan pelarut sampel pada standart IFN- $\gamma$ , goyangkan dengan hati-hati agar bercampur sempurna, simpan pada -20°C.

##### D. Streptavidin-HRP.

Membuat larutan 1:100 Streptavidin-HRP dengan pelarut sample.

##### F. Larutan Kontrol.

Ditambahkan 800µl pada setiap vial IFN- $\gamma$ , diaduk dengan hati-hati sampai homogen, tambahkan pada plate.

#### F. Larutan TMB substrat..

Dengan menggunakan pipet dan kontener plastik yang bebas logam dicampurkan dalam jumlah yang sama larutan substrat I dan larutan substrat II diaduk hingga rata akan terbentuk larutan TMB substrat terlihat bintik-bintik kuning sepanjang waktu. Hindarkan penyinaran yang berlebihan.

#### G. Penambahan zat pewarna.

Ditambahkan zat pewarna pada setiap step pemeriksaan untuk mempermudah proses

Prinsip pemeriksaan: mereaksikan IFN- $\gamma$ , mengikat konjugat biotin anti IFN- $\gamma$ .

Monoklonal antibody terhadap IFN- $\gamma$  diabsorbsikan pada mikrowel Serum kemudian ditambahkan kedalam mikrowel; konjugat antibodi poliklonal terhadap IFN- $\gamma$  ditambahkan pada mikrowel dan akan mengikat IFN- $\gamma$  yang telah diikat oleh antibody terdahulu. Dinkubasi selama 1 jam kemudian konjugat biotin anti IFN- $\gamma$  dipisahkan dengan wash step Streptavidin-HRP ditambahkan dan akan mengikat konjugat biotin anti IFN- $\gamma$ . Dinkubasi selama 1 jam, kemudian Streptavidin-HRP yang tak terikat dipisahkan dengan wash step. Substrat reaktif terhadap HRP ditambahkan kedalam mikrowel.

Produk yang berwarna terbentuk sesuai dengan proporsi IFN- $\gamma$  yang ada dalam spesimen Proses diakhiri dengan menambahkan asam dan absorbent diukur

dalam penghitung dengan panjang gelombang 450nm. Kurva standart disiapkan dari 7 dilusi standart IFN- $\gamma$  yang telah ditentukan.



**Lampiran 4. Analisa Statistik.**



## Uji Homogenitas Sampel Perbedaan Sex antara Group A,B,C

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
GROUP * SEX	74	100,0%	0	,0%	74	100,0%

GROUP \* SEX Crosstabulation

Count		SEX		Total
		laki-laki	perempuan	
GROUP	Group A	14	11	25
	Group B	13	11	24
	Group C	13	12	25
Total		40	34	74

### Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
SEX * GROUP	73	100,0%	0	,0%	73	100,0%

SEX \* GROUP Crosstabulation

Count		GROUP			Total
		Group A	Group B	Group C	
SEX	laki-laki	14	13	14	41
	perempuan	11	11	10	32
Total		25	24	24	73

### Oneway

**Descriptives**  
**UMUR**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Group A	25	11.08	2.38	.48	10.10	12.06	6	16
Group B	24	11.08	2.50	.51	10.03	12.14	6	16
Group C	24	11.71	2.82	.58	10.52	12.90	6	19
Total	73	11.29	2.55	.30	10.69	11.88	6	19

**ANOVA**  
**UMUR**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.327	2	3.164	.479	.622
Within Groups	462.632	70	6.609		
Total	468.959	72			

**Post Hoc Tests**
**Multiple Comparisons**  
 Dependent Variable: UMUR

	(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Group A	Group B	-.33E-03	.73	.996	-1.47	1.46
		Group C	-.63	.73	.395	-2.09	.84
	Group B	Group A	3.33E-03	.73	.996	-1.46	1.47
		Group C	-.63	.74	.403	-2.11	.86
	Group C	Group A	.63	.73	.395	-.84	2.09
		Group B	.63	.74	.403	-.86	2.11
Tamhane	Group A	Group B	-.33E-03	.73	1.000	-1.73	1.72
		Group C	-.63	.73	.789	-2.48	1.22
	Group B	Group A	3.33E-03	.73	1.000	-1.72	1.73
		Group C	-.63	.74	.806	-2.53	1.28
	Group C	Group A	.63	.73	.789	-1.22	2.48
		Group B	.63	.74	.806	-1.28	2.53

## Oneway

### Descriptives IgE

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Group A	25	1013.36	416.60	83.32	641.40	1165.32	300	1999
Group B	24	942.29	365.03	74.51	788.15	1096.43	300	1500
Group C	24	994.71	424.12	86.57	815.62	1173.80	300	1999
Total	73	963.86	398.49	46.64	890.89	1076.84	300	1999

### ANOVA IgE

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	56050.953	2	28025.477	.203	.816
Within Groups	11357181.677	70	162388.310		
Total	11433232.630	72			

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons Dependent Variable: IgE

	(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Group A	Group B	71.07	115.16	.539	-158.61	300.75
		Group C	18.65	115.16	.872	-211.03	248.33
	Group B	Group A	-71.07	115.16	.539	-300.75	158.61
		Group C	-52.42	116.33	.654	-284.43	179.59
	Group C	Group A	-18.65	115.16	.872	-248.33	211.03
		Group B	52.42	116.33	.654	-179.59	284.43
Tamhane	Group A	Group B	71.07	115.16	.895	-205.75	347.89
		Group C	18.65	115.16	.998	-278.87	316.17
	Group B	Group A	-71.07	115.16	.895	-347.89	205.75
		Group C	-52.42	116.33	.957	-335.67	230.84
	Group C	Group A	-18.65	115.16	.998	-316.17	278.87
		Group B	52.42	116.33	.957	-230.84	335.67

## Descriptives

## Eosinofil Count

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Group A	25	995.92	106.38	21.28	952.01	1039.83	810	1180
Group B	24	976.67	123.30	25.17	924.60	1028.73	810	1180
Group C	24	1016.83	405.51	82.77	845.60	1188.08	100	1950
Total	73	996.47	247.84	29.01	938.64	1054.29	100	1950

## ANOVA

## Eosinofil Count

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19371.658	2	9685.829	.154	.858
Within Groups	4403308.507	70	62904.407		
Total	4422680.164	72			

## Multiple Comparisons

## Dependent Variable: Eosinofil Count

	(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Group A	Group B	19.25	71.67	.789	-123.70	162.20
		Group C	-20.91	71.67	.771	-163.86	122.04
	Group B	Group A	-19.25	71.67	.789	-162.20	123.70
		Group C	-40.17	72.40	.581	-184.57	104.23
	Group C	Group A	20.91	71.67	.771	-122.04	163.86
		Group B	40.17	72.40	.581	-104.23	184.57
Tamhane	Group A	Group B	19.25	71.67	.918	-62.45	100.95
		Group C	-20.91	71.67	.993	-238.96	197.13
	Group B	Group A	-19.25	71.67	.918	-100.95	62.45
		Group C	-40.17	72.40	.956	-260.24	179.91
	Group C	Group A	20.91	71.67	.993	-197.13	238.96
		Group B	40.17	72.40	.956	-179.91	260.24



**General Linear Model****Between-Subjects Factors**

		Value Label	N
GROUP	1.00	Group A	25
	2.00	Group B	24
	3.00	Group C	24

**Descriptive Statistics**

	GROUP	Mean	Std. Deviation	N
FEV-1 Reversibility Pre	Group A	21.36	7.54	25
	Group B	21.25	7.41	24
	Group C	21.08	7.43	24
	Total	21.23	7.36	73
IL-4 Pre	Group A	9.41520	5.27165	25
	Group B	9.30125	3.58704	24
	Group C	14.64375	12.29841	24
	Total	11.09671	8.24258	73
IL-5 Pre	Group A	100.80504	11.45219	25
	Group B	98.41863	28.60804	24
	Group C	108.11108	17.06009	24
	Total	102.42179	20.37582	73
IFN- $\gamma$ Pre	Group A	.2242040	1.274101E-04	25
	Group B	.2242292	1.267629E-04	24
	Group C	.2242583	1.282547E-04	24
	Total	.2242301	1.276768E-04	73
IL-2 Pre	Group A	25.01768	15.92880	25
	Group B	20.86575	14.76542	24
	Group C	24.97217	14.41728	24
	Total	23.63770	14.98116	73

## Multivariate Tests

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	1.000	45132784.805	5.000	66.000	.000
	Wilks' Lambda	.000	45132784.800	5.000	66.000	.000
	Hotelling's Trace	3419150.384	45132784.800	5.000	66.000	.000
	Roy's Largest Root	3419150.384	45132784.800	5.000	66.000	.000
GROUP	Pillai's Trace	.156	1.147	10.000	134.000	.333
	Wilks' Lambda	.846	1.154	10.000	132.000	.327
	Hotelling's Trace	.176	1.162	10.000	130.000	.323
	Roy's Largest Root	.154	2.059	5.000	67.000	.082

a. Exact statistic

b. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

c. Design: Intercept+GROUP

## Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	FEV-1	.948	2	.474	.009	.992
	Reversibility Pre					
	IL-4 Pre	450.011	2	225.005	3.546	.034
	IL-5 Pre	1227.173	2	613.586	1.498	.231
	IFN- $\gamma$ Pre	3.618E-08	2	1.809E-08	1.113	.334
Intercept	IL-2 Pre	274.757	2	137.378	.605	.549
	FEV-1	32893.303	1	32893.303	590.681	.000
	Reversibility Pre					
	IL-4 Pre	9023.537	1	9023.537	142.209	.000
	IL-5 Pre	765838.526	1	765838.526	1870.156	.000
GROUP	IFN- $\gamma$ Pre	3.669	1	3.669	225763230.285	.000
	IL-2 Pre	40706.883	1	40706.883	178.387	.000
	FEV-1	.948	2	.474	.009	.992
	Reversibility Pre					
	IL-4 Pre	450.011	2	225.005	3.546	.034
Error	IL-5 Pre	1227.173	2	613.586	1.498	.231
	IFN- $\gamma$ Pre	3.618E-08	2	1.809E-08	1.113	.334
	IL-2 Pre	274.757	2	137.378	.605	.549
	FEV-1	3698.093	70	52.830		
	Reversibility Pre					
Total	IL-4 Pre	4441.874	70	63.455		
	IL-5 Pre	28665.360	70	409.505		
	IFN- $\gamma$ Pre	1.138E-08	70	1.625E-08		
	IL-2 Pre	15684.578	70	224.051		
	FEV-1	36810.000	73	504.247		
Corrected Total	Reversibility Pre					
	IL-4 Pre	13890.888	73	189.999		
	IL-5 Pre	795678.884	73	10899.848		
	IFN- $\gamma$ Pre	3.670	73	.050		
	IL-2 Pre	58947.411	73	807.375		
Corrected Total	FEV-1	3698.041	72	51.362		
	Reversibility Pre					
	IL-4 Pre	4891.885	72	67.943		
	IL-5 Pre	29892.533	72	415.188		
	IFN- $\gamma$ Pre	1.174E-08	72	1.631E-08		
Corrected Total	IL-2 Pre	16159.332	72	224.435		

a R Squared = .000 (Adjusted R Squared = -.028)

b R Squared = .092 (Adjusted R Squared = .066)

c R Squared = .041 (Adjusted R Squared = .014)

d R Squared = .031 (Adjusted R Squared = .003)

e R Squared = .017 (Adjusted R Squared = -.011)

### Post Hoc Tests GROUP

Multiple Comparisons  
LSD

Dependent Variable	(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound Upper Bound
FEV-1 Reversibility Pre	Group A	Group B	.11	2.13	.959	-4.14 4.38
		Group C	.28	2.13	.897	-3.98 4.53
	Group B	Group A	-.11	2.13	.959	-4.38 4.14
		Group C	.17	2.15	.939	-4.13 4.48
	Group C	Group A	-.28	2.13	.897	-4.53 3.98
Group C	Group B	-.17	2.15	.939	-4.48 4.13	
IL-4 Pre	Group A	Group B	-.11395	2.27638	.960	-4.42617 4.65407
		Group C	-.22855	2.27638	.025	-.76867 -68843
	Group B	Group A	.11395	2.27638	.960	-4.65407 4.42617
		Group C	-.34250	2.29950	.023	-.92871 -.75629
	Group C	Group A	.22855	2.27638	.025	.68843 9.76567
Group C	Group B	.34250	2.29950	.023	.75629 9.92871	
IL-5 Pre	Group A	Group B	2.38842	5.78299	.881	-9.14539 13.92222
		Group C	-7.30604	5.78299	.211	-18.83984 4.22778
	Group B	Group A	-2.38842	5.78299	.881	-13.92222 9.14539
		Group C	-9.69446	5.84170	.101	-21.34536 1.95644
	Group C	Group A	7.30604	5.78299	.211	-4.22778 18.83984
Group C	Group B	9.69446	5.84170	.101	-1.95644 21.34536	
IFN-γ Pre	Group A	Group B	-2.516667E-05	3.642942E-05	.492	9.7822858E-05 -05
		Group C	-5.433333E-05	3.642942E-05	.140	1.2698952E-04 -04
	Group B	Group A	2.516667E-05	3.642942E-05	.492	4.7489524E-05 -05
		Group C	-2.9166667E-05	3.679927E-05	.431	1.0256050E-04 -04
	Group C	Group A	5.433333E-05	3.642942E-05	.140	1.8322858E-05 -05
Group C	Group B	2.916667E-05	3.679927E-05	.431	4.4227169E-05 -05	
IL-2 Pre	Group A	Group B	4.15193	4.30488	.338	-4.43388 12.73779
		Group C	4.5513E-02	4.30488	.992	-8.54030 8.63133
	Group B	Group A	-4.15193	4.30488	.338	-12.73779 4.43388
		Group C	-4.10842	4.34859	.348	-12.77940 4.56657
	Group C	Group A	-4.5513E-02	4.30488	.992	-8.63133 8.54030
Group C	Group B	4.10842	4.34859	.348	-4.56657 12.77940	

Based on observed means.

\* The mean difference is significant at the .05 level.

## Descriptive Statistics

	GROUP	Mean	Std. Deviation	N
FEV-1 Reversibility Post	Group A	7.36	4.91	25
	Group B	7.67	4.83	24
	Group C	5.79	2.60	24
	Total	6.95	4.28	73
IL-4 Post	Group A	1.20600	1.24297	25
	Group B	.88958	.99473	24
	Group C	1.78500	1.10640	24
	Total	1.29233	1.16606	73
IL-5 Post	Group A	63.56000	19.28212	25
	Group B	65.58342	15.42581	24
	Group C	66.76375	8.46157	24
	Total	65.27852	14.98704	73
IFN- $\gamma$ Post	Group A	.2241800	1.154701E-04	25
	Group B	.2255750	4.027541E-03	24
	Group C	.2259858	4.112380E-03	24
	Total	.2252356	3.347610E-03	73
IL-2 Post	Group A	10.65313	10.77520	25
	Group B	191.65700	81.31022	24
	Group C	206.33196	31.68365	24
	Total	134.49402	102.98527	73

## Post Hoc Tests

### GROUP

Multiple Comparisons  
LSD

Dependent Variable	(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
FEV-1 Reversibility Post	Group A	Group B	-.31	1.22	.802	-2.74	2.12
		Group C	1.57	1.22	.202	-.06	4.00
	Group B	Group A	.31	1.22	.802	-2.12	2.74
		Group C	1.87	1.23	.132	-.58	4.33
	Group C	Group A	-1.57	1.22	.202	-4.00	.86
		Group B	-1.87	1.23	.132	-4.33	.58
IL-4 Post	Group A	Group B	.31642	.32040	.327	-.32281	.95544
		Group C	-.57900	.32040	.075	-1.21802	6.0025E-02
	Group B	Group A	-.31642	.32040	.327	-.95544	-.32281
		Group C	-.89542	.32388	.007	-1.54093	-.24990
	Group C	Group A	.57900	.32040	.075	-6.00248E-02	1.21802
		Group B	.89542	.32388	.007	.24990	1.54093
IL-5 Post	Group A	Group B	-2.02342	4.32830	.641	-10.65194	6.60511
		Group C	-3.20375	4.32830	.461	-11.83228	5.42478
	Group B	Group A	2.02342	4.32830	.641	-6.60511	10.65194
		Group C	-1.18033	4.37022	.788	-9.88648	7.53580
	Group C	Group A	3.20375	4.32830	.461	-5.42478	11.83228
		Group B	1.18033	4.37022	.788	-7.53580	8.89648
IFN-γ Post	Group A	Group B	1.395000E-03	9.430997E-04	.144	-3.2759530E-03	4.859530E-04
		Group C	1.8158333E-03	9.430997E-04	.058	-3.8967883E-03	6.511968E-05
	Group B	Group A	1.395000E-03	9.430997E-04	.144	-4.859530E-04	3.275953E-03
		Group C	4.2083333E-04	9.528745E-04	.660	-2.3208828E-03	1.479218E-03
	Group C	Group A	1.815833E-03	9.430997E-04	.058	-6.5119678E-05	3.896788E-03
		Group B	4.208333E-04	9.528745E-04	.660	-1.479218E-03	2.320883E-03
IL-2 Post	Group A	Group B	-181.00387	14.40808	.000	-209.73985	-152.26790
		Group C	-195.67883	14.40808	.000	-224.41481	-166.94285
	Group B	Group A	181.00387	14.40808	.000	152.26790	209.73985
		Group C	-14.67496	14.55434	.317	-43.70268	14.35276
	Group C	Group A	195.67883	14.40808	.000	166.94285	224.41481
		Group B	14.67496	14.55434	.317	-14.35276	43.70268

Based on observed means.

\* The mean difference is significant at the .05 level.

## General Linear Model

### Between-Subjects Factors

		Value Label	N
GROUP	1.00	Group A	25
	2.00	Group B	24
	3.00	Group C	24

### Descriptive Statistics

	GROUP	Mean	Std. Deviation	N
Delta FEV <sub>1</sub>	Group A	-14.00	8.18	25
	Group B	-13.58	9.56	24
	Group C	-15.29	7.61	24
	Total	-14.29	8.38	73
Delta IL <sub>4</sub>	Group A	-8.2092	5.6808	25
	Group B	-8.4117	4.0043	24
	Group C	-12.8588	12.1012	24
	Total	-9.8044	8.2035	73
Delta IL <sub>5</sub>	Group A	-37.2450	24.6049	25
	Group B	-32.6332	32.1413	24
	Group C	-41.3473	19.5453	24
	Total	-37.1432	25.8055	73
Delta IFN- $\gamma$	Group A	-2.4000000E-05	1.7625739E-04	25
	Group B	1.3458333E-03	4.0529087E-03	24
	Group C	1.7375000E-03	4.1025774E-03	24
	Total	1.0054795E-03	3.3485394E-03	73
Delta IL <sub>2</sub>	Group A	-14.36455	15.49380	25
	Group B	170.79125	85.58184	24
	Group C	181.35979	36.27141	24
	Total	110.85632	105.54056	73

### Multivariate Tests

Effect		Value	F	Hypothesis	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	.928	171.301	5.000	66.000	.000
	Wilks' Lambda	.072	171.301	5.000	66.000	.000
	Hotelling's Trace	12.977	171.301	5.000	66.000	.000
	Roy's Largest Root	12.977	171.301	5.000	66.000	.000
GROUP	Pillai's Trace	.832	9.533	10.000	134.000	.000
	Wilks' Lambda	.216	15.207	10.000	132.000	.000
	Hotelling's Trace	3.412	22.176	10.000	130.000	.000
	Roy's Largest Root	3.346	44.833	5.000	67.000	.000

a. Exact statistic

b. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

c Design: Intercept+GROUP

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	Delta FEV	38.167	2	19.084	.265	.768
	Delta IL_4	334.067	2	167.033	2.592	.082
	Delta IL_5	870.278	2	435.139	.647	.527
	Delta IFN-g	4.214E-05	2	2.107E-05	1.926	.153
Intercept	Delta FEV	597517.118	2	298758.559	102.276	.000
	Delta IL_4	14904.856	1	14904.856	207.226	.000
	Delta IL_5	7046.334	1	7046.334	109.334	.000
	Delta IFN-g	100667.516	1	100667.516	149.687	.000
GROUP	Delta FEV	7.589E-05	1	7.589E-05	6.936	.010
	Delta IL_2	925132.805	1	925132.805	318.705	.000
	Delta FEV	38.167	2	19.084	.265	.768
	Delta IL_4	334.067	2	167.033	2.592	.082
Error	Delta IL_5	870.278	2	435.139	.647	.527
	Delta IFN-g	4.214E-05	2	2.107E-05	1.926	.153
	Delta IL_2	597517.118	2	298758.559	102.276	.000
	Delta FEV	5034.792	70	71.926		
Total	Delta IL_4	4511.335	70	64.448		
	Delta IL_5	47076.582	70	672.522		
	Delta IFN-g	7.657E-04	70	1.094E-05		
	Delta IL_2	204477.594	70	2921.108		
Corrected Total	Delta FEV	19975.000	72			
	Delta IL_4	11862.595	72			
	Delta IL_5	146859.304	72			
	Delta IFN-g	8.816E-04	72			
Corrected Total	Delta IL_2	1689100.706	72			
	Delta FEV	5072.969	72			
	Delta IL_4	4645.402	72			
	Delta IL_5	47948.640	72			
Corrected Total	Delta IFN-g	8.078E-04	72			
	Delta IL_2	801894.712	72			

- a R Squared = .008 (Adjusted R Squared = -.021)
- b R Squared = .069 (Adjusted R Squared = .042)
- c R Squared = .018 (Adjusted R Squared = -.010)
- d R Squared = .052 (Adjusted R Squared = .025)
- e R Squared = .745 (Adjusted R Squared = .738)



Post Hoc Tests. GROUP  
Multiple Comparisons. LSD

Dependent Variable	(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
Delta FEV	Group A	Group B	-.42	2.42	.864	-5.25	4.42	
		Group C	1.28	2.42	.596	-3.54	6.13	
	Group B	Group A	.42	2.42	.864	-4.42	5.25	
		Group C	1.71	2.45	.488	-3.17	8.58	
	Group C	Group A	-1.28	2.42	.596	-6.13	3.54	
		Group B	-1.71	2.45	.488	-6.58	3.17	
Delta IL 4	Group A	Group B	.2025	2.2842	.930	-4.3731	4.7780	
		Group C	4.6489	2.2842	.047	7.397E-02	9.2251	
	Group B	Group A	-.2025	2.2842	.930	-4.7780	4.3731	
		Group C	4.4471	2.3175	.059	-.1750	9.0891	
	Group C	Group A	-4.6489	2.2842	.047	-9.2251	-7.3989E-02	
		Group B	-4.4471	2.3175	.058	-9.0691	1750	
Delta IL 5	Group A	Group B	-4.41183	7.41098	.554	-18.19257	10.36881	
		Group C	4.10223	7.41098	.582	-10.87844	18.88303	
	Group B	Group A	4.41183	7.41098	.554	-10.36891	19.19257	
		Group C	8.51413	7.48622	.258	-6.41667	23.44482	
	Group C	Group A	-4.10223	7.41098	.582	-18.88303	10.67844	
		Group B	-8.51413	7.48622	.258	-23.44492	6.41667	
Delta IFN-g	Group A	Group B	1.3898333E-03	9.4513051E-04	.152	3.2548366E-03	5.1517002E-04	
		Group C	1.7815000E-03	9.4513051E-04	.087	3.6465033E-03	1.2350336E-04	
	Group B	Group A	1.3898333E-03	9.4513051E-04	.152	3.2548367E-03	5.1517002E-04	
		Group C	3.9188887E-04	9.5472598E-04	.683	2.2858078E-03	1.5124743E-03	
	Group C	Group A	1.7815000E-03	9.4513051E-04	.087	1.2350335E-03	3.6465034E-03	
		Group B	3.9188887E-04	9.5472598E-04	.683	1.5124742E-03	2.2858076E-03	
	Delta IL 2	Group A	Group B	-185.15580	15.44530	.000	-215.98048	-154.35113
			Group C	-185.72434	15.44530	.000	-228.52902	-184.91967
		Group B	Group A	185.15580	15.44530	.000	154.35113	215.96048
			Group C	-10.56854	15.60211	.500	-41.68598	20.54888
		Group C	Group A	185.72434	15.44530	.000	184.91967	228.52902
			Group B	10.56854	15.60211	.500	-20.54888	41.68598

Based on observed means.

\* The mean difference is significant at the .05 level.

## Discriminant

### Analysis Case Processing Summary

Unweighted Cases		N	Percent
Valid		73	100.0
Excluded	Missing or out-of-range group codes	0	.0
	At least one missing discriminating variable	0	.0
	Both missing or out-of-range group codes and at least one missing discriminating variable	0	.0
Total		73	100.0

### Group Statistics

		Mean	Std. Deviation	Valid N (listwise)	Unweighted	Weighted
GROUP						
Group A	Delta FEV	-14.0000000	8.15986111	25	25.000	
	Delta IL 4	-8.2092000	5.68059557	25	25.000	
	Delta IL 5	-37.2450400	24.60488766	25	25.000	
	Delta IFN-g	-2.4000000E-05	1.7625739E-04	25	25.000	
	Delta IL 2	-14.3645520	15.49388960	25	25.000	
Group B	Delta FEV	-13.5833333	9.56404802	24	24.000	
	Delta IL 4	-8.41166667	4.00427018	24	24.000	
	Delta IL 5	-32.83320833	32.14132418	24	24.000	
	Delta IFN-g	1.3458333E-03	4.0529087E-03	24	24.000	
	Delta IL 2	170.7912500	85.58163707	24	24.000	
Group C	Delta FEV	-15.29166667	7.81279910	24	24.000	
	Delta IL 4	-12.8587500	12.10118387	24	24.000	
	Delta IL 5	-41.34733333	19.54533362	24	24.000	
	Delta IFN-g	1.7375000E-03	4.1025774E-03	24	24.000	
	Delta IL 2	181.35979167	36.27141492	24	24.000	
Total	Delta FEV	-14.28767123	8.39391223	73	73.000	
	Delta IL 4	-8.80438356	8.20348994	73	73.000	
	Delta IL 5	-37.14327397	25.60558715	73	73.000	
	Delta IFN-g	1.0054795E-03	3.3495394E-03	73	73.000	
	Delta IL 2	110.85631781	105.54068673	73	73.000	

### Tests of Equality of Group Means

	Wilks' Lambda	F	df1	df2	Sig.
Delta FEV	.992	.265	2	70	.768
Delta IL 4	.931	2.582	2	70	.082
Delta IL 5	.982	.647	2	70	.527
Delta IFN-g	.948	1.926	2	70	.153
Delta IL 2	.255	102.278	2	70	.000

## Pooled Within-Groups Matrices

		Delta FEV	Delta IL_4	Delta IL_5	Delta IFN-g	Delta IL_2
Covariance	Delta FEV	71.926	1.320	22.905	-2.926E-03	-15.212
	Delta IL_4	1.320	64.448	22.355	-3.946E-03	-1.285
	Delta IL_5	22.905	22.355	672.522	-2.008E-02	477.859
	Delta IFN-g	-2.926E-03	-3.946E-03	-2.008E-02	1.094E-05	-3.707E-03
	Delta IL_2	-15.212	-1.285	477.859	-3.707E-03	2921.108
Correlation	Delta FEV	1.000	.019	.104	-.104	-.033
	Delta IL_4	.019	1.000	.107	-.149	-.003
	Delta IL_5	.104	.107	1.000	-.234	.341
	Delta IFN-g	-.104	-.149	-.234	1.000	-.021
	Delta IL_2	-.033	-.003	.341	-.021	1.000

a. The covariance matrix has 70 degrees of freedom.

## Covariance Matrices

GROUP		Delta FEV	Delta IL_4	Delta IL_5	Delta IFN-g	Delta IL_2
Total	Delta FEV	70.458	2.792	24.676	-3.112E-03	-36.821
	Delta IL_4	2.792	67.297	27.958	-4.694E-03	-114.564
	Delta IL_5	24.676	27.958	685.928	-2.003E-02	456.318
	Delta IFN-g	-3.112E-03	-4.694E-03	-2.003E-02	1.122E-05	6.516E-02
	Delta IL_2	-36.821	-114.564	456.318	6.516E-02	11138.815

a. The total covariance matrix has 72 degrees of freedom.

## Tests of Equality of Group Means

	Wilks Lambda	F	Df1	df2	Sig.
Delta FEV	.992	.265	2	70	.768
Delta IL_4	.931	2.592	2	70	.082
Delta IL_5	.982	.647	2	70	.527
Delta IFN-g	.948	1.926	2	70	.153
Delta IL_2	.255	102.276	2	70	.000

## Pooled Within-Groups Matrices

		Delta FEV	Delta IL_4	Delta IL_5	Delta IFN-g	Delta IL_2
Covariance	Delta FEV	71.926	1.320	22.905	-2.926E-03	-15.212
	Delta IL_4	1.320	64.448	22.355	-3.946E-03	-1.285
	Delta IL_5	22.905	22.355	672.522	-2.008E-02	477.859
	Delta IFN-g	-2.926E-03	-3.946E-03	-2.008E-02	1.094E-05	-3.707E-03
	Delta IL_2	-15.212	-1.285	477.859	-3.707E-03	2921.108
Correlation	Delta FEV	1.000	.019	.104	-.104	-.033
	Delta IL_4	.019	1.000	.107	-.149	-.003
	Delta IL_5	.104	.107	1.000	-.234	.341
	Delta IFN-g	-.104	-.149	-.234	1.000	-.021
	Delta IL_2	-.033	-.003	.341	-.021	1.000

a. The covariance matrix has 70 degrees of freedom.



**Covariance Matrices**

GROUP		Delta FEV	Delta IL_4	Delta IL_5	Delta IFN-g	Delta IL_2
Total	Delta FEV	70.458	2.792	24.878	-3.112E-03	-38.821
	Delta IL_4	2.792	67.297	27.958	-4.994E-03	-114.564
	Delta IL_5	24.878	27.958	665.926	-2.003E-02	456.316
	Delta IFN-g	-3.112E-03	-4.994E-03	-2.003E-02	1.122E-05	6.516E-02
	Delta IL_2	-38.821	-114.564	456.316	6.516E-02	11138.815

a The total covariance matrix has 72 degrees of freedom.

**Analysis 1  
Stepwise Statistics**

**Variables Entered/Removed**

Step	Entered	Wilks' Lambda	Statistic	df1	df2	df3	Exact F	Statistic	df1	df2	Sig.
1	Delta IL_2	.255	102.276	1	2	70.000		102.276	2	70.000	.000
2	Delta IL_5	.228	37.812	2	3	70.000		37.812	4	138.000	.000

At each step, the variable that minimizes the overall Wilks' Lambda is entered.

- a Maximum number of steps is 10.
- b Maximum significance of F to enter is .05.
- c Minimum significance of F to remove is .10.
- d F level, tolerance, or VIF insufficient for further computation.

**Variables in the Analysis**

Step		Tolerance	Sig. Of F to Remove	Wilks' Lambda
1	Delta IL_2	1.000	.000	.992
2	Delta IL_2	.884	.000	.982
	Delta IL_5	.884	.020	.255

**Variables Not in the Analysis**

Step		Tolerance	Min. Tolerance	Sig. of F to Enter	Wilks' Lambda
0	Delta FEV	1.000	1.000	.768	.992
	Delta IL_4	1.000	1.000	.082	.931
	Delta IL_5	1.000	1.000	.527	.982
	Delta IFN-g	1.000	1.000	.153	.948
	Delta IL_2	1.000	1.000	.000	.255
1	Delta FEV	.999	.999	.787	.253
	Delta IL_4	1.000	1.000	.156	.242
	Delta IL_5	.884	.884	.020	.228
	Delta IFN-g	1.000	1.000	.511	.250
2	Delta FEV	.984	.870	.789	.226
	Delta IL_4	.987	.872	.240	.218
	Delta IFN-g	.941	.832	.893	.227

## Wilks' Lambda

	Number of Variables	Lambda	df1	df2	df3	Exact F			
Step						Statistic	df1	df2	Sig.
1	1	.255	1	2	70	102.276	2	70.000	.000
2	2	.228	2	2	70	37.812	4	138.000	2.408E-21

## Summary of Canonical Discriminant Functions

## Eigenvalues

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	3.314	99.4	99.4	.876
2	.016	.6	100.0	.135

a. First 2 canonical discriminant functions were used in the analysis.

## Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1 through 2	.228	102.654	4	.000
2	.982	1.288	1	.260

## Standardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	Function	
	1	2
Delta IL_5	-.357	.999
Delta IL_2	1.064	.004

## Structure Matrix

	Function	
	1	2
Delta IL_2	.935	.345
Delta IL_5	-.004	1.000
Delta IFN-g	.064	-.234
Delta IL_4	-.043	.107
Delta FEV	-.073	.104

Pooled within-groups correlations between discriminating variables and standardized canonical discriminant functions. Variables ordered by absolute size of correlation within function.

\* Largest absolute correlation between each variable and any discriminant function

a. This variable not used in the analysis.

## Canonical Discriminant Function Coefficients

	Function	
	1	2
Delta IL_5	-.014	.039
Delta IL_2	.020	.000
(Constant)	-2.707	1.421

Unstandardized coefficients  
Functions at Group Centroids

	Function	
GROUP	1	2
Group A	-2.463	-1.376E-02
Group B	1.119	.171
Group C	1.447	-.156

Unstandardized canonical discriminant functions evaluated at group means

### Classification Statistics

Classification Processing Summary

Processed		73
Excluded	Missing or out-of-range group codes	0
	At least one missing discriminating variable	0
Used in Output		73

Prior Probabilities for Groups

GROUP	Prior	Cases Used in Analysis	
		Unweighted	Weighted
Group A	.333	25	25.000
Group B	.333	24	24.000
Group C	.333	24	24.000
Total	1.000	73	73.000

Classification Results

		GROUP	Predicted Group Membership			Total
			Group A	Group B	Group C	
Original	Count	Group A	25	0	0	25
		Group B	4	11	9	24
		Group C	1	8	15	24
	%	Group A	100.0	.0	.0	100.0
		Group B	16.7	45.8	37.5	100.0
		Group C	4.2	33.3	62.5	100.0
Cross-validated	Count	Group A	25	0	0	25
		Group B	4	9	11	24
		Group C	1	6	15	24
	%	Group A	100.0	.0	.0	100.0
		Group B	16.7	37.5	45.8	100.0
		Group C	4.2	33.3	62.5	100.0

- a. Cross validation is done only for those cases in the analysis. In cross validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case
- b. 89.9% of original grouped cases correctly classified.
- c. 67.1% of cross-validated grouped cases correctly classified.

## General Linear Model

### Between-Subjects Factors

		Value Label	N
GROUP	1.00	Group A	25
	2.00	Group B	24
	3.00	Group C	24

### Descriptive Statistics

	GROUP	Mean	Std. Deviation	N
Pola IL 2	Group A	-9,8684E-02	,1064	25
	Group B	12,8418	6,4345	24
	Group C	14,8044	2,9608	24
	Total	9,0554	7,8054	73
Pola IL 5	Group A	2,1863	1,4443	25
	Group B	3,3490	3,2784	24
	Group C	4,9203	2,3258	24
	Total	3,4674	2,6712	73

### Multivariate Tests

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	,914	367,798	2,000	69,000	,000
	Wilks' Lambda	,086	367,798	2,000	69,000	,000
	Hotelling's Trace	10,661	367,798	2,000	69,000	,000
	Roy's Largest Root	10,661	367,798	2,000	69,000	,000
GROUP	Pillai's Trace	,829	24,802	4,000	140,000	,000
	Wilks' Lambda	,200	42,657	4,000	138,000	,000
	Hotelling's Trace	3,855	65,527	4,000	136,000	,000
	Roy's Largest Root	3,816	133,580	2,000	70,000	,000

a. Exact statistic

b. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

c. Design: Intercept+GROUP

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	Pola IL_2	3232.238	2	1616.119	98.008	.000
	Pola IL_5	92.032	2	46.016	7.639	.001
Intercept	Pola IL_2	6152.952	1	6152.952	373.139	.000
	Pola IL_5	886.376	1	886.376	147.136	.000
GROUP	Pola IL_2	3232.238	2	1616.119	98.008	.000
	Pola IL_5	92.032	2	46.016	7.639	.001
Error	Pola IL_2	1154.280	70	16.490		
	Pola IL_5	421.694	70	6.024		
Total	Pola IL_2	10372.490	73			
	Pola IL_5	1391.399	73			
Corrected Total	Pola IL_2	4386.518	72			
	Pola IL_5	513.726	72			

a. R Squared = .737 (Adjusted R Squared = .729)

b. R Squared = .179 (Adjusted R Squared = .156)

## Post Hoc Tests

### GROUP

## Multiple Comparisons

## LSD

Dependent Variable	(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Pola IL_2	Group A	Group B	-12.9405	1.1605	.000	-15.2549	-10.6260
		Group C	-14.9031	1.1605	.000	-17.2175	-12.5886
	Group B	Group A	12.9405	1.1605	.000	10.6260	15.2549
		Group C	-1.9626	1.1722	.099	-4.3006	.3754
	Group C	Group A	14.9031	1.1605	.000	12.5886	17.2175
		Group B	1.9626	1.1722	.099	-.3754	4.3006
Pola IL_5	Group A	Group B	-1.1627	.7014	.102	-2.5616	.2362
		Group C	-2.7340	.7014	.000	-4.1330	-1.3351
	Group B	Group A	1.1627	.7014	.102	-.2362	2.5616
		Group C	-1.5713	.7085	.030	-2.9845	-.1582
	Group C	Group A	2.7340	.7014	.000	1.3351	4.1330
		Group B	1.5713	.7085	.030	-.1582	2.9845

Based on observed means

\* The mean difference is significant at the .05 level