

Ekspresi Gen CCL2 dan CCR2 Pada Cairan Bronchoalveolar Monyet Ekor Panjang Hewan Model Penyakit Asma

Sela S Mariya¹, Fitriya N Dewi^{1,2}, Villiandra², Yasmina A Pramastri¹, Diah Iskandriati^{1,2}, Eric Hayes³, Joko Pamungkas^{1,4}, R.P Agus Lelana^{1,4}, Ligaya I Tumbelaka^{1,4}, Dondin Sajuthi^{1,4}

¹ Pusat Studi Satwa Primata (PSSP), Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Institut Pertanian Bogor

² PT. Bimana Indomedical, Bogor, Indonesia

³ Porsolt SAS, France

⁴ Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

Abstrak

Latar belakang: Hewan model berperan penting dalam bidang kedokteran yakni dalam pengembangan metode untuk diagnosis dan pengobatan penyakit manusia. Monyet ekor panjang (MEP) asal Indonesia yang digunakan dalam penelitian asma menunjukkan kemampuan respon yang berbeda terhadap paparan alergen. C-C Ligand 2 (CCL2) merupakan salah satu kemokin yang berperan menarik monosit dalam reaksi asma dan ekspresinya cukup tinggi pada hewan model asma. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis ekspresi gen CCL2 dan reseptornya (CCR1) pada MEP hewan model asma yang memiliki perbedaan tingkat hipersensitivitas terhadap alergen pemicu reaksi asma.

Metode: Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2016 – Januari 2017 di Laboratorium Bioteknologi PSSP LPPM-IPB. Pada penelitian ini digunakan teknik Real-Time Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk membandingkan ekspresi gen CCL2 pada cairan bronchoalveolar lavage yang berasal dari MEP asma. Subyek penelitian adalah masing-masing 4 ekor MEP yang memiliki responsifitas tinggi (high responder) dan rendah (low responder) terhadap paparan alergen.

Hasil: Ekspresi gen CCL2 pada kelompok low responder lebih tinggi dibandingkan dengan high responder. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan pada hipersensitivitas terhadap alergen pencetus asma melibatkan perbedaan pada reaksi kemokin seperti CCL2 dan reseptornya.

Kesimpulan: CCL2 berpotensi dikembangkan sebagai target terapi ataupun penanda genetik untuk membedakan tingkat hipersensitivitas individu asma. (*J Respir Indo* 2018; 38(2): 115-22)

Kata kunci: asma, CCL2, ekspresi gen, hewan model, MEP

CCL2 and CCR2 Expression in Bronchoalveolar Lavage Fluid of Cynomolgus Macaque Model Of Asthma

Abstract

Background: Animal models are essential for the development and improvement of novel and effective methods for diagnostic and treatment of human diseases. Cynomolgus monkeys have been used as animal model in asthma studies wherein they exhibited different responses to allergen exposure in the airway; some were low responders while others were high responder. CCL2 is a potent chemotactic factor for monocytes and the gene expression was high in animal model of asthma. The aim of this study was to evaluate CCL2 and CCR2 expression between the low and high responders.

Methods: Realtime PCR technique was used to evaluate CCL2 and CCR2 gene expression in bronchoalveolar lavage samples. The subject of this study was asthmatic cynomolgus monkeys, consisted of 4 low responders and 4 high responders. This study was held in Biotechnology Laboratory of Primate Research Center LPPM IPB on October 2016- January 2017.

Results: CCL2 and CCR2 expression in low responders were higher than those in high responders at 24hours post airway challenge.

Conclusion: CCL2 may potentially be developed as target for therapy or a genetic marker for asthma responsiveness in individuals. (*J Respir Indo* 2018; 38(2): 115-22)

Keywords: animal model, asthma, CCL2, cynomolgus monkeys, gene expression

Korespondensi: Dondin Sajuthi

Email: sajuthi@indo.net.id; **Hp:** (0251) 8320417

PENDAHULUAN

Penggunaan hewan model merupakan elemen penting dalam penelitian bidang kedokteran, antara lain dalam konteks pengembangan metode yang lebih efektif untuk diagnosis dan pengobatan penyakit di manusia. Peneliti bidang kedokteran banyak menggunakan hewan model untuk mempelajari masalah kesehatan dan menjamin keamanan pengobatan medis. Peneliti perlu memahami patogenesis penyakit sebelum mengembangkan strategi pengobatannya. Beberapa penyakit dan masalah kesehatan melibatkan proses yang hanya dapat dipelajari pada organisme hidup. Hewan model merupakan subyek penelitian yang ideal untuk mempelajari suatu penyakit yang terjadi di manusia karena secara biologis memiliki kemiripan dengan manusia, masa hidup yang lebih pendek, dan memungkinkan peneliti untuk melakukan pengendalian pada lingkungannya. Beberapa jenis hewan model yang banyak digunakan dalam penelitian dunia kedokteran antara lain tikus, mencit, kelinci, marmut, kambing, domba, anjing, babi, dan satwa primata.

Satwa primata merupakan hewan model yang memiliki kedekatan anatomi, fisiologis, dan genetik dengan manusia, oleh karena itu satwa primata dinilai sebagai hewan model yang paling ideal untuk digunakan dalam penelitian biomedis¹. Dua spesies satwa primata Indonesia (*Macaca fascicularis* dan *M. nemestrina*) merupakan spesies yang digunakan secara luas pada penelitian-penelitian kedokteran di seluruh dunia. Penelitian asma pada hewan model satwa primata yang disensitisasi dengan alergen seperti bahan kimia dan ekstrak protein *Ascaris suum* telah dilakukan di negara-negara maju, terutama menggunakan monyet ekor panjang (MEP; *M. fascicularis*) dan monyet rhesus (*M. mulatta*)². Studi pendahuluan di PSSP LPPM-IPB telah mengembangkan *M. fascicularis* asal Indonesia sebagai hewan model asma. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pada sensitifitas MEP asma terhadap paparan alergen yang mana individu-individu tertentu memerlukan dosis alergen yang tinggi untuk memicu reaksi asma

dan selebihnya memerlukan dosis yang rendah.

Asma merupakan penyakit peradangan kronis pada saluran pernafasan yang ditandai oleh penyempitan saluran nafas, hiperresponsifitas, dan berbagai macam gejala seperti kesulitan bernafas, batuk, dada sesak dan bengkak³. Asma merupakan penyakit poligenetik, yaitu penyakit yang melibatkan banyak interaksi faktor genetik dengan lingkungan yang kuat⁴. Asma adalah salah satu penyakit alergi yang paling serius. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan sekitar 235 juta orang menderita asma hingga tahun 2013 dan diperkirakan jumlah ini akan meningkat setiap tahunnya⁵. Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2013 melaporkan prevalensi penyakit asma di Indonesia adalah 4,5% pada semua umur⁶. Hasil studi melaporkan bahwa jumlah kunjungan pasien asma pada rumah sakit paru di Jakarta masih cukup tinggi⁷. Jumlah penderita asma yang terus meningkat di Indonesia mengindikasikan permasalahan kesehatan yang belum tuntas dan menuntut perkembangan penelitian mengenai patogenesis maupun terapi asma dalam bidang kedokteran. Peningkatan penelitian tersebut berimplikasi pada peningkatan kebutuhan hewan model yang menunjukkan reaksi asma yang mirip dengan asma yang terjadi pada manusia.

Kesamaan karakteristik penyakit asma pada satwa primata dan manusia antara lain adanya peningkatan IgE, responsif pada uji hipersensitifitas kulit terhadap alergen pencetus asma, infiltrasi eosinofil dan sel T-helper 2 (*Th2*) pada mukosa bronkial, dan adanya profil mediator seluler (sitokin atau kemokin) *Th2* pada saluran pernafasan⁵. Reaksi asma melibatkan banyak mediator seluler, termasuk sitokin dan kemokin. C-C Ligand 2 (*CCL2*) yang sebelumnya lebih dikenal sebagai *Monocyte Chemotactic Protein-1* (MCP-1) merupakan jenis kemokin yang memiliki aktifitas *chemotactic* untuk menarik monosit⁸. Gen *CCL2* pada manusia terletak di kromosom 17q11.2. Bersama reseptor *CCR2*, *CCL2* mengaktivasi respon imun dengan meregulasi migrasi monosit, T limfosit, dan sel *natural killer*. *CCL2* merupakan kemokin yang paling banyak dipelajari karena potensinya untuk dijadikan terapi beberapa penyakit seperti atherosclerosis⁹ dan

diabetes¹⁰. Telah dilaporkan bahwa polimorfisme pada *CCL2* berpengaruh terhadap derajat keparahan asma¹¹. Namun, belum banyak dilaporkan studi terkait *CCL2* sebagai penanda genetik ataupun target terapi pada penyakit asma.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis ekspresi gen *CCL2* dan reseptornya (*CCR1*) pada hewan model asma berupa monyet ekor panjang (MEP) atau *Macaca fascicularis* yang memiliki perbedaan dalam tingkat hipersensitifitas terhadap alergen pemicu reaksi asma. Manfaat dari penelitian ini adalah mengetahui pola produksi salah satu protein yang berperan dalam patogenesis asma. MEP memiliki kemiripan secara genetik, anatomis dan fisiologis dengan manusia sehingga diharapkan bahwa hasil dari studi pada hewan model ini dapat berkontribusi pengembangan terapi penyakit asma di manusia.

METODE

Penelitian ini menggunakan sampel berupa cairan *bronchoalveolar lavage* (BAL) MEP yang mendapat perlakuan uji hipersensitifitas terhadap alergen berupa ekstrak protein *Ascaris suum*¹². Penelitian tersebut telah mendapatkan persetujuan etik oleh *Animal Care and Use Committee* (ACUC) PSSP IPB dan PT Bimana Indomedical. Uji penapisan secara intradermal telah dilakukan terhadap koloni *M. fascicularis* di fasilitas penangkaran PSSP LPPM-IPB untuk mengkarakterisasi respon hipersensitifitas hewan terhadap alergen guna mendapatkan hewan yang memiliki respon positif. MEP yang berespon positif terhadap paparan *A.suum* pada penyuntikan intradermal digunakan pada studi asma selanjutnya, yakni ujiantang dengan paparan saluran pernafasan hewan dengan terhadap alergen yang sama. Parameter-parameter fungsi pernafasan dan profil sel radang diamati. Hasil ujiantang tersebut menunjukkan bahwa MEP asma memiliki perbedaan tingkat sensitifitas yang berbeda terhadap alergen, sehingga selanjutnya dibagi ke dalam dua kelompok berdasarkan dosis alergen yang diperlukan untuk memicu reaksi asma. Individu MEP yang berespon asma dengan paparan dosis alergen yang rendah

dikelompokkan ke dalam kelompok *high responder*. Sebaliknya, individu MEP yang menunjukkan gejala asma pada dosis alergen tinggi dikelompokkan dalam kelompok *low responder*.

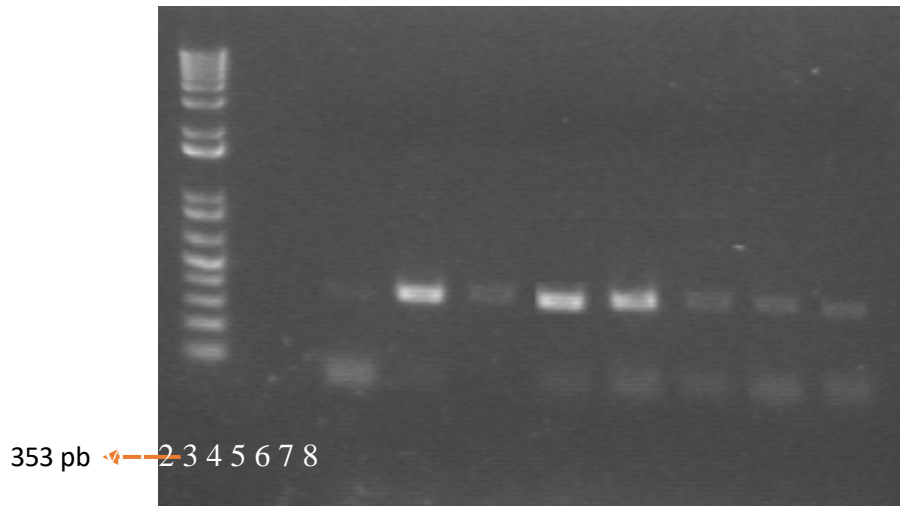
Sebanyak empat sampel ($n=4$) cairan BAL dari masing-masing kelompok *low responder* dan *high responder* digunakan dalam penelitian ini. Sampel BAL ini dikaji secara molekuler terhadap ekspresi mRNA *CCL2* beserta reseptornya. Sampel yang digunakan adalah cairan BAL yang dikoleksi dari saluran pernafasan hewan pada 24 jam pasca ujiantang dengan alergen.

cDNA digunakan sebagai cetakan untuk uji ekspresi gen *CCL2* dan *CCR2* dengan Teknik *Realtime Polymerase Chain Reaction* (qRT-PCR). Tahapan isolasi cDNA terdiri atas isolasi mRNA dari cairan BAL, pengukuran konsentrasi mRNA, dan transkripsi balik. Isolasi mRNA terhadap cairan BAL asal delapan monyet ekor panjang hewan model asma ini dilakukan menggunakan RNeasy Kit Qiagen (Qiagen, Hilden, Jerman). Pengukuran mRNA hasil isolasi dilakukan dengan NanoDrop 2000 (Thermo Scientific). Proses transkripsi balik dilakukan dengan enzim SuperScript 3 Reverse Transcriptase (Invitrogen, California, United States). Sebanyak 10 μ L RNA 0,7 ng/ μ L dari cairan BAL dicampurkan dengan 1 ul Random Hexamer, 10 mM dNTPs 1 μ L, 1 μ L *DPEC water*. Campuran tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 65°C selama 5 menit dan 4°C selama 2 menit. Sebanyak 13 μ L campuran tersebut kemudian ditambahkan dengan master mix yang terdiri atas 5x RT buffer 2 μ L, 25 mM MgCl₂ 4 μ L, 0.1 M DTT 2 μ L, 40 U/ μ L *RNAse out* 1 μ L, dan 200 U/ μ L Superscript Reverse Transcriptase III 1 μ L. Campuran tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 30 menit, 85°C selama 5 menit, dan 4°C selama 2 menit. Penambahan *RNAse H* sebanyak 1 ul pada campuran dilakukan, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit.

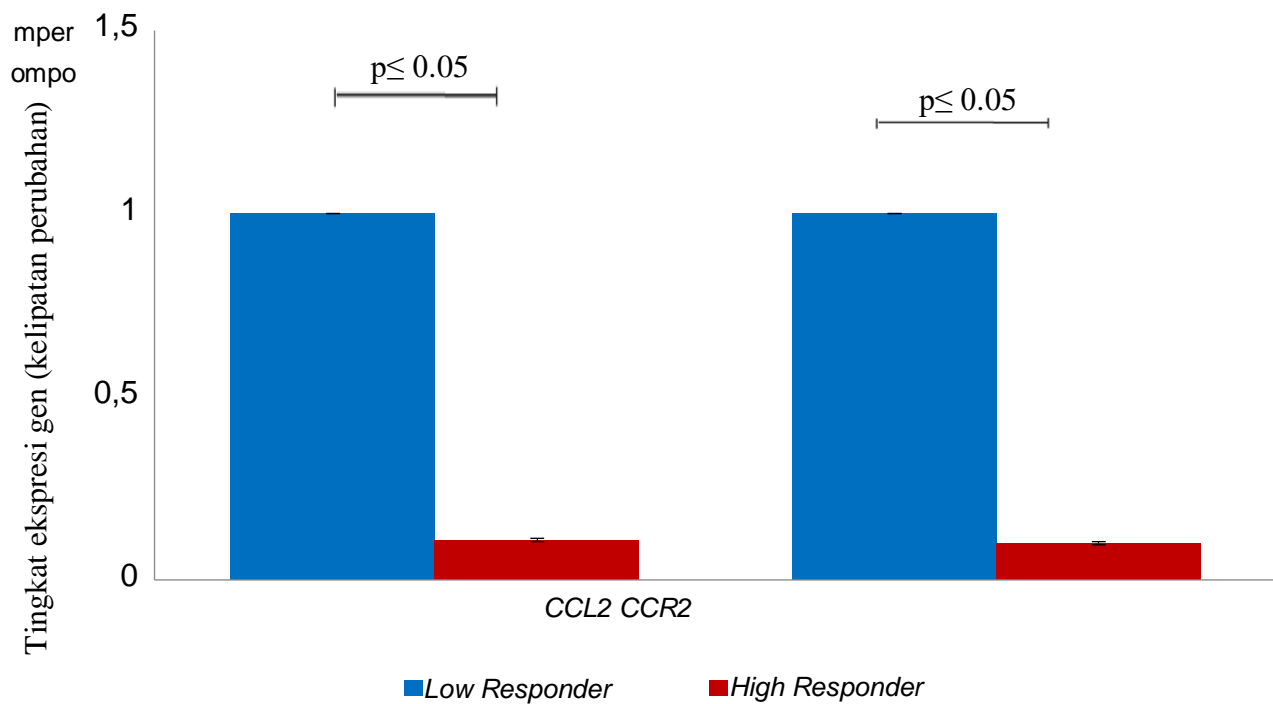
Validasi hasil isolasi cDNA dilakukan dengan teknik PCR konvensional. Primer yang digunakan adalah primer gen β -aktin (*ACTB*) dengan urutan oligonukleotida *Forward*: 5'-GCTCGTCGTCGACAACGGCTC-3' dan *Reverse*: 5'-CAAACATGATCTGGGTCATCTTCTC-3.

Tabel 1. Primer yang digunakan untuk uji ekspresi gen *CCL2*

Nama Primer	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')	Spesies Referensi
<i>CCL2</i>	GCTGTGATCTTCAAGACCATTGTG	TGGAATCCTGAACCCACTTCTG	MEP Zou et.al. ²³
<i>CCR2</i>	CCCCAGTCACCTGCTGTTAT	GCTTCTTTGGGACACTTGCT	Manusia Cho et.al. ²⁹
<i>GAPDH</i>	CGGATTTGGTCGTATTGG	TCAAAGGTGGAGGAGTGG	Manusia Tian et al. ³⁰



Gambar 1. Elektroforegram *beta-actin* (*ACTB*) terhadap 8 sampel MEP asma (Kelompok *High and Low Responder*). Pita sebesar 353 pb menunjukkan bahwa gen teramplifikasi dalam cDNA yang mengartikan isolasi cDNA berhasil dilakukan. M=Marker, Sumur 1-5 = Individu *High responder*, dan 6-10 = Individu *Low responder*.



Gambar 2. Ekspresi gen *CCL2* dan *CCR2* yang diuji dengan teknik RealTime PCR. Ekspresi gen *CCL2* dan reseptornya teridentifikasi pada monyet ekor panjang hewan model asma dan menunjukkan bahwa terdapat ekspresi gen yang lebih rendah pada kelompok *high responder* dibandingkan kelompok *low responder*.

Larutan PCR terdiri atas 100ng cDNA, 1x master mix (*kapa hotstart mastermix*), 10pmol primer *forward*, 10pmol primer *reverse*. Sampel cDNA diamplifikasi 40 siklus dengan denaturasi awal pada suhu 94°C selama 4 menit, kemudian masuk ke siklus yang terdiri atas denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 56°C selama 30 detik dan ekstensi pada suhu 72°C selama 30 detik. Pada akhir siklus dilakukan pemanjangan waktu ekstensi pada suhu 72°C selama 5 menit. Hasil amplifikasi dipisahkan dengan elektroforesis gel agarosa 1,8% selama 45 menit pada tegangan 100 Volt. Visualisasi pita fragmen cDNA hasil elektroforesis diamati dalam GelDoc 2000.

Ekspresi *CCL2* dan *CCR2* dievaluasi pada sampel cairan BAL hewan kelompok *low responder* dan *high responder*. Gen referensi yang digunakan adalah gliseral aldehyd fosfat dehydrogenase (*GAPDH*). Reaksi semikuantitatif qRT-PCR dilakukan dengan SsoFast™EvaGreen®Supermix (Biorad, Hercules, United States). Amplifikasi cDNA untuk optimasi suhu penempelan primer tersaji dalam Tabel 1.

Primer sebanyak 1 ul dengan konsentrasi 10 pmol ditambahkan dengan SsoFast™EvaGreen®Supermix 2x sebanyak 10 ul, dan cDNA. Siklus qRT PCR yang digunakan aktivasi enzim 95°C selama 30 detik, denaturasi 95°C selama 1 menit, dan *annealing/extension* 56°C selama 1 menit. Tahapan denaturasi dan *annealing/extension* diulang hingga 40 siklus. Data hasil RealTime PCR dianalisis dengan metode deltaCt dan diuji secara statistik dengan pendekatan T-test dengan program SPSS 18.

HASIL

Sebanyak 60 µL mRNA diperoleh dari masing-masing sampel cairan BAL yang disimpan dalam suhu -20°C. Hasil yang diperoleh dari pengukuran konsentrasi mRNA dengan nanodrop menunjukkan konsentrasi mRNA yang kecil (1,34±0,89). Selanjutnya konsentrasi mRNA diseragamkan menjadi untuk dievaluasi ekspresi gen *CCL2* dan reseptornya. Isolasi mRNA dari cairan BAL berhasil

dilakukan. Konsentrasi mRNA di cairan BAL sangat sedikit namun masih dapat diproses lebih lanjut pada reaksi transkripsi balik. Sebanyak 0.7 ng/ µL RNA dijadikan cetakan untuk isolasi cDNA, enzim reverse transcriptase digunakan untuk mengubah mRNA menjadi cDNA.

Validasi isolasi cDNA dilakukan dengan amplifikasi gen *ACTB* pada cDNA. Hasil menunjukkan bahwa terdapat pita spesifik *ACTB* yang berukuran 353 pasang basa (pb) pada semua sampel cDNA cairan BAL yang dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil ini menunjukkan bahwa isolasi cDNA berhasil dilakukan.

Ekspresi gen *CCL2* dan reseptornya ditunjukkan pada Gambar 2. Diagram batang me lihatkan perbedaan ekspresi gen pada kel k *high responder* dan *low responder*. Rerata ekspresi gen kelompok *low responder* lebih tinggi dibanding kelompok *high responder* untuk gen *CCL2* maupun *CCR2*.

PEMBAHASAN

Asma merupakan penyakit kompleks yang ditandai dengan obstruksi aliran udara, peradangan dan hiperresponsifitas saluran nafas, serta perubahan saluran nafas. Dalam reaksi asma, perubahan terjadi di dinding saluran pernafasan yang meliputi peluruhan epitel, penipisan membran, hiperplasia sel goblet, fibrosis subepitel, penebalan dinding saluran nafas, hipersekresi mukus, dan peningkatan massa otot saluran nafas yang dapat mengakibatkan hiperplasia¹³. Informasi mengenai mekanisme perubahan pada otot polos saluran nafas (*Airway Smooth Muscle*, ASM) pada penderita asma masih sangat sedikit. Beberapa penelitian melaporkan adanya peran kemokin yang mendorong sel fibrosit untuk membentuk suatu massa yang berkontribusi pada perubahan ASM¹⁴⁻¹⁶. Singh et.al¹⁵ melaporkan bahwa salah satu kemokin, yaitu *CCL2* (sebelumnya disebut sebagai MCP-1) berhasil menginduksi migrasi sel fibrosis yang berpotensi mengakibatkan hiperplasia ASM.

Pada penelitian ini dievaluasi ekspresi gen *CCL2* pada cairan BAL MEP asma yang memiliki tingkat respon yang berbeda saat terpapar alergen per

inhalasi. Cairan BAL merupakan cairan yang diperoleh dengan memasukkan cairan NaCl fisiologis ke dalam paru-paru hewan dan segera diambil kembali. Peningkatan ekspresi kemokin dalam cairan BAL dapat mengindikasikan proses patologis dan abnormalitas fungsi organ paru-paru. Beberapa penelitian telah mengidentifikasi kemokin pada cairan BAL, diantaranya perubahan kemokin di cairan BAL sebagai penanda untuk sklerosis paru-paru¹⁷, peran kemokin di BAL saat terjadi sarcoidosis di paru-paru¹⁸, peningkatan produksi kemokin pada cairan BAL penderita *idiopathic pulmonary alveolar proteinosis* (iPAP)¹⁹ dan perubahan kemokin pada cairan BAL ketika infeksi paru-paru²⁰. Pada studi ini ditunjukkan bahwa meskipun jumlah RNA pada cairan BAL relatif sedikit, namun isolasi cDNA berhasil dilakukan yang ditandai dengan amplifikasi *ACTB* yang optimal.

Ekspresi gen dievaluasi dengan teknik *realtime* PCR (qRT-PCR) yang merupakan teknik mengkuantifikasi ekspresi mRNA. Teknik ini dikembangkan dari kombinasi teknik PCR dengan fluorosensi. Pada teknik *realtime* PCR, dideteksi proses peningkatan intensitas warna pada fluorofor yang berkorelasi dengan kenaikan konsentrasi produk amplifikasi. Keunggulan dari teknik *realtime* PCR antara lain adalah karena kuantifikasi dilakukan tidak pada hasil amplifikasi melainkan pada proses amplifikasi. Analisis hasil qRT-PCR dilakukan dengan mendapatkan nilai *Relative Quantity* (RQ) dengan mendeteksi perubahan ekspresi gen target terhadap gen referensi berupa gen *housekeeping*²¹. Penelitian ini menggunakan *GAPDH* untuk normalisasi karena gen ini berperan dalam proses glikolisis dan diketahui memiliki ekspresi yang konstan pada sel dalam kondisi normal maupun patologis²².

Hasil studi menunjukkan adanya perbedaan ekspresi gen *CCL2* dan reseptornya yaitu *CCR2* pada BAL MEP asma yang memiliki perbedaan tingkat hipersensitifitas terhadap alergen. MEP kelompok *low responder* adalah MEP yang menunjukkan gejala asma pada paparan alergen dosis tinggi sedangkan *high responder* memerlukan dosis yang rendah untuk menginduksi gejala asma. Kelompok *low responder* menunjukkan ekspresi *CCL2* dan *CCR2* yang lebih tinggi dibandingkan *high responder* pada 24 jam

pasca paparan terhadap alergen berupa ekstrak *A. suum*. Hasil penelitian Zou et.al²³ melaporkan bahwa ekspresi gen *CCL2* pada paru-paru MEP meningkat dua sampai empat kali dari ekspresi normalnya pada pengamatan setelah 4 jam pasca inhalasi *A.suum*, mulai menurun setelah pengamatan 18 jam, dan mulai mendekati batas bawah setelah 24 jam pasca inhalasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekspresi gen *CCL2* dan *CCR2* pada kelompok *high responder* lebih rendah dari *low responder*. Hal ini diduga terkait reaksi yang berjalan lebih cepat pada hewan MEP asma *high responder* sehingga kadar kemokin *CCL2* telah menurun lebih dahulu dibandingkan *low responder*.

Penelitian ini merupakan penelitian pertama yang mengevaluasi ekspresi gen *CCL2* dan reseptornya pada MEP asma yang memiliki perbedaan tingkat hipersensitifitas terhadap alergen pemicu reaksi asma. *CCL2/MCP-1* merupakan salah satu kemokin yang banyak dipelajari dalam kaitannya dengan patogenesis asma. Pada manusia telah dilaporkan keterkaitan antara *CCL2* dan *hypoxia inducible factor-1 (HIF-1)* dalam patogenesis alergi saluran pernafasan; *HIF-1* merupakan faktor transkripsi yang memicu hipoksia²⁴. *CCL2* berperan dalam apoptosis sel radang neutrofil pada penderita asma²⁵. Selain itu, *CCL2* dan *CCR2* juga berpotensi sebagai target terapi gen untuk penyakit asma^{26,27} dan telah dilaporkan bahwa terdapat hubungan antara fenotip asma dengan variasi genetik tunggal gen *CCL2* di manusia²⁸.

Data perbedaan ekspresi gen yang ditemukan pada penelitian ini dapat bermanfaat untuk mempelajari peran kemokin khususnya *CCL2* dalam proses perekrutan sel fibrosit dalam proses hiperplasia ASM, dimana terdapat perbedaan kecepatan respon kemokin pada individu asma yang memiliki perbedaan tingkat hipersensitifitas terhadap alergen. Diharapkan bahwa selain diperoleh pemahaman baru mengenai profil kemokin pada patogenesis asma, gen ini dapat dikaji lebih lanjut potensinya sebagai penanda derajat keparahan penyakit maupun target terapi. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengkaji profil genetik *CCL2* dan reseptornya.

KESIMPULAN

Studi ini menunjukkan bahwa pada 24 jam pasca paparan alergen, terdapat perbedaan pada ekspresi gen *CCL2* dan reseptornya di cairan BAL MEP asma berdasarkan tingkat hipersensitifitas terhadap alergen. MEP asma yang memiliki respon hipersensitifitas rendah menunjukkan nilai ekspresi gen yang lebih tinggi dibandingkan MEP asma yang memiliki tingkat hipersensitifitas tinggi. Hal tersebut menandakan adanya perbedaan pada kecepatan reaksi kemokin dalam patogenesis asma pada individu dengan perbedaan tingkat hipersensitifitas terhadap alergen.

DAFTAR PUSTAKA

1. Messaoudi I, Estep R, Robinson B, Wong SW. Nonhuman primate models of human immunology. *Antioxid Redox Signal*. 2011;14:261–73.
2. Hessel EM, Chu M, Lizcano JO, Chang B, Herman N, Kell S a, et al. Immunostimulatory oligonucleotides block allergic airway inflammation by inhibiting Th2 cell activation and IgE-mediated cytokine induction. *J Exp Med*. 2005;202:1563–73.
3. Shin YS, Takeda K, Gelfand EW. Understanding asthma using animal models. *Allergy, Asthma Immunol Res*. 2009;1:10–8.
4. Lambrecht BN, Hammad H. The immunology of asthma. *Nat Immunol*. 2014;16:45–56.
5. Hyde DM, Miller LA, Schelegle ES, Fanucchi M V., Van Winkle LS, Tyler NK, et al. Asthma: A comparison of animal models using stereological methods. *Eur Respir Rev*. 2006;15:122–35.
6. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2013. Laporan Nasional 2013. 2013.
7. Afandi S, Yunus F, Andarini S, Kekalih A. Tingkat kontrol pasien asma di Rumah Sakit Persahabatan berdasarkan asthma control test beserta hubungannya dengan tingkat morbiditas dan faktor risiko. *Resirology Indones*. 2013;33:230–43.
8. Zhao L, Yang W, Yang X, Lin Y, Lv J, Dou X, et al. Chemerin suppresses murine allergic asthma by inhibiting *CCL2* production and subsequent airway recruitment of inflammatory dendritic cells. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2014;69:763–74.
9. Kusano KF, Nakamura K, Kusano H, Nishii N, Banba K, Ikeda T, et al. Significance of the level of monocyte chemoattractant protein-1 in human atherosclerosis. *Circ J*. 2004;68:671–6.
10. Rull A, Camps J, Alonso-Villaverde C, Joven J. Insulin resistance, inflammation, and obesity: Role of monocyte chemoattractant protein-1 (or*CCL2*) in the regulation of metabolism. *Mediators Inflamm*. 2010;2010:1–11.
11. Giuffrida MJ, Valero N, Mosquera J, Alvarez de Mon M, Chacín B, Espina LM, et al. Increased cytokine/chemokines in serum from asthmatic and non-asthmatic patients with viral respiratory infection. *Influenza Other Respi Viruses*. 2014;8:116–22.
12. Viliandra, Dewi FN, Paramastri Y, Hayes E, Iskandriati D. Sensitivity to *Ascaris suum* (AS) Extract in Indonesian *Macaca fascicularis*: Skin Test Reactivity and Airway Challenge. In: P BP, Setijanto H, Agungpriyono S, Purwantara B, Pamungkas J, Djuwita I, et al., editors. Joint Meeting Of The 3rd International Meeting On Asian Zoo/Wildlife Medicine And Conservation (AZWMC 2008) & 10th National Veterinary Scientific Conference Of Indonesian Veterinary Medical Association (KIVNAS X PDHI 2008). Bogor: IPB Press; 2008. p. 143–4.
13. Brightling CE, Gupta S, Gonem S, Siddiqui S. Lung damage and airway remodelling in severe asthma. *Clin Exp Allergy*. 2012;42:638–49.
14. Berair R, Saunders R, Brightling CE. Origins of increased airway smooth muscle mass in asthma. *BMC Med*. 2013;11:2–7.
15. Singh SR, Sutcliffe A, Kaur D, Gupta S, Desai D, Saunders R, et al. *CCL2* release by airway smooth muscle is increased in asthma and promotes fibrocyte migration. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2014;69:1189–97.
16. Wang C, Huang C, Lin H, Lee K, Lin S, Liu C, et

- al. Increased Circulating Fibrocytes in Asthma with Chronic Airflow Obstruction. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;178:583–91.
17. Schmidt K, Martinez-Gamboa L, Meier S, Witt C, Meisel C, Hanitsch LG, et al. Bronchoalveolar lavage fluid cytokines and chemokines as markers and predictors for the outcome of interstitial lung disease in systemic sclerosis patients. *Arthritis Res Ther.* 2009;11:R111.
18. Palchevskiy V, Hashemi N, Weigt SS, Xue YY, Derhovanessian A, Keane MP, et al. Immune response CC chemokines CCL2 and CCL5 are associated with pulmonary sarcoidosis. *Fibrogenesis Tissue Repair.* 2011;4:10.
19. Lin F-C, Chen Y-C, Chang S-C. Clinical importance of bronchoalveolar lavage fluid and blood cytokines, surfactant protein D, and Kerbs von Lungren 6 antigen in idiopathic pulmonary alveolar proteinosis. *Mayo Clin Proc.* 2008;83:1344–9.
20. ROSE CE, SUNG S-SJ, FU SM. Significant Involvement of CCL2 (MCP-1) in Inflammatory Disorders of the Lung. *Microcirculation.* 2010;10:273–88.
21. Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C T method. 2008;3:1101–8.
22. Turabelidze ABS, Guo S, DiPietro LA. Importance of Housekeeping gene selection for accurate RT-qPCR in a wound healing model. *Wound Repair Regen.* 2011;18:460–6.
23. Zou J, Young S, Zhu F, Gheyas F, Skeans S, Wan Y, et al. Microarray profile of differentially expressed genes in a monkey model of allergic asthma. *Genome Biol.* 2002;3:research0020.
24. Baay-Guzman GJ, Bebenek IG, Zeidler M, Hernandez-Pando R, Vega MI, Garcia-Zepeda E a, et al. HIF-1 expression is associated with CCL2 chemokine expression in airway inflammatory cells: implications in allergic airway inflammation. *Respir Res.* 2012;13:60.
25. Yang EJ, Choi E, Ko J, Kim DH, Lee JS, Kim IS. Differential effect of CCL2 on constitutive neutrophil apoptosis between normal and asthmatic subjects. *J Cell Physiol.* 2012;227:2567–77.
26. Mellado M, de Ana AM, Gomez L, Martinez-A C, Rodriguez-Frade JM. Chemokine Receptor 2 Blockade Prevents Asthma in a Cynomolgus Monkey Model. *J Pharmacol Exp Ther.* 2007;324:769–75.
27. Hansbro PM, Kaiko GE, Foster PS. Cytokine/anti-cytokine therapy - Novel treatments for asthma? *Br J Pharmacol.* 2011;163:81–95.
28. Chelbi H, Ghadiri A, Lacheb J, Ghandil P, Hamzaoui K, Hamzaoui A, et al. A polymorphism in the CCL2 chemokine gene is associated with asthma risk: a case-control and a family study in Tunisia. *Genes Immun.* 2008;9:575–81.
29. Cho YB, Lee WY, Choi S-J, Kim J, Hong HK, Kim S-H, et al. CC chemokine ligand 7 expression in liver metastasis of colorectal cancer. *Oncol Rep.* 2012;28:689–94.
30. Tian H, Bharadwaj S, Liu Y, Ma PX, Atala A, Zhang Y. Differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells into bladder cells: potential for urological tissue engineering. *Tissue Eng Part A.* 2010;16:1769–79.