

Pengaruh Sel Limfosit T Regulator CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ dan Transforming Growth Factor (TGF) β terhadap Airway Remodelling Bronkiolus Paru pada Model Mencit Asma

Effect of T Lymphocytes Regulatory CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ and Transforming Growth Factor (TGF) β of Bronchiolus Lung Airway Remodelling in Asthma Mice Model

Dicky Faturrachman¹, Wisnu Barlianto², Karyono Mintaroem³

¹Laboratorium Ilmu Kesehatan Anak Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang

²Laboratorium Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

³Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

ABSTRAK

Peran CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ dan TGF- β dalam remodeling saluran napas masih didapatkan kontroversi dan perlu diteliti lebih lanjut. Tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan efek meningkatnya jumlah limfosit T Reg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ dan TGF- β terhadap penurunan remodeling saluran napas bronkial paru pada model mencit asma. Mencit Balb/c dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu dengan sensitisasi ovalbumin dan tanpa sensitisasi. Sensitisasi dilakukan selama 9 minggu. Jumlah limfosit T reg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ diperiksa dengan *flowcytometry* dan TGF- β diperiksa dengan ELISA. Parameter remodeling saluran napas (ketebalan epitel, ketebalan fibrosis subepitel, jumlah sel goblet, ketebalan otot polos) diukur dengan analisis morfometri dari pemeriksaan histopatologi. Analisis statistik dengan uji T berpasangan dan analisis jalur hubungan (analisis jalur). Hasil menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dalam jumlah limfosit T reg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ ($p=0,763$) dan TGF- β ($p=0,246$) dalam 2 kelompok. Ditemukan perbedaan signifikan dalam parameter remodeling pada kedua kelompok ($p=0,000$). Tidak ada korelasi langsung yang signifikan antara T reg dan TGF- β dengan parameter remodeling. Tren yang diperoleh dengan peningkatan jumlah limfosit sel T reg, menunjukkan penurunan parameter remodeling. Didapatkan adanya pengaruh limfosit T reg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ terhadap remodeling saluran napas yang ditunjukkan dengan ketebalan epitel baik secara langsung maupun tidak langsung melalui TGF- β , meskipun tidak signifikan secara statistik.

Kata Kunci: Remodeling saluran napas, TGF- β , T reg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺

ABSTRACT

The role of T regulatory CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ and mediating the TGF- β in airway remodeling are still a controversy. The purpose of this study is to prove the effect of increasing the number of T reg lymphocytes CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ and the TGF- β to the decline in pulmonary bronchial airway remodeling in asthmic mice model. Mice Balb/c were divided into 2 groups, ie groups treated with ovalbumin sensitization and without sensitization. Sensitization for 9 weeks. The number of T reg lymphocytes CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ checked with *flowcytometry* and TGF- β by ELISA. Parameters of airway remodeling (the thickness of epithelium, subepithelial fibrosis, the number of goblet cells, smooth muscle thickness) were measured with morphometry analysis of histopathologic examination. Statistical analysis with unpaired T test and path analysis. The results showed no significant difference in the number of T reg lymphocytes ($p=0,763$) and TGF- β levels ($p=0,246$) in both groups. A significant differences in parameters of airway remodeling in both groups ($p=0,000$) was indentified. There were no significant direct correlation between T reg and TGF- β with airway remodeling parameters. Increasing number of lymphocytes T reg cells, showed decrease in airway remodeling parameters, there were correlation between lymphocytes T reg CD4⁺CD25⁺ and airway remodeling either directly or indirectly through the TGF- β has shown in epithelium thickness although not statistically significant.

Keywords: Airway remodeling, TGF- β , T reg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺

Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. 27, No. 2, Agustus 2012; Korespondensi: Dicky Faturrachman. Laboratorium Ilmu Kesehatan Anak Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang, Jl. Jaksa Agung Suprpto No. 2 Malang Telp. (0341)366242 Email: dic_aina@yahoo.com

PENDAHULUAN

Asma merupakan inflamasi yang berulang. Penyakit ini diketahui sangat memiliki faktor yang heterogen dan bergantung pada patologi sistem imun, fenotip secara klinis, respon terhadap terapi dan riwayat perjalanan penyakit sendiri (1). Inflamasi kronis atau persisten ini telah dibuktikan merupakan salah satu faktor utama yang mempengaruhi keparahan dan frekuensi eksaserbasi, serta berperan dalam remodeling jalan nafas, dan hiperreaktivitas jalan nafas (2,3). Peradangan pada saluran napas penderita asma dipercaya merupakan penyebab kerusakan dan perubahan struktur dari saluran napas itu sendiri. Perlukaan yang terjadi pada epitel bronkus memicu inisiasi pada proses *remodelling*, salah satunya adalah re-epitelisasi dari permukaan lumen (4). Salah satu dari konsekuensi peradangan berkepanjangan yang terjadi adalah adanya peningkatan ketebalan dinding saluran napas dan menurunnya fungsi fisiologis pernapasan. Beberapa mediator yang terdapat pada asma yang disebabkan oleh karena alergi berperan pada proses *remodelling* ini, walaupun masih belum secara jelas diketahui bagaimana mediator-mediator tersebut dapat berperan dalam *remodelling* saluran napas (5). Perubahan struktur yang terjadi berupa penebalan epitel dinding saluran napas sebagai akibat dari deposisi matriks ekstraselular protein seperti kolagen, laminin dan *tenascin*, peningkatan massa otot polos akibat dari proliferasi miofibroblas, hiperplasia kelenjar mukus, peningkatan vakularisasi bronkus (6).

Karakteristik dari proses peradangan yang disebabkan oleh alergi adalah adanya peningkatan dominan sel limfosit Th2. Sel CD4⁺ yang teraktivasi menyebabkan peningkatan sel mast, eosinofil dan limfosit pada saluran nafas dan mengendalikan pelepasan mediator peradangan dari sel sel tersebut. Sel limfosit Th2 melepaskan IL-5, IL-4, dan IL-13. Interleukin-4 merangsang IgE yang terdapat pada permukaan sel mast mengalami degranulasi dan melepaskan mediator peradangan (7,8).

Penelitian pada *murine* menunjukkan bahwa IL-9, IL-4, dan IL-13 berperan dalam hiperplasia sel goblet dan ekspresi gen musin (9). Interleukin 13 juga merupakan kunci efektor fibrogenik pada asma dan menunjukkan kemampuannya untuk *upregulate* dan mengaktivasi *transforming growth factor* (10,11). Interleukin 9 juga mampu merangsang sel mast untuk memproduksi TGF- β dan *basic fibroblast growth factor* (bFGF) yang menyebabkan hiperplasi sel goblet (12)

Studi yang lain menyebutkan, sel limfosit T CD4⁺CD25⁺ sebagai sel T regulator mempunyai peranan penting pada *airway remodelling*. Sel ini memiliki efek supresi pada sel limfosit T CD4⁺ dan berfungsi mengontrol fungsi sel Th2 pada asma (13,14). Mekanisme supresi ini dapat secara langsung terhadap limfosit T CD4⁺ dan secara tidak langsung dengan mensupresi fungsi *antigen presenting cell* (APC) sehingga menghambat aktivasi sel limfosit T. Sitokin supresor yang dihasilkan sel T regulator antara lain TGF- β dan IL-10 (Shevach, 2009). TGF- β memiliki peran baik sebagai pro-inflamasi maupun anti-inflamasi pada *airway remodelling* (15).

Berdasarkan fakta tersebut diatas, peran T regulator CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ dan mediatornya yaitu TGF- β dalam *airway remodelling* masih didapatkan adanya kontroversi

sehingga masih perlu untuk diteliti lebih lanjut. Tujuan penelitian ini adalah membuktikan pengaruh tingginya jumlah sel limfosit T Reg dan kadar TGF- β akan menghambat *airway remodeling* bronkiolus paru pada model mencit asma. Hipotesisnya adalah tingginya jumlah sel limfosit T Reg dan kadar TGF- β menyebabkan hambatan *airway remodelling* bronkiolus paru pada model mencit asma.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental (*true experimental*) dengan studi *randomized control group design* di Laboratorium Farmakologi dan Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang selama 28 minggu. Penelitian telah disetujui oleh Panitia Etik Penelitian Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, RSUD dr. Saiful Anwar, Malang.

Hewan coba yang digunakan pada penelitian adalah mencit *Balb/c*. Cara pengambilan sampel penelitian dengan teknik *consecutive sampling*, yaitu sampel yang memenuhi kriteria inklusi yaitu jenis kelamin mencit betina. Dipilih mencit berjenis kelamin betina karena memiliki respon terhadap alergen yang lebih baik dibandingkan dengan mencit berjenis kelamin jantan (16), umur 8-10 minggu, berat badan 20-30 gram, kondisi mencit sehat dan bebas penyakit (makan banyak, aktivitas baik, bulu tidak rontok), diet standar (bebas ovalbumin). Dengan 2 kelompok penelitian, sampel penelitian yang dibutuhkan adalah ≥ 8 sampel per kelompok sehingga total sampel penelitian sebanyak 20 mencit (10 mencit/kelompok).

Mencit yang digunakan berasal dari induk yang *inbreed* yang dirawat sejak dilahirkan sampai digunakan sebagai sampel dengan kondisi bebas dari penyakit dan diet bebas ovalbumin. Hewan uji didapatkan dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada. Mencit dipelihara di dalam kandang berukuran 30 x 30 x 20 cm dan 10 ekor mencit pada setiap kandang. Induksi alergi dilakukan menggunakan ovalbumin merk SERVA. Sensitisasi akan diberikam sebanyak 2 kali secara intraperitoneal dan sensitisasi ulangan dilakukan dengan perinhalasi selama 6 minggu (17).

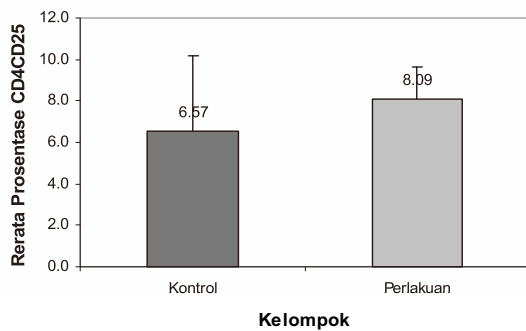
Variabel bebas yang diukur adalah prosentase sel limfosit paru yang menunjukkan petanda sel limfosit T CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ pada pemeriksaan *flowcytometry*. Kadar TGF- β ditentukan dengan pemeriksaan ELISA pada panjang gelombang (λ) 450 nm dari cairan lavase bronkoalveolar. Variabel tergantung yang diukur parameter *airway remodeling* (proses regenerasi saluran nafas akibat adanya peradangan kronis yang ditandai dengan: (1) metaplasia epitel dengan peningkatan ketebalan epitel, hiperplasia sel goblet dan peningkatan sekresi mukus; (2) fibrosis dengan deposisi abnormal matriks ekstraseluler di membran basalis dan sub mukosa dalam; (3) peningkatan ketebalan otot polos karena hiperplasia otot polos dan miofibroblas; dan (4) angiogenesis) (18,19). Ketebalan epitel adalah ketebalan epitel bronkiolus dalam *micrometer* (μm) yang diukur dengan *Image Pro Plus 6.1 software*. Ketebalan fibrosis sub epitel adalah ketebalan fibrosis sub epitel bronkiolus dalam *micrometer* (μm) yang diukur dengan *Image Pro Plus 6.1 software*. Jumlah sel goblet adalah rerata jumlah sel goblet bronkiolus pada lumen membran basalis per 100 μm . Ketebalan otot polos adalah ketebalan otot polos

bronkiolus dalam *micrometer* (μm) yang diukur dengan *Image Pro Plus 6.1 software*.

Beda rerata (*mean*), jumlah sel limfosit T reg $\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{Foxp3}$, kadar $\text{TGF-}\beta$ antara kedua kelompok (asma dan non asma) masing-masing dianalisis dengan menggunakan *independent-sample T-test*. Untuk menentukan derajat hubungan antar variabel bebas (jumlah sel limfosit T $\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{Foxp3}$ dan kadar $\text{TGF-}\beta$) terhadap ketebalan epitel, ketebalan otot polos, ketebalan fibrosis subepitel dan jumlah sel goblet dianalisis dengan uji *path analysis*. Nilai interval kepercayaan (*confidence interval*) 95%. Semua data diolah dengan menggunakan *SPSS 15.0 for windows*.

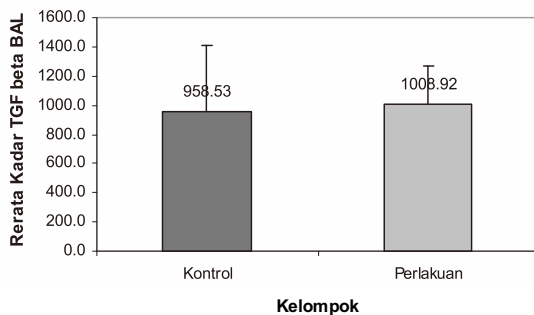
HASIL

Pada penelitian ini digunakan 2 kelompok perlakuan hewan coba. Rerata berat badan mencit adalah 28,82 g pada kelompok perlakuan (asma), dan 28,36 g pada pada kelompok kontrol (non-asma), dengan usia berkisar 8-10 minggu.



Gambar 1. Diagram batang rerata jumlah sel limfosit T $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$

Rerata jumlah sel limfosit T $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$ pada homogenisat paru kanan model mencit asma yang telah dilakukan *multiple staining* dengan antibodi monoklonal CD4^+ , CD25^+ , dan Foxp3^+ pada mencit non asma sebesar $6,57 \pm 3,64$ dibanding mencit asma sebesar $8,09 \pm 1,52$ (Gambar 1).



Gambar 2. Diagram batang rerata kadar $\text{TGF-}\beta$ cairan lavase bronkoalveolar

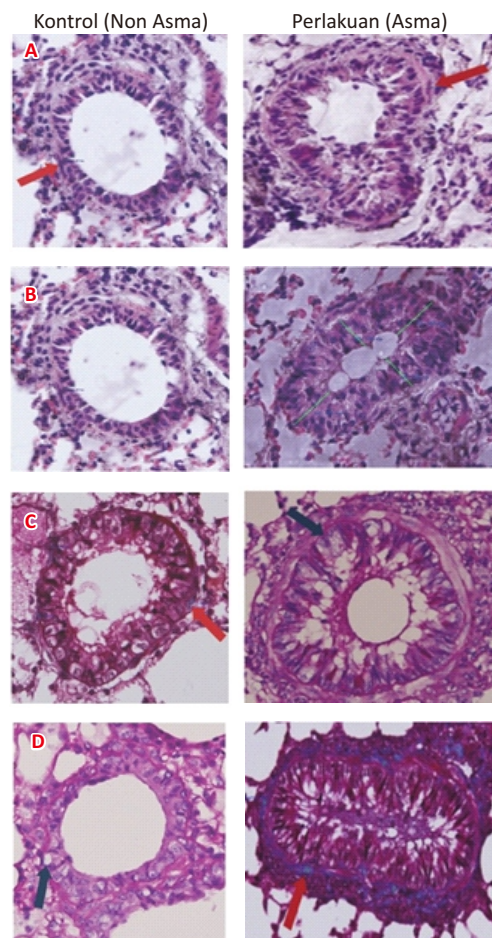
Rerata kadar $\text{TGF-}\beta$ cairan lavase bronkoalveolar menggunakan metode *indirect ELISA* pada mencit non asma sebesar $958,53 \pm 453,03$ dan pada mencit asma $1008,9 \pm 25542$ (pg/ml) ($X \pm SD$) dengan $p=0,763$ (Gambar

2).

Tabel 1. Perbedaan parameter *airway remodeling* pada mencit asma dan non asma

Keterangan	Non Asma	Asma	p
Tebal epilet	110,33 \pm 13,78	146,50 \pm 32,50	0,005
Tebal otot polos	11,12 \pm 3,43	21,58 \pm 6,58	0,000
Tebal fibrosis subepitel	5,39 \pm 2,42	20,92 \pm 3,03	0,000
Rerata jumlah sel goblet	1,07 \pm 0,12	1,44 \pm 0,28	0,002

Hasil menunjukkan bahwa rata-rata ketebalan epitel, ketebalan otot polos, ketebalan fibrosis dan jumlah sel goblet pada kelompok kontrol (mencit non asma) berbeda signifikan dengan rata-rata ketebalan epitel, ketebalan otot polos, ketebalan fibrosis dan jumlah sel goblet pada kelompok perlakuan (mencit asma). Rerata kadar $\text{TGF-}\beta$ dan Treg antara kelompok kontrol dan perlakuan tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Didapatkan adanya kecenderungan rerata jumlah $\text{TGF-}\beta$ dan Treg pada kelompok perlakuan lebih tinggi bila dibandingkan pada kelompok kontrol.



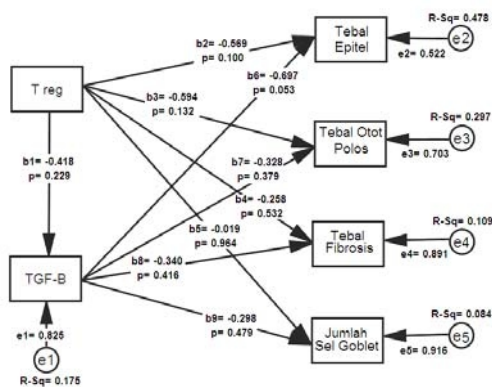
Gambar 3. Gambaran epitel, otot polos, fibrosis sub epitel, sel goblet (pembesaran 400x)

Keterangan :

- Tanda panah menunjukkan perubahan pada sel
- A. Gambaran otot polos
- B. Gambaran epitel bronkiolus
- C. Gambaran fibrosi sub epitel
- D. Gambaran sel goblet yang memiliki vakuol

Gambaran histopatologi yang menunjukkan ketebalan epitel, otot polos, dan fibrosis subepitel, serta jumlah sel goblet terlihat pada Gambar 3. Gambar 3A menunjukkan gambaran histopatologi otot polos bronkiolus mencit dengan pengecatan Hematogenieosin. Tebal otot polos kelompok perlakuan/mencit asma yaitu $21,58 \pm 6,58 \mu\text{m}$, lebih tebal daripada kelompok kontrol/mencit non asma yaitu $11,12 \pm 3,43 \mu\text{m}$. Gambar 3B menunjuk kan gambaran histopatologi epitel bronkiolus mencit dengan pengecatan Hematoksilin-eosin. Tebal epitel kelompok perlakuan/mencit asma yaitu $146,50 \pm 32,50 \mu\text{m}$, lebih tebal daripada kelompok kontrol/mencit non asma yaitu $110,33 \pm 13,78 \mu\text{m}$. Gambar 3C menunjukkan gambaran histopatologi fibrosis subepitel bronkiolus mencit dengan pengecatan *Masson's thricrome* (warna biru). Kelompok mencit asma atau perlakuan menunjukkan fibrosis subepitel yang lebih banyak dengan rerata ketebalan sebesar $20,92 \pm 3,03 \mu\text{m}$ daripada kelompok kontrol/mencit non asma yaitu $5,39 \pm 2,42 \mu\text{m}$. Gambar 3D menunjukkan gambaran histopatologis sel goblet yang memiliki vakuol dengan pengecatan PAS. Sel goblet mencit asma menunjukkan peningkatan jumlah maupun ukuran (hiperplasia) dengan rerata jumlah sel goblet/100 μm membran basalis sebesar $1,44 \pm 0,26$ dibandingkan kontrol/mencit non asma sebesar $1,07 \pm 0,12$.

Berdasarkan analisis jalur hubungan (*path analysis*) dapat diketahui T reg dan TGF- β memberikan kontribusi pengaruh terhadap tebal epitel sebesar 47,8% ($R=0,478$), 52,2% sisanya merupakan pengaruh faktor lain. T reg mempengaruhi penurunan tebal epitel secara langsung (koefisien jalur= $-0,569$, $p=0,100$) tanpa melalui TGF- β . TGF- β mempengaruhi penurunan tebal epitel secara langsung (koefisien jalur= $-0,697$, $p=0,053$).



Gambar 4. Analisis jalur hubungan (*path analysis*) antar kedua parameter

DISKUSI

Limfosit-T berperan dalam peradangan kronik pada asma, dan jumlah limfosit-T yang menginfiltrasi ke bronkus meningkat pada penyakit ini. Sel limfosit T $CD4^+$ yang meningkat pada asma didominasi oleh sel T *helper* 2 (Th2). Sel ini mensekresi sitokin IL-4 dan IL-13 yang mendorong sel B menghasilkan IgE, IL-5 yang merangsang diferensiasi eosinofil di sumsum tulang, dan IL-9 yang menarik dan mendorong diferensiasi sel mast (14).

Selain peranan sel Th2, sel limfosit T Reg $CD4^+CD25^+$ yang merupakan T regulator mempunyai peranan penting pada alergi. Sel ini memiliki efek supresi pada sel limfosit T $CD4^+$ lainnya dan berfungsi mengontrol fungsi sel-sel Th2 pada asma (13,14). Studi pada penderita rinitis alergi menunjukkan jumlah sel limfosit T Reg $CD4^+CD25^+$ yang mengekspresikan faktor transkripsi *forkhead box P3* (FOXP3) lebih rendah dibandingkan penderita non atopi (20).

Berdasarkan hasil pengamatan diketahui bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna jumlah sel limfosit T reg $CD4^+CD25^+$, dan TGF- β antara kelompok kontrol dan perlakuan (model mencit asma). Hal ini disebabkan adanya toleransi setelah pemberian jangka panjang inhalasi ovalbumin. Penelitian Schramm pada model mencit alergi menunjukkan adanya induksi toleransi setelah paparan inhalasi kronik ovalbumin selama 11 minggu (21).

Dalam penelitian ini, pemberian ovalbumin secara kronik memiliki kecenderungan meningkatkan sel T reg $CD4^+CD25^+$. Hal ini ditunjukkan pula dengan kecenderungan peningkatan kadar TGF- β yang merupakan salah satu sitokin supresor yang dihasilkan oleh T reg. Studi lain menunjukkan proses inflamasi dan *airway remodelling* tetap terjadi pada paparan kronik ovalbumin (17,22). Hal ini dibuktikan dari hasil pengamatan bahwa terjadi peningkatan parameter *airway remodelling* yaitu tebal epitel, tebal fibrosis subepitel, tebal otot polos dan jumlah sel goblet yang bermakna pada kelompok perlakuan (model mencit asma) bila dibandingkan kelompok kontrol.

Airway remodelling yang merupakan perubahan struktur pada asma memiliki beberapa komponen antara lain metaplasia epitel dengan peningkatan ketebalan epitel, hiperplasia sel goblet dan peningkatan sekresi mukus, fibrosis dengan deposisi abnormal matriks ekstraseluler di membran basalis dan sub mukosa dalam, peningkatan ketebalan otot polos karena hiperplasia otot polos dan miofibroblast, dan angiogenesis (18). Pada penelitian ini komponen *airway remodelling* yang diamati adalah tebal epitel, otot polos, fibrosis subepitel, dan sel goblet. Paparan ovalbumin selama 9 minggu dalam penelitian ini menyebabkan perubahan struktur saluran napas. Inhalasi ovalbumin kronik menginduksi inflamasi kronis yang berakibat terjadinya *airway remodeling* (17,22).

Selain faktor kerusakan epitel, mediator inflamasi seperti leukotrien dan *growth factor* misal TGF- β berperan dalam terjadinya *airway remodelling*. TGF- β merupakan faktor fibrogenik dan imunomodulator penting yang berperan dalam perubahan struktur saluran napas penderita asma. Selain itu TGF- β merupakan regulator fungsi *fibroblast* dan *miofibroblast* serta mengontrol produksi beberapa matriks ekstraseluler seperti kolagen, *proteoglycan*, dan *tenascin*. Studi *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan peranan ganda TGF- β baik sebagai pro inflamasi maupun anti inflamasi. Beberapa studi menunjukkan TGF- β dapat meregulasi pertumbuhan sel dan menginduksi apoptosis sel epitel paru orang normal (23,24). TGF- β merupakan sitokin supresor yang dihasilkan oleh Treg $CD4^+CD25^+$. TGF- β menginduksi sel limfosit T $CD4^+$ menjadi T reg. Salah satu mekanismenya melalui supresi *growth factor independent 1* (Gfi-1) yang merupakan represor transkripsional. Faktor ini berperan menghambat diferensiasi sel limfosit T $CD4^+$ menjadi T reg (25).

Pada penelitian ini, peningkatan sel limfosit T reg CD4⁺CD25⁺ sejalan dengan peningkatan kadar TGF- β cairan lavase bronkhoalveolar. Tampaknya ada hubungan antara jumlah sel limfosit T reg CD4⁺CD25⁺ dan kadar TGF- β dalam hambatan *airway remodelling*. Hasil uji analisis jalur menunjukkan kecenderungan penurunan dari tebal epitel, tebal otot polos, tebal fibrosis subepitel dan jumlah sel goblet. Hanya pengaruh pada tebal epitel yang memiliki kekuatan korelasi sedang dengan ($R^2=0,487$) bila dibandingkan parameter lainnya walaupun secara statistik tidak didapatkan hasil yang bermakna. Dari hasil pengamatan diatas menunjukkan pengaruh sel limfosit T reg CD4⁺CD25⁺, dan TGF- β terhadap tebal epitel sebesar 48,7%, sisanya (51,3%) dipengaruhi faktor lain. Pengaruh sel limfosit T reg CD4⁺CD25⁺, dan TGF- β terhadap *airway remodelling* paling rendah diamati pada jumlah sel goblet, yaitu sebesar 8,4% dan 91,6% sisanya dipengaruhi oleh faktor lain.

Ada kecenderungan peningkatan jumlah sel T reg secara langsung (*direct effect*) terhadap parameter *airway remodelling* memiliki keeratan hubungan yang relatif lebih besar bila dibandingkan secara tidak langsung (*indirect effect*) melalui TGF- β . Hal ini dapat diamati pada peran T reg secara langsung terhadap tebal epitel dengan koefisien jalur=-0,569, $p=0,100$ bila dibandingkan melalui TGF- β dengan koefisien jalur -0,278. Hal ini secara statistik dapat diamati karena didapatkan adanya hubungan negatif antara T reg dan TGF- β dengan koefisien jalur = -0,418 ($p=0,229$). Artinya dengan peningkatan jumlah sel T reg akan menyebabkan penurunan kadar TGF- β . Kondisi ini menyebabkan peran langsung T reg terhadap tebal epitel diperlemah dengan adanya hubungan negatif T reg terhadap TGF- β .

Hasil analisis jalur tersebut juga menunjukkan bahwa peran TGF- β secara langsung (*direct effect*) terhadap parameter *airway remodelling* berupa hubungan negatif. Hubungan terbesar dapat diamati pada pengaruhnya terhadap tebal epitel dengan koefisien jalur=-0,697 dan $p=0,053$ walaupun secara statistik tidak bermakna. Walaupun secara statistik tidak bermakna, adanya kecenderungan dengan tingginya rerata jumlah sel limfosit T reg dan TGF- β dapat menyebabkan hambatan proses remodeling saluran nafas yang salah satunya ditandai dengan penurunan tebal epitel. Hal yang masih perlu diperhatikan pada penelitian lanjutan adalah kemungkinan perlunya untuk tidak hanya dilakukan pemeriksaan rerata jumlah namun juga fungsi dari sel limfosit T reg dan TGF- β . Selain itu perlu ditentukan sel yang paling berperan dalam produksi TGF- β . Pada penelitian ini tidak diketahui sel yang paling berperan dalam peningkatan TGF- β karena tidak dilakukan pemeriksaan imunohistokimia. TGF- β disekresikan baik oleh sel struktural (fibroblast, epitel, endotel, dan otot polos) maupun sel inflamasi (eosinofil, netrofil, sel mast, limfosit, monosit, dan makrofag) (15). Studi Alcorn (2007) pada model mencit alergi menunjukan sumber utama TGF- β berasal dari epitel saluran napas (26). Selain itu TGF- β juga dihasilkan oleh sel T reg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺.

Penelitian ini menunjukkan pengaruh sel limfosit T reg CD4⁺CD25⁺ dalam menghambat proses *airway remodelling* baik secara langsung (*direct effect*) maupun secara tidak langsung (*indirect effect*) melalui TGF- β , yang ditandai dengan penurunan ketebalan epitel yang memiliki koefisien korelasi lebih besar dibandingkan parameter yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Guill MF. *Asthma Update: Epidemiology and Pathophysiology*. Pediatrics in Review. 2004; 25(9): 299-305.
- Tong J, Bandulwala HS, Clay BS, et al. *Fas-Positive T Cells Regulate the Resolution of Airway Inflammation in a Murine Model of Asthma*. The Journal of Experimental Medicine. 2006; 203 (5): 1173-1184.
- Busse WW and Lemanske RF. *Asthma*. The New England Journal of Medicine. 2001; 344 (5): 350-362.
- Global Initiative For Asthma. *The Global Strategy for Asthma Management and Prevention*. Ontario: GINA; 2009.
- Tagaya E and Tamaoki J. *Mechanism of Airway Remodeling in Asthma*. Allergology International. 2007; 56(4): 331-340.
- Lloyd CM and Robinson DS. *Allergen-Induced Airway Remodeling*. European Respiratory Journal. 2009; 29(5): 1020-1032.
- Holgate ST. *Pathogenesis of Asthma*. Clinical and Experimental Allergy. 2008; 38(6): 872-897.
- Bousquet J, Jeffery PK, Busse WW, Johnson M, and Vignola A. *Asthma: From Bronchoconstrictions to Airways Inflammation and Remodeling*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2000; 161(5): 1720-1745.
- Wills-Karp M. *Trophic Slime, Allergic Slime*. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. 2000; 22(6): 637-639.
- Elias Ja, Lee CG, Zheng T, Ma B, Homer RJ, and Zhu Z. *New Insights into the Pathogenesis of Asthma*. The Journal of Clinical Investigation. 2003; 111(3): 291-297.
- Wills-Karp M and Chiaramonte M. *Interleukin-13 in Asthma*. Current Opinion in Pulmonary Medicine. 2003; 9(1): 21-27.
- Holgate ST and Polosa R. *The Mechanisms, Diagnosis, and Management of Severe Asthma in Adults*. The Lancet. 2006; 368(9537): 780-793.
- Larche M. *Regulatory T Cells in Allergy and Asthma*. Chest. 2007; 132(3): 1007-1014.
- Meyer EH, Dekruyff RH, and Umetsu DT. *T Cells and NKT Cells in the Pathogenesis of Asthma*. Annual Review of Medicine. 2008; 59: 281-292.
- Duvernelle C, Freund V, and Frossard N. *Transforming Growth Factor-beta and its Role in Asthma*. Pulmonary Pharmacology and Therapeutics. 2003; 16(4): 181-196.
- Epstein MM. *Do Mouse Models of Allergic Asthma Mimic Clinical Disease?* International Archives of Allergy and Immunology. 2004; 133(1): 84-100.
- Barlianto W, Kusuma MSC, Setyawati K, dan Karyono

- M. *Pengembangan Model Mencit Alergi dengan Paparan Kronik Ovalbumin*. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 2009; 25(1): 1-5.
18. Tang ML, Wilson JW, Stewart AG, and Royce SG. *Airway Remodelling in Asthma: Current Understanding and Implications for Future Therapies*. Pharmacology and Therapeutics. 2006; 112(2): 474-488.
 19. Susilo RC, Kusuma MSC, dan, Sardjono TW. *Peran Ekspresi Interleukin (IL)-4 dalam Apoptosis Epitel Bronkiolus Mencit Asma*. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 2010; 26(4): 85-90.
 20. Ling EM, Smith T, Nguyen XD, et al. *Relation of CD4⁺CD25⁺ Regulatory T-Cell Suppression of Allergen-Driven T-Cell Activation to Atopic Status and Expression of Allergic Disease*. The Lancet. 2004; 363(9409): 608-615.
 21. Schramm CM, Puddington L, Wu C, et al. *Chronic Inhaled Ovalbumin Exposure Induces Antigen-Dependent but Not Antigen-Specific Inhalational Tolerance in a Murine Model of Allergic Airway Disease*. The American Journal of Pathology. 2004; 164(1): 295-304.
 22. Locke NR, Royce SG, Wainwright JS, Samuel CS, and Tang ML. *Comparison of Airway Remodeling in Acute, Subacute, and Chronic Models of Allergic Airways Disease*. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. 2007; 36(5): 625-632.
 23. Yanagisawa K, Osada H, Masuda A, et al. *Induction of Apoptosis by Smad3 and Down-Regulation of Smad3 Expression in Response to TGF-Beta in Human Normal Lung Epithelial Cells*. Oncogene. 1998; 17(13): 1743-1747.
 24. Bogdanowicz P and Pujol JP. *Glycosylphosphatidylinositol (GPI) Hydrolysis by Transforming Growth Factor-B1 (TGF-B1) as a Potential Early Step in the Inhibition of Epithelial Cell Proliferation*. Molecular and Cellular Biochemistry. 2000; 208(1-2): 143-150.
 25. Zhu J, Davidson TS, Wei G, et al. *Down-Regulation of Gfi-1 Expression by TGF-Beta is Important for Differentiation of Th17 and CD103⁺ Inducible Regulatory T Cells*. The Journal of Experimental Medicine. 2009; 206(2): 329-341.
 26. Alcorn JF, Rinaldi LM, Jaffe EF, et al. *Transforming Growth Factor-Beta1 Suppresses Airway Hyperresponsiveness in Allergic Airway Disease*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2007; 176(10): 974-982.