Cytokine Th1/Th2 Balance Induce The Proliferation of Lung Mast Cell In Rat With High Fat Diet

Keseimbangan Sitokin Th1/Th2 Berperan Dalam Proliferasi Mastosit Jaringan Paru Pasca Pemberian Diet Tinggi Lemak pada Tikus

Rita Rosita*, Muhamad Rasjad Indra**, Edi Widjajanto***
*Laboratorium Anatomi Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
**Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
***Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

ABSTRACT

Asthma and obesity are prevalent disorders, each with a significant public health impact, and a large and growing body of literature suggests an association between the two. The systemic inflammatory milieu in obesity leads to metabolic and cardiovascular complications but this environment alters asthma risk or phenotype is not yet known. Studies that evaluated the effects of leptin and obesity on airway inflammation in response suggest that air way inflammation is enhanced by leptin. Leptin is stimulate a Th1 cytokine profile and suppresses Th2 cytokine production. Whether resistance to the effects of the lung or on immune function is unknown, but such resistance might be expected to polarize to a Th2. The aim of this study is identify effect of leptin to lung mast cell proliferation via shifting Th1/Th2 balance using diet-induced obese mice. Because there are contradictive between leptin immune function in leptin deficient and obese, to understand the effect of leptin in diet-induced obese mice on immune function, lung mast cell proliferation and correlation with IL-4 as represent cytokine Th2 and IL-2 represent cytokine Th1 has been studied. To induced obesity, wistar mice (Rattus novergicus) were fed high-fat diet for 12 weeks, and control mice were fed standard diet for the same period. The result suggested that the action of leptin in obese mice in vivo is differ from leptin function on lymphocyte in vitro. These findings provide some evidence that leptin can regulate the immune function in vivo, and suggest the role of leptin on asthma pathophysiology.

Keywords: leptin, mast cell, cytokine Th1/Th2 balance

PENDAHULUAN

Asma didefinisikan sebagai obstruksi saluran nafas episodik yang ditandai dengan inflamasi dan hiperresponsivitas saluran nafas, prevalensinya meningkat pada obesitas. Studi epidemiologi di New South Wales, Australia menyatakan bahwa peningkatan BMI (body mass index) berhubungan dengan peningkatan resiko asma pada orang dewasa usia 17-73 tahun. Hasil studi cohort yang dilakukan oleh Hancox dkk (2005) pada 1000 individu, menyatakan bahwa 28% asma pada wanita diatas usia 9 tahun disebabkan obesitas. Sehingga dapat dikatakan bahwa obesitas merupakan faktor resiko terjadinya asma (1). Faktor mekanik, hormon estrogen (estradiol bersifat modulator sekresi IL-4 dari Cd4+ T helper), aktivitas sistem saraf simpatis, dan genetik kemungkinan menjadi faktor penghubung antara obesitas dan asma (2). Hal vang menarik disampaikan Beuther dkk. (2006) bahwa asma pada obesitas terjadi akibat adanya pergeseran keseimbangan T helper 1 ke arah T helper 2, dan perubahan respon imun di saluran nafas yang pada akhirnya menyebabkan inflamasi dan hiperresponsitivitas saluran nafas (3).

Pada obesitas, peningkatan jumlah dan fungsi jaringan adiposa menyebabkan keadaan pro-

Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. XXV, No. 1, April 2009 Korespondensi: Rita Rosita, Laboratorium Anatomi Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya; Telepon (0341) 569117 inflamasi sistemik (Fantuzzi, 2005), salah satunya diakibatkan peningkatan konsentrasi leptin (4). Konsentrasi leptin juga meningkat pada penderita asma (5).

Leptin berperan penting dalam sistem imun. Monosit dan sel T CD4⁺ pada darah perifer mengekspresikan mRNA dari reseptor leptin (6). Sel T helper (Th) merupakan regulator kunci pada respon tersebut, yang dapat berdiferensiasi menjadi dua subtype yaitu Th1 dan Th2 yang dikenali dari sitokin yang diproduksinya (7). IL-2 adalah sitokin yang bersifat *autocrine growth factor* sel T untuk diferensiasi ke arah Th1, sedangkan IL-4 merupakan sitokin penting dalam diferensiasi Th2 dan mengaktivasi faktor transkripsi dari signal transducer STAT 6 (8). Penentuan fenotip sel T terpolarisasi ke arah Th1 atau Th2 dapat menggunakan konsentrasi IL-2 atau IL-4.

Leptin meningkatkan respon Th1 dan menurunkan fenotip Th2 (9). Jika leptin menurunkan fenotip Th2 tentu saja hal ini bertentangan dengan asma yang dimediasi oleh Th2. Vieira dkk (2005) bahkan menyatakan leptin sebagai prediktor terjadinya atopi (10). Kontradiksi ini membawa pemikiran lain mengenai fungsi leptin dalam sistem imun, terutama pengaruhnya terhadap keseimbangan Th1/Th2. Apakah terdapat kemungkinan adanya resistensi leptin sehingga terjadi pergeseran polarisasi limfosit T ke arah Th2.

Pada penderita asma terjadi peningkatan jumlah mastosit yang mengindikasikan terjadi aktivasi

Proliferasi mastosit dalam perkembangan penyakit asma. Diketahui, IL-4 dan SCF secara sinergis meningkatkan proliferasi mastosit di jaringan intestinal (11). Berdasarkan fakta-fakta tersebut, terdapat kemungkinan bahwa peningkatan konsentrasi leptin pada obesitas yang diinduksi diet tinggi lemak meningkatkan faktor resiko asma, melalui perubahan keseimbangan Th1/Th2, yang selanjutnya terjadi peningkatan densitas mastosit pada jaringan paru. Dengan memahami mekanisme hubungan antara obesitas dan asma dapat dikembangkan strategi terapeutik baru untuk pencegahan dan penanganan asma atau atopi pada populasi yang suseptibel.

METODE

Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap, dengan desain *Postest Only Control Group.*

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih Rattus novergicus galur wistar. Intervensi dalam penelitian ini adalah pemberian diet tinggi lemak dibandingkan dengan diet normal. Keluaran yang diukur pada serum adalah konsentrasi leptin, interleukin-4 dan interleukin-2, dengan uji ELISA. Disamping itu juga diukur densitas mastosit pada preparat jaringan paru. Data dianalisis dengan uji t berpasangan, korelasi dari Pearson dengan menggunakan Software Statistical Product and Servive Solution 14 PS (SPSS)

HASIL

Konsentrasi Leptin Serum

Terdapat perbedaan rerata konsentrasi leptin antara kelompok diet normal dan kelompok diet tinggi lemak. Nilai rerata konsentrasi leptin serum kelompok diet tinggi lemak lebih dari tiga kali nilai rerata konsentrasi leptin serum kelompok diet normal. Akan tetapi pada kelompok diet tinggi lemak sebaran nilai yang ditunjukkan dengan standar deviasi juga sangat besar (3,854), hal tersebut berarti variasi data pada kelompok diet tinggi lemak besar. Dengan analisa uji t, diketahui konsentrasi leptin serum lebih tinggi secara signifikan pada kelompok diet tinggi lemak dibanding kelompok diet normal (p=0,019).

Berbeda dengan IL-2, konsentrasi IL-4 kelompok diet tinggi lemak lebih tinggi dari kelompok diet normal dengan perbedaan yang signifikan (p = 0,011).

Hal yang menarik dari pemeriksaan ini adalah terdapat pergeseran perbandingan konsentrasi IL-2 dan IL-4 yang merupakan representasi

Tabel 1. Perbedaan Konsentrasi Leptin Serum pada Kelompok Diet Normal dan Kelompok Diet Tinggi Lemak

Leptin ng/ml				
	Mean	SD	sig	
Diet N	1,513	0,514	p = 0.019	
Diet TL	5,462	3,854		

keseimbangan sitokin Th1/Th2 di serum. Meskipun konsentrasi IL-2 dan IL-4 kelompok diet tinggi lemak lebih tinggi dibandingkan kelompok diet normal, akan tetapi terjadi perubahan perbandingan konsentrasi IL-2 dan IL-4. Pada kelompok diet normal konsentrasi IL-2 lebih tinggi dibandingkan IL-4. Sedangkan pada kelompok diet tinggi lemak justru konsentrasi IL-4 yang lebih tinggi dibandingkan konsentrasi IL-2. Perbandingan (IL-2/IL-4) pada kelompok diet normal adalah 2,26 sedangkan pada diet tinggi lemak adalah 0,881.

Densitas Mastosit di Jaringan Paru

Mastosit dapat diidentifikasi melalui perbedaan warna dengan sel-sel disekitarnya jaringan sekitar. Berukuran lebih besar, berisi granula yang berwarna ungu kecoklatan. Bentuk bervariasi dari bulat, oval sampai bentuk tidak beraturan. Lokasi mastosit cukup tersebar, terdapat area-area dimana mastosit terkonsentrasi, seperti di area peribronchial, perivascular dan alveoli. Jumlah mastosit merupakan rerata dari hasil penghitungan di 8 area lapang pandang (Tabel 3).

Hasil uji t yang membandingkan jumlah mastosit kedua kelompok menunjukkan adanya perbedaan signifikan (p=0,00).

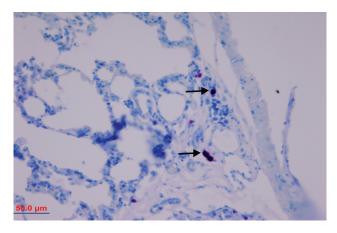
Tabel 3. Perbandingan Jumlah Mastosit Pada Kelompok Diet Normal Dan Kelompok Diet Tinggi Lemak

	Jumlah mastosit		
	Mean	SD	Sig
DN	17,219	4,867	Uji t p=0,000

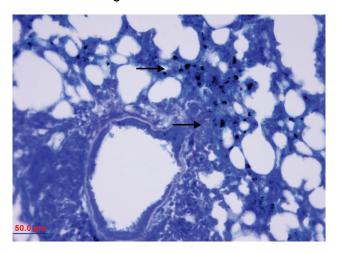
Dari Gambar 1 dan 2 menunjukkan hasil pemeriksaan mastosit di jaringan paru yang meliputi 4 lapangan pandang, dengan pengulangan masingmasing dua kali. Terdapat perbedaan yang mencolok antara diet normal dan diet tinggi lemak. Pada kelompok diet tinggi lemak jumlah mastosit Lebih banyak pada setiap area lapang pandang. Pengecualian ditemukan pada area subpleura yang menunjukkan jumlah mastosit tidak terlalu berbeda antara kelompok diet tinggi lemak dan kelompok diet normal.

Tabel 2. Perbandingan Konsentrasi II-2 Dan II-4 Serum pada Kelompok Diet Normal (DN) dan Diet Tinggi Lemak (DTL)

		IL-2 ng/ml			IL-4 ng/ml	
	Mean	SD	Sig	Mean	SD	Sig
DN	2,938	1,229	Uji T	1,878	1,3	t
DTL	5,727	4,17	p=0,104	6,503	2,954	p=0,11



Gambar 1. Mastosit (panah) pada Jaringan Paru Tikus Kelompok Diet Normal. Pembesaran 400x dengan Pengecatan *Toluidine Blue.*



Gambar 2. Mastosit (panah) pada Jaringan Paru Tikus Kelompok Diet Tinggi Lemak. Pembesaran 400x dengan Pengecatan *Toluidine Blue*.

Hubungan Konsentrasi Leptin, Konsentrasi IL2 dan IL-4 serum dengan Peningkatan Jumlah Mastosit di Jaringan Paru

Peningkatan jumlah mastosit yang mengindikasikan adanya aktivasi proliferasi mastosit dalam keadaan fisiologis dapat disebabkan oleh berbagai mediator, seperti leptin, SCF, dan sitokin lain. Uji korelasi Pearson dilakukan untuk mengetahui adanya hubungan antara peningkatan proliferasi mastosit di jaringan paru dengan peningkatan konsentrasi leptin IL-2, dan IL-4 (Tabel 4). Hubungan tersebut mengindikasikan adanya pengaruh peningkatan leptin pasca pemberian diet tinggi lemak terhadap proliferasi mastosit melalui pergeseran keseimbangan sitokin Th1/Th2 serum.

Hasil analisis menunjukkan korelasi positif yang kuat antara tingginya konsentrasi IL-4 serum pasca pemberian diet tinggi lemak terhadap peningkatan jumlah mastosit dengan r = 0,812. Aktivasi proliferasi mastosit juga berkorelasi positif dengan peningkatan konsentrasi leptin serum (r =0,611). Berbeda dengan konsentrasi IL-2 serum, yang peningkatannya tidak atau kurang berkorelasi dengan peningkatan jumlah mastosit di jaringan paru (r=0,386).

Tabel 4. Tabel Hubungan Peningkatan Proliferasi Mastosit Jaringan Paru Dengan Konsentrasi Leptin, Il-4 dan Il-2 Serum.

	Jumlah mastosit		
	Pearson Correlation r	Sig (2-tailed)	
Kadar Leptin	0,611	0,012	
Kadar IL-4	0,812*	0,000	
Kadar IL-2	0,386	0,139	

Hubungan Konsentrasi Leptin dan Konsentrasi Interleukin-4 serum

Analisa dengan korelasi Pearson dilakukan untuk mengetahui hubungan antara peningkatan konsentrasi leptin dan konsentrasi IL-4 serum yang dapat mengindikasikan fungsi leptin pada limfosit T dalam polarisasi ke arah Th2. Dari Tabel 5 dapat dilihat bahwa peningkatan konsentrasi leptin tidak atau kurang berhubungan dengan konsentrasi interleukin-4 (r = 0,412).

Tabel 5. Hubungan Konsentrasi Leptin dan Konsentrasi Interleukin-4 Serum

		Kadar Leptin	Kadar IL-4
Leptin	P Correlation	1	0,412
	Sig.(2-tailed)		0,113
IL-4	P Correlation	0,412	1
	Sig.(2-tailed)	0.113	

Hubungan Konsentrasi Leptin dan Konsentrasi Interleukin-2 serum

Leptin telah diketahui meningkatkan sintesa sitokin Th1 dan mensupresi produksi Th2. Tabel 6 menunjukkan peningkatan konsentrasi leptin pasca pemberian diet tinggi lemak selama 12 minggu tidak berhubungan dengan peningkatan konsentrasi IL-2 serum (r=0,028).

Tabel 6. Hubungan Konsentrasi Leptin dan Konsentrasi Interleukin-2 serum

		Kadar Leptin	Kadar IL-2
Kadar	Pearson	1	0,028
Leptin	Correlation Sig.(2-tailed)		0,917
Kadar II -2	Pearson Correlation	0,028	1
IL-Z	Sig.(2-tailed)	0.917	

DISKUSI

Pada hasil penelitian didapatkan bahwa pemberian diet tinggi lemak meningkatkan konsentrasi leptin ,interleukin-4, interleukin-2 serum dan densitas mastosit di jaringan paru secara signifikan, kecuali untuk peningkatan interleukin-2 serum. Dengan uji korelasi Pearson didapatkan adanya hubungan positif antara peningkatan jumlah mastosit di jaringan paru dengan konsentrasi interleukin-4 dan konsentrasi leptin serum.

Efek Pemberian Diet Tinggi Lemak terhadap Konsentrasi Leptin Serum

Pada kelompok diet tinggi lemak terdapat

peningkatan konsentrasi leptin serum, yang didahului dengan adanya peningkatan berat badan yang signifikan dibandingkan kelompok diet normal (data tidak ditampilkan). Peningkatan berat badan diketahui meningkatkan kadar serum leptin, peptida yang diproduksi adiposit dengan berat 16 kDA yang berperan dalam regulasi berat badan dan intake makanan. Pada obesitas yang diinduksi dengan diet tinggi lemak terjadi peningkatan jumlah dan ukuran jaringan adiposit. Adanya peningkatan jumlah (hiperplasi) dan ukuran (hipertropi) sel lemak akibat diet tinggi lemak terjadi akibat peningkatan proses diferensiasi progenitor preadiposit pada penelitian dengan rodentia.

Jaringan adiposa dapat berperan sebagai organ endokrin yang menghasilkan adipokin, salah satunya leptin dan molekul pro-inflamasi seperti TNF α , IL-6, TGF β -1, CRP. Terdapat hubungan yang erat antara derajat serum leptin dan jumlah lemak tubuh dengan mRNA leptin sel lemak (Mountage et al,1997), sehingga dapat dinyatakan bahwa sekresi leptin adalah refleksi dari pembesaran dan peningkatan jumlah sel lemak (12). Lebih jauh ekspresi leptin dan derajad ukuran jaringan lemak yang meningkat dapat dipakai sebagai ukuran dari peningkatan cadangan trigliserida di jaringan lemak (13).

Secara fisiologis, leptin meregulasi berat badan melalui kerja di hipothalamus dengan efek anorektik sehingga dapat menurunkan berat badan. Akan tetapi pada penderita obesitas seringkali konsentrasi leptin meningkat, dan tidak diikuti dengan penurunan nafsu makan (14). Pemberian leptin tidak banyak memberikan efek dan sudah banyak diteliti mengenai terjadinya resistensi dari leptin di hipothalamus. Hal ini terjadi karena kejenuhan transport leptin menuju blood-brarier (sawar otak) dan adanya kelainan dari aktifitas reseptor leptin atau signal transduksi (13).

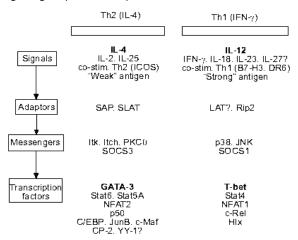
Hiperleptinemia pada obesitas juga berpengaruh terhadap proses aterogenik dengan menstimulasi agregasi platelet dan thrombosis, produksi sitokin pro-inflamasi, menginduksi pertumbuhan neointima, merangsang produksi superoksid mitokondrial dan kalsifikasi Vascular Smooth Muscle Cell (VSMC), yang kesemuanya berkontribusi dalam disfungsi endotel (15).

Melalui kerja leptin, status nutrisi dapat mempengaruhi sistem imun. Pada keadaan kelaparan atau gizi buruk, di mana kadar leptin menurun terjadi penurunan daya tahan terhadap infeksi akibat berkurangnya jumlah dan aktivitas limfosit. Secara *in vitro* leptin berikatan dengan reseptor Ob-R di limfosit dan menghambat apoptosis melalui supresi FasL. Limfosit juga mengaktifkan limfosit T melalui aktivasi STAT 3 dalam diferensiasi ke arah Th1 (16).

Pergeseran Keseimbangan Sitokin Th1/Th2 pasca Pemberian Diet Tinggi Lemak

Terjadinya perubahan keseimbangan sitokin Th1/Th2 pada kelompok yang diinduksi diet tinggi lemak dibandingkan dengan kelompok diet normal. Konsentrasi interleukin-4 (sitokin Th2) pada

kelompok diet tinggi lemak meningkat signifikan sehingga melampaui konsentrasi Interleukin-2 (sitokin Th1) serum dengan rasio 2,68:0,881. Hal ini menunjukkan adanya peningkatan sekresi interleukin-4 yang cukup tajam setelah pemberian diet tinggi lemak. Interleukin-4 adalah sitokin terpenting yang berperan dalam diferensiasi Th2 melalui aktivasi faktor transkripsi signal transducer and activator of transcription (STAT) 6. Interleukin-4 disekresi oleh naïve T-cell yang diinduksi signal tertentu sehingga sel tersebut lebih cenderung memproduksi interleukin-4 dibandingkan mengekspresikan interferon y atau interleukin-2 yang selanjutnya lebih meningkatkan diferensiasi Th2 (8). Pada tikus dengan pemberian diet tinggi lemak, konsentrasi interleukin-4 lebih tinggi dibandingkan dengan interleukin-2, hal ini menunjukkan terdapat pergeseran produksi sitokin pada naïve T-cell yang lebih cenderung mensekresi interleukin-4 Kecenderungan naïve T cell dalam memproduksi sitokin Th2 yang merupakan karakteristik atopi secara umum, kemungkinan didasarkan atas 2 faktor, yaitu genetik dan paparan lingkungan (Gambar 6).

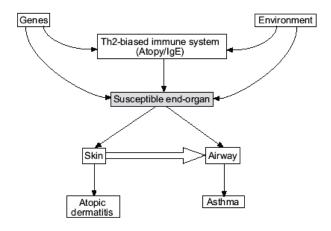


Gambar 6. Regulasi Aktivasi dan Survival Th2 oleh IL-4.

Keterangan: Ikatan IL-4 dengan IL-4r Mengaktivasi STAT6 dengan SOCS3 Sebagai Messenger untuk Diferensiasi ke arah Th2 (8).

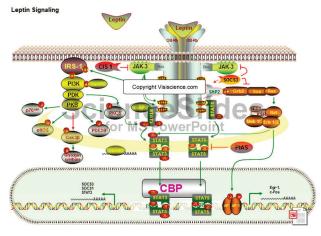
Pada penelitian ini faktor genetik disingkirkan dengan pemilihan hewan coba dari galur yang sama, sehingga diharapkan faktor lingkungan menjadi dominan yaitu dari perlakuan pemberian diet tinggi lemak selama 12 minggu (Gambar 7).

Paparan diet tinggi lemak pada penelitian ini meningkatkan profil lipid (kolesterol LDL, HDL, dan trigilserida) darah (data tidak diperlihatkan). Hal ini dapat mempengaruhi sel imun spesifik melalui perubahan interaksi antar sel (17). Perubahan lingkungan mikro limfosit T tersebut secara alami dapat mempengaruhi respon imun yang terjadi ke arah Th1 atau Th2 (18). Sehingga terdapat kemungkinan bahwa tingginya konsentrasi interleukin-4 serum pada penelitian ini disebabkan oleh perubahan lingkungan mikro naïve Tcell akibat peningkatan profil lipid darah sehingga memicu switching limfosit T ke arah fenotip Th2. Shamshev,



Gambar 7. Pengaruh Genetik dan Lingkungan dalam Penyakit Atopi (8).

dkk (2007) mengemukakan pengaruh peningkatan lipid darah (dyslipidemia) terhadap penurunan produksi sitokin Th1 dan bergeser ke arah Th2 lebih ke hulu lagi (19). Menurut Shamsiev, faktor lingkungan termasuk diet memgang peranan penting dalam keseimbangan homeostasis sistem imun. Pada keadaan dislipidemia akibat pemberian diet tinggi lemak, ternyata berpengaruh terhadap respon sel dendritik sebagai APC (antigen presenting cell) pada sel T. Dislipidemia menghambat toll like receptor (TLR) pada sel dendritik dalam menginduksi produksi sitokin proinflamasi seperti IL-12, IL-6, dan TNF . Selain itu terjadi hambatan dalam up-regulasi molekul kostimulator CD8-DCs. Penurunan aktivasi sel dendritik ini mempengaruhi respon T helper, yaitu terjadi penurunan respon Th1 dan meningkatkan Th2.LDL teroksidasi (oxLDL) diduga sebagai penyebab efek tersebut melalui efek langsung uncouple TLR-mediated signaling pada sel dendritik. Akan tetapi hal tidak menutup kemungkinan lain, seperti akibat meningkatnya sekresi leptin dari jaringan adipose yang jumlah dan fungsinya meningkat pasca pemberian diet tingi lemak.



Gambar 8. Signaling Leptin intraseluler.

Keterangan: Ikatan Leptin dan Reseptornya (ObRb) Mengaktivasi JAK3 dan Stimulasi Transkripsi Gen Melalui Faktor Transkripsi STAT3.

Efek leptin pada limfosit T telah banyak dipublikasikan. Dari berbagai hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa efek leptin limfosit T adalah sebagai imunoregulator diferensiasi naïve T cell ke arah fenotip Th1. Limfosit T mengekspresikan reseptor leptin isoform panjang (Ob-Rb) (20). Ob-Rb adalah satu-satunya reseptor yang mempunyai kapasitas signaling penuh dan mampu mengaktivasi janus kinase (JAK) dan signal transducer dan activator of transcription (STAT) yang merupakan pathway utama leptin dalam memberikan efek (21).

Pada Gambar 8, digambarkan bahwa reseptor leptin (Ob-R) secara konstitutif berhubungan dengan Janus kinase2 (JAK2). Ikatan JAK2 dengan reseptor sangat penting pada signaling Ob-R dan diduga juga berperan dalam stabilisasi dimmer reseptor (22). Aktivasi agonis akan menginduksi perubahan konformasi regio juxtamembran pada domain intraseluler Ob-R. JAK family tyrosine kinase yang konstitutif terikat pada domain intraseluler ObR-b mengalami autofosforilasi dan menjadi aktif selama berikatan dengan ligan/leptin, kemudian terjadi fosforilasi Tyr⁹⁸⁵ dan Tyr¹¹³⁸ pada ObR-b. Fosforilasi Tyr⁹⁸⁵ akan mengikat protein STAT3, sedangkan fosforilasi Tyr¹¹³⁸ akan merekrut SH2 (Src homology 2) domain-containing proteintyrosine phosphatase, SHP-2 dan SOCS-3 yang memediasi feed back inhibition terhadap ObR-b (26). STAT3 yang teraktivasi akan mengalami dimerisasi dan tranlokasi ke nucleus untuk menstimulasi transkripsi gen melalui elemen STATresponsive (23). Pada level fungsional, leptin mempolarisasi produksi sitokin oleh naïve T cell kearah sitokin proinflamasi (Th1, IFN- ± IL-2) daripada fenotip anti-inflamasi (Th2, IL-4) (6). Efek ini kemungkinan dimediasi oleh induksi survival limfosit T melalui up regulasi ekspresi protein anti apoptosis seperti Bcl-x, dan T-bet (24). Hal ini kontradiktif dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan, terjadi peningkatan interleukin-4 pada konsentrasi leptin serum yang tinggi. Ini sejalan dengan penelitian cross sectional terdahulu yang menyatakan bahwa pada penderita atopi/asma dengan obesitas didapati tingginya kadar leptin serum (25).

Penjelasan mengenai bagaimana terjadi peningkatan interleukin-4 pada lingkungan konsentrasi tinggi leptin adalah kemungkinan terjadinya resistensi leptin pada sel limfosit T. Di atas telah diuraikan mengenai signaling leptin pada sel imun, di mana selain terjadi stimulasi transkripsi gen melalui elemen STAT, terjadi pula up regulation suppression of cytokine signaling (SOCS)3, protease yang menginhibisi signaling reseptor leptin (feed back mechanism) sehingga signaling aktivasi Th1 oleh leptin menurun. Hal ini didukung dengan data yang disampaikan Papathanassoglou, dkk (2006) bahwa signaling ObR/STAT-3 oleh leptin di limfosit T menurun pada model tikus yang diinduksi dengan diet tinggi lemak dan terjadi resistensi leptin (16). Penurunan aktivitas signaling ke arah Th1 pada limfosit T menjadi factor resiko sensitisasi Th2 pada penderita dengan penyakit alergi (26).

Akan tetapi hal ini tentu saja tidak terjadi secara otomatis, penulis menduga ada hubungannya dengan protein SOCS yang dapat mempengaruhi responsivitas sel terhadap sitokin. Protein ini dapat berperan sebagai regulator penting dalam diferensiasi Th1/Th2. SOCS5, SOCS1 dan SOCS2 dilaporkan hanya diekspresikan oleh sel Th1, sedangkan overekspresi SOCS3 pada limfosit T perifer berhubungan dengan penyakit alergi yang dimediasi Th2. Hal ini diduga disebabkan limfosit T lebih cenderung terpolarisasi ke arah Th2, baik pada manusia maupun tikus (27).

Mekanisme peningkatan konsentrasi interleukin-4 pada obesitas dengan kadar leptin tinggi dapat dijelaskan, yaitu dengan terjadinya resistensi leptin yang meng-upregulasi SOCS3 yang menginhibisi reseptor leptin dan terjadi switching ke arah fenotip Th2. Kemungkinan ini pula yang menyebabkan korelasi yang tidak signifikan antara peningkatan konsentrasi leptin dan interleukin-4, karena efek leptin tidak secara langsung meningkatkan interleukin-4 tetapi melalui efek resistensi leptin pada limfosit T. Pertanyaan berikut yang menarik untuk dikaji adalah kapan mulai terjadinya resistensi leptin. Pada limfosit T. Pengetahuan mengenai hal ini dapat mengidentifikasi strategi terapi asma pada penderita obesitas akibat diet tinggi lemak di masa depan. Sayang sekali, pada penelitian ini, yang memberikan paparan diet tinggi lemak langsung selama 3 bulan tanpa diikuti konsentrasi interleukin-4 pada satuan waktu tertentu, tidak dapat menjawab pertanyaan tersebut,. Akan tetapi pada penelitian yang dilakukan oleh Farooqi, dkk (2002) menemukan bahwa pada penderita defisiensi leptin yang diterapi dengan r-metHuLeptin, terjadi perbaikan respon imun yang ditunjukkan dengan peningkatan interferon. Akan tetapi setelah pemberian selama 2 bulan mulai terjadi peningkatan interleukin-4 dan interleukin-10 (28). Hal ini tentu saja memerlukan kajian dan penelitian lebih jauh.

Aktivasi Mastosit Jaringan Paru pasca Pemberian diet Tinggi Lemak

Aktivasi mastosit memiliki pengertian peningkatan proliferasi atau degranulasi dengan melepaskan mediator. Pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak terjadi perbedaan jumlah mastosit di jaringan paru yang cukup signifikan dibandingkan kelompok diet normal. Hal ini sejalan dengan teori bahwa, sitokin Th2 memiliki pengaruh terhadap perkembangan proliferasi mastosit, karena seperti telah diketahui bahwa mastosit adalah sel efektor untuk alergi yang patofisiologinya dikontrol oleh sel limfosit Th2 dan sitokinnya, sehingga pergeseran keseimbangan sitokin Th1 ke arah Th2 dapat menjadi predisposisi terjadinya atopi atau asma.

Interleukin-4 memiliki aktivitas sebagai growth factor yang meningkatkan proliferasi mastosit pada tikus (29). Interleukin-4 bersinergi dengan stem cell factor (SCF) meningkatkan proliferasi mastosit di jaringan intestinal (11). Sehingga seiring dengan adanya peningkatan konsentrasi interleukin-4 terjadi peningkatan densitas mastosit di jaringan yang suseptibel. Selain itu interleukin-4 dinyatakan

sebagai *inducer* utama dalam *switching* biosintesalgE pada limfosit B melalui peningkatan SOCS3 yang dimediasi p36 MAPK sehingga meningkatkan fenotip Th2 (30).

Berdasarkan hasil uji korelasi, peningkatan densitas mastosit kemungkinan dipengaruhi kadar leptin. Leptin diduga berperan dalam proses biologi mastosit, meskipun belum banyak yang mengkaji efek leptin terhadap mastosit, Hristova dkk (2001) menyatakan bahwa peningkatan kadar leptin berkorelasi dengan peningkatan mastosit di jaringan lemak pada pasien dengan sindrom metabolik (31). Akan tetapi hal ini masih terlalu jauh untuk ditarik kesimpulan, diperlukan penelitian lanjutan untuk mengetahui apakah terdapat reseptor leptin pada permukaan mastosit, dan bagaimana signal transduksi yang terjadi.

KESIMPULAN

Pemberian diet tinggi lemak selama 12 minggu meningkatkan konsentrasi leptin serum. Terjadi perubahan keseimbangan sitokin Th1/Th2 serum ke arah Th2 setelah paparan diet tinggi lemak, yang ditunjukkan dengan perbedaan perbandingan konsentrasi interleukin-2 dan interleukin-4 antara kelompok diet normal dan kelompok yang dipapar diet tinggi lemak. Diet tinggi lemak menyebabkan peningkatan proliferasi mastosit jaringan paru. Peningkatan tersebut berhubungan dengan konsentrasi interleukin-4 dan leptin serum. Temuan ini mengindikasikan peningkatan proliferasi mastosit jaringan paru disebabkan peningkatan konsentrasi leptin pasca pemberian diet tinggi lemak melalui pergeseran keseimbangan Th1/Th2 ke arah Th2.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

- 1. Schachter LM, Salome CM. Obesity is a risk for a s t h m a a n d w h e e z e b u t n o t hyperresponsiveness. Thorax. 2001;56:46-482. Weiss T, Shore S. Obesity and Asthma Direction for Research. Am J Resp Crit Care Med. 2004;169:963-968
- Beuther DA, Weiss T, and Sutherland. Obesity and asthma. Am J Respir Crit Care Med .2006;17: 112119
- 4. Fantuzzi G, Faggioni. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoesis. Journal of leucocyte Biology. 2000;68
- 5. Sood A, Ford ES, Camargo CA. Association between leptin and asthma in adults. Thorax. 2006;61:300-305
- Lord G M, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvationinduced immunosuppression. Nature. 1998;394:897
- Pacifico L, Di Renzo, Anania C, Osborn F, Ippoliti FS, Chiesa C. Increased T-helper interferon secreting cells in obese children. European Journal of Endocrinology. 2006;154(5);691-697

- 8. Georas J, Guo U, De Fanis, Casolaro *V. T-helper cell type-2 regulation in allergic disease*. Eur Respir J. 2005;26:1119-1137
- 9. Steinman L, Conlon P, Maki R, Foster A. *The intricate interplay among body weight, stress, and the immune response to friend or foe.* J. Clin. Invest. 2003;111:183-185
- 10. Vieira VJ, Ronan AM, Windt M, R Tagliaferro. Elevated atopy in healthy obese women. Am. J. Clin. Nutrition. 2005;82:503-508
- 11.Bischoff SC, Sellge G, Lorentz A, Sebald W, Raab R, Manns MP. *IL-4 enhances proliferation and mediator release in mature human mast cells*. Proc Natl Acad Sci. 1999;96(14):80805
- 12.Mountage Ct, Prins JB, Sanders L, Digby et al. sex specific difference in human leptin mRNA expression implication for the control of regional fat distribution. Diabetes; 1997; 46:342-347
- 13.El Haschimi K, Plerozz DD, Hileman, Bjorbaek C, Filler JS. Two defects contribute to hypoyhalamic resistance in mice with diet induce obesity. J Clin Invest. 2000;105:1827-1832,
- 14.Rosicka M, Krsek M, Moutulek M, et al. Serum Ghrelin levels in obese patient: There relationship to serum leptin levels and soluble leptin reseptor Levels. Physiol Res. 2003;52:61-66
- 15.Knudson JD, Dincer D, Zhang C, Swafford A. Leptin receptors are expressed in coronary arteries, and hyperleptinemia causes significant;2005
- 16. Papathanassoglou E, Li XC, Matarese G, Strom T, Montzzoros C,. Leptin receptor expression and signaling in lymphocytes: kinetics during lymphocyte activation, role in lymphocyte survival, and response to high fat diet in mice. The Journal of Immunology. 2006;176:7745-7752.
- 17.Cunningham. Evaluation of the effects of nutrients on immune function in nutrition and immune function. Frontiers in nutritional science:1.Ed Calder, CJ Field; 2002
- 18. Devereux G. *The immune system in nutrition and immune function*. Frontiers in nutritional science: 1. Ed Calder, CJ Field, 2002
- 19.Shamshiev, Rohrer, Marsland B, Kopf M. Dyslipidemia inhibits Toll-like receptorinduced activation of CD8á-negative dendritic cells and protective Th1 type immunity. JEM. 2007;204 (2):441452
- 20.Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng W, Culpepper J, Devos R. *Identification and expression cloning of leptin receptor*. OB-R. Cell. 1995;83:1263-1271
- 21.Fei H, Okano HJ, Li C, Lee GH, Zhao C, Darnell R, and Friedman J M. *Prod. Natl. Acad. Sci.*, U. S. A. 1997;94:7001-7005
- 22.Devos R, Guisez Y, Van der HJ, et al. Ligandindependent dimerization of the extracellular domain of the leptin receptor and determination of the stoichiometry of leptin binding. J. Biol. Chem.

- 1997;272:1830418310
- 23.Couturier C, Jockers R. Activation of the leptin receptor by a ligand-induced conformational change of constitutive receptor dimers J. Biol. Chem. 2003;26604-26611
- 24.Lord GM, G Matarese, J K Howard, S R Bloom, RI Lechler. Leptin inhibits the anti-CD3-driven proliferation of peripheral blood T cells but enhances the production of proinflammatory cytokines. J. Leukocyte Biol. 2002;72:330.
- 25.Guler N, Kirerleri E, Ones U, et al. *Leptin: Does have any role in childhood asthma?*. J Allergy Clin Immunol. 2005;115:103-109
- 26.Kondo N, Matsui E, Kaneko H, et al. *Atopy and mutations of IL-12 receptor beta 2 chain gene*. Clin Exp Allergy. 2001;31: 11891193.
- 27.Ozaki, Yoh-ichi S, Fukushima A,Masato K. *The control of allergic conjunctivitis by suppressor of cytokine signaling (socs)3 and socs5 in a murine model.* The Journal of Immunology. 2005;175: 54895497.
- 28.Farooqi, Matarese, Lord, et al. Beneficial effects of leptin on obesity, t cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. Clin. I n v e s t . 2 0 0 2; 1 1 0: 1 0 9 3 1 1 0 3
- 29.Kinoshita T, Sawai N, Hidaka E, Yamashita T, Koike K. *Interleukin-6 directly modulates stem cell factor-dependent development of human mast cells derived from CD34(+) cord blood cells.* Blood. 1999;94(2):496508.
- 30.Canfield S, Lee C, Schro der A, Rothman P. The cutting edge: il-4 induces suppressor of cytokine signaling-3 expression in b cells by a mechanism dependent on activation of p38 mapk1. Journal of Immunology. 2005;174:24942498
- 31.Hristova M, Aloe L, Ghenev P, Fiore M, Chadalkove G. *Leptin and mast cell; a novel adipoimmune link*. Turk J Med Sci. 2001;31:581-583