

Disregulasi Sitokin pada Unggas dan Mamalia yang Terinfeksi Virus Avian Influenza

(Cytokines Disregulation in Birds and Mammals Infected by Avian Influenza Virus)

Dyah Ayu Hewajuli dan NLPI Dharmayanti

Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. RE Martadinata No. 30, Bogor 16114
dhewajuli@yahoo.com

(Diterima 28 Agustus 2015 – Direvisi 19 Februari 2016 – Disetujui 8 Maret 2016)

ABSTRACT

Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) virus causes severe dysfunction in nervous system lead to mortality in birds and mammals. The innate immunity plays an important role as initial barrier against the infection that stimulated by recognition of pathogens through Toll like Receptor (TLR). Toll like Receptor activates Nuclear Factor-kappa B cascade pathway. Cytokines are mediators to initiate, proliferate and regulate inflammation against the virus infection. They are classified according to their activities or target cells, such as interferons, interleukins, chemokines, colony stimulating factor, and tumor necrosis factors. The gene expression of cytokine was found in different organs of chicken and mammals infected with HPAI and Low Pathogenic Avian Influenza (LPAI) virus to express immune response against infection. The HPAI and LPAI viruses cause up-regulated and down-regulated cytokines, disruption of cell mediated immune response lead to increased AI virus pathogenicity. The objective of this review is to describe disregulation mechanism of cytokines that increase AI virus pathogenicity in birds and mammals.

Key words: Avian influenza, cytokines, disregulation

ABSTRAK

Virus *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) menyebabkan disfungsi sistem saraf yang parah sehingga menyebabkan kematian pada unggas dan mamalia. Sistem kekebalan bawaan (*innate immunity*) berperan sebagai barrier untuk melawan infeksi virus yang diawali dengan pengenalan patogen melalui *Toll like Receptor* (TLR). Reseptor tersebut mengaktifkan jalur kaskade *Nuclear Factor-kappa B*. Sitokin adalah mediator yang berfungsi untuk mengawasi, memproliferasi dan mengatur peradangan untuk melawan infeksi virus. Sitokin diklasifikasikan berdasarkan aktivitas atau sel target. Beberapa jenis sitokin yaitu interferon, interleukins, chemokines, *colony stimulating factor* dan *tumour necrosis factors*. Ekspresi gen sitokin ditemukan pada berbagai organ ayam dan mamalia yang terinfeksi virus HPAI maupun *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI) sehingga ekspresi ini mengindikasikan respon kekebalan tubuh untuk melawan infeksi. Virus HPAI subtipe H5N1 dan LPAI menyebabkan *up-regulated* dan *down-regulated* sitokin yang menyebabkan rusaknya respon imun *cell mediated* sel sehingga meningkatkan patogenisitas virus AI. Tujuan makalah ini adalah membahas tentang mekanisme disregulasi oleh sitokin yang meningkatkan keganasan virus AI pada unggas dan mamalia.

Kata kunci: Avian influenza, sitokin, disregulasi

PENDAHULUAN

Virus *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) subtipe H5N1 pertama kali diisolasi dari unggas air (angsa lokal) dari Provinsi Guangdong, Tiongkok pada tahun 1996 (Xu et al. 1999). Unggas spesies *Gallinaceaus* sangat peka terhadap infeksi, tetapi ayam kampung dan unggas air liar lebih resisten (Ellis et al. 2004). Penyakit *Avian Influenza* (AI) yang bersifat akut pada unggas akan menunjukkan gejala klinis disfungsi yang parah pada sistem saraf sampai kematian. Virus ini dapat ditularkan antar unggas secara efisien karena virus ini dapat diisolasi dengan titer yang sangat tinggi pada air minum unggas dan unggas lain di sekitarnya (Sturm-Ramirez et al. 2004).

Sistem kekebalan bawaan (*innate immunity*) akan berperan sebagai barrier untuk melawan invasi suatu patogen yang diawali dengan pengenalan patogen oleh reseptor seperti *Toll like Receptor* (TLRs) (Akira et al. 2000). Molekul detektor ini mengaktifkan jalur domain sitoplasmik TLR dan mengaktifkan faktor transkripsi *Nuclear Factor-kappa B* (NF-kB) untuk memulai ekspresi gen yang menandai molekul untuk berproliferasi dan mengatur inflamasi dan kekebalan lain (sitokin dan interferon) (Baek et al. 2009). Golongan sitokin interleukin (IL-12) adalah stimulator utama peradangan, IL-5 sebagai perantara pada aktivasi sel limfosit T *helper*, diferensiasi sel B, produksi IL-13, dan *Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor* (GM-CSF) dan IL-5 sebagai regulator pada

diferensiasi dan proliferasi sel kekebalan (Avery et al. 2004).

Virus HPAI subtipe H5N1 yang bersifat virulen menghambat ekspresi mRNA α -interferon (IFN α) atau β -interferon (IFN β) pada sel embrio ayam sehingga patogenitas virus ayam dipengaruhi oleh kemampuannya untuk melawan respon interferon dari inang (Li et al. 2006b). Perbedaan karakter genetik virus HPAI akan menstimulasi ekspresi sitokin yang berbeda. Virus HPAI *clade* 2.1.1 dan 2.1.3 menunjukkan ekspresi sitokin IFN γ yang tidak berlebihan, mengalami perbedaan ekspresi sitokin IFN γ dan tidak menginduksi ekspresi sitokin TNF α (Dharmayanti et al. 2014). Perubahan asam amino di posisi 191-195 protein NS1 virus HPAI mampu menyebabkan virus ini menjadi tidak virulen (Zhu et al. 2008). Protein non-struktural 1 (NS1) berperan dalam meningkatkan patogenitas virus HPAI karena mengganggu respon kekebalan inang dalam mensekresikan IFN dan antiviral (Mibayashi et al. 2007). Protein non-struktural (NS) virus subtipe H5N1 dalam virus *reassortant* H1N1 menstimulasi *up-regulated* sitokin pro-inflamasi seperti IFN γ , kemokin KC, IL1 α , IL1 β dan IL-6 pada organ paru-paru mencit dan babi sehingga berkontribusi secara langsung dalam meningkatkan virulensi virus HPAI. Namun demikian, infeksi virus *reassortant* H1N1 yang mengandung protein NS virus H5N1 menurunkan konsentrasi sitokin IL10 (*down-regulated* IL-10) pada organ paru-paru mencit dan babi (Lipatov et al. 2005).

Wasilenko et al. (2009) melaporkan bahwa replikasi virus HPAI yang sangat efisien terjadi di paru-paru dan limpa serta diikuti dengan *up-regulated* dari antivirus sitokin seperti IFN α , IFN γ dan gen resisten *orthomyxovirus* 1 (Mx1) sehingga kematian pada ayam berlangsung dengan cepat. Ekspresi antivirus mRNA dan sitokin meningkat pada 24 jam pasca-infeksi, tetapi menurun secara tiba-tiba 32 jam pasca-infeksi. Pada *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI), ekspresi antivirus *messenger* RNA (mRNA) dan sitokin meningkat 24 jam pasca-infeksi, tetapi ekspresi ini baru menurun 48 jam pasca-infeksi (Suzuki et al. 2009). Ueda et al. (2010) melaporkan bahwa virus HPAI subtipe H5N1 menginduksi apoptosis *duck embryonic fibroblast* (DEF) lebih besar daripada virus LPAI. Permeabilitas membran luar dan hilangnya potensi transmembran mitokondria DEF yang diinfeksi virus HPAI menyebabkan disfungsi mitokondria yang akan memicu kematian sel inang secara bertahap. Respon kekebalan inang yang tidak normal akan berpengaruh terhadap keganasan virus (Kobasa et al. 2007). Makalah ini membahas disregulasi (*up-regulated* dan *down-regulated*) sitokin yang akan berpengaruh terhadap keganasan virus AI pada unggas dan mamalia.

PATTERN RECOGNITION RECEPTORS PADA SISTEM KEKEBALAN BAWAAN UNGGAS DAN MAMALIA

Respon kekebalan bawaan bersifat spesifik, diawali oleh reaksi reseptor yang dikenali oleh mikroorganisme. Reseptor tersebut adalah *Pattern Recognition Receptors* (PRRs) dan *Pathogen Associated Molecular Patterns* (PAMPs) (Akira et al. 2000). Reseptor PRRs yang lain, *Toll like Receptors* (TLR), *Nucleotide Binding Oligomerization Domain Proteins* (NOD), RNA *helicases* seperti *Retinoic Acid Induce-ible Gen 1* (RIG-1) atau MDA5, *lectin* tipe C mampu menghambat respon sinyal intraseluler untuk mengaktifkan gen yang memproduksi sitokin. Kombinasi TLR2 dan NOD2, TLR5 dan NOD2, TLR5 dan TLR3 serta TLR5 dan TLR 9 menunjukkan sinergisme yang baik dalam memproduksi sitokin sedangkan kombinasi TLR4 dan TLR2, TLR4 dan Dectin-1, TLR2 dan TLR9 serta TLR3 dan TLR2 menghambat produksi sitokin (Timmermans et al. 2013).

Respon kekebalan bawaan memiliki sel efektor seperti neutrofil atau heterofil, sel *Natural Killer* (NK) dan *Dendritic Cell* (DC), menghasilkan sitokin dan kemokin yang mendorong respon inflamasi dan respon fase akut, mempengaruhi respon kekebalan adaptif, serta menyajikan antigen patogen pada respon kekebalan adaptif yaitu *Major Histocompatibility Complex* (MHC) melalui *Antigen Presenting Cell* (APC) (Iwasaki & Medzhitov 2010). Inang pertama kali merespon infeksi mikroba melalui pengenalan komponen virus dengan PRRs yang ditemukan pada sel kekebalan bawaan seperti sel dendritik, makrofag, limfosit, sel endotel, sel epitel mukosa dan fibroblas (Iqbal et al. 2005). Reseptor ini berikatan dengan antigen eksogen dan endogen serta PAMPs yang diekspresikan pada permukaan patogen, seperti lipopolisakarida (LPS), asam lipoteikoat, flagellin dan peptidoglikan atau patogen asam nukleat, seperti RNA untai tunggal (ssRNA), RNA untai ganda (dsRNA) atau CpG DNA (Liu et al. 2008). Beberapa PRRs ditemukan pada sitosol. *Toll like Receptor*, *RIG-I like receptor* (RLR) dan *NOD like receptor* (NLR), yang berperan penting dalam pengenalan virus dsRNA, ssRNA dan DNA dalam sitosol (Kanneganti et al. 2007).

Berdasarkan fungsinya, PRRs terbagi atas sinyal PRRs dan *endocytic* PRRs atau menurut lokasi yaitu PRRs terikat membran atau PRRs sitoplasma. Permukaan sel inang mengekspresikan TLRs yang mengenal komponen permukaan sel patogen, sedangkan vesikel endositik terutama mengekspresikan molekul yang mengenali patogen asam nukleat. *Toll like receptor* adalah PRR terikat membran yang mengenal

lipid patogen, protein dan asam nukleat. *Toll like receptor* dan RLR berperan penting untuk produksi interferon tipe I (IFN) dan berbagai sitokin (Yoneyama et al. 2004), sedangkan NLR berfungsi dalam pengaturan interleukin-1 β (IL-1 β) (Kanneganti et al. 2007).

Toll like Receptor adalah jenis protein transmembran I yang terdiri dari domain N-terminal ekstraseluler yang mengandung *Leucine Rich Repeat* (LRR) yang sebagai perantara untuk deteksi PAMPs, domain transmembran dan domain intraseluler *Tol-interleukin 1 (IL-1) receptor* (TIR) yang berfungsi dalam transduksi sinyal (Rock et al. 1998). Reseptor TLRs merupakan keluarga PRRs yang telah dikarakterisasi dengan baik. Ayam memiliki beberapa TLRs yang mirip (ortholog) terhadap manusia dan TLRs spesifik yang bersifat seperti TLRs pada mamalia dalam merespon infeksi mikroba (Kogut et al. 2006). Beberapa TLRs pada ayam yang spesifik terhadap ligannya ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. TLRs pada ayam dan ligannya

TLRs ayam	Ligan
TLR1LA/B	Lipoprotein
TLR2A/B	Lipoprotein dan peptidoglikan
TLR3	ds RNA, <i>poly I : C</i>
TLR4	Lipopolisakarida (LPS)
TLR5	Flagelin
TLR7	ssRNA
TLR15	<i>Yeast</i> (jamur)
TLR21	dsRNA, CpG oligodeoksinukleotida

Sumber: Gupta et al. (2014)

Lima TLR unggas (chTLR2, 4, 5 dan 7) bersifat ortholog terhadap gen mamalia (chTLR2a dan chTLR2b), tetapi chTLR1La dan chTLR1Lb hanya spesifik pada unggas. Gen TLR5 unggas yang polimorfik merupakan molekul yang kemungkinan berhubungan dengan pertahanan unggas atau kerentanan unggas terhadap penyakit infeksius (Ruan et al. 2012). Sampai saat ini, TLR15 telah ditemukan pada genom beberapa unggas seperti ayam, angsa dan burung puyuh pada jantung, hati, usus, bursa, sumsum tulang, otot dan limpa (Ramasamy et al. 2012). *Toll like Receptor 15* (TLR15) unggas berperan dalam kekebalan tubuh inang melawan virus (Jie et al. 2013). Gen chTLR2, 3, 4 dan 21 yang berada pada sel CD4 + T, serta transkrip chTLR2 dan chTLR3 ditemukan dalam jumlah yang banyak pada ayam (Paul et al. 2012). Sel CD4 + T unggas berperan untuk melawan infeksi virus (Iqbal et al. 2005).

Infeksi virus HPAI subtype H5N1 menyebabkan *up-regulation* ekspresi MdTLR3 yang mirip dengan

TLR3 secara signifikan di otak itik pada 48 jam pasca-infeksi (pi), menyebabkan *down-regulation* MdTLR3 di limpa dan paru (Jiao et al. 2012). Ekspresi TLR3 diregulasi di otak burung merpati yang terinfeksi virus HPAI subtype H5N1 sedangkan korelasi ekspresi TLR3 dengan replikasi virus di paru-paru berbanding terbalik (Hayashi et al. 2011). *Toll like Receptor 7* atau 8 peka terhadap virus *single stranded RNA* (ssRNA). *Toll like Receptor 7* (TLR7) ortholog telah ditemukan pada genom ayam dan burung zebra finch (Temperley et al. 2008). Ekspresi goTLR7, MyD88 dan molekul antivirus lainnya diregulasi di paru-paru pada awal fase infeksi virus HPAI subtype H5N1. Virus HPAI subtype H5N1 dapat mengaktifkan goTLR7 melalui jalur yang tergantung pada *myeloid differentiation factor 88* (MyD88), serta goTLR7 dalam respon kekebalan bawaan (Wei et al. 2013).

Retinoic Acid Induce-ible Gene I (RIG-I) like Receptor (RLR) terdiri dari tiga kelompok yaitu RIG-I, *melanoma differentiation associated gen 5* (MDA5) dan laboratorium genetika dan fisiologi 2 (LGP2). *Retinoic acid induce-ible gen 1* termasuk dalam keluarga IFN stimulated gen (ISG) dan diekspresikan dalam jumlah besar di sitoplasma. Gen RIG-I mendeteksi asam nukleat virus dalam sitosol dan mengaktifasi sinyal kaskade serta memulai respon sebagai antivirus dengan memproduksi IFN (Yoneyama et al. 2004). *Retinoic acid induce-ible gen 1* berikatan secara spesifik dengan virus RNA tetapi tidak berikatan dengan virus dsDNA (Samanta et al. 2006). Virus HPAI subtype H5N1 menyebabkan *up-regulation* ekspresi RIG-1 pada paru-paru itik, tetapi ekspresi RIG-1 tidak ditemukan pada itik yang diinfeksi virus HPAI subtype H5N2 (Barber et al. 2010). *Melanoma differentiation associated gen 5* dan RIG-1 merupakan PRRs sitosolik utama yang mendeteksi asam nukleat virus dan menyebabkan aktivasi sistem interferon. Aktivasi MDA5 dan RIG-1 memulai transduksi sinyal yang menyebabkan sekresi IFN tipe I dan sitokin lainnya (Pichlmair et al. 2006).

SITOKIN

Sitokin adalah mediator peptida yang disekresikan oleh sel *hematopoietic* atau *non-hematopoietic* yang dapat menghambat atau meningkatkan proliferasi, diferensiasi, aktivasi dan pergerakan sel, serta berperan penting dalam kekebalan dan produksi sitokin lainnya (Timmermans et al. 2013). Respon yang ditimbulkan oleh sitokin tergantung pada jenis sitokin dan sel target. Penamaan produk sitokin oleh sel penghasilnya adalah limfokin yang dihasilkan oleh sel limfosit dan monokin yang dihasilkan oleh makrofag dan monosit aktif sedangkan penamaan produk sitokin berdasarkan fungsinya seperti interferon, *growth factor* dan *colony stimulating factor*. Beberapa jenis sitokin yaitu

interferon, interleukins, chemokines, *colony stimulating factor* dan *tumour necrosis factors* (Tisoncik et al. 2012). Beberapa jenis sitokin telah diidentifikasi berdasarkan aktivitas atau fungsinya seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Tipe dan fungsi sitokin

Jenis	Fungsi
Interferon	Regulasi kekebalan bawaan, aktivasi komponen antivirus efek antiproliferatif
Interleukin	Perkembangan dan diferensiasi leukosit, serta proinflamasi
Kemokin	Mengontrol kemotaksis, rekrutmen leukosit dan proinflamasi
<i>Colony stimulating factor</i>	Stimulasi hematopoietik, proliferasi dan diferensiasi sel progenitor
<i>Tumor necrosis factor</i>	Proinflamasi, aktivasi sel limfosit T sitotoksik

Sumber: Tisoncik et al. (2012)

INTERFERON

Interferon dibedakan atas interferon tipe I yaitu IFN α , IFN β , IFN ω dan IFN τ . Interferon tipe 2 yaitu IFN γ . Infeksi virus menyebabkan sebagian besar *Dendritic Cell* (pDC) yang distimulasi oleh TLR7 atau TLR9 memproduksi IFN tipe I melalui jalur sinyal MyD88 (Kawai et al. 2004). Sel makrofag, dendritik, fibroblas diinduksi RNA *cytoplasmic* untuk memproduksi IFN tipe I melalui jalur sinyal yang diperantarai RLR atau distimulasi oleh TLR3 atau TLR4 (Kato et al. 2005).

Respon interferon tipe I memerlukan reseptor kompleks yaitu *Interferon α Receptor 1* (IFNAR1) dan *Interferon α Receptor 2* (IFNAR2) (Leyva et al. 2005), melalui aktivasi IFN tipe I melalui *Janus kinase* (JAK) 1 dan Tyk2 tirosin kinase. *Janus kinase 1* dan Tyk2 kinase mengaktifkan beberapa kaskade sinyal pada respon IFN tipe I (de Weerd et al. 2007). Interferon tipe I (α dan β) yang tersekresikan berikatan dengan reseptor IFN tipe I kemudian mengaktifasi kinase yang berikatan dengan reseptor JAK1 dan Tyk2 yang sebagai transduksi sinyal fosforilat dan aktivator transkripsi *phosphorylation of signal transducer and activator of transcription* (STAT) 1 dan 2 (Goodbourn et al. 2000).

Protein phosphorylation of signal transducer and activator of transcription membentuk suatu kompleks dengan IRF9 yang merupakan protein IFN *regulatory factor* lalu membentuk IFN *stimulated* gen 3 (ISGF3). Produk IFN *stimulated* gen (ISG) akan menghasilkan

antivirus dalam sel target yang akan memblokir replikasi virus. Produksi IFN akan melindungi sel dan mencegah replikasi dan pertumbuhan virus lebih lanjut (Krishnamurthy et al. 2006). Ikatan IFN tipe I dengan reseptornya akan mengaktifkan jalur kaskade yang menyebabkan fosforilasi STAT 1 dan STAT 2 (Brierley & Fish 2005). Ikatan IFN α dengan reseptor IFN tipe I akan mengaktifasi p38 MAP kinase jalur substrat pada transkripsi gen. Protein p38 merupakan golongan *Mitogen Activated Protein* (MAP) kinase yang berperan pada berbagai macam sinyal (Katsoulidis et al. 2005).

Reseptor IFN tipe II yang terdiri dari subunit *Interferon γ Receptor* (IFNGR) 1 dan IFGR2 juga berhubungan dengan JAK1 dan JAK2 yang mengaktifkan IFN tipe II yang tergantung jalur JAK-STAT untuk menghasilkan respon IFN γ . Tingkat ekspresi IFNGR2 yang rendah pada membran sel T berfungsi merespon terhadap IFN γ serta menstimulasi proliferasi sel tetapi tidak memicu jalur apoptosis. Tingkat ekspresi IFNGR2 yang tinggi pada permukaan sel T mampu menginduksi sinyal apoptosis (Bernabei et al. 2001).

Interferon tipe III atau IFNs lambda (IFN λ), IFN baru yang mengandung antivirus untuk melawan infeksi virus influenza tipe A (Mordstein et al. 2008). Interferon λ dibedakan menjadi tiga subtipe yaitu IFN- λ 1, - λ 2 dan - λ 3, atau yang dikenal sebagai interleukin-29 (IL-29), IL-28A dan IL-28B. Interferon λ dan IFN tipe I menginduksi transduksi sinyal yang sama melalui jalur sinyal JAK-STAT. Namun, IFN tipe III memiliki fungsi yang berbeda dengan IFN tipe I karena IFN tipe III berikatan dengan kompleks reseptor yang berbeda dari kompleks reseptor IFN tipe I (Zhou et al. 2007). Interferon dapat mencegah replikasi virus, mengaktifkan diferensiasi, pertumbuhan, pengekspresian antigen permukaan dan imunoregulasi sel (Zhu et al. 2005).

Virus dapat menghambat produksi IFN, mengganggu jalur sinyal IFN serta menghambat protein antivirus yang diinduksi oleh IFN. Beberapa antagonis IFN telah dapat diidentifikasi dari virus RNA maupun DNA (Gotoh et al. 2003). Protein NS1 virus AI dapat menghambat fungsi protein antivirus sitoplasma yaitu 2'-5'-oligoadenylate synthetase (OAS) (Min & Kfrug 2006) dan dsRNA-dependent *serine/threonine protein kinase* R (PKR) (Min et al. 2007). Ikatan protein NS virus influenza tipe A dengan PKR mengganggu aktivitas atau replikasi dsRNA (Li et al. 2006a).

INTERLEUKIN

Interleukin (IL) berfungsi untuk diferensiasi dan aktivasi sel kekebalan, terdiri dari pro atau anti-inflamasi yang menimbulkan berbagai macam respon

seperti semua sitokin lainnya (Brocker et al. 2010). Interleukin-1 (IL-1) dibedakan menjadi tiga bentuk yaitu IL1 α , IL1 β dan IL-1 α . Interleukin 1 α dan IL1 β berdasarkan aktivitasnya yang menyebabkan peradangan pada jaringan tubuh (Dinarello 2005).

Interleukin α disekresikan oleh sel yang mengalami apoptosis serta berfungsi sebagai faktor transkripsi (Carmi et al. 2009). *Inflammasomes* merupakan kompleks makromolekul sitosolik yang terdiri dari golongan *nucleotide-binding domain and leucine rich repeat containing receptor* (NLR) yang memproduksi IL-1 β dan IL-18 dalam melawan patogen serta aktivitasnya diregulasi oleh IFN tipe I (Guarda et al. 2011). Aktivitas IL-1 diperantarai oleh IL-1 *receptor* (IL-1RI) yang berperan dalam memberikan sinyal. Interleukin 1 β (IL-1 β) adalah sitokin pro-inflamasi yang dihasilkan oleh sel *Natural Killer* (NK), sel B, sel dendritik, fibroblast dan sel epitel (Ben-sasson et al. 2009). Interleukin 1 β disintesis sebagai suatu prekursor yang dipecah oleh *caspase1* yang diaktivasi oleh *inflammasome* (Ravikumar et al. 2009). Interleukin 1 β berfungsi sebagai kemoatraktan terhadap granulosit untuk meningkatkan perkembangan dan diferensiasi sel T CD4 khususnya sel yang memproduksi IL-17 dan IL-4 (Ben-sasson et al. 2009). Interleukin 1 β menimbulkan respon fase akut dan meningkatkan respon kekebalan (Schmitz et al. 2005).

Respon fase akut ditandai oleh aktivasi sel fagosit sekitar area peradangan dan sel non-kekebalan (*fibroblast* dan epitel) untuk memproduksi sitokin pro-inflamasi yang mengawali respon kekebalan serta sitokin anti-inflamasi yang diproduksi di akhir respon kekebalan. Tubuh akan membatasi respon dengan kematian sel atau apoptosis (Kroemer et al. 2009) lalu menginduksi sitokin anti-inflamasi seperti TGF β , IL-10 (Freire-de-Lima et al. 2006). Interleukin 18 dapat meringankan demam yang diinduksi oleh IL-1 β karena IL-18 menggunakan jalur MAPK p38 untuk menghambat jalur sinyal NF-kB MAPK p38 yang digunakan oleh IL-1 β (Lee et al. 2004) dan bekerja pada sel T-*helper* 1 (Bryson et al. 2008) yang menginduksi IFN- γ . Interleukin 18 disintesis menjadi bentuk bioaktif yang matang dan bersama dengan IL-12 akan menstimulasi sel T dan NK (Lee et al. 2004).

Interleukin 12 dihasilkan oleh monosit, makrofag dan APC lainnya, terdiri dari subunit p40 dan p35 dengan sinyal heterodimer melalui reseptor IL12 (IL12R). Interleukin 12 menginduksi *Tumor Necrosis Factor* (TNF) dan IFN- γ dengan menstimulasi Th1 (Vasconcellos et al. 2011). Interleukin 12 menstimulasi aktivitas non-reseptor JAK2 dan Tyk2 yang menghasilkan STAT terutama STAT4. Interleukin 23 juga mengaktivasi JAK dan molekul sinyal STAT seperti IL-12 (Parham et al. 2002) dan IFN γ dan mengaktivasi sel T untuk melawan infeksi. Sitokin TGF β , IL-1 dan IL-6 menginduksi ekspresi *retinoic*

acid receptor-related orphan receptor- γ (ROR γ t) yaitu suatu faktor transkripsi yang mempromosikan ekspresi IL23R (Ivanov et al. 2006).

Interleukin 6 mengatur proses inflamasi selama perbaikan jaringan dalam respon kekebalan serta metabolisme (Scheller et al. 2011). Interleukin ini mempromosikan diferensiasi sel B menjadi sel plasma, mengaktivasi sel T sitotoksik serta mengatur homeostasis, merupakan *endogenous pyrogen* yang menstimulasi demam dan produksi protein pada fase akut (Barkhausen et al. 2011). Sinyal yang ditimbulkan oleh IL-6 menyebabkan rekrutmen monosit ke daerah inflamasi (Hurst et al. 2001), mempromosikan sel Th17 serta menghambat apoptosis sel T. Sinyal IL-6 berperan sebagai perantara dalam menghambat apoptosis serta regenerasi sel epitel saluran pencernaan (Scheller et al. 2011). Selain itu, IL-6 merupakan sitokin terlarut yang disintesis pada retikulum endoplasma serta mengawali akumulasi di *aparatus golgi* setelah empat jam stimulasi oleh makrofag (Manderson et al. 2007).

KEMOKIN

Ikatan kemokin dan reseptor menginduksi sinyal yang diperantarai oleh *transmembrane G-protein coupled receptors* (GPCRs) sehingga menyebabkan kemotaksis, induksi degranulasi leukosit dan fagositosis serta *respiratory burst* (Carrillo et al. 2003). Kemokin dibedakan menjadi sub-famili berdasarkan susunan dasar residu *cysteine* pada N terminal yang *conserved* yaitu CXC, CC, C dan CX3C. Kemokin CXC seperti monokin yang diinduksi oleh IFN- γ menghambat perkembangan sel kanker dan metastasis (Iwakiri et al. 2009). Kemokin berfungsi sebagai kemoatraktan untuk mengontrol perpindahan sel sistem kekebalan (Boldajipour et al. 2008) serta berkontribusi dalam proses embriogenesis, perkembangan dan fungsi kekebalan bawaan dan adaptif serta metastasis kanker (Iwakiri et al. 2009).

Gangguan fisiologis seperti stres dapat menginduksi ekspresi beberapa mRNA kemokin seperti motif C-C *ligand 1 inflammatory* (CCLi1), motif C-C *ligand 2 inflammatory* (CCLi2), motif C-C *ligand 5* (CCL5), motif C-C *ligand 16* (CCL16), motif C-X-C *ligand 1 inflammatory* (CXCLi1), motif C-X-C *ligand 2 inflammatory* (CXCLi2), CXC *chemokine receptor 1* (CXCR1) dan CXC *chemokine receptor 4* (CXCR4) pada sel heterofil dan limfosit perifer ayam (Shini et al. 2010). Sel endotel juga mengekspresikan kemokin CC seperti CCR2 yaitu kemokin pro-inflamasi yang berperan penting sebagai mediator *neovascularization* pada angiogenesis (Keeley et al. 2008).

Sebagian besar kemokin adalah pro-inflamasi yang disekresikan oleh sel dalam merespon infeksi

virus atau mikroba lainnya. Sekresi kemokin pro-inflamasi kemungkinan disebabkan oleh infeksi oleh organisme patogen atau stimulasi sitokin seperti IL-1 β , TNF dan IFN γ . Pelepasan kemokin pro-inflamasi menyebabkan rekrutmen sel sistem kekebalan yaitu neutrofil, monosit atau makrofag dan limfosit ke daerah infeksi. Kemokin biasanya menarik sel sistem kekebalan spesifik yang berperan dalam pemulihan luka (Ishida et al. 2008) dan melawan infeksi virus (Li et al. 2000).

COLONY STIMULATING FACTOR

Colony Stimulating Factor (CSFs) disebut juga faktor pertumbuhan *haemopoietic* yang mengatur produksi sel-sel sumsum tulang seperti sel darah merah, sel darah putih dan platelet. *Colony Stimulating Factor* berfungsi untuk diferensiasi sel *progenitor haemopoietic* atau *stem cell*. Salah satu regulator penting dari makrofag homeostasis adalah makrofag *colony stimulating factor* atau CSF 1 yang berfungsi sebagai faktor-faktor pertumbuhan *haemopoietic* untuk menstimulasi perkembangan makrofag di sumsum tulang. *Colony Stimulating Factor-1* juga dapat diproduksi makrofag yang direkrutnya sendiri (Irvine et al. 2006) dan berfungsi juga untuk meningkatkan jumlah makrofag yang memproduksi sitokin di area yang mengalami peradangan serta menjadi bagian dari reaksi kaskade yang berfungsi untuk memperpanjang reaksi inflamasi atau peradangan (Tisoncik et al. 2012). *Macrophage Colony Stimulating Factor* (M-CSF) atau CSF-1 dan GM-CSF menginduksi profil sitokin yang berbeda. *Macrophage Colony Stimulating Factor* menginduksi ekspresi gen *Interferon Regulated Factor 4* (IRF4), tetapi GM-CSF menstimulasi ekspresi gen *Interferon Regulated Factor 5* (IRF5) (Lacey et al. 2012).

TUMOR NECROSIS FACTOR

Tumor Necrosis Factor α merupakan glikoprotein dengan 185 asam amino yang mampu menginduksi nekrosis pada tumor dan berperan penting dalam *septic shock*. Sitokin ini dalam hipotalamus menstimulasi pelepasan hormon yang mengeluarkan *corticotropic* dan menginduksi demam. *Tumor Necrosis Factor* menginduksi vasodilatasi dan hilangnya permeabilitas vaskuler yang menyebabkan infiltrasi sel limfosit, neutrofil dan monosit. Virus LPAI maupun HPAI menyebabkan limfopenia dan peningkatan sekresi sitokin pro-inflamasi seperti TNF α , IL-6 dan CCL2. Sekresi sitokin pro-inflamasi yang berlebihan berpengaruh pada keparahan gejala klinis yang ditimbulkan oleh virus HPAI antara lain menyebabkan peradangan pada paru-paru (Salomon et al. 2007).

Ekspresi sitokin TNF α ditemukan dalam jumlah besar pada 3-5 hari pasca-infeksi virus LPAI atau HPAI, tetapi ekspresi sitokin menurun pada lebih dari lima hari pasca-infeksi virus HPAI sehingga ekspresi TNF α berkontribusi terhadap patogenisitas yang ditimbulkan virus HPAI pada awal infeksi (Tumpey et al. 2000). *Tumor Necrosis Factor Related Apoptosis-Inducing Ligand* (TRAIL) dikarakterisasi menjadi *Death Receptor Ligands* (DRLs), TNF α dan *Fas ligand* (FasL). *Death Receptor* dan ligannya berperan penting dalam respon kekebalan bawaan dan dapatan melawan patogen dengan mengatur kematian dan survival sel. Induksi ekspresi mRNA TNF α dan TRAIL tergantung pada replikasi virus. Infeksi virus AI subtype H5N1 meningkatkan kepekaan sel T terhadap apoptosis yang diinduksi oleh TNF α , TRAIL dan FasL. *Related Apoptosis-Inducing Ligand* yang dihasilkan oleh sel makrofag yang diinfeksi virus HPAI bersifat sitotoksik dan kepekaannya tinggi terhadap apoptosis yang diinduksi oleh DRL sehingga TRAIL berkontribusi pada patogenisitas yang ditimbulkan oleh infeksi virus HPAI (Zhou et al. 2006).

UP-REGULATED DAN DOWN-REGULATED CYTOKINE

Fenotipe *up-regulated* dan *down-regulated* IFN dipengaruhi oleh karakter virus AI dan protein penyusunnya (Lipatov et al. 2005). *Up-regulated* dan *down-regulated* sitokin yang disebabkan oleh infeksi virus diperantarai oleh PRRs seperti TLR dan RIG 1 *like receptors* (MDA5 dan RIG 1). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa virus HPAI bereplikasi dengan cepat dan titer yang tinggi pada unggas (Suzuki et al. 2009). Selain replikasi virus, ekspresi sitokin yang berlebihan (*up-regulated*) selama infeksi virus HPAI juga berkontribusi terhadap kematian (Karpala et al. 2011a; Moulin et al. 2011). Gangguan respon kekebalan yang disebabkan oleh virus HPAI merupakan salah satu faktor yang berkontribusi dalam patogenisitas virus HPAI (Tumpey et al. 2000). Respon sitokin pro-inflamasi yang berlebihan menyebabkan respon kekebalan yang diperantarai sel menjadi terganggu dan berkontribusi dalam meningkatkan patogenisitas virus HPAI (Cornelissen et al. 2013). *Down-regulated cytokine* juga menyebabkan gangguan respon kekebalan dalam melawan infeksi virus AI (Schmitz et al. 2005).

Up-regulated cytokine

Virus AI dapat dideteksi pada *dendritic cell* (DCs) paru-paru, yang berperan penting sebagai penghubung antara sistem kekebalan bawaan dan dapatan yang berfungsi untuk membunuh virus. Infeksi virus AI pada

DC akan menginduksi pematangan dan aktivasi DCs yang kemudian menimbulkan respon kekebalan bawaan dan didapat dalam melawan virus AI. Virus AI dapat menginduksi mediator antivirus terutama IFN tipe I yang pertama kali berfungsi untuk membatasi replikasi virus AI. Sekresi sitokin inflamasi seperti IL-6 dan TNF α yang berkontribusi untuk rekrutmen DCs dan sel inflamasi lainnya menuju ke arah bagian infeksi serta melakukan *up-regulation* MHC II, CD40, CD83, CD86, CCR7 yang sangat diperlukan untuk migrasi DCs serta menstimulasi perkembangan sel T dan B *naïve* (Thitithanyanont et al. 2007).

Dendritic cell berkontribusi pada terjadinya sekresi sitokin yang berlebihan yang menyebabkan gejala klinis yang parah (de Jong et al. 2006). Infeksi virus *reassortant* (*avian* H5N1 dan H1N1) meningkatkan aktivasi *porcine* GM-CSF-induced DCs sehingga menyebabkan respon *up-regulated* IFN tipe 1, MHC II dan NF- κ B. Aktivasi DCs yang meningkat mempunyai kerugian atau keuntungan. Stimulasi respon kekebalan bawaan yang berlebihan menyebabkan kerusakan jaringan yang parah atau terganggunya respon kekebalan tubuh dalam melawan infeksi virus AI *reassortant* yang mengandung gen PB2 (Ocaña-Macchi et al. 2012). Subset DC berdasarkan fungsinya dibedakan menjadi dua yaitu *conventional dendritic cell* (cDC) dan *plasmacytoid dendritic cell* (pDC). *Plasmacytoid dendritic cell* merupakan tipe sel yang spesifik untuk memproduksi IFN. Subset DC mempunyai karakter fenotipe yang sama pada beberapa mamalia seperti kambing, mencit dan manusia (Contreras et al. 2010). Frekuensi pDC yang meningkat pada jaringan limfoid mamalia diasumsikan mempunyai pola yang sama pada sistem kekebalan ayam dalam menimbulkan respon kekebalan sistemik. *Plasmacytoid dendritic cell-like leukocytes* dalam sistem kekebalan ayam menyebabkan respon *up-regulated* IFN selama infeksi virus HPAI subtype H5N1. Beberapa organ seperti paru-paru, plasma dan limpa yang terinfeksi virus HPAI mensekresikan IFN dengan titer tinggi (*up-regulated* IFN) (Moulin et al. 2011).

Ekspresi gen sitokin ditemukan pada berbagai organ ayam yang terinfeksi virus HPAI subtype H5N1 sehingga ekspresi ini mengindikasikan respon kekebalan tubuh dalam melawan infeksi. Virus HPAI subtype H5N1 menyebabkan *up-regulated* sitokin IL-12 dan IFN γ yang berhubungan T *helper* 1 (Th1) pada organ ayam (Karpala et al. 2011a). Virus LPAI menimbulkan respon sitokin pro-inflamasi seperti IL1 β , IL 6 dan IFN yang berbeda pada berbagai spesies. Infeksi virus LPAI subtype H11N9 menyebabkan *up-regulated* IL1 β dan IL 6 pada *peripheral blood mononuclear cells* (PBMC) ayam dan mamalia tetapi tidak menstimulasi sekresi sitokin tersebut pada PBMC itik. Ekspresi IFN γ lebih tinggi pada PBMC ayam daripada itik, tetapi ekspresi

IL2 lebih tinggi pada PBMC itik daripada ayam. Interferon α diekspresikan dengan titer yang sama pada PBMC ayam dan itik (Adam et al. 2009).

Namun demikian, hasil penelitian lain menunjukkan bahwa ayam yang diinfeksi virus AI mengalami *up-regulated* IFN β dan IFN γ . *Up-regulated* IFN menyebabkan titer virus AI menjadi rendah dan periode shedding virus menjadi singkat (Lipatov et al. 2005). Barber et al. (2010) melaporkan ayam yang tidak memiliki reseptor RIG1 mengalami gejala klinis yang sangat parah disebabkan oleh infeksi virus HPAI, tetapi Karpala et al. (2011b) melaporkan *up-regulated* reseptor MDA 5 selama infeksi virus HPAI pada ayam. Molekul reseptor MDA 5 dapat berfungsi sebagai pengganti RIG1 dalam memulai respon kekebalan melawan infeksi virus HPAI pada ayam (Liniger et al. 2012). Molekul TLR7 dan MHC I ditemukan pada ayam, itik dan mamalia, tetapi MHC II hanya ditemukan pada itik dengan titer yang sangat kecil. Ekspresi beberapa sitokin juga dipengaruhi oleh masa inkubasi virus. Virus LPAI menginduksi IL-2 ayam dengan titer sangat tinggi (*up-regulated*) pada awal infeksi (Adam et al. 2009). Infeksi virus HPAI menyebabkan *up-regulated* sitokin pro-inflamasi seperti IFN β , IFN γ , TLR3 dan MDA 5 pada ayam setelah satu hari infeksi, tetapi infeksi virus menyebabkan *down-regulated* sitokin IL-6, IL1 β , iNOS yang diikuti dengan hambatan aktivasi respon TLR7, RIG 1, MDA 5 dan IFN γ pada itik setelah delapan jam infeksi (Cornelissen et al. 2013).

Down-regulated cytokine

Beberapa organ seperti paru-paru, plasma dan limpa yang terinfeksi virus LPAI hanya mensekresikan IFN dalam jumlah kecil (*down-regulated* IFN) (Moulin et al. 2011). Virus LPAI hanya menginduksi IL-2 itik dengan titer yang rendah (*down-regulated*) pada akhir infeksi (Adam et al. 2009). Infeksi virus LPAI subtype H11N9 menyebabkan *down-regulated* IFN β pada PBMC itik (Adam et al. 2009). Noah et al. (2003) juga melaporkan bahwa ekspresi IFN- β diidentifikasi lebih tinggi pada ayam daripada itik, tetapi IFN γ diekspresikan dengan titer yang sama pada kedua spesies tersebut. *Down-regulated* IFN β itik disebabkan oleh adanya ekspresi NS1A yaitu suatu imunomodulator yang dikode virus AI yang akan menekan ekspresi IFN β pada sel epitel (Noah et al. 2003).

Down-regulated IFN berhubungan dengan titer virus AI yang tinggi dan masa *shedding* virus lebih lama (Lipatov et al. 2005). Mekanisme respon *down-regulated* IFN tipe 1 pada sel epitel saluran pernafasan yang terinfeksi virus HPAI subtype H5 dan H7 diduga sebagai salah satu faktor penyebab patogenisitas virus HPAI karena *down-regulated* IFN tipe 1 dapat

menghambat respon kekebalan tubuh sehingga virus HPAI dapat bereplikasi dengan cepat di sel saluran pernafasan (Kobasa et al. 2007). *Down-regulated* IL1 β berkontribusi dalam menimbulkan keparahan gejala klinis karena IL-1 menginduksi respon kekebalan bawaan melalui aktivasi sel limfosit T CD4 di organ limfoid sekunder kemudian bermigrasi ke paru-paru yang terinfeksi virus HPAI. Interleukin 1 berikatan dengan reseptor IL-1R1 untuk memulai aktivitasnya, lalu memicu peradangan akut pada paru-paru inang (Schmitz et al. 2005).

Virus HPAI subtipe H5N1 menurunkan jumlah limfosit CD4 dan CD8 melalui apoptosis sehingga menyebabkan *down-regulated* IFN γ , IL1 β dan protein makrofag pro-inflamasi. *Lymphopenia* merupakan gejala yang sering ditemukan akibat infeksi virus HPAI subtipe H5N1. *Lymphopenia* merupakan abnormalitas sel limfosit dan leukosit dengan jumlah yang sangat kecil dalam darah. Virus HPAI subtipe H5N1 menyebabkan apoptosis sel epitel alveolar. Kerusakan sel epitel alveolar menyebabkan peradangan paru-paru serta apoptosis leukosit. Penurunan jumlah sel limfosit dan leukosit sebagai akibat apoptosis merupakan mekanisme yang berkontribusi dalam patogenisitas virus HPAI subtipe H5N1 (Uprasertkul et al. 2007). Virus HPAI menyebabkan *down-regulated cytokine intracytoplasmic factor* GATA 3 (Karpala et al. 2011a).

KESIMPULAN

Sitokin (interleukin, *chemokine*, CSF dan TNF) adalah mediator penting dalam kekebalan tubuh yang bertanggung jawab untuk memulai, memperbanyak dan mengatur peradangan dalam melawan infeksi virus AI. Interferon berfungsi untuk regulasi kekebalan bawaan, aktivasi komponen antivirus dan efek proliferasi. Interleukins berperan sebagai stimulator perkembangan dan diferensiasi leukosit serta pro-inflamasi. *Chemokines* berfungsi untuk mengontrol kemotaksis, rekrutmen leukosit dan pro-inflamasi. *Colony Stimulating Factor* berperan sebagai stimulator hematopoietik, proliferasi dan diferensiasi sel progenitor. *Tumour Necrosis Factors* berfungsi untuk pro-inflamasi dan aktivasi sel limfosit T sitotoksik. Virus AI dapat menyebabkan *up-regulated* dan *down-regulated cytokine*. *Up-regulated* dan *down-regulated* sitokin dipengaruhi oleh karakter virus AI dan protein penyusunnya serta spesies inang dan menyebabkan gangguan respon kekebalan yang diperantarai sel sehingga berkontribusi untuk meningkatkan patogenisitas virus AI.

DAFTAR PUSTAKA

Adam SC, Xing Z, Li J, Cardona CJ. 2009. Immune-related gene expression in response to H1N1 low

pathogenic avian influenza virus infection in chicken and Pekin duck peripheral blood mononuclear cells. *Mol Immunol*. 46:1744-1749.

Akira S, Hoshino K, Kaisho T. 2000. The role of Toll-like Receptors and MyD88 in innate immune responses. *J Endotoxin Res*. 6:383-387.

Avery S, Rothwell L, Degen WD, Schijns VE, Young J, Kaufman J, Kaiser P. 2004. Characterization of the first nonmammalian T2 cytokine gene cluster: The cluster contains functional single-copy genes for IL-3, IL-4, IL-13, and GM-CSF, a gene for IL-5 that appears to be a pseudogene, and a gene encoding another cytokine like transcript. *J Interf Cytokine Res*. 24:600-610.

Baek Y-S, Haas S, Hackstein H, Bein G, Hernandez-Santana M, Lehrach H, Sauer S, Seitz H. 2009. Identification of novel transcriptional regulators involved in macrophage differentiation and activation in U937 cells. *BMC Immunol*. 10:10-18.

Barber MR, Aldridge JRJ, Webster RG, Magor KE. 2010. Association of RIG-I with innate immunity of ducks to influenza. *Proc Natl Acad Sci*. 107:5913-5918.

Barkhausen T, Tschernig T, Rosenstiel P, VanGriensven M, Vonberg RP, Dorsch M, Mueller-Heine A, Chalaris A, Scheller J, Rose-John S, et al. 2011. Selective blockade of interleukin-6 trans-signaling improves survival in murine polymicrobial sepsis model. *Crit Care Med*. 39:1407-1413.

Ben-sasson SZ, Hu-Li J, Quiel J, Cauchetaux S, Ratner M, Shapira I, Dinarello CA, Paul WE. 2009. IL-1 acts directly on CD4 T cells to enhance their antigen-driven expansion and differentiation. *Proc Natl Acad Sci*. 106:7119-24.

Bernabei P, Coccia EM, Rigamonti L, Bosticardo M, Forni G, Pestka S, Krause CD, Battistini A, Novelli F. 2001. Interferon- γ receptor 2 expression as the deciding factor in human T, B, and myeloid cell proliferation or death. *J Leukoc Biol*. 70:950-960.

Boldajipour B, Mahabaleshwar H, Kardash E, Reichman-Fried M, Blaser H, Minina S, Wilson D, Xu Q, Raz E. 2008. Control of Chemokine-guided cell migration by ligand sequestration. *Cell*. 132:463-473.

Brierley MM, Fish EN. 2005. Stats: Multifaceted regulators of transcription. *J Interf Cytokine Res*. 25:733-744.

Brocker C, Thompson D, Matsumoto A, Nebert DW, Vasiliou V. 2010. Evolutionary divergence and functions of the human interleukin (IL) gene family. *Hum Genomics*. 5:30-55.

Bryson KJ, Wei XQ, Alexander J. 2008. Interleukin-18 enhances a Th2 biased response and susceptibility to *Leishmania mexicana* in BALB/c mice. *Microbes Infect*. 10:834-839.

Carmi Y, Voronov E, Dotan S, Lahat N, Rahat MA, Fogel M, Huszar M, White MR, Dinarello CA, Apte RN. 2009. The role of macrophage-derived IL-1 in induction and maintenance of angiogenesis. *J Immunol*. 183:4705-4714.

- Carrillo JJ, Pediani J, Milligan G. 2003. Dimers of class A G protein-coupled receptors function via agonist-mediated trans-activation of associated G proteins. *J Biol Chem.* 278:42578-42587.
- Contreras V, Urien C, Guiton R, Alexandre Y, Vu Manh T-P, Andrieu T, Crozat K, Jouneau L, Bertho N, Epardaud M, et al. 2010. Existence of CD8 α -like dendritic cells with a conserved functional specialization and a common molecular signature in distant mammalian species. *J Immunol.* 185:3313-3325.
- Cornelissen JBWJ, Vervelde L, Post J, Rebel JMJ. 2013. Differences in highly pathogenic avian influenza viral pathogenesis and associated early inflammatory response in chickens and ducks. *Avian Pathol.* 42:347-64.
- de Jong MD, Simmons CP, Thanh TT, Hien VM, Smith GJD, Chau TNB, Hoang DM, Chau NVV, Khanh TH, Dong VC, et al. 2006. Fatal outcome of human influenza A (H5N1) is associated with high viral load and hypercytokinemia. *Nat Med.* 12:1203-1207.
- Dharmayanti NLPI, Rillah UD, Syamsiah F, Indriani R. 2014. Ekspresi sitokin *Tumor Necrosis Factor* (TNF- α) dan interferon (IFN- γ) pada sel MDCK yang diinfeksi virus *Avian Influenza* subtype H5N1 asal Indonesia. *J Biol Indonesia.* 10:47-54.
- Dinarello C a. 2005. Blocking IL-1 in systemic inflammation. *J Exp Med.* 201:1355-1359.
- Ellis T, Bousfield R, Bissett L, Dyrting K, Luk G, Tsim ST, Sturm-Ramirez K, Webster RG, Guan Y, Peiris JSM. 2004. Investigation of outbreaks of highly pathogenic H5N1 avian influenza in waterfowl and wild birds in Hong Kong in late 2002. *Avian Pathol.* 33:492-505.
- Freire-de-Lima CG, Yi QX, Gardai SJ, Bratton DL, Schiemann WP, Henson PM. 2006. Apoptotic cells, through transforming growth factor- β , coordinately induce anti-inflammatory and suppress pro-inflammatory eicosanoid and NO synthesis in murine macrophages. *J Biol Chem.* 281:38376-38384.
- Goodbourn S, Didcock L, Randall RE. 2000. Interferons: Cell signalling, immune modulation, antiviral responses and virus countermeasures. *J Gen Virol.* 81:2341-2364.
- Gotoh B, Takeuchi K, Komatsu T, Yokoo J. 2003. The STAT2 activation process is a crucial target of Sendai virus C protein for the blockade of alpha interferon signaling. *J Virol.* 77:3360-3370.
- Guarda G, Braun M, Staehli F, Tardivel A, Mattmann C, Förster I, Farlik M, Decker T, Du Pasquier RA, Romero P, Tschopp J. 2011. Type I interferon inhibits interleukin-1 production and inflammasome activation. *Immunity.* 34:213-223.
- Gupta SK, Deb R, Dey S, Chellappa MM. 2014. Toll-like receptor-based adjuvants: Enhancing the immune response to vaccines against infectious diseases of chicken. *Expert Rev Vaccines.* 13:909-925.
- Hayashi T, Hiromoto Y, Chaichoune K, Patchimasiri T, Chakritbudsabong W, Prayoonwong N, Chaisilp N, Wiriyarat W, Parchariyanon S, Ratanakorn P, et al. 2011. Host cytokine responses of pigeons infected with highly pathogenic Thai Avian Influenza viruses of subtype H5N1 isolated from wild birds. *PLoS One.* 6:e23103.
- Hurst SM, Wilkinson TS, McLoughlin RM, Jones S, Horiuchi S, Yamamoto N, Rose-John S, Fuller GM, Topley N, Jones SA. 2001. IL-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal switch in the pattern of leukocyte recruitment seen during acute inflammation. *Immunity.* 14:705-714.
- Iqbal M, Philbin VJ, Smith AL. 2005. Expression patterns of chicken Toll-like receptor mRNA in tissues, immune cell subsets and cell lines. *Vet Immunol Immunopathol.* 104:117-127.
- Irvine KM, Burns CJ, Wilks AF, Su S, Hume DA, Sweet MJ. 2006. A CSF-1 receptor kinase inhibitor targets effector functions and inhibits pro-inflammatory cytokine production from murine macrophage populations. *FASEB J.* 20:1921-1923.
- Ishida Y, Gao J-L, Murphy PM. 2008. Chemokine receptor CX3CR1 mediates skin wound healing by promoting macrophage and fibroblast accumulation and function. *J Immunol.* 180:569-579.
- Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelley A, Lafaille JJ, Cua DJ, Littman DR. 2006. The orphan nuclear receptor ROR γ directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+T helper cells. *Cell.* 126:1121-1133.
- Iwakiri S, Mino N, Takahashi T, Sonobe M, Nagai S, Okubo K, Wada H, Date H, Miyahara R. 2009. Higher expression of chemokine receptor CXCR7 is linked to early and metastatic recurrence in pathological stage I nonsmall cell lung cancer. *Cancer.* 115:2580-2593.
- Iwasaki A, Medzhitov R. 2010. Regulation of adaptive immunity by the innate immune system. *Science.* 327:291-295.
- Jiao PR, Wei LM, Cheng YQ, Yuan RY, Han F, Liang J, Liu WL, Ren T, Xin CA, Liao M. 2012. Molecular cloning, characterization, and expression analysis of the Muscovy duck Toll-like receptor 3 (MdTLR3) gene. *Poult Sci.* 91:2475-2481.
- Jie H, Lian L, Qu LJ, Zheng JX, Hou ZC, Xu GY, Song JZ, Yang N. 2013. Differential expression of Toll-like receptor genes in lymphoid tissues between Marek's disease virus-infected and noninfected chickens. *Poult Sci.* 92:645-654.
- Kanneganti TD, Lamkanfi M, Nunez G. 2007. Intracellular NOD-like receptors in host defense and disease. *Immunity.* 27:549-559.
- Karpala AJ, Bingham J, Schat KA, Chen LM, Donis RO, Lowenthal JW, Bean AGD. 2011a. Highly pathogenic (H5N1) avian influenza induces an inflammatory T

- helper type 1 cytokine response in the chicken. *J Interferon Cytokine Res.* 31:393-400.
- Karpala AJ, Stewart C, McKay J, Lowenthal JW, Bean AG. 2011b. Characterization of chicken Mda5 activity: regulation of IFN-beta in the absence of RIG-I functionality. *J Immunol.* 186:5397-5405.
- Kato H, Sato S, Yoneyama M, Yamamoto M, Uematsu S, Matsui K, Tsujimura T, Takeda K, Fujita T, Takeuchi O, Akira S. 2005. Cell type-specific involvement of RIG-I in antiviral response. *Immunity.* 23:19-28.
- Katsoulidis E, Li Y, Mears H, Platanius LC. 2005. The p38 mitogenactivated protein kinase pathway in interferon signal transduction. *J Interf Cytokine Res.* 25:749-756.
- Kawai T, Sato S, Ishii KJ, Coban C, Hemmi H, Yamamoto M, Terai K, Matsuda M, Inoue J, Uematsu S, Takeuchi O, Akira S. 2004. Interferon-alpha induction through Toll-like receptors involves a direct interaction of IRF7 with MyD88 and TRAF6. *Nat Immunol.* 5:1061-1068.
- Keeley EC, Mehrad B, Strieter RM. 2008. Chemokines as mediators of neovascularization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 28:1928-1936.
- Kobasa D, Jones SM, Shinya K, Kash JC, Copps J, Ebihara H, Hatta Y, Kim JH, Halfmann P, Hatta M, et al. 2007. Aberrant innate immune response in lethal infection of macaques with the 1918 influenza virus. *Nature.* 445:319-323.
- Kogut MH, Swaggerty C, He H, Pevzner I, Kaiser P. 2006. Toll-like receptor agonists stimulate differential functional activation and cytokine and chemokine gene expression in heterophils isolated from chickens with differential innate responses. *Microbes Infect.* 8:1866-1874.
- Krishnamurthy S, Takimoto T, Scroggs RA, Portner A. 2006. Differentially regulated interferon response determines the outcome of Newcastle disease virus infection in normal and tumor cell lines. *J Virol.* 80:5145-5155.
- Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, Abrams J, Alnemri ES, Baehrecke EH, Blagosklonny M V, El-Deiry WS, Golstein P, Green DR, et al. 2009. Classification of cell death. *Cell Death Differ.* 16:3-11.
- Lacey DC, Achuthan A, Fleetwood AJ, Dinh H, Roiniotis J, Scholz GM, Chang MW, Beckman SK, Cook AD, Hamilton JA. 2012. Defining GM-CSF and macrophage-CSF-dependent macrophage responses by *in vitro* models. *J Immunol.* 188:5752-5765.
- Lee JK, Kim SH, Lewis EC, Azam T, Reznikov LL, Dinarello CA. 2004. Differences in signaling pathways by IL-1 β and IL-18. *Proc Natl Acad Sci.* 101:8815-8820.
- Leyva L, Fernández O, Fedetz M, Blanco E, Fernández VE, Oliver B, León A, Pinto-Medel MJ, Mayorga C, Guerrero M, et al. 2005. IFNAR1 and IFNAR2 polymorphisms confer susceptibility to multiple sclerosis but not to interferon-beta treatment response. *J Neuroimmunol.* 163:165-171.
- Li QJ, Lu S, Ye RD, Martins-Green M. 2000. Isolation and characterization of a new chemokine receptor gene, the putative chicken CXCR1. *Gene.* 257:307-317.
- Li S, Min JY, Krug RM, Sen GC. 2006. Binding of the influenza A virus NS1 protein to PKR mediates the inhibition of its activation by either PACT or double-stranded RNA. *Virology.* 349:13-21.
- Li Z, Jiang Y, Jiao P, Wang A, Zhao F, Tian G, Wang X, Yu K, Bu Z, Chen H. 2006. The NS1 gene contributes to the virulence of H5N1 avian influenza viruses. *J Virol.* 80:11115-11123.
- Liniger M, Summerfield A, Zimmer G, McCullough KC, Ruggli N. 2012. Chicken cells sense influenza A virus infection through MDA5 and CARDIF signaling involving LGP2. *J Virol.* 86:705-717.
- Lipatov AS, Andreansky S, Webby RJ, Hulse DJ, Reh JE, Krauss S, Perez DR, Doherty PC, Webster RG, Sangster MY. 2005. Pathogenesis of Hong Kong H5N1 influenza virus NS gene reassortants in mice: the role of cytokines and B and T-cell responses. *J Gen Virol.* 86:1121-1130.
- Liu L, Botos I, Wang Y, Leonard JN, Shiloach J, Segal DM, Davies DR. 2008. Structural basis of toll-like receptor 3 signaling with double-stranded RNA. *Science.* 320:379-381.
- Manderson AP, Kay JG, Hammond LA, Brown DL, Stow JL. 2007. Sub-compartments of the macrophage recycling endosome direct the differential secretion of IL-6 and TNFalpha. *J Cell Biol.* 178:57-69.
- Mibayashi M, Martinez-Sobrido L, Loo YM, Cardenas WB, Gale MJ, Garcia-Sastre A. 2007. Inhibition of retinoic acid-inducible gene I-mediated induction of beta interferon by the NS1 protein of influenza A virus. *J Virol.* 81:514-524.
- Min JY, Krug RM. 2006. The primary function of RNA binding by the influenza A virus NS1 protein in infected cells: Inhibiting the 29-59 oligo (A) synthetase/RNase L pathway. *Proc Natl Acad Sci.* 103:7100-7105.
- Min JY, Li S, Sen GC, Krug RM. 2007. A site on the influenza A virus NS1 protein mediates both inhibition of PKR activation and temporal regulation of viral RNA synthesis. *Virology.* 236:236-243.
- Mordstein M, Kochs G, Dumoutier L, Renaud JC, Paludan SR, Klucher K, Staeheli P. 2008. Interferon- λ contributes to innate immunity of mice against influenza A virus but not against hepatotropic viruses. *PLoS Pathog.* 4:1-7.
- Moulin HR, Liniger M, Python S, Guzylack-Piriou L, Oc a-Macchi M, Ruggli N, Summerfield A. 2011. High interferon type I responses in the lung, plasma and spleen during highly pathogenic H5N1 infection of chicken. *Vet Res.* 42:6-12.

- Noah DL, Twu KY, Krug RM. 2003. Cellular antiviral responses against influenza A virus are countered at the posttranscriptional level by the viral NS1A protein via its binding to a cellular protein required for the 3' end processing of cellular pre-mRNAs. *Virology*. 307:386-395.
- Ocaña-Macchi M, Ricklin ME, Python S, Monika GA, Stech J, Stech O, Summerfield A. 2012. Avian influenza A virus PB2 promotes interferon type I inducing properties of a swine strain in porcine dendritic cells. *Virology*. 427:1-9.
- Parham C, Chirica M, Timans J, Vaisberg E, Travis M, Cheung J, Pflanz S, Zhang R, Singh KP, Vega F, et al. 2002. A receptor for the heterodimeric cytokine IL-23 is composed of IL-12Rbeta1 and a novel cytokine receptor subunit, IL-23R. *J Immunol*. 168:5699-5708.
- Paul MS, Barjesteh N, Paolucci S, Pei Y, Sharif S. 2012. Toll-like receptor ligands induce the expression of interferon-gamma and interleukin-17 in chicken CD4+T cells. *BMC Res Notes*. 5:616.
- Pichlmair A, Schulz O, Tan CP, Naslund TI, Liljestrom P, Weber F, Reis e Sousa C. 2006. RIG-I-mediated antiviral responses to single-stranded RNA bearing 5'-phosphates. *Science*. 314:997-1001.
- Ramasamy KT, Reddy MR, Verma PC, Murugesan S. 2012. Expression analysis of turkey (*Meleagris gallopavo*) Toll-like receptors and molecular characterization of avian specific TLR15. *Mol Biol Rep*. 39:8539-8549.
- Ravikumar B, Futter M, Jahreiss L, Korolchuk VI, Lichtenberg M, Luo S, Massey DC, Menzies FM, Narayanan U, Renna M, Jimenez-Sanchez, M Sarkar S, Underwood B, Winslow A RD. 2009. Mammalian macro autophagy at a glance. *J Cell Sci*. 122:1707-1711.
- Rock FL, Hardiman G, Timans JC, Kastelein RA, Bazan JF. 1998. A family of human receptors structurally related to *Drosophila* toll. *Proc Natl Acad Sci*. 95:588-593.
- Ruan W, Wu Y, Zheng SJ. 2012. Different genetic patterns in avian Toll-like receptor (TLR)5 genes. *Mol Biol Rep*. 39:3419-3426.
- Salomon R, Hoffmann E, Webster RG. 2007. Inhibition of the cytokine response does not protect against lethal H5N1 influenza infection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 104:12479-12481.
- Samanta M, Iwakiri D, Kanda T, Imaizumi T, Takada K. 2006. EB virus-encoded RNAs are recognized by RIG-I and activate signaling to induce type I IFN. *EMBO J*. 25:4207-4214.
- Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S. 2011. The pro and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*. 1813:878-888.
- Schmitz N, Kurrer M, Bachmann MF, Kopf M. 2005. Interleukin-1 is responsible for acute lung immunopathology but increases survival of respiratory influenza virus infection. *J Virol*. 79:6441-6448.
- Shini S, Shini A, Kaiser P. 2010. Cytokine and chemokine gene expression profiles in heterophils from chickens treated with corticosterone. *Stress*. 13:185-194.
- Sturm-Ramirez KM, Ellis T, Bousfield B, Bissett L, Dyrting K, Rehg JE, Poon L, Guan Y, Peiris M, Webster RG. 2004. Reemerging H5N1 influenza viruses in Hong Kong in 2002 are highly pathogenic to ducks. *J Virol*. 78:4892-4901.
- Suzuki K, Okada H, Itoh T, Tada T, Mase M, Nakamura K, Kubo M, Tsukamoto K. 2009. Association of increased pathogenicity of Asian H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses in chickens with highly efficient viral replication accompanied by early destruction of innate immune responses. *J Virol*. 83:7475-7486.
- Temperley ND, Berlin S, Paton IR, Griffin DK, Burt DW. 2008. Evolution of the chicken Toll-like receptor gene family: A story of gene gain and gene loss. *BMC Genomics*. 9:62.
- Thitithanyanont A, Engering A, Ekcharyawat P, Wiboon-Ut S, Limsalakpetch A, Yongvanitchit K, Kum-Arb U, Kanchongkittiphon W, Utaisincharoen P, Sirisinha S, et al. 2007. High susceptibility of human dendritic cells to avian influenza H5N1 virus infection and protection by IFN-alpha and TLR ligands. *J Immunol*. 179:5220-5227.
- Timmermans K, Plantinga TS, Kox M, Vaneker M, Scheffer GJ, Adema GJ, Joosten LAB, Neteaa MG. 2013. Blueprints of signaling interactions between pattern recognition receptors: Implications for the design of vaccine adjuvants. *Clin Vaccine Immunol*. 20:427-432.
- Tisoncik JR, Korth MJ, Simmons CP, Farrar J, Martin TR, Katze MG. 2012. Into the eye of the cytokine storm. *Microbiol Mol Biol Rev*. 76:16-32.
- Tumpey T, Lu X, Morken T, Zaki S, Katz J. 2000. Depletion of lymphocytes and diminished cytokine production in mice infected with a highly virulent influenza A (H5N1) virus isolated from humans. *J Virol*. 74:6105-6116.
- Ueda M, Daidoji T, Du A, Yang CS, Ibrahim MS, Ikuta K, Nakaya T. 2010. Highly pathogenic H5N1 avian influenza virus induces extracellular Ca²⁺ influx, leading to apoptosis in avian cells. *J Virol*. 84:3068-3078.
- Uprasertkul M, Kitphati R, Puthavathana P, Kriwong R, Kongchanagul A, Ungchusak K, Angkasekwinai S, Chokephaibulkit K, Srisook K, Vanprapar N, Auewarakul P. 2007. Apoptosis and pathogenesis of avian influenza A (H5N1) virus in humans. *Emerg Infect Dis*. 13:708-712.
- Vasconcellos R, Carter NA, Rosser EC, Mauri C. 2011. IL-12p35 subunit contributes to autoimmunity by

- limiting IL-27-driven regulatory responses. *J Immunol.* 187:3402-3412.
- Wasilenko JL, Sarmiento L, Pantin-Jackwood MJ. 2009. A single substitution in amino acid 184 of the NP protein alters the replication and pathogenicity of H5N1 avian influenza viruses in chickens. *Arch Virol.* 154:969-979.
- de Weerd NA, Samarajiwa SA, Hertzog PJ. 2007. Type I interferon receptors: Biochemistry and biological functions. *J Biol Chem.* 282:20053-20057.
- Wei L, Jiao P, Yuan R, Song Y, Cui P, Guo X, Zheng B, Jia W, Qi W, Ren T, Liao M. 2013. Goose Toll-like receptor 7 (TLR7), myeloid differentiation factor 88 (MyD88) and antiviral molecules involved in anti-H5N1 highly pathogenic avian influenza virus response. *Vet Immunol Immunopathol.* 153:99-106.
- Xu X, Subbarao K, Cox NJ, Guo Y. 1999. Genetic characterization of the pathogenic influenza A/Goose/Guangdong/1/96 (H5N1) virus: Similarity of its hemagglutinin gene to those of H5N1 viruses from the 1997 outbreaks in Hong Kong. *Virology.* 261:15-19.
- Yoneyama M, Kikuchi M, Natsukawa T, Shinobu N, Imaizumi T, Miyagishi M, Taira K, Akira S, Fujita T. 2004. The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. *Nat Immunol.* 5:730-737.
- Zhou J, Law HK, Cheung CY, Ng IH, Peiris JS, Lau YL. 2006. Functional tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand production by avian influenza virus-infected macrophages. *J Infect Dis.* 193:945-953.
- Zhou Z, Hamming OJ, Ank N, Paludan SR, Nielsen AL, Hartmann R. 2007. Type III interferon (IFN) induces a type I IFN-like response in a restricted subset of cells through signaling pathways involving both the Jak-STAT pathway and the mitogen-activated protein kinases. *J Virol.* 81:7749-7758.
- Zhu H, Butera M, Nelson DR, Liu C. 2005. Novel type I interferon IL-28A suppresses hepatitis C viral RNA replication. *Virology.* 2:80.
- Zhu Q, Yang H, Chen W, Cao W, Zhong G, Jiao P, Deng G, Yu K, Yang C, Bu Z, et al. 2008. A naturally occurring deletion in its NS gene contributes to the attenuation of an H5N1 swine influenza virus in chickens. *J Virol.* 82:220-228.