

Identifikasi profil sitokin dan kemokin pada human peripheral blood mononuclear cell terhadap infeksi virus zika, dengue, dan chikungunya = Identification of cytokine and chemokine profile of human peripheral blood mononuclear cell to zika, dengue, and chikungunya virus infection

Ahmad Husein Alkaff, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20484999&lokasi=lokal>

Abstrak

Virus Zika (ZIKV), dengue (DENV), dan chikungunya (CHIKV) menyebabkan penyakit Zika, dengue, dan chikungunya yang memiliki gejala klinis yang mirip sehingga rentan terhadap kesalahan diagnosis di daerah di mana virus-virus tersebut ditemukan secara simultan. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari tingkat kerentanan dan respon peripheral blood mononuclear cell (PBMC) manusia yang direfleksikan dari titer virus, kuantitas RNA virus, serta ekspresi gen sitokin kemokin yang dipicu oleh infeksi ZIKV, DENV, dan CHIKV secara in vitro. PBMC dipisahkan dari darah donor yang sehat. Setelah periode adaptasi dalam kultur sel, PBMC diinfeksi dengan ZIKV, DENV, dan CHIKV kemudian diinkubasi selama 48 jam. Metode plaque assay dan qRT-PCR dilakukan untuk menentukan titer virus hidup dan kuantitas RNA virus dalam sistem. Ekspresi gen TNF-a, IL-10, dan IP-10 diukur dengan metode qPCR yang dikalkulasi menggunakan metode 2-AACT. Titer virus hidup dan RNA virus intraseluler dari PBMC yang terinfeksi DENV secara signifikan lebih rendah dibandingkan dengan ZIKV dan CHIKV ($p < 0,01$). Sementara itu, RNA ZIKV intra- dan ekstra-seluler memiliki kuantitas yang tertinggi ($p < 0,01$). Ekspresi gen sitokin TNF-a meningkat pada semua PBMC yang terinfeksi arbovirus, namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar virus. Ekspresi gen sitokin IL-10 mengalami penurunan yang signifikan pada PBMC yang terinfeksi DENV sebesar 0,52 0,29 kali relatif terhadap PBMC tak terinfeksi. Di sisi lain, terdapat peningkatan ekspresi gen kemokin IP-10 pada PBMC yang terinfeksi DENV sebesar 107,80 54,88 kali relatif terhadap PBMC tak terinfeksi. Profil ekspresi gen sitokin kemokin dari PBMC yang terinfeksi DENV menunjukkan respon inflamasi yang paling tinggi dibandingkan dengan PBMC yang terinfeksi ZIKV dan CHIKV yang ditunjukkan dari peningkatan ekspresi gen sitokin TNF-a dan kemokin IP-10 serta penurunan ekspresi gen sitokin IL-10. Analisis korelasi menunjukkan bahwa terdapat korelasi negatif yang kuat dan signifikan antara respon inflamasi yang ditunjukkan oleh PBMC dengan titer arbovirus hidup dan kuantitas RNA arbovirus yang menginfeksi PBMC. Penelitian ini merupakan studi pertama yang secara langsung membandingkan kerentanan dan profil sitokin kemokin dari PBMC yang terinfeksi ZIKV, DENV, dan CHIKV. Terbatasnya jumlah donor PBMC serta jenis sitokin/kemokin yang dianalisis merupakan keterbatasan utama penelitian ini. Oleh karena itu, dibutuhkan studi lebih lanjut yang dapat menganalisis profil sitokin/kemokin secara lengkap. Sehingga, pengetahuan mengenai profil tersebut dapat digunakan untuk pengembangan biomarker yang dapat membedakan antara infeksi ZIKV, DENV, dan CHIKV.

.....The Zika (ZIKV), dengue (DENV), and chikungunya (CHIKV) viruses are the causative agent of Zika, dengue, and chikungunya diseases manifested as similar clinical symptoms which may lead to misdiagnosis in the area where these viruses simultaneously exist. This study aims to investigate the susceptibility and response of human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) reflected from the virus titer, viral RNA quantity, and cytokine chemokine genes expression against in vitro ZIKV, DENV, and CHIKV infections.

PBMCs were isolated from the whole blood of healthy donors. Following the cell culture adaptation period, the PBMCs were infected with ZIKV, DENV, and CHIKV allowing exposure for 48 hours post-infection. The standard plaque assay method and qRT-PCR were performed to determine the viable virus titer and viral RNA quantity in the system, respectively. The relative gene expression of TNF- α , IL-10, and IP-10 was determined using qPCR employing the 2- $\Delta\Delta$ CT method. Both levels of viable virus and intracellular viral RNA quantity were significantly lower in DENV compared to ZIKV and CHIKV ($p < 0,01$). Meanwhile, ZIKV RNA quantity was the highest in intra- and extra-cellular ($p < 0,01$). The TNF- α cytokine gene was up-regulated in all virus-infected PBMCs, but there was no significant difference among them. The IL-10 cytokine gene expression was down-regulated to 0,52 0,29 times relative to the uninfected PBMC in DENV-infected PBMCs. On the other hand, the IP-10 chemokine gene expression was up-regulated to 107,80 54,88 times relative to the uninfected PBMC in ZIKV-infected PBMCs. The cytokine/chemokine gene expression profile of DENV-infected PBMCs showed the most rigorous inflammation response compared to ZIKV- and CHIKV-infected PBMCs which reflected from the up-regulation of TNF- α cytokine gene and IP-10 chemokine gene also the down-regulation of IL-10 cytokine gene. Correlation analysis showed a strong and significant negative correlation between inflammation response from PBMC with viable arbovirus titer and arbovirus RNA quantity which infected the PBMC. Our study is the first study to directly compare the susceptibility and cytokine/chemokine profile of ZIKV-, DENV-, and CHIKV-infected PBMCs. The limitation of our study including the number of PBMCs donor and the incomplete set of cytokine/chemokine which was examined. Therefore, further investigation is needed to obtain the complete cytokine chemokine profile. Thus, these profiles can be used for the development of biomarkers which can distinguish between ZIKV, DENV, and CHIKV infection.