

Peran Terapi Adjuvan Vitamin D3 terhadap Kadar T Regulator Penderita Rinitis Alergi yang Mendapat Imunoterapi Subkutaneus

Melati Sudiro,¹ Teti Madiadipoera,¹ Budi Setiabudiawan,² Thaufiq S. Boesoerie¹

¹Departemen THT-KL Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran/Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin Bandung, Indonesia, ²Departemen Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran/Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin Bandung, Indonesia

Abstrak

Imunoterapi spesifik (ITS) merupakan pilihan terapi pada rinitis alergi yang tidak memberikan respons perbaikan klinis dengan medikamentosa. Peran zat adjuvan diduga dapat meningkatkan efektivitas dan efikasi ITS. Penelitian ini bertujuan menganalisis peran adjuvan vitamin D3 pada ITS terhadap percepatan timbulnya respons imun toleran. Penelitian analitik komparatif numerik dua kelompok tidak berpasangan dengan rancangan uji klinis acak terkontrol ganda ini dilakukan di Klinik Rinologi-Alergi THT-KL RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung sejak Mei 2016-April 2017. Sampel terdiri atas 18 pasien menerima ITS+kalsitriol dan 18 pasien menerima ITS+plasebo yang memenuhi kriteria penelitian diambil secara *consecutive sampling*. Dilakukan pemeriksaan jumlah sel Tregulator dengan *flowcitometry* pada *baseline*, minggu ke-8 dan 15 dan skor gejala hidung. Analisis dengan Uji Mann-Whitney, uji Friedman, uji T berpasangan dan analisis Post hoc. Perbandingan kenaikan rerata median jumlah sel Treg kelompok intervensi dengan kontrol pada minggu ke 8 menunjukkan nilai $p=0,04$, rerata MFI Treg pada kelompok intervensi dengan kontrol nilai $p=0,002$. Analisis *post hoc* terhadap MFI Treg menunjukkan peningkatan pada kelompok intervensi dengan $p=0,001$ pada minggu ke-8. Disimpulkan perubahan di tingkat imunologi mulai terjadi pada minggu ke-8, tetapi perbaikan gejala klinis terlihat setara.

Kata kunci: Imunoterapi spesifik, rinitis alergi, sel t-toleran perifer, sel T-regulator, vitamin D3

Role of Adjuvant Therapy with Vitamin D3 on T-Regulator in Allergic Rhinitis Patient with Subcutaneous Immunotherapy

Abstract

Allergen-specific immunotherapy (AIT) is a potentially disease-modifying therapy that is useful for the treatment of allergic rhinitis, especially in those who do not respond to pharmacotherapy. Currently, the role of adjuvant is expected to increase the clinical efficacy in AIT. The aim of this study was to analyze the role of vitamin D3 adjuvant in AIT to induce immune tolerance. This was an unpaired comparative analytic research with a randomized controlled trial study conducted at the Rhinology-Allergy Clinic ORL-HNS of Dr. Hasan Sadikin General Hospital Bandung from May 2016 to April 2017. Eighteen subjects with AIT+ calcitriol treatment and 18 subjects with AIT+placebo treatment who met the study criteria were selected through consecutive sampling. All subjects were evaluated for Treg cells using flow cytometry at baseline, week 8, and week 15. Nasal symptom score was also evaluated. Statistical analysis performed in this study included Mann-Whitney test, Friedman test, T-Paired test, and Post hoc analysis. There was a significant difference of Treg cells average results between the intervention group and control at week 8 with a p-value of 0.04. The mean delta value on MFI Treg reflected significant differences within intervention group ($p=0.002$). Post hoc analysis results presented a significant increase in MFI Treg in the intervention group at week 8 ($p=0.001$). Therefore, immunological changes start in week eight but the improvement of clinical symptoms looks similar.

Key words: Allergic rhinitis, peripheral t-cell tolerance, regulatory t(treg) cell allergen specific immunotherapy, vitamin D3

Korespondensi: Dr. Melati Sudiro, dr., SpTHT-KL(K), M.Kes, Departemen THT-KL Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran/Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin Bandung, Jalan Pasteur No. 38 Bandung, Email melati.sudiro@gmail.com

Pendahuluan

Rinitis alergi adalah gangguan hidung berupa peradangan pada mukosa hidung dengan karakteristik gejala berupa hidung beringsus, bersin, hidung tersumbat, hidung gatal dan dapat disertai mata gatal yang terjadi setelah terpajan alergen dengan perantara immunoglobulin E. Prevalensi rinitis alergi diperkirakan 10–30% populasi atau lebih dari 500 juta penduduk dunia, tetapi jumlah tersebut berbeda di setiap negara.¹ Angka kunjungan penderita rinitis alergi di klinik rinologi alergi THT-KL RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung periode 2010–2011 sebanyak 167 orang, dengan kelompok usia 18–34 tahun 52,7%, 35–49 tahun 14,40%, klasifikasi persisten sedang berat 53%.²⁻³

Penurunan kualitas hidup merupakan dampak lain yang harus menjadi perhatian selain biaya pengobatan yang tinggi. Biaya yang dikeluarkan untuk pembelian resep obat di Amerika Serikat berkisar 2–5 miliar dolar Amerika per tahun, Jepang 1,15 miliar dolar Amerika per tahun, sedangkan di Eropa atau bagian dunia lain menunjukkan nilai yang berbeda.¹ Berbagai modalitas terapi untuk rinitis alergi dimulai dari penghindaran alergen, medikamentosa hingga imunoterapi spesifik (ITS). Imunoterapi spesifik menjadi pilihan pada penderita rinitis alergi klasifikasi sedang-berat atau tidak memberikan perbaikan gejala dengan medikamentosa.⁴

Mekanisme utama yang terjadi pada pemberian imunoterapi akan dapat berakibat pada penurunan proses inflamasi di perifer yang ditandai oleh penurunan aktivitas eosinophil, basofil, dan migrasi eosinofil ke jaringan dengan hasil akhir peningkatan respons imun toleran. Perubahan respons imun Th2 dominan menjadi Th1 dominan dan peningkatan jumlah sel Treg merupakan parameter objektif keberhasilan ITS, ditandai dengan peningkatan sitokin anti-inflamasi Treg, IL-10, TGF- β , dan timbulnya *blocking antibody* IgG1–IgG4 yang berhubungan dengan perbaikan gejala klinis.^{5,6}

Defisiensi vitamin D saat ini diduga turut memperberat gejala rinitis alergi dan penyakit atopi lain. Noviani dkk.,⁷ pada penelitian yang bertujuan mencari hubungan kadar vitamin D antar anak atopi dan obesitas mendapatkan kadar vitamin D berada dalam taraf insufisiensi dengan rerata berkisar 15–29 ng/mL. Vitamin D termasuk hormon steroid yang berperan dalam mekanisme kalsium, fosfor, dan tulang sekaligus berperan fungsi imun melalui bentuk aktif vitamin D yang akan berikatan dengan reseptor vitamin D di permukaan membran, sel denritik,

monosit, makrofag, sel limfosit B, ataupun limfosit T.⁸

Berbagai hipotesis menyatakan vitamin D mempunyai dua efek sekaligus, baik pada sistem imun bawaan maupun didapat. Vitamin D memengaruhi sistem imun melalui bentuk aktifnya dengan cara meningkatkan proliferasi sel Th1 dan menekan proliferasi Th2. Pada saat yang bersamaan dapat juga meningkatkan kadar IL-10 melalui pengaruhnya pada aktivitas Treg. Penelitian potong lintang pada anak di Costarica telah menunjukkan kadar 25(OH) D yang rendah berhubungan dengan peningkatan IgE dan jumlah eosinofil.^{8,9}

Pada bidang imunologi pemberian adjuvan bertujuan mengurangi jumlah alergen dan meningkatkan efikasi dapat diberikan pada imunoterapi.^{10,11} Vitamin D yang dikenal dapat berfungsi sebagai imunomodulator, bahan aktif 1,25 (OH)₂D₃ dapat menjadi pilihan sebagai terapi adjuvan karena selain mudah didapat secara imunologis vitamin D dapat bekerja untuk meningkatkan kadar Treg. Kekurangannya adalah sampai saat ini masih belum didapatkan kadar terapeutik yang tepat untuk menurunkan gejala klinis pada alergi.^{10,12}

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian analisis komparatif numerik dua kelompok tidak berpasangan dengan rancangan penelitian uji klinis acak terkontrol ganda yang dilakukan pada pasien rinitis alergi klasifikasi sedang berat dan defisiensi vitamin D, pada kelompok usia 18–39 tahun. Subjek penelitian diambil dari penderita rinitis alergi yang datang ke klinik Rinologi Alergi THT-KL Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin Bandung (RSUP)/Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran pada periode Mei 2016–April 2017. Diagnosis ditegakkan berdasar atas anamnesis dan pemeriksaan THT-KL lengkap. Konfirmasi diagnosis alergi memakai *skin prick test*. Pada pasien juga dilakukan pemeriksaan kadar vitamin D secara *electrochemilumiscence binding assay* dan juga pemeriksaan jumlah Tregulator menggunakan flowsitometri. Pasien juga diberikan penilaian skor gejala hidung. Subjek penelitian dibagi 2, kelompok intervensi mendapat ITS+kalsitriol 0,5 mcg/hari dan kelompok kontrol mendapat ITS+plasebo selama 14 minggu. Pemberian ITS dengan ekstrak alergen *Dermatophagides pteronyssinus* dengan cara injeksi subkutaneus dengan dosis meningkat secara bertahap. Seluruh subjek penelitian

Tabel 1 Karakteristik Subjek berdasar atas Demografi

	Intervensi Vitamin D (n=18)	Kontrol (n=18)	Nilai p
Jenis Kelamin			
Laki-laki	10	6	0,18
Perempuan	8	12	
Pekerjaan			
Di dalam ruangan	18	17	
Di luar ruangan	0 (0,0)	1	
Usia (tahun)	24 (20–39)	28,5 (20–36)	0,78
Indeks massa tubuh (kg/m ²)	24,89±5,35	23,96±3,22	0,53
Jumlah antihistamin yang diminum	6 (0–30)	8 (0–31)	0,56

Keterangan; Nilai p berdasarkan Chi Kuadrat

menjalani 3 kali pengambilan darah, mengikuti pemberian injeksi imunoterapi 1 kali/minggu, penilaian skor gejala hidung dengan *visual analog score* (VAS) selama 14 minggu. Analisis statistik untuk kenaikan jumlah Treg dilakukan dengan menggunakan uji Mann-Whitney berulang yang dilanjutkan dengan analisis *post hoc*, sedangkan kecepatan penurunan gejala klinis akan diuji dengan uji T tidak berpasangan. Kemaknaan ditentukan berdasar atas nilai $p < 0,05$ dengan tingkat kepercayaan 95%. Penelitian disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung, No: 218/UN6.C1.3.2/KEPK/PN/2016.

Hasil

Tigapuluh enam orang pasien rinitis alergi yang menderita defisiensi atau insufisiensi vitamin D ikut dalam penelitian. Sampel terdiri atas 16

orang laki-laki dan 20 orang perempuan, dengan rentang usia 20–39 tahun, hampir seluruh subjek beraktifitas lebih banyak di luar ruangan dan dengan rerata indeks massa tubuh pada kelompok terlihat tidak ada perbedaan yang ditunjukkan pada Tabel 1.

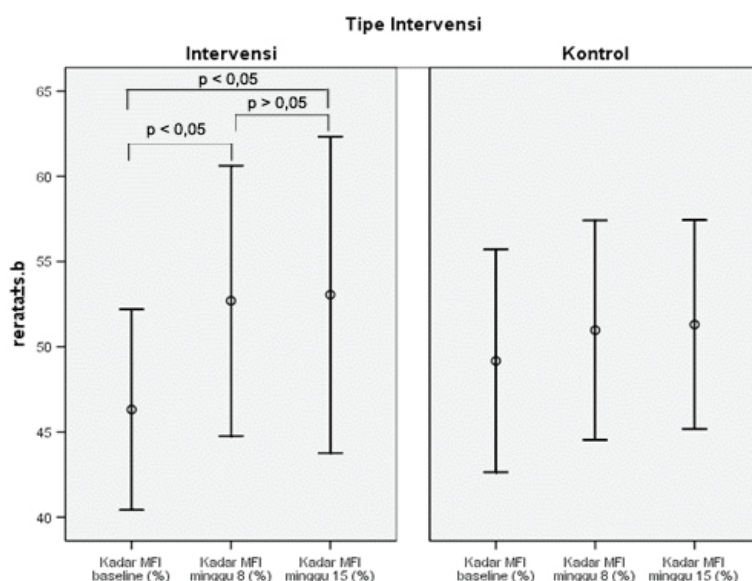
Secara karakteristik demografis, subjek mempunyai sebaran data yang sebanding antara kelompok intervensi dan kontrol ($p > 0,05$). Perbedaan karakteristik kadar vitamin D pada kelompok intervensi dan kontrol dapat dilihat pada Tabel 2. Perbandingan kadar sel Treg antara kelompok intervensi dan kontrol pada *baseline*, minggu ke-8, dan minggu ke-15 secara umum dapat dilihat pada Tabel 3.

Analisis jumlah mean fluorescence intensity regulator (MFI Treg) *withingroup* intervensi menunjukkan peningkatan dari sel Treg yang berbeda bermakna dengan $p = 0,002$. Selanjutnya, dilakukan analisis *post hoc* yang disajikan pada Gambar.

Tabel 2 Perbedaan Karakteristik Kategori Vitamin D berdasar atas Pemeriksaan 25-(OH)D pada Kelompok Intervensi dan Kontrol

Tingkat Defisiensi 25 (OH)D ₃	Kelompok		Nilai P
	Intervensi	Kontrol	
Insufisiensi (20–30ng/mL)	1	1	
Defisiensi (10–20 ng/mL)	4	4	0,95
Defisiensi Berat (5–10 ng/mL)	12	11	
Defisiensi Sangat Berat <5 ng/mL)	1	2	

Keterangan: Nilai p berdasar atas uji chi kuadrat



Gambar Analisis *post hoc* Jumlah MFI Treg pada Kelompok Intervensi

Tabel 3 Perbandingan Kadar Sel T Regulator Kelompok Intervensi dengan Kontrol

Kadar T- regulator	Intervensi (n=18)		Kontrol (n=18)		Nilai p ^a
	Median (Min-Maks)	Rerata Ranging	Median (Min-Maks)	Rerata Ranging	
Baseline (%)	0,97 (0,31-1,74)	18,86	0,89 (0,12-2,13)	18,14	0,84
Minggu 8 (%)	0,91 (0,31-1,36)	22,11	0,78 (0,12-1,92)	14,89	0,04
Minggu15 (%)	0,99 (0,27-1,64)	18,58	1,02 (0,03-2,29)	18,42	0,96
Nilai p ^b	0,21		0,20		

Keterangan: ^aantara grup, Uji Mann Whitney; ^bantara grup, Uji Friedman

Tabel 4 Perbandingan Skor Gejala Hidung antara Kelompok Intervensi dan Kontrol

Total skor	Intervensi	Kontrol	Nilai p	Selish Rerata (IK95%)
Hidung tersumbat	32±24	28±23	0,627	4 (-12,06-19,73)
Rinore	37±27	35±21	0,778	2 (-14,04-18,60)
Bersin	44±28	37±22	0,391	7 (-9,80-24,47)
Hidung gatal	37±28	31±20	0,430	6 (-9,86-22,64)
VAS minggu 1-14	151±96	131±68	0,476	20 (-36,43-76,43)

Keterangan: Uji t tidak berpasangan

Perbedaan rerata skor gejala hidung antara kelompok intervensi dan kontrol yang diamati selama 14 minggu dan menggunakan penilaian visual analog score (VAS) disajikan pada Tabel 4. Secara statistik antara kedua kelompok tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dari penilaian secara subjektif total skor gejala hidung dengan $p > 0,05$.

Pembahasan

Pada penelitian ini angka kejadian rinitis alergi pada perempuan lebih tinggi dari laki-laki, tetapi secara statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok intervensi vitamin D dan kontrol. Data ini sesuai dengan Moeis dkk.,² mendapatkan pasien perempuan (53,3%) dengan diagnosis rinitis alergi lebih banyak dari laki-laki yang datang berobat di Klinik Rinologi Alergi RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung pada periode 2009–2011. Penelitian di wilayah Asia Pasifik juga mendapatkan perempuan lebih banyak menderita rinitis alergi daripada laki-laki (54,1% vs 45,9%).¹³ Secara patogenesis tidak ada perbedaan antara perempuan dan laki-laki. Terdapat dugaan bahwa faktor hormonal sangat berperan dalam peningkatan risiko rinitis alergi. Hormon estrogen menyebabkan relaksasi otot polos dan pelebaran pembuluh darah di organ kelamin yang juga dapat terjadi pada mukosa hidung.¹⁴

Penelitian ini melibatkan penderita rinitis alergi dengan rentang usia 18–39 tahun. Pada kelompok tersebut aktivitas sehari-hari sebagai pelajar, mahasiswa, atau karyawan lebih banyak dilakukan di dalam ruangan. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Moeis dkk.² bahwa usia 18–34 tahun (52,7%), 35–49 tahun (14,40%) merupakan kelompok yang terbanyak datang berobat. Skoner dkk. juga berpendapat bahwa 80% individu atopi akan berkembang menjadi rinitis alergi pada usia 20 tahun.

Sejumlah 36 pasien rinitis alergi yang ikut dalam penelitian ini menyatakan lebih banyak beraktivitas di dalam ruangan. Data ini telah menunjukkan aktivitas subjek penelitian yang mendukung dugaan kadar vitamin D yang rendah. Sebaran data menunjukkan pada kedua kelompok penelitian terbanyak berada pada rentang kadar 25 (OH)₂D₃ 5–10 ng/mL atau defisiensi vitamin D berat (Tabel 1 dan 2).

Kadar vitamin D seseorang sangat dipengaruhi oleh pajanan matahari, lama pajanan, asupan makanan, penggunaan suplemen, lingkungan,

usia, warna kulit, dan cara berpakaian. Lucock dkk.¹⁵ menyatakan bahwa individu dengan pigmen kulit yang sedikit akan memproduksi jumlah previtamin D₃ yang lebih tinggi daripada kulit berwarna. Konsekuensinya, kulit dengan pigmen yang banyak akan mengurangi sintesis 1,25 (OH)₂D₃ dan jumlah reseptor vitamin D yang lebih rendah. Pendapat ini sesuai dengan warna kulit penduduk Indonesia.

Berdasar atas kepustakaan, dilaporkan defisiensi vitamin D merupakan salah satu faktor risiko pada rinitis alergi.¹⁴ Metabolisme vitamin D melalui reseptor antagonisnya mempunyai kemampuan sebagai imunomodulator dan juga imunoregulator yang akan memengaruhi aktivitas imunologi. Defisiensi vitamin D dapat mengganggu integritas epitel barier, menghambat pelepasan sitokin produksi Th1 sehingga dalam kerjanya dapat meningkatkan Th2. Peningkatan aktivitas Th2 akan menambah risiko atopi termasuk meningkatkan gejala rinitis alergi. Produksi 1,25 (OH)₂D₃ yang dihasilkan oleh sel dendrit bertanggung jawab terhadap regulasi lebih dari dua ratus gen. Kemampuan ini dapat menyebabkan vitamin D mempunyai manfaat sebagai hormon pleiotropik.^{10, 14–16}

Pada penelitian ini didapatkan jumlah sel Treg yang diukur melalui pemeriksaan flowsitometri melalui ekspresi CD4⁺CD25⁺CD127^{low} yang dilakukan pada kelompok ITS+kalsitriol 0,5 mcg/hari dan kelompok ITS+plasebo (Tabel 3.). Data menunjukkan secara deskriptif terlihat penurunan jumlah sel pada kedua kelompok (minggu ke-8) yang kemudian diikuti dengan peningkatan pada minggu ke-15. Penurunan jumlah Treg pada minggu ke-8 diikuti dengan peningkatan jumlah MFI Treg pada minggu yang sama (52,70±7,92 vs 50,97±6,44). Kenaikan jumlah MFI Treg pada kelompok intervensi lebih tinggi 1,72% dibanding dengan kelompok kontrol (Gambar). Data ini menunjukkan jumlah sel Treg yang tetap diikuti jumlah pendaran yang meningkat dalam satu sel Treg, artinya aktivitas sel Treg tersebut meningkat. Jumlah sel Treg *baseline* yang terukur adalah sel natural Treg berjumlah 5–10% dari seluruh populasi CD4⁺ yang berada di organ limfoid perifer. Mekanisme inhibisi maturitas sel dendrit memegang peran penting untuk mencapai respons imun toleran. Biekle¹⁷ juga menyatakan lingkungan mikrolokal merupakan faktor yang penting dalam inhibisi maturitas sel dendrit oleh bentuk aktif vitamin D.

Pada penelitian ini telah terjadi penurunan sementara jumlah Treg sebesar 6% pada minggu ke-8, lalu terjadi peningkatan (2%) pada minggu

ke-15 (Tabel 3). Penurunan sementara dapat terjadi tanpa menurunkan peran Sel Treg. Hal ini dapat terjadi karena Treg yang telah meningkat aktivitasnya oleh 1,25 dihidroksivitamin D3 akan menimbulkan kondisi tolerogenik di dalam sel dendrit terjadi mekanisme inhibisi sel dendrit, reduksi jumlah antigen presenting cell, dan penurunan IL-12 (petanda dominasi bergeser ke Th1). Peningkatan jumlah dan aktivitas sel Treg yang berbeda bermakna dibanding dengan kontrol mulai terjadi pada minggu ke-8 sehingga penulis menduga kalsitriol turut berperan dalam inhibisi sekresi imunoglobulin E.

Jumlah sel Treg pada minggu ke-15 tidak memperlihatkan perbedaan kenaikan yang signifikan antara kelompok intervensi dan kontrol. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Baris dkk.¹⁸ yang tidak menemukan perbedaan kenaikan Treg antara kelompok ITS subkutaneus-vitamin D, kelompok ITS subkutaneus saja, maupun dengan kelompok farmakoterapi pada bulan ke-6. Perbedaan baru terlihat saat penilaian pada bulan ke-12 dengan $p=0,03$. Penulis menduga faktor absorpsi vitamin D di usus dan ekskresinya yang cepat juga turut memengaruhi jumlah peningkatan Treg.

Berbeda dengan penelitian yang dilakukan Taher dkk.¹⁹ didapatkan peningkatan kadar Treg pada hewan coba tikus yang disuntikkan vitamin D di lokasi yang sama dengan imunoterapi. Mereka mendapatkan dampak adjuvan vitamin D terhadap peningkatkan kadar FOXP3, IL-10, dan TGF- β .

Penelitian terhadap mekanisme vitamin D, RVD, dan 1,25(OH)₂D₃ terhadap sel limfosit T lebih banyak dilakukan secara *in vivo* di hewan coba tikus.¹⁹ Percobaan *in vivo* ini sangat sulit dilakukan pada manusia walaupun beberapa penelitian dilakukan untuk mencari dampaknya pada manusia melalui hewan coba tikus. Perbedaan hasil mekanisme vitamin D pada manusia terutama penilaian dilakukan melalui sel mononuklear darah perifer (PBMC). Sementara itu, pada hewan coba tikus spesimen penilaian diambil dari berbagai jaringan tubuh.

Hasil penelitian ini pun juga didukung oleh pendapat Chamber dkk.²⁰ bahwa penelitian pada populasi sel Foxp3 Treg manusia sangatlah sulit. Durasi penelitian memerlukan proses yang lebih lama sementara mekanisme aktivasi yang menginduksi Foxp3 berjalan sangat cepat akibatnya kadar sel Treg akan turun dengan cepat.

Pada penelitian ini juga menilai kadar *mean fluorescence intensity* (MFI) Treg, yaitu kadar *baseline* minggu ke-8 sebesar 1,72% kemudian

diikuti dengan kenaikannya pada minggu ke-15 sebesar 1,75% pada kelompok intervensi ($p=0,002$). Namun, pada kelompok kontrol kenaikan MFI tidak menunjukkan perbedaan bermakna (Gambar), keadaan ini menunjukkan bahwa pada tingkat molekul sudah terlihat kecenderungan peningkatan aktivitas sel Treg.

Penurunan gejala hidung terlihat tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok intervensi dan kontrol. Namun, grafik menunjukkan tren menurun pada kedua kelompok. Pada ITS penurunan skor gejala hidung adalah salah satu indikator keberhasilan yang bersifat subjektif. Pendapat individual di sini sangat utama sehingga sulit sekali membedakan antarskor. Kami menduga durasi pemberian vitamin D yang singkat cukup memengaruhi hasil ini.

Simpulan, jumlah Tregulator melalui ekspresi CD4⁺CD25⁺CD127^{low} meningkat pada penderita rinitis alergi yang diberikan ITS-vitamin D3 mulai minggu ke-8, diikuti dengan peningkatan pendaran pada sel Treg (*mean fluorescence intensity*) yang berbeda bila dibanding dengan kelompok yang sudah mendapat ITS+plasebo (kelompok kontrol). Perbaikan gejala klinis terlihat setara, diperlukan waktu pengamatan yang lebih lama.

Daftar Pustaka

1. Seidman MD, Gurgel RK, Lin SY, Schwartz SR, Baroody FM, Bonner JR, dkk. Clinical practice guideline: allergic rhinitis. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2015;152(1 Suppl):S1-43.
2. Moeis RM, Sudiro M, Herdiningrat S. Allergic rhinitis patient characteristics in Dr. Hasan Sadikin General Hospital Bandung Indonesia. *AMJ*. 2014;1(2):75-80.
3. Suprihati. Aeroallergen as the potential trigger of allergic rhinitis symptoms in Indonesia. *The 13th Asian Research Symposium in Rhinology Conference*; Bangkok. 2008.
4. Bozek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, Bonini S, Canonica GW, Casale TB, dkk. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126(3):466-76.
5. Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy: multiple suppressor factors at work in immune tolerance to allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133(3):621-31.
6. Nowak-Wegrzyn AH, Cox LS. Allergen-specific Immunotherapy--turning the tables

- on the immune system. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2016;36(1):xv-xxi.
7. E Noviani, Prasetyo D, Setiabudiawan B. Hubungan kadar vitamin D dengan anak atopi dan obesitas. *Sari Pediatri.* 2015;16(5):342-6.
 8. Thacher TD, Clarke BL. Vitamin D insufficiency. *Mayo Clin Proc.* 2011;86(1):50-60.
 9. Arshi S, Ghalehbaghi B, Kamrava SK, Aminlou M. Vitamin D serum levels in allergic rhinitis: any difference from normal population?. *Asia Pac Allergy.* 2012;2(1):45-8.
 10. Baeke F, Takiishi T, Korf H, Gysemans C, Mathieu C. Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr Opin Pharmacol.* 2010;10(4):482-96.
 11. van Hemelen D, van Oosterhout AJ. Adjuvants for immunotherapy: lost in translation?. *Clin Exp Allergy.* 2009;39(12):1783-5.
 12. Mainardi T, Kapoor S, Bielory L. Complementary and alternative medicine: herbs, phytochemicals and vitamins and their immunologic effects. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123(2):283-94.
 13. Katelaris CH, Lai CK, Rhee CS, Lee SH, Yun WD, Lim-Varona L, dkk. Nasal allergies in the Asian-Pacific population: results from the Allergies in Asia-Pacific Survey. *Am J Rhinol Allergy.* 2011;25(Suppl 1):S3-15.
 14. Wegienka G, Havstad S, Zoratti EM, Kim H, Ownby DR, Johnson CC. Association between vitamin D levels and allergy-related outcomes vary by race and other factors. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;136(5):1309-14.
 15. Luccock M, Jones P, Martin C, Beckett E, Yates Z, Furst J, dkk. Vitamin D: beyond metabolism. *J Evid Based Complementary Altern Med.* 2015;20(4):310-22.
 16. Zhang YG, Wu S, Sun J. Vitamin D, Vitamin D receptor, and tissue barriers. *Tissue Barriers.* 2013;1(1):e23118.
 17. Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol.* 2014;21(3):319-29.
 18. Baris S, Kiykim A, Ozen A, Tulunay A, Karakoc-Aydiner E, Barlan IB. Vitamin D as an adjunct to subcutaneous allergen immunotherapy in asthmatic children sensitized to house dust mite. *Allergy.* 2014;69(2):246-53.
 19. Taher YA, van Esch BC, Hofman GA, Henricks PA, van Oosterhout AJ. 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 potentiates the beneficial effects of allergen immunotherapy in a mouse model of allergic asthma: role for IL-10 and TGF-beta. *J Immunol.* 2008;180(8):5211-21.
 20. Chambers ES, Suwannasaen D, Mann EH, Urry Z, Richards DF, Lertmemongkolchai G, dkk. 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 in combination with transforming growth factor-beta increases the frequency of Foxp3(+) regulatory T cells through preferential expansion and usage of interleukin-2. *Immunology.* 2014;143(1):52-60.