

Natrium Kromolin, Obat Penghambat Degranulasi Sel Mast, Lebih Efektif terhadap Sel Mast Jaringan Ikat Dibanding Sel Mast Mukosa

Agung Endro Nugroho

Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada

Abstrak

Natrium kromolin merupakan obat antialergi yang bekerja melalui penghambatan degranulasi sel mast dalam melepaskan histamin sebagai mediator pada penyakit alergi. Bahkan pada terapi penyakit asma, obat tersebut digunakan sebagai obat lini pertama. Namun demikian, pada beberapa model alergi natrium kromolin tidak semua menunjukkan efek penghambatan pelepasan histamin dari sel mast. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan konfirmasi pengaruh natrium kromolin terhadap pelepasan histamin dari sel RBL-2H3 yang diinduksi oleh DNP₂₄-BSA, untuk kemudian dibandingkan dengan pengaruh positifnya pada model alergi reaksi anafilaksis kutaneus aktif diinduksi ovalbumin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa natrium kromolin tidak menunjukkan efek penghambatan secara bermakna terhadap pelepasan histamin dari sel RBL-2H3 diinduksi DNP₂₄-BSA, namun mampu menghambat secara bermakna reaksi anafilaksis kutaneus yg diperantarai pelepasan histamin, yang diinduksi ovalbumin.

Kata kunci: natrium kromoli, sel mast, RBL-2H3, alergi

Abstract

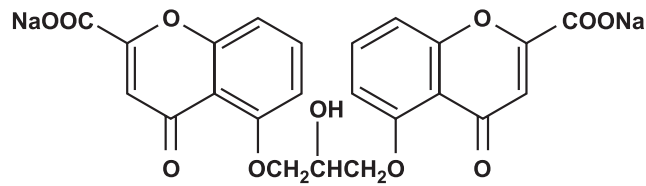
Cromolyn sodium is an antiallergy drug that acts by inhibiting mast cells degranulation responsible for the release of histamine, a mediator for this disease. Moreover, cromolyn sodium is used as a first line drug in asthmatic therapy. However, cromolyn sodium did not always show the inhibition effects on histamine release from mast cells in all allergy experiment models. The aim of present study was to reconfirm the effect of cromolyn sodium on the histamine release from RBL-2H3 cells line induced by DNP₂₄-BSA as an antigen, and compare to it's positive effect on active cutaneous anaphylaxis model induced by ovalbumin as an antigen. The results showed that cromolyn sodium did not inhibit the histamine release from RBL-2H3 cells line induced by DNP₂₄-BSA significantly, but inhibited active cutaneous anaphylactic reaction induced by ovalbumin significantly.

Key Words: cromolyn sodium, mast cells, RBL-2H3, allergy

Pendahuluan

Kromolin merupakan prototip suatu obat baru dengan aktivitas farmakologi sebagai penstabil degranulasi sel mast, yang digunakan dalam terapi penyakit yang berhubungan dengan sel mast antara lain rhinitis alergi, asma, konjungtivitis alergi, mastosistosis, urtikaria dermatografik maupun kolitis ulseratif. Selain itu, kromolin juga dapat digunakan dalam terapi alergi makanan dan beberapa kasus migrain kronik. Kromolin merupakan serbuk kristal putih, dalam tubuh sulit

diabsorpsi dalam saluran pencernaan. Oleh karena itu, jalur pembeianannya sering melalui ekstrasvaskuler. Keuntungan dari penggunaan senyawa ini adalah toksisitasnya sangat rendah, sehingga dalam terapi penyakit asma digunakan sebagai "first line therapy" pada penyakit tersebut. Di samping itu, kromolin tidak mempunyai efek antihistamin maupun vasokonstriksi (Bernstein dan Johnson, 1978; Shapiro dan Konig, 1985).



Gambar 1. Struktur kimia natrium kromolin

Senyawa tersebut juga dikenal sebagai kromoglikat, dan dalam perdagangan diproduksi dalam bentuk garamnya yaitu natrium kromolin atau natrium kromoglikat. Natrium kromolin mempunyai nama kimia: disodium 5-5'-[(2-hydroxytrimethylene) dioxy] bis [4-oxo-4H-1-benzopyran-2-carboxylate]. Struktur kimia natrium kromolin bisa dilihat pada gambar 1. Obat ini beraksi dengan mencegah pelepasan mediator-mediator dari membran sel mast, sedangkan obat anti-asma lainnya misalnya bronkodilator dan steroid beraksi terutama terhadap mediator-mediator tersebut yang dilepaskan dari sel mast (Bernstein dan Johnson, 1978; Heinke et al, 1995).

Mekanisme aksi senyawa tersebut sebenarnya belum diketahui secara detail, namun ringkasnya, kromolin beraksi dengan menstabilkan sel mast. Sampai saat ini, lebih dari 20 senyawa turunannya telah diproduksi namun tidak semuanya menunjukkan efek anti-asma. Berkaitan dengan patogenesis penyakit asma, obat tersebut menghambat respon serabut sensori C terhadap iritan kapsasin, menghambat refleksi aksion lokal pada asma, dan juga menghambat pelepasan sitokin sel T dan mediator-mediator lain yang terlibat dalam asma. Kromolin juga dilaporkan menghambat kanal ion kalsium, kemudian menghambat (1) refleksi neuronal akibat stimulasi dari reseptor iritan pada akhir syaraf sensory, dan (2) pelepasan sitokin dari beberapa tipe sel inflamasi (sel T, eosinofil) dalam patogenesis asma alergi. Ringkasnya, senyawa ini menghambat influks kalsium sehingga mencegah degranulasi sel mast, dan akibatnya adalah pelepasan mediator histamin bisa dicegah (Bernstein dan Johnson, 1978; Heinke et al, 1995).

Kromolin merupakan satu-satunya obat yang mampu menggeblok respon asma cepat dan lambat yang diinduksi oleh alergen. Konsekuensinya, terapi dengan kromolin dapat menggeblok peningkatan hiperaktivitas bronkial akibat pemasukan alergen secara kronik. Dari penelitian klinik, kromolin dilaporkan dapat mengontrol gejala asma kronik tingkat lunak hingga sedang pada 60-70 % pasien. Di samping itu, kromolin lebih efektif dibandingkan teofilin dalam mengontrol gejala asma kronik. Dalam klinik, kromolin lebih sering dikombinasikan dengan

teofilin maupun kortikosteroid dibandingkan penggunaan secara obat tunggal untuk mencegah efek samping dari penggunaan tunggalnya. Dalam perdagangan, kromolin dikemas sebagai spinhaler, aerosol, maupun cairan nebuliser (Murphy dan Kelly, 1987).

Berdasarkan keterangan di atas, secara umum kromolin digunakan dalam terapi penyakit asma alergi yang terkait dengan histamin. Kromolin mampu menghambat pelepasan histamin dari sel mast. Shin et al. (2004) melaporkan bahwa natrium kromoglikat atau natrium kromolin ini mampu menghambat pelepasan histamin *in vitro* dari sel mast peritoneal tikus yang diinduksi compound 48/80. Senyawa tersebut menghambat degranulasi sel mast pada percobaan menggunakan pengecatan alcian blue/nuclear fast red. Pada percobaan *in vivo*, senyawa ini menghambat reaksi hipersensitif tipe cepat dan juga menghambat reaksi anafilaksis kutaneus pasif. Hasil ini seiring dengan temuan Stenton et al (1998), dimana natrium kromolin mampu menghambat pelepasan histamin dan ion kalsium intraseluler dari sel mast peritoneal tikus yang diinduksi beberapa senyawa antara lain: compound 48/80, IgE maupun ionophore A23187. Berdasarkan penelitian tersebut, kromolin menghambat influks ion kalsium ekstraseluler ke sel mast peritoneal tikus. Namun demikian, natrium kromoglikat tidak selalu menunjukkan efek penghambatan pelepasan histamin pada model alergi terutama *in vitro*. Berkaitan dengan itu, Shijicho dan Saito (1997) menguji kromolin pada dua tipe sel yaitu ILMCMC dan FMCMC. ILMCMC merupakan sel mast yang diperoleh dari kultur sel tulang belakang tikus, sedangkan FMCMC diperoleh dari kultur sel line fibroblast, 3T3 selama 3 minggu. Berdasarkan penelitian tersebut, kromolin menghambat pelepasan histamin dari FMCMC, tapi tidak berefek terhadap ILMCMC. Perbedaan respon pada berbagai sel tersebut diduga disebabkan karena setiap sel mempunyai karakteristik yang berbeda terutama reaksi biokimia maupun stimulus dalam menghasilkan maupun melepaskan histamin.

Pada penelitian ini, dilakukan konfirmasi mengenai efek kromolin terhadap pelepasan histamin release dari sel line RBL-2H3 yang diinduksi oleh DNP₂₄-BSA. Sel RBL-2H3 (*rat basophilic leukemia*) merupakan sel line leukimia basofilik tikus, lazim digunakan dalam penelitian antialergi *in vitro* sebagai analog tumor sel mast. Sebagai pembanding, kromolin juga akan diuji efeknya pada model alergi *in vivo* yaitu anafilaksis kutaneus aktif. Pada penelitian sebelumnya, kromolin tidak mampu secara signifikan menghambat pelepasan histamin dari sel tersebut yang diinduksi oleh vancomisin. Vancomisin merupakan antibiotika golongan glikopeptida yang dapat

menyebabkan reaksi hipotensif, dan mampu menstimulasi pelepasan histamin dari sel mast peritoneal tikus maupun sel RBL-2H3 (William et al., 1991).

Metodologi Penelitian

Alat dan Bahan

Bahan uji utama yaitu natrium kromolin diperoleh dari Sigma Chemical. Sebagai induktor histamin digunakan *dinitrophenylated bovine serum albumin* (DNP₂₄-BSA) dari Bethesda, MD, sedangkan Monoclonal IgE diperoleh dari Department of Pharmacology, School of Medicine, Ehime University. Ovalbumin, Evans blue, Alcian blue, nuclear fast red diperoleh dari Sigma Chemical, dan Al(OH)₃, kloroform diperoleh dari E. Merck

Metode

Preparasi sel RBL-2H3

Sel RBL-2H3 yang disensitisasi dengan monoklonal IgE sehari sebelumnya, dipreinkubasi dengan PIPES (sebagai kontrol) atau larutan kromolin dalam PIPES (konsentrasi 1, 10 atau 100 µM) sebanyak 180 µL selama 10 menit pada suhu 37°C. Kemudian, ditambahkan larutan penginduksi histamin release, DNP₂₄-BSA 200 ng/mL, sebanyak 20 µl tiap sumuran untuk kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. *Plate* disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm, dan supernatan sebanyak 50 µl dipindah ke tube 1,5 mL. Supernatan ditambahkan asam perklorat 3 % sebanyak 250 µl, dan di-mixer. Kemudian, ditambahkan larutan KOH 2M/KH₂PO₄ 1 M sebanyak 30 µl, dicampur, kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4°C. Supernatan siap ditetapkan kadar histaminnya. Untuk penetapan histamin total, sebanyak 350 µl larutan dapar PIPES ditambahkan pada 6 sumuran, kemudian disonifikasi. Larutan homogenat sel siap dilakukan penetapan kadar histamin.

Penetapan kadar histamin

Kadar histamin ditetapkan dengan menggunakan HPLC dengan detektor fluorometri mengacu pada metode Yamatodani (1985). Sebanyak 50 µl supernatan dan homogenat sel diinjeksikan pada kolom TSKgel SP-2SW cation Exchanger (Tosoh, Tokyo). Fase gerak HPLC yang digunakan adalah: larutan dapar kalium fosfat 0,25 M dan larutan *o*-phthalaldehyde dalam kondisi alkali. Deteksi fluorometri dilakukan pada panjang gelombang eksitasi 360 nm dan emisi 450 nm.

Reaksi *active cutaneous anaphylaxis* (ACA)

Pada reaksi anafilaksis kutaneus aktif, tikus disensitisasi dengan dua kali dengan ovalbumin 10% and Al(OH)₃ (1 mL per 200 g BB) secara subkutan pada punggung tikus pada hari ke 0 dan 7. Pada hari keempatbelas, tikus disuntik dengan larutan Evans Blue secara intra vena melalui vena ekor sebagai indikator warna untuk menunjukkan adanya pembekuan lokal dan kemerahan pada daerah tersensitisasi. Selanjutnya tikus disuntik dengan larutan ovalbumin saja secara subkutan untuk menginduksi reaksi anafilaksis kutan. Reaksi anafilaksis kutaneus ditandai dengan daerah inflamasi berwarna biru di punggung tikus. Pengukuran diameter dilakukan pada jam ke-5, dimulai setelah pembangkitan reaksi inflamasi.

Analisa data

Semua data disajikan dalam bentuk mean ± SEM. Analisa statistika menggunakan *one-way analysis of variance* (ANOVA), dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD). Tingkat kepercayaan yang digunakan adalah 95%.

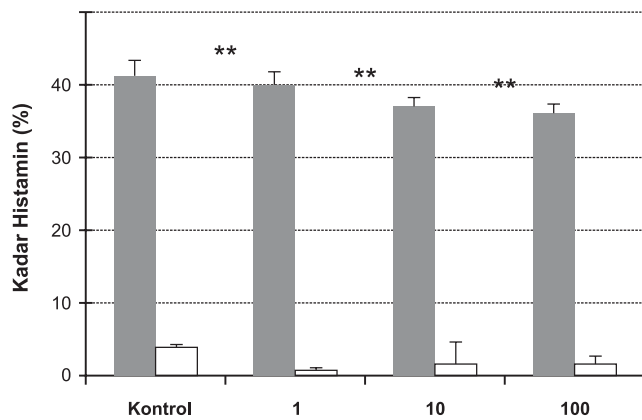
Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini dilakukan konfirmasi mengenai efek natrium kromolin terhadap pelepasan histamin release dari sel line RBL-2H3 yang diinduksi oleh DNP₂₄-BSA. Sel RBL-2H3 (*rat basophilic leukemia*) merupakan sel line leukimia basofilik tikus, lazim digunakan dalam penelitian antialergi *in vitro* sebagai analog tumor sel mast.

Dinitrophenylated bovine serum albumin (DNP₂₄-BSA) merupakan antigen spesifik terhadap antibodi monoklonal IgE. DNP₂₄-BSA menstimulasi histamin dari sel mast dengan melakukan interaksi secara *cross-linking* terhadap bagian karbohidrat molekul IgE yang terikat pada reseptor FcεRI. Interaksi tersebut akhirnya akan merangsang serangkaian proses signaling intraseluler dalam sel mast dan melepaskan histamin dari sel tersebut. Sebagai pembanding, kromolin juga akan diuji efeknya pada model alergi *in vivo* yaitu anafilaksis kutaneus aktif. Metode yang digunakan mengacu pada penelitian Shimada *et al.* (2004). Anafilaksis kutaneus aktif, dilakukan dengan menyuntikkan suatu antigen ke dalam kulit hewan uji yang telah disensitisasi, kemudian akan menimbulkan reaksi anafilaksis lokal. Reaksi ini terdiri dari pembengkakan lokal dan kemerahan. Kenaikan permeabilitas vaskuler lokal yang merupakan ciri khas reaksi ini dapat ditunjukkan dengan menggunakan larutan *Evans blue* (Henson, 1993).

Pada gambar 2, disajikan hasil pengaruh natrium kromolin terhadap kadar pelepasan histamin dari kultur sel RBL-2H3 yang diinduksi oleh DNP₂₄-BSA. Kadar pelepasan histamin

merepresentasikan sebagai prosentase pelepasan histamin dibandingkan dengan kadar histamin total dari kultur sel RBL-2H3.



Gambar 2. Histogram pengaruh pemberian natrium kromolin terhadap pelepasan histamin dari sel RBL-2H3 dengan induksi DNP_{24} -BSA (■), dan tanpa induksi DNP_{24} -BSA (□).** Tidak berbeda bermakna dibandingkan kontrol ($P > 0,05$).

Pada penelitian ini, dosis natrium kromolin yang digunakan adalah 1, 10 dan 100 μ M, sedangkan dosis DNP_{24} -BSA yang digunakan adalah 20 ng/mL. Penggunaan dosis DNP_{24} -BSA tersebut mengacu pada penelitian pendahuluan yaitu optimasi dosis DNP_{24} -BSA dalam menstimulasi histami dari sel RBL-2H3 (data tidak disajikan).

Kadar pelepasan histamin antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan natrium kromolin pada semua dosis percobaan tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($P > 0,05$). Meskipun perlakuan natrium kromolin terutama pada dosis 10 dan 100 μ M menurunkan kadar pelepasan histamin dari sel RBL-2H3 sebesar 10 dan 12 % (Tabel 1), namun secara statistika tidak berbeda bermakna ($P > 0,05$). Disamping itu, harga tersebut (< 15 %) dinilai masih terlalu kecil bagi suatu obat yang direkomendasikan sebagai obat anti-allergi. Namun ada baiknya juga diamati pengaruh natrium kromolin pada model alergi yang lainnya.

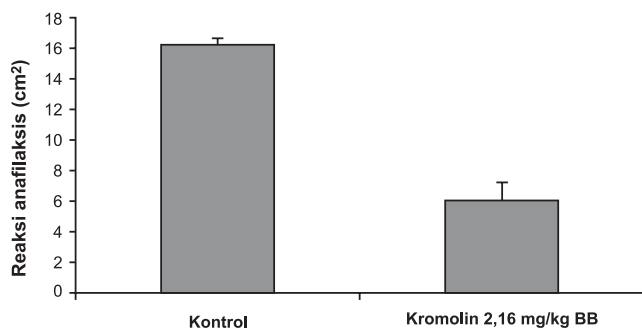
Masih pada gambar 2 dan tabel 1, perlakuan natrium kromolin juga menunjukkan stimulasi pelepasan histamin dari sel RBL-2H3. Dalam hal ini, harga pelepasan histamin spontan (*spontaneous histamine release*) percobaan dilakukan tanpa adanya praperlakuan dari DNP_{24} -BSA. Harga tersebut merupakan kadar histamin dari sel RBL-2H3 yang tidak terstimulasi oleh DNP_{24} -BSA dibandingkan kadar histamin total. Harga pelepasan histamin spontan (*spontaneous histamine release*) akibat perlakuan natrium kromolin dosis 1,

10 dan 10 berturut-turut adalah 0,63; 5,38 dan 1,71 %. Harga tersebut masih di bawah nilai 10 %, sehingga digolongkan sebagai *mild spontaneous histamine release*.

Tabel 1. Harga penghambatan pelepasan histamin (diinduksi DNP_{24} -BSA) dan harga pelepasan histamin spontan dari sel RBL-2H3 akibat perlakuan natrium kromolin

No	Dosis natrium kromolin (μ M)	Penghambatan histamin (%)	Pelepasan histamin spontan (%)
1.	1	2.71 ± 4.76	0.63 ± 0.38
2.	10	9.88 ± 3.02	5.38 ± 3.17
3.	100	12.14 ± 3.18	1.71 ± 1.13

Pada gambar 3, disajikan pengaruh pemberian natrium kromolin terhadap model alergi lainnya yaitu anafilaksis kutaneus aktif. Berbeda pada percobaan sebelumnya dimana senyawa tersebut hanya mempunyai pengaruh kecil terhadap pelepasan histamin dari sel RBL-2H3, pada percobaan kali ini senyawa tersebut menunjukkan efek penghambatan yang sangat besar terhadap reaksi anafilaksis yang disebabkan karena pelepasan histamin dari sel mast. Pengamatan reaksi anafilaksis kutaneus aktif pada tikus dilakukan pada jam ke-5, dimana reaksi anafilaksis terjadi paling optimum (berdasarkan percobaan pendahuluan, data tidak disajikan). Natrium kromolin dosis 2,16 mg/kg BB yang diberikan secara subkutan mampu menghambat reaksi anafilaksis kutaneus hingga 64,04 %. Ini menunjukkan bahwa natrium kromolin secara efektif menghambat salah satu manifestasi alergi yang melibatkan proses degranulasi sel mast atau pelepasan histamin. Reaksi anafilaksis kutaneus aktif melibatkan produksi imunoglobulin E oleh limfosit B akibat sensitisasi dan proses induksi oleh ovalbumin. Setelah proses induksi atau pembangkitan reaksi inflamasi oleh ovalbumin mengakibatkan ovalbumin tersebut segera berikatan dan membentuk jembatan antara 2 molekul IgE yang menempel pada sel mast (*crosslinking*) yang kemudian akan mengaktifasi atau merangsang serangkaian proses transduksi sinyal dalam sel mast yang pada akhirnya menghasilkan proses degranulasi sel tersebut. Degranulasi terjadi melalui proses eksositosis, yang akhirnya melepaskan beberapa mediator (Kresno, 2001; Subowo, 1993).



Gambar 3. Histogram pengaruh natrium kromolin terhadap reaksi anafilaksis kutaneus aktif pada kulit punggung tikus dengan area pigmentasi sebagai indikator pengamatan.

*Berbeda bermakna dibandingkan kontrol ($P < 0,05$)

Sel mast pada tikus terdapat pada 2 jaringan utama yaitu jaringan ikat dan mukosa. Kedua tersebut berbeda mengenai: ontogenik, ultrastruktural, sitokimia maupun proses biokimia dalam bagian intraselulernya. Perbedaan inilah yang mengakibatkan responnya terhadap suatu senyawa memungkinkan adanya suatu perbedaan. Sel mast jaringan ikat melepaskan amina vasoaktif yaitu histamin, serotonin serta metabolit asam arakhidonat berupa prostaglandin, sedangkan sel mast mukosa melepaskan histamin, serotonin serta produk lipoksigenase seperti leukotrien. Sel mast mukosa berukuran lebih kecil dibandingkan sel mast jaringan ikat. Di samping itu, sel mast mukosa mempunyai granul yang jumlahnya lebih sedikit (kira-kira 10 kali) dibandingkan sel mast jaringan ikat. Berdasarkan pewarnaan terhadap proteoglikan, sel mast mukosa lebih dominan mempunyai kondroitin sedangkan sel mast jaringan ikat dominan mempunyai heparin. Masih pada bagian granulnya, sel mast jaringan mengandung enzim *chymotrypsin-like neutral protease, rat mast cell protease I (RMCP I)*. Enzim ini aksinya mirip dengan enzim sel mast mukosa (RMCP II), namun berbeda pada antigennya. Respon stimulasi pada sel mast jaringan akan menghasilkan prostaglandin D_2 (PGD_2), sedangkan pada sel mast mukosa menghasilkan PGD_2 , leukotrin C_4 dan B_4 (Dale et al., 1994).

Sel RBL-2H3 (*rat basophilic leukemia*) merupakan suatu analog sel mast tumor, sering digunakan dalam penelitian yang berkaitan dengan alergi. Sel tersebut mengandung histamin dan mempunyai reseptor IgE. Penelitian terhadap karakteristik sel RBL-2H3 adalah sebagai berikut: positif terhadap pewarnaan alcian blue, namun negatif terhadap safranin, tergantung terhadap faktor sel T, mengandung enzim RMCP II, kadar histamin sebesar $0.1 \mu\text{g}$ per 10^6 sel, dan dengan perlakuan compound 48/80 tidak mampu menstimulasi histamin.

Karakteristik tersebut apabila diklasifikasi pada jenis sel mast pada tikus termasuk pada kelompok sel mast mukosa (Seldin et al, 1985; Dale et al., 1994).

Hasil percobaan menunjukkan bahwa natrium kromolin mempunyai efek penghambatan yang sangat kecil (tidak signifikan) terhadap pelepasan histamin dari sel RBL-2H3 yang diinduksi oleh DNP_{24} -BSA sebagai antigennya. Di lain pihak, senyawa tersebut mampu menghambat reaksi anafilaksis kutaneus yang diakibatkan karena pelepasan histamin hasil dari interaksi antara ovalbumin sebagai antigen dengan sel mast. Ini disebabkan karena sel RBL-2H3 berdasarkan karakteristiknya digolongkan pada sel mast mukosa. Sedangkan, model reaksi anafilaksis kutaneus cenderung melibatkan sel mast jaringan ikat. Tidak adanya target aksi atau reseptor spesifik terhadap natrium kromolin inilah yang melatarbelakangi perbedaan pengaruh senyawa tersebut pada kedua jenis sel mast. Telah dijelaskan pada pendahuluan bahwa mekanisme aksi senyawa tersebut adalah dengan menghambat influks kalsium sehingga mencegah degranulasi sel mast sehingga pelepasan mediator histamin bisa dicegah (Pearce et al., 1982; Heinke et al, 1995; Shin et al., 2004).

Kesimpulan

Efek natrium kromolin terhadap pelepasan histamin dari sel RBL-2H3 adalah sangat kecil bahkan cenderung tidak bermakna. Sedangkan terhadap reaksi anafilaksis kutaneus yang diakibatkan pelepasan histamin, natrium kromolin menunjukkan efek penghambatan tersebut hingga 60%.

Ucapan Terima Kasih

Kami ucapkan terima kasih terutama kepada Prof. Dr. Kazutaka Maeyama, MD. (Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Ehime Jepang) yang telah memberikan fasilitas sebagian dari penelitian ini. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada segenap pihak yang telah membantu penelitian ini

Daftar Pustaka

- Bernstein, I.L., Johnson, C.L., 1978, Therapy with cromolyn sodium, *Ann Intern Med.*, **89(2)**:228-233.
- Dale, M.M., Foreman, J.C., and Fan, T.D., 1994, *Textbook of Immunopharmacology*, Edisi Ketiga, 21-34, Blackwell Scientific Publication, Oxford.

- Heinke, S., Szucs, G., Norris, A., Droogmans, G., Nilius, B., 1995, *Inhibition of volume-activated chloride currents in endothelial cells by chromones*, *Br J Pharmacol.*, **115(8)**: 1393-1398.
- Henson, P.M., 1993, Mekanisme Injuri Jaringan yang Dihasilkan oleh Reaksi Immunologik, dalam Bellanti, J.A., *Immunologi III*, diterjemahkan oleh Wahab, A.S., 234-279, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Kresno, S.B., 2001, *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*, 137-145, Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
- Murphy, S., Kelly, H.W., 1987, Cromolyn sodium: a review of mechanisms and clinical use in asthma, *Drug Intell Clin Pharm.*, **21(1 Pt 1)**:22-35.
- Pearce, F.L., Befus, A.D., Gauldie, J., Bienenstock, J., 1982, Mucosal mast cells. II. Effects of anti-allergic compounds on histamine secretion by isolated intestinal mast cells, *J Immunol.*, **128(6)**:2481-2486
- Seldin, D.C., Adelman, S., Austen, F., Stevens, R.L., Hein, A., Caulfield, J.P., Woodbury, R.G., 1985, Homology of the rat basophilic leukemia cell and the rat mucosal mast cell, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **(82)**: 3871-3875.
- Shapiro, G.G., Konig, P., 1985, Cromolyn sodium: a review, *Pharmacotherapy*, 5(3):156-170.
- Shichijo, K., and Saito, H., 1997, Effect of Chinese herbal medicines and disodium cromoglycate on IgE-dependent histamine release from mouse cultured mast cells, *Int J Immunopharmacol.*, **19(11-12)**:677-82.
- Shin, H.Y., Kim, J.S., An, N.H., Park, R.K., Kim, H.M., 2004, Effect of disodium cromoglycate on mast cell-mediated immediate-type allergic reactions, *Life Sci.*, **74(23)**:2877-2887.
- Shimada T, Cheng L, Yamasaki A, Ide M, Motonaga C, Yasueda H, Enomoto K, Enomoto T, Shirakawa T., 2004, Effects of lysed *Enterococcus faecalis* FK-23 on allergen-induced serum antibody responses and active cutaneous anaphylaxis in mice, *Clin Exp Allergy*, **34(11)**,1784-1788.
- Stenton, G.R., Chow, S.M., Lau, H.Y., 1998, Inhibition of rat peritoneal mast cell exocytosis by frusemide: a comparison with disodium cromoglycate, *Life Sci.*, **62(3)**:PL49-54.
- Subowo, 1993, *Imunologi Klinik*, 9-35, Angkasa, Bandung.
- Williams, P.D., Laska, D.A., Shetler, T.J., McGrath, J.P., White, S.L., Hoover, D.M., 1991, Vancomycin-induced release of histamine from rat peritoneal mast cells and a rat basophil cell line (RBL-1), *Agents Actions.*, **32(3-4)**:217-23.
- Yamatodani, A., Fukuda, H., Wada, H., Iwaeda, T., Watanabe, T., 1985, High-performance liquid chromatographic determination of plasma and brain histamine without previous purification of biological samples: cation-exchange chromatography coupled with post-column derivatization fluorometry, *J Chromatogr.*, **344**: 115-123.