

EFEK PAPARAN PROFILIN *Toxoplasma gondii* TERHADAP KADAR NF- κ B PADA KULTUR ADIPOSIT (STUDI HUBUNGAN DISFUNSI ADIPOSIT DENGAN INFEKSI *Toxoplasma gondii*)

Yosh Natanael

Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

ABSTRAK

Penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa profilin *Toxoplasma gondii* merupakan ligan spesifik terhadap TLR-11 dalam sel host dan dapat meningkatkan IL-6 yang merupakan sitokin proinflamasi di sel adiposit. NF- κ B (*Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cell*) merupakan master regulasi dari transkripsi IL-6 dalam sel sehingga dapat menimbulkan hipertrofi dan hiperproliferasi dari jaringan adiposit (disfungsi adiposit). Penelitian dilakukan secara eksperimental laboratorik secara in vitro dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design*. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok yaitu satu kelompok kontrol negatif, satu kelompok kontrol positif dan 3 kelompok perlakuan dengan memberikan profilin *T.gondii* dalam dosis 5, 20, dan 40 μ g. Variabel yang diukur adalah kadar NF- κ B dari sel kultur adiposit. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara 5 perlakuan (Kruskal Wallis, $p=0,019$). Kelompok yang diberi profilin *T.gondii* dengan kadar 40 μ g merupakan kelompok yang memiliki perbedaan bermakna dibandingkan dengan kelompok lainnya. Hubungan kedua variabel bersifat kuat dan signifikan (Spearman, $p=0,000$; koefisien korelasi=0,888). Kesimpulan dari penelitian ini adalah paparan profilin *Toxoplasma gondii* dapat meningkatkan kadar NF- κ B dalam kultur adiposit dan semakin tinggi dosis profilin *Toxoplasma gondii* semakin tinggi juga kadar NF- κ B pada kultur adiposit.

Kata kunci : profilin, *Toxoplasma gondii*, disfungsi adiposit, kadar NF- κ B

ABSTRACT

The latest research has proven that profilin of *Toxoplasma gondii* is a specific ligand that bind with TLR-11 in the surface of host's cell and has potential to increase the production of IL-6 which is a pro inflammation cytokine in adipocyte cell. NF- κ B (*Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cell*) is the regulation master of IL-6 transcription inside of cell which can cause hypertrophy and hyperproliferation of adipocyte tissues (adipocyte dysfunction). This research was carried out experimentally by in vitro laboratoric using Post test Only Control Group design. Samples are divided into 5 groups which is one negative control group, one positive control group, and three groups that are given different dose of profilin which are 5, 20, and 40 μ g. The measured varibale is the level of NF- κ B from the cell of adipocyte culture using ELISA method. The outcome shows significant differences in 5 groups (Kruskal Wallis, $p=0,019$). Group that is given 40 μ g *T.gondii*'s profilin is the group which has significant difference compared to other groups. The relationship between these two variables is strong and significant (Spearman, $p=0,000$; koefisien korelasi=0,888). The conclusion of this research is *Toxoplasma gondii*'s profilin does have a connection with NF- κ B level in in vitro adipocyte culture and increasing the dose of *Toxoplasma gondii*'s profilin will also escalate the level of NF- κ B in adipocyte culture.

Keyword : profilin, *Toxoplasma gondii*, adipocyte dysfunction, NF- κ B level

PENDAHULUAN

Toxoplasma gondii adalah parasit apicomplexan yang tersebar secara mendunia, dimana di Amerika sekitar 60 juta orang kemungkinan terinfeksi parasit ini di dalam tubuhnya. Parasit apicomplexan memerlukan *gliding motility* yang bergantung pada polimerasi filamen aktin parasit untuk masuk dalam sel *host*.¹ Polimerasi aktin yang diperlukan untuk *gliding motility* dari *T.gondii* diregulasi oleh suatu protein yang bersifat *actin-binding* yaitu profilin. Profilin juga didapatkan di antigen yang diproduksi dari banyak kultur parasit lain serta diidentifikasi sebagai ligan aktivasi dari TLR 11 (*Toll Like Receptor 11*).² Parasit yang tidak memiliki profilin tidak mampu menginduksi TLR-11 untuk memproduksi IL-12 (sitokin pertahanan dari sel inang) baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Jadi profilin merupakan elemen penting dari dua aspek infeksi *T.gondii* dan sangat berperan pada motilitas ketika ligan dari mikroba dikenali sistem imunitas alami sel *host*.³

Obesitas merupakan keadaan penyimpanan lemak tubuh yang berlebihan.⁴ Obesitas juga mengganggu fungsi fisiologis dari jaringan adiposit sehingga obesitas mempunyai hubungan yang kuat dengan disfungsi adiposit.⁵ *World Health Organization* (2015) mendefinisikan BMI yang lebih dari 25 kg/m² menandakan *overweight* dan BMI yang lebih dari 30 kg/m² menandakan obesitas. Penyebab utama dari obesitas adalah ketidakseimbangan energi antara kalori yang dikonsumsi dan kalori yang dipakai, contohnya peningkatan asupan makanan yang tinggi lemak dan penurunan aktivitas karena gaya hidup *sedentary* disebabkan kemajuan teknologi di berbagai bidang.⁶

Berdasarkan survey Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Indonesia tahun 2013, prevalensi obesitas secara nasional di Indonesia adalah 28,9% (13,5% *overweight* dan 15,4% obesitas pada usia 18 tahun ke atas) dengan memakai kriteria BMI 25-27 kg/m² untuk *overweight* dan BMI lebih dari 27 kg/m² untuk obesitas.⁷

Terdapat banyak faktor yang dapat menyebabkan obesitas, namun ada satu faktor

Penelitian dilakukan secara eksperimental laboratorik secara *in vitro* dengan rancangan *True*

yang jarang dibahas yaitu patogen. Beberapa mikroba patogen dan virus terbukti meningkatkan berat badan dan terbentuklah teori baru yaitu *infectobesity*. Salah satu contohnya adalah Ad36 (Human Adenovirus 36) yang mempunyai gen untuk meregulasi proses adipogenik dan menginduksi *cellular signaling pathways* yang berujung pada inflamasi kronis yang memiliki peran penting dalam obesitas, namun belum pernah ada studi epidemiologinya.⁸

Aktivasi *Toll Like Receptors* (TLRs) yang distimulasi oleh sitokin dan *Pathogen Associated Molecular Patterns* (PAMPs) akan menginisiasi *signaling cascade* yang berujung pada aktivasi NF- κ B (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*). NF- κ B akan memediasi proliferasi sel dan pengeluaran molekul antimikroba serta sitokin yang akan mengaktifkan respon imun. Itu adalah salah satu dari jalur yang dapat diambil oleh NF- κ B untuk mengaktifkan sistem imun bila ada infeksi mikroba.⁹ Penelitian Megan Raetz *et al* pada tahun 2014 menjelaskan bahwa profilin *Toxoplasma gondii* tidak hanya dapat dikenali oleh TLR-11 saja, tetapi TLR-12 pun dapat mengenalinya dan mengatur produksi IL-12 di sel dendritik. Akan tetapi, bagaimana efek paparan profilin *T.gondii* sendiri pada sel adiposit dan efeknya terhadap NF- κ B belum banyak diketahui.¹⁰

Pada kasus parasit intraseluler lainnya, infeksi dalam jangka waktu yang lama akan menyebabkan hiperplasia dan hiperproliferasi dari adiposit. Perubahan kualitas adiposit bila terkena paparan profilin *T.gondii* masih minim diketahui.¹¹ Demikian pula dengan kadar NF- κ B akibat infeksi *Toxoplasma gondii* belum banyak diketahui. NF- κ B diketahui memicu pengeluaran IL-6 yang bersifat sebagai sitokin proinflamasi yang menyebabkan obesitas dan resistensi insulin sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efek dari paparan profilin *Toxoplasma gondii* terhadap kadar NF- κ B di kultur adiposit *in vitro*.¹²

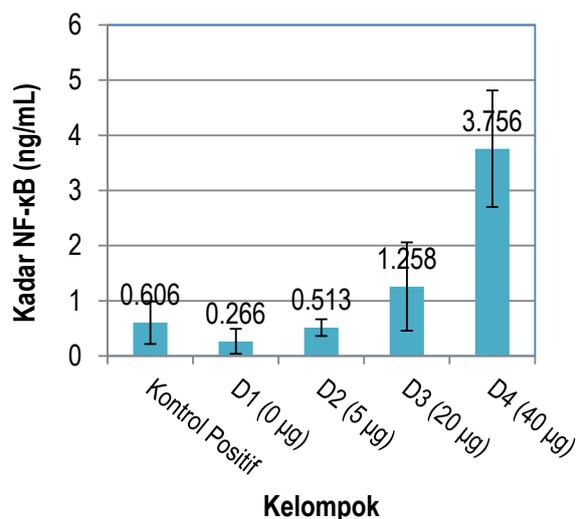
METODE

Experimental Post Test Only, Control Group Design. Sampel penelitian adalah sel adiposit yang

telah dikultur dari lemak putih tikus Wistar betina yang berumur 1 bulan selama 5 minggu dalam media Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) dan telah diberi profilin *Toxoplasma gondii* yang diekstrak dari *E.coli* dengan berbagai dosis. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif (diberi IBMX Dexamethasone 1mmol), kelompok D2 (adiposit diberi profilin dosis 5 µg), kelompok D3 (adiposit diberi profilin dosis 20 µg), dan kelompok D4 (adiposit diberi profilin dosis 40 µg). Variabel yang diukur adalah kadar NF-κB sel adiposit dengan metode ELISA Sandwich.

HASIL

Rata-rata Kadar NF-κB (ng/mL) Sel Kultur Adiposit yang Telah Diberi Profilin *T.gondii*



Hasil penelitian efek paparan profilin *Toxoplasma gondii* terhadap kadar NF-κB kultur adiposit yang dinilai menggunakan metode ELISA dan diukur dengan spektrofotometer menunjukkan kelompok kontrol yang diberi stimulan memiliki rata-rata kadar NF-κB sebesar $0,606 \pm 0,386$ ng/mL sedangkan kontrol yang tanpa stimulan memiliki rata-rata kadar NF-κB sebesar $0,298 \pm 0,227$ ng/mL. Kelompok yang diberi dosis terendah profilin *T.gondii* yaitu 5 µg mempunyai rata-rata kadar NF-κB sebesar $0,513 \pm 0,151$ ng/mL dan sebesar $1,258 \pm 0,800$ ng/mL pada kelompok yang diberi profilin 20 µg serta sebesar $3,756 \pm 1,056$ ng/mL pada kelompok yang diberi profilin 40 µg.

PEMBAHASAN

Kadar NF-κB yang diukur dari kultur adiposit yang telah diberi profilin *Toxoplasma gondii* menunjukkan adanya peningkatan seiring dengan kenaikan dosis pemberian profilin. Dosis profilin 5 µg hanya membuat kadar NF-κB meningkat dengan selisih 0,215 ng/mL dengan kelompok kontrol tanpa stimulan dan tidak meningkat dibandingkan dengan kelompok kontrol yang diberi stimulan. Dosis profilin 20 µg membuat kadar NF-κB meningkat dengan selisih 0,96 ng/mL dengan kelompok kontrol tanpa stimulan dan hanya memiliki selisih 0,652 ng/mL dengan kelompok kontrol yang diberi stimulan. Dosis tertinggi profilin yaitu 40 µg membuat kadar NF-κB mencapai rata-rata 3,756 ng/mL dibandingkan dengan kultur adiposit yang tidak diberi profilin dengan kadar NF-κB hanya sebesar 0,298 ng/mL. Pada uji Kruskal Wallis didapatkan hasil dengan perbedaan yang bermakna (p value < 0,05) dan uji *post hoc*nya didapatkan dosis profilin yang memberikan perbedaan bermakna (p value < 0,05) yaitu 40 µg dibandingkan dengan kelompok kontrol yang diberi stimulan, kelompok yang diberi profilin dosis 5 µg dan dosis 20 µg. Hubungan yang kuat antara pemberian profilin terhadap kadar NF-κB juga dinilai bermakna yang menandakan kenaikan dari kadar NF-κB dipengaruhi oleh profilin *Toxoplasma gondii* yang dipaparkan.

Hal ini menunjukkan adanya suatu *cascade* dalam sel adiposit yang dapat meningkatkan kadar NF-κB saat dipapar profilin. Profilin merupakan ligan dari TLR-11 yang dimana *Toll Like Receptor* akan memulai suatu *cascade* yang berujung pada pembentukan dari NF-κB. Jalur *canonic* adalah jalur pembentukan NF-κB yang distimulasi oleh *Toll Like Receptor* dan sitokin proinflamasi seperti TNF-α dan IL-1. Jalur ini yang akan distimulasi oleh profilin sehingga TLR-11 mengaktifkan kompleks IKK untuk melepas segmen β yang akan menginduksi fosforilasi dari IκB. NF-κB yang terdiri dari *RelA* dan *p50* akan dilepaskan dari IκB saat terjadi fosforilasi.^{2 13 14} Proses ini yang menimbulkan peningkatan dari kadar NF-κB yang terdapat pada kultur adiposit yang diberi profilin *Toxoplasma gondii*.

Selanjutnya untuk dapat menimbulkan hipertrofi dan hiperproliferasi dari sel adiposit serta

resistensi insulin diperlukan sitokin IL-6 yang ditranskripsi oleh sel yang diatur oleh NF- κ B. Peningkatan sekresi dari IL-6 yang dihasilkan oleh adiposit dan makrofag yang juga diinduksi oleh NF- κ B akan menyebabkan resistensi insulin dan trigliserida hasil dari lipolisis jaringan lemak yang disimpan dalam *Free Fatty Acid* darah. IL-6 juga menghambat *Reversed CA-ICK β* yang seharusnya menurunkan produksi dari NF- κ B sehingga inflamasi pada adiposit, liver dan otot tidak berhenti.^{15 16} Hal ini membuat IL-6 menjadi kunci penting untuk mengetahui terjadinya hipertrofi adiposit dan resistensi insulin. Menurut penelitian Susanto *et al* tentang efek profilin *T.gondii* terhadap kadar TLR-11, IL-6 dan TNF- α pada tahun 2010, kadar IL-6 mengalami peningkatan seiring dengan penambahan dosis profilin.¹⁷ Hal ini menunjukkan bahwa IL-6 memang diproduksi melalui jalur *canonic* NF- κ B yang diinduksi oleh TLR-11. Selain itu, kemungkinan dari *Toxoplasma gondii* untuk menginfeksi dalam jangka waktu lama (kronis) pada jaringan adiposit belum diketahui pasti walaupun dalam penelitian Cristina *et al* pada tahun 2008 menunjukkan bahwa bradizoid membentuk kista selama beberapa hari pada jaringan adiposit dan hari-hari berikutnya konversi kembali dalam bentuk takizoid untuk menginfeksi otak yang merupakan organ utama tempat infeksi dari *T.gondii* sehingga dapat mempengaruhi hasil regresi linier dan menjadi variabel lain yang harus diteliti lebih lanjut.¹⁸

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan diantaranya tidak diketahui secara pasti sitokin lain seperti IL-1 atau TNF- α dapat lebih menginduksi terjadinya hipertrofi dan hiperproliferasi sel adiposit dibandingkan dengan NF- κ B yang memerlukan dosis profilin 40 μ g untuk menghasilkan perbedaan yang bermakna. Keterbatasan lainnya adalah belum dapat dipastikan terjadinya hipertrofi dan hiperproliferasi dari sel adiposit karena tujuan penelitian ini hanya untuk mengetahui hubungan antara profilin *Toxoplasma gondii* dengan kadar NF- κ B.

Uji lanjutan mengenai durasi yang diperlukan untuk mencapai hipertrofi dari sel adiposit dan peningkatan dari zat lain seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS) untuk menilai adanya hipertrofi dan hiperproliferasi dari sel

adiposit masih diperlukan. Masih diperlukan penelitian yang lebih dalam dari penelitian ini agar nantinya dapat diaplikasikan pada hewan coba dalam jangka waktu yang lebih panjang untuk menilai apakah infeksi akut atau kronis *Toxoplasma gondii* yang dapat menyebabkan disfungsi adiposit.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis dan pembahasan yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa profilin *Toxoplasma gondii* dapat meningkatkan kadar NF- κ B dalam kultur adiposit.

SARAN

Saran-saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah dilakukannya penelitian yang lebih mendalam tentang :

- 1) Dosis profilin yang dibutuhkan untuk membuat NF- κ B mencapai suatu kadar yang dapat menimbulkan disfungsi sel adiposity karena dalam penelitian ini, dosis profilin yang memberi perbedaan yang signifikan hanyalah dosis 40 μ g sehingga dapat ditambah dosis profilin yang lebih beragam (misalnya : 40 μ g, 60 μ g, 80 μ g, 100 μ g).
- 2) Durasi (akut/kronis) yang dibutuhkan oleh NF- κ B untuk dapat membuat hipertrofi dan hiperproliferasi dari sel adiposit serta diukur zat-zat meningkat atau menurun sehingga menandakan adanya disfungsi sel adiposit tersebut seperti GSH, SOD dan ROS dengan melakukan eksperimen pada tikus coba secara langsung dengan waktu inkubasi setelah pemberian profilin diperpanjang (minggu atau bulan).

DAFTAR PUSTAKA

1. Skillman K.M., Daher W., Ma C.I., Soldati-Favre D., and Sibley L.D. *Toxoplasma gondii* Profilin Acts Primarily to Sequester G-Actin while Formins Efficiently Nucleate Actin Filament Formation in Vitro. *Biochemistry*, 2015, 51 (12): 2486-2495.
2. Yarovinsky, F., Zhang D., Andersen J.F., Bannenberg G.L., Serhan C.N., Hayden M.S., Hieny S., et al. 2005. TLR11 activation of

- dendritic cells by a protozoan profilin-like protein. *Science*, 308 (5728): 1626–1629.
3. Plattner F., Yarovinsky F., Romero S., Didry D., Carlier M.F., Sher A., and Soldatov D. Toxoplasma Profilin is Essential for Host Cells Invasion and TLR-11 Dependent Induction of An Interleukin-12 Response. *Cell Host Microbe*, 2008, 3 (2): 77-87
 4. Hamdy O and Gabriel I.U. 2015. *Obesity*, (Online), (<http://emedicine.medscape.com/article/123702-overview#showall>. diakses 16 November 2015)
 5. Goossens G.H. The Role of Adipose Tissue Dysfunction in The Pathogenesis of Obesity-Related Insulin Resistance. *Physiology and Behaviour*, 2008, 94 (2): 206-218.
 6. WHO. 2015. *Obesity and Overweight*, (Online), (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/#> diakses 16 November 2015)
 7. Balitbangkes. 2013. *Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Tahun 2013*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan RI, Jakarta, hal. 223-225.
 8. Na, H.-N., and Nam, J.-H. Infectobesity: a New Area for Microbiological and Virological Research. *Journal of Bacteriology and Virology*, 2011 41 (2) : 65 –76 .
 9. Hayden M.S and Ghosh S. Shared Principles in NF-kappaB Signaling. *Cell* 2008, 132 (3) : 344-362.
 10. Raetz M., Kibardin A., Sturge C.R., Pifer R., Li H., Burstein E., et al. Cooperation of TLR 12 and TLR 11 in The IRF8-Dependent IL-12 Response to Toxoplasma gondii Profilin. *The Journal of Immunology*, 2013, 191: 4818-4827.
 11. Desruisseaux S.M., Nagajothi, Maria E.T., Herbert B.T., and Phillip E.S. Adipocyte, Adipose Tissue, and Infectious Disease. *Infection and Immunity*, 2007, Vol. 75 (3): 1066-1078.
 12. Cai D., Yuan M., Frantz DF., Melendez PA., Hansen L., Lee J., and Shoelson SE., Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. *Nat Med*, 2005, 11:183-190.
 13. Napetschnig J and Wu, H. Molecular Basis of NF-kB Signaling. *Annual Review of Biophysics*, 2013, (42) : 19.1-19.26.
 14. Lawrence, T. The Nuclear Factor NF-kB Pathway in Inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2009, 1(6) : a001651.
 15. Baker R.G., Hayden M.S., and Ghosh S. (2012). NF-kB, inflammation and metabolic disease. *Cell Metab* 2011, 13 (1) : 11-22.
 16. Eckel R.H., Grundy S.M., and Zimmet P.Z. (2005). The metabolic syndrome. *Lancet*, 2005, 365 (9468): 1415-1428.
 17. Susanto H., Sudjari., and Indra R. Studi Adiposopati In Vitro Efek Induksi Profilin Terhadap Ekspresi Il-6 Dan Tnf- α Sebagai Kandidat Prediktor Disfungsi Adiposit Akibat Infeksi Toxoplasma Gondii pada Kultur Adiposit Subkutan. *Research Journal of Life Science*, 2015, 1 (1): 8-15.
 18. Cristina M.D., Marocco D., Galizi R., Proietti C., Spaccapel R., and Crisanti A. Temporal and Spatial Distribution of *Toxoplasma gondii* Differentiation into Bradyzoites and Tissue Cyst Formation In Vivo. *Infection and Immunity*. 2008, 76 (8): 3491-3501.