

RINGKASAN

Mekanisme Peningkatan Apoptosis Trofoblas Mencit Bunting Terinfeksi *Toxoplasma gondii* Melalui Peningkatan Sel Desidua penghasil IFN- γ dan TNF- α serta Trofoblas Penghasil Fas dan TNFR-1

Lucia Tri Suwanti

Mekanisme apoptosis trofoblas mencit bunting yang terinfeksi *Toxoplasma gondii* belum diketahui dengan jelas. Diperkirakan mekanisme melalui peningkatan sel penghasil IFN- γ dan TNF- α di desidua serta Fas dan TNFR-1 di trofoblas.

Empat puluh delapan mencit Swiss bunting dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan. Kelompok I mencit umur kebuntingan minggu pertama tidak diinfeksi dan kelompok II umur kebuntingan minggu pertama diinfeksi., Kelompok III mencit umur kebuntingan minggu kedua tidak diinfeksi dan kelompok IV umur kebuntingan minggu kedua diinfeksi. Kelompok V mencit umur kebuntingan minggu ketiga tidak diinfeksi dan kelompok VI umur kebuntingan minggu ketiga diinfeksi. Infeksi dilakukan secara intraperitoneal dengan dosis 1×10^3 takizoit tiap mencit. Empat hari setelah infeksi mencit dikorbankan, diambil plasenta untuk dilakukan pengamatan terhadap indeks apoptosis trofoblas, ekspresi IFN- γ dan TNF- α di desidua serta ekspresi Fas dan TNFR-1 di trofoblas. Penentuan indeks apoptosis trofoblas dengan TUNELL ASSAY menggunakan *Apoptotic kit Apop tag*, sedangkan ekspresi IFN- γ , TNF- α , Fas dan TNFR-1 dengan pewarnaan imunohistokimia. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali dan dari setiap slide ditentukan 6 lapang pandang secara acak sebagai daerah pengamatan. Data dianalisis dengan MANOVA dan Analisis Diskriminan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan respons inflamasi plasenta antara mencit yang diinfeksi dan yang tidak diinfeksi (Wilks' Lamda 0,060 dan $p < 0,05$). Respons inflamasi plasenta ditentukan berdasarkan pengamatan indeks apoptosis trofoblas, persentase jumlah limfosit desidua penghasil IFN- γ , persentase makrofag desidua penghasil TNF- α , persentase jumlah sel trofoblas yang mengekspresikan Fas dan TNFR-1. Setiap variabel pengamatan berperan terhadap perbedaan respons inflamasi plasenta. Terjadi peningkatan indeks apoptosis, ekspresi IFN- γ , TNF- α , Fas dan TNFR-1 yang tajam pada kelompok mencit yang diinfeksi. Dengan Uji LSD terdapat perbedaan pada setiap kelompok perlakuan.

Indeks apoptosis trofoblas pada mencit yang diinfeksi *T.gondii* apabila dibandingkan dengan kelompok yang tidak diinfeksi menunjukkan perbedaan yang nyata. Pada mencit kelompok umur kebuntingan minggu pertama Indeks apoptosis trofoblas meningkat dari 9,33% menjadi 40,19% (4,3 kali), pada minggu kedua dari 10,19% menjadi 49,11% (4,8 kali) dan pada minggu ketiga dari 32,46% menjadi 50,08% (1,5 kali). Dengan uji LSD terdapat perbedaan pada tiap kelompok perlakuan. Baik pada kelompok mencit yang diinfeksi maupun yang tidak diinfeksi terlihat peningkatan indeks apoptosis sejalan dengan umur kebuntingan dan perbedaan tersebut sangat nyata ($P < 0,01$) kecuali pada kelompok mencit tidak diinfeksi umur kebuntingan minggu pertama dan kedua secara statistik tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Jumlah limfosit desidua yang menghasilkan IFN- γ pada kelompok mencit yang terinfeksi terlihat terjadi peningkatan dibanding dengan kelompok tidak diinfeksi. Pada

umur kebuntingan minggu pertama meningkat dari 32,05% menjadi 48,18% (1,5 kali), pada minggu kedua dari 27,67% menjadi 39,32% (1,4 kali) dan pada minggu ketiga dari 16,74% menjadi 48,31% (2,9 kali). Dengan Uji LSD, jumlah limfosit desidua yang menghasilkan IFN- γ pada kelompok mencit tidak diinfeksi menurun sejalan dengan umur kebuntingan, sedangkan pada kelompok terinfeksi umur kebuntingan pertama tinggi kemudian menurun pada minggu kedua dan meningkat pada minggu ketiga. dan jumlah limfosit desidua yang menghasilkan IFN- γ pada minggu pertama tidak berbeda nyata dengan minggu ketiga

Persentase jumlah makrofag yang menghasilkan TNF- α : pada mencit yang diinfeksi *T. gondii* pada umur kebuntingan minggu pertama meningkat dari 23,99% menjadi 35,59% (1,5 kali), pada minggu kedua dari 14,12% menjadi 30,47% (2,2 kali) dan pada minggu ketiga dari 10,64% menjadi 30,18% (2,8 kali). Pada mencit yang tidak diinfeksi dan diinfeksi ekspresi TNF- α : tertinggi pada kebuntingan minggu pertama dan mulai menurun pada umur kebuntingan minggu kedua dan ketiga. Persentase jumlah makrofag yang menghasilkan TNF- α : pada minggu pertama berbeda nyata dengan persentase TNF- α : pada umur kebuntingan minggu kedua dan ketiga, tetapi ekspresi TNF- α : pada kelompok umur kebuntingan minggu kedua dan ketiga tidak berbeda

Persentase jumlah trofoblas yang mengekspresikan Fas meningkat tajam pada kelompok mencit yang diinfeksi *T. gondii* apabila dibandingkan dengan kelompok tidak terinfeksi, kelompok umur kebuntingan minggu pertama meningkat dari 3,65% menjadi 27,11% (7,4 kali), pada minggu kedua dari 5,37% menjadi 38,50% (7,2 kali) dan pada minggu ketiga dari 11,64% menjadi 41,44% (3,6 kali). Ekspresi Fas: pada kelompok mencit yang tidak diinfeksi pada kelompok umur kebuntingan minggu pertama dan kedua tidak berbeda nyata tetapi kedua kelompok tersebut berbeda nyata dengan kelompok umur kebuntingan minggu ketiga. Pada kelompok mencit terinfeksi, ekspresi Fas pada kelompok umur kebuntingan minggu pertama berbeda nyata dengan kelompok umur kebuntingan minggu kedua dan ketiga, tetapi kelompok umur kebuntingan minggu kedua dan ketiga tidak berbeda nyata.

Persentase jumlah trofoblas yang mengekspresikan TNFR-1 pada mencit yang diinfeksi apabila dibandingkan dengan kelompok mencit yang tidak diinfeksi terlihat ada peningkatan. Peningkatan tersebut adalah: pada kelompok umur kebuntingan minggu pertama meningkat dari 10,40% menjadi 35,01% (3,4 kali), pada minggu kedua dari 13,94% menjadi 35,28% (2,5 kali) dan pada minggu ketiga dari 13,97% menjadi 33,52% (2,4 kali). Umur kebuntingan terlihat tidak berpengaruh pada ekspresi TNFR-1. Ekspresi TNFR-1 pada umur kebuntingan minggu pertama, kedua dan ketiga tidak berbeda nyata

Pola respons inflamasi plasenta pada kelompok umur kebuntingan minggu pertama didominasi oleh variabel indeks apoptosis trofoblas dan ekspresi IFN- γ . Pola respons inflamasi plasenta pada kelompok umur kebuntingan minggu kedua didominasi oleh variabel indeks apoptosis trofoblas Pola respons inflamasi plasenta pada kelompok umur kebuntingan minggu ketiga didominasi oleh variabel ekspresi IFN- γ . dan Fas

Mekanisme peningkatan apoptosis trofoblas mencit bunting akibat infeksi *Toxoplasma gondii* melalui peningkatan persentase jumlah limfosit desidua penghasil IFN- γ dan peningkatan jumlah persentase trofoblas yang mengekspresikan Fas.

SUMMARY

The Mechanism of the Increase of Trophoblast Apoptosis in *Toxoplasma gondii*-Infected Pregnant Mice Through The Increase of Decidual Cell Produced IFN- γ and TNF- α , and Trophoblast Cell Produced Fas and TNFR-1

Lucia Tri Suwanti

The mechanism of trophoblast apoptosis in *Toxoplasma gondii*-infected pregnant mice has not been fully understood. It was thought that the mechanism could be explained with the increase of IFN- γ and TNF- α expression in decidua as well as Fas and TNFR-1 expression in trophoblast.

Forty-eight pregnant Swiss mice were divided into 6 groups. Group I, first week gestation non-infected mice. Group II, first week gestation infected mice. Group III, second week gestation non-infected mice. Group IV, second week gestation infected mice. Group V, third week gestation non-infected mice. Group VI, third week gestation infected mice. Mice were infected with 1×10^3 doses by intraperitoneal. Four days post infection, mice were sacrificed, placenta was removed for observation trophoblast apoptosis index and IFN- γ , TNF- α , Fas and TNFR-1 expression. TUNEL ASSAY with *Apoptotic kit Apop tag* was used to observe trophoblast apoptosis index and immunohistochemistry was used to observe the IFN- γ , TNF- α , Fas and TNFR-1 expression. The data were analysed by MANOVA and Discriminant Analysis.

The result showed that inflammatory responses of placenta were significantly difference (Wilks' Lamda 0,060 and $p < 0.05$) between infected mice and non-infected mice. The inflammatory response of placenta were determined based on trophoblast apoptosis index and IFN- γ , TNF- α , Fas and TNFR-1 expression. By LSD post hoc test, all groups were significantly different. All variables (trophoblast apoptosis index and IFN- γ , TNF- α , Fas and TNFR-1 expression) were increasing in infected mice.

Trophoblast apoptosis index on first week gestation in infected mice increased 4.3 times (from 9.33% to become 40.19%); second week gestation in infected mice increased 4.8 times (from 10.19% to become 49.11%) and third week gestation infected in mice increased 1.5 times (from 32.46% to become 50.08%). Trophoblast apoptosis index increased through gestation old.

IFN- γ expression in the first week gestation infected mice increased 1.5 times (from 32.05% to become 48.18%); in second week gestation, the increase was 1.4 times (from 27.67% became 39.32%) and in the third week gestation, the increase was 2.9 times (from 16.74% to become 48.31%). In non-infected mice, IFN- γ expression decreased along with gestational age. However, in infected mice, the expression was high at the first week gestation, decreased at the second week, and increased again at the third week gestation.

In infected mice, TNF- α expression, in first week gestation, increased 1.5 times (from 23.99% to become 35.59%); in second week gestation increased 2.2 times (from 14.12% to become 30.47%) and in third week gestation increased 2.8 times (from 10.64% to become 30.18%). In non infected mice, TNF- α expression in first week gestation was highest and significantly different with in the second and third, but

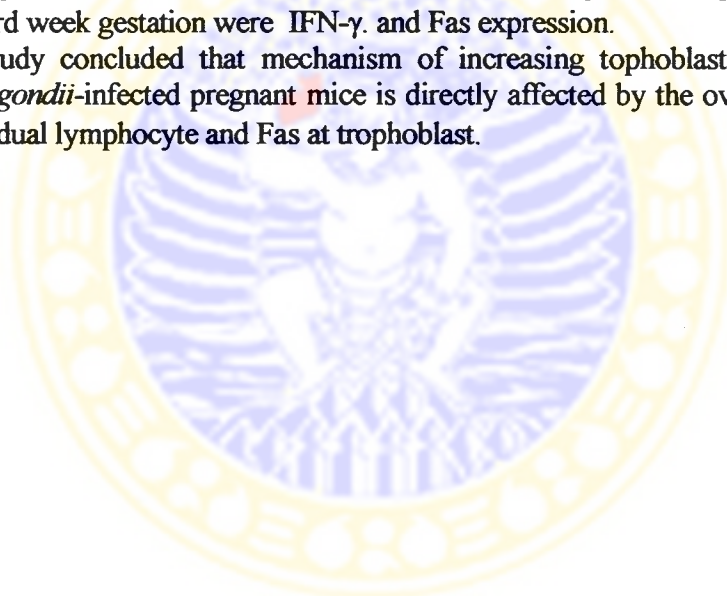
in the second was not significantly different with the third week gestation. Its also were seen in the infected mice.

Fas expression in first week gestation infected mice increased 7.4 times (from 3.65% to become 27.11%); in second week increased 7.2 times (from 5.37% to become 38.50%) and in the third week increased 3.6 times (from 11.64% to become 41.44%). In non-infected mice, Fas expression, in first week gestation was not significantly different with in the second, but in the first and the second were significantly different with in the third week gestation. However, in infected mice, Fas expression in first week gestation was significantly different with in the second and the third, but in the second was not significantly different with in the third week gestation.

TNFR-1 expression in first week gestation infected mice increased 3.4 times (from 10.40% to become 35.01%); second week gestation infected mice increased 2.5 times (from 13.94% to become 35.28%) and third week gestation infected mice increased 2.4 times (from 13.97% to become 33.52%)

There were 3 patterns of inflammatory response of placenta at different gestational age. The predominant variables in the pattern of inflammatory response of placenta in the first week gestation in infected mice were trophoblast apoptosis index and IFN- γ expression, at the second week gestation were trophoblast apoptosis index and at the third week gestation were IFN- γ . and Fas expression.

This study concluded that mechanism of increasing tophoblast apoptosis in *Toxoplasma gondii*-infected pregnant mice is directly affected by the over expression IFN- γ at decidual lymphocyte and Fas at trophoblast.



ABSTRACT

**The Mechanism of the Increase of Trophoblast Apoptosis
in *Toxoplasma gondii*-Infected Pregnant Mice Through The Increase of Decidual
Cell Producted IFN- γ and TNF- α and Trophoblast Cell Producted Fas and
TNFR-1**

Lucia Tri Suwanti

The main purpose of this study was to discover the mechanism of increasing trophoblast apoptosis in *Toxoplasma gondii*-infected pregnant mice.

Forty-eight pregnant Swiss mice were divided into 6 groups. Group I, first week gestation non-infected mice. Group II, first week gestation infected mice. Group III, second week gestation non-infected mice. Group IV, second week gestation infected mice. Group V, third week gestation non-infected mice. Group VI, third week gestation infected mice. Mice were infected with 1×10^3 doses by intraperitoneal. Four days post infection, mice were sacrificed, placenta was removed for observation trophoblast apoptosis index and IFN- γ , TNF- α , Fas and TNFR-1 expression. TUNEL ASSAY was used to observe trophoblast apoptosis index and immunohistochemistry was used to observe the IFN- γ , TNF- α , Fas and TNFR-1 expression. The data were analysed by MANOVA and Discriminant Analysis.

The result showed that inflammatory responses of placenta were significantly difference (Wilks' Lamda 0,060 and $p < 0.05$) between infected mice and non-infected mice. The inflammatory response of placenta were determined based on trophoblast apoptosis index and IFN- γ , TNF- α , Fas and TNFR-1 expression. By LSD post hoc test, all groups were significantly different. All variables (trophoblast apoptosis index and IFN- γ , TNF- α , Fas and TNFR-1 expression) were increasing in infected mice.

There were 3 patterns of inflammatory response of placenta at different gestational age. The predominant variables in the pattern of inflammatory response of placenta in the first week gestation in infected mice were trophoblast apoptosis index and IFN- γ expression, at the second week gestation were trophoblast apoptosis index and at the third week gestation were IFN- γ . and Fas expression.

This study concluded that mechanism of increasing tophoblast apoptosis in *Toxoplasma gondii*-infected pregnant mice is directly affected by the over expression IFN- γ at decidual lymphocyte and Fas at trophoblast.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, trophoblast apoptosis, IFN- γ , TNF- α , Fas, TNFR-1