

Peran conditioned medium sel punca tali pusat pada pensinyalan TNF- α ; yang mempengaruhi ketahanan hidup sel glioblastoma multiforme T98G = The role of conditioned medium derived umbilical cord mesenchymal stem cells on TNF- α ; signaling for T98G glioblastoma multiforme cell survival / Yohana

Yohana Alfa Agustina, examiner

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20485619&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Glioblastoma multiforme adalah tumor otak ganas yang bersifat agresif dan invasif dengan tingkat kekambuhan yang tinggi. Pada lingkungan mikro tumor ditemukan berbagai sitokin dan kemokin yang disekresikan sel stroma yang memiliki peranan terhadap pertumbuhan, proliferasi sel, ketahanan hidup sel maupun apoptosis sel. Salah satu sitokin proinflamasi yang ditemukan pada conditioned medium sel punca tali pusat adalah TNF- α . Penelitian sebelumnya pada sel glioblastoma multiforme yang diberikan conditioned medium sel punca tali pusat menunjukkan peningkatan ketahanan hidup sel, namun belum diketahui bagaimana pengaruh pensinyalan TNF- α ; pada ketahanan hidup sel tersebut. Dengan demikian tujuan penelitian ini untuk mendeteksi TNF- α pada conditioned medium sel punca tali pusat dan menganalisis dampak pemberian conditioned medium terhadap ekspresi dan pensinyalan TNF- α yang mempengaruhi ketahanan hidup sel glioblastoma multiforme.

METODE: Dilakukan kultur sel glioblastoma T98G dengan DMEM komplet hingga subkonfluen. Kemudian sel punca tali pusat dikultur dengan medium aMEM komplet hingga subkonfluen. Setelah subkonfluen medium sel punca tali pusat diganti dengan medium aMEM tanpa serum untuk membuat conditioned medium (CM) dan diinkubasi selama 24 jam. Level TNF- α dianalisis dengan teknik ELISA pada conditioned medium tersebut. CM dibuat dengan konsentrasi 50% (v/v) yang diberikan pada sel glioblastoma T98G. Setelah 24 jam, sel T98G diekstraksi untuk isolasi RNA dan protein. RNA total diperoleh dengan menggunakan reagen TriPure dan ekspresi mRNA TNFR1, TNFR2, TRAF2, dan NF- κ B dianalisis dengan qRT-PCR menggunakan reagen Sensifast SYBR NO ROX kit. Analisis ekspresi relatif menggunakan rumus Livak. Penghitungan kadar protein TNFR2 menggunakan metode sandwich ELISA. Ketahanan hidup sel yang dianalisis dengan menggunakan Trypan Blue. Analisa statistik menggunakan uji t independen dengan software SPSS 23.

HASIL: TNF- α ; terdeteksi pada conditioned medium sebesar 4,4 pg/ml. Ekspresi relatif mRNA TNFR1 meningkat 1,4 kali ($p=0,038$), ekspresi relatif mRNA TNFR2 meningkat 4,9 kali ($p=0,001$), ekspresi relatif mRNA TRAF2 meningkat 5,5 kali ($p=0,00$), dan ekspresi relatif mRNA NF- κ B meningkat 1,8 kali ($p=0,001$) dari kontrol. Konsentrasi TNFR2 pada sel T98G yang diinduksi CM (11,2 pg/mg protein) meningkat 1,4 kali dibandingkan kontrol (7,7 pg/mg protein). Terdapat peningkatan proliferasi sel glioblastoma multiforme 1,7 kali pada sel T98G dengan pemberian CM dibandingkan dengan kontrol ($p=0,002$).

KESIMPULAN: Conditioned medium sel punca tali pusat meningkatkan ekspresi pensinyalan TNF- α ; yang mempengaruhi ketahanan hidup sel GBM T98G.

<hr>

**ABSTRACT
**

Glioblastoma multiforme is a malignant primary brain tumor which is aggressive and invasive. Tumor microenvironment contained cytokines and chemokines produced by MSCs stromal cells, could affect cell growth, proliferation, cell survival and apoptosis. One of the proinflammatory cytokines found in CM UCSCs is TNF α . On previous studies glioblastoma multiforme cells treated conditioned medium umbilical cord mesenchymal stem cell showed higher cell survival, but it was not known yet how the TNF α signaling affected these proliferations. Thus the purpose of this study was to detect TNF- α in the conditioned medium umbilical cord mesenchymal stem cell and to analyze the impact of the conditioned medium on the expression and cell survival of glioblastoma multiforme cells through TNF- α signaling.

METHODS: Glioblastoma multiforme T98G cells were cultured with complete DMEM high glucose until subconfluence. Then umbilical cord derived mesenchymal stem cells (UCSCs) were cultured on the α -MEM medium complete with serum until subconfluence. Then UCSCs medium is replaced with the α -MEM medium to make conditioned medium for 24 hours. TNF α was detected in CM UCSC by ELISA. CM UCSCs concentration is 50% (v/v) to treat T98G cells. After 24 hours, T98G cells was extracted for RNA and protein. RNA samples were extracted using TriPure reagents and mRNA expressions TNFR1, TNFR2, TRAF2, and NF- κ B were calculated by qRT PCR with SYBR NO ROX kit. Analysis of relative expressions mRNA using the Livak formula. Protein levels TNFR2 was measured using sandwich ELISA. Cell survival was analyzed by Trypan Blue Exclusion Test. Statistics analysis using student t test and PASW 23.

RESULT: TNF- α level detected in CM-UCSCs was 4,4 pg/ml. The relative expression of mRNA TNFR1 higher 1.4 fold ($p=0.038$), mRNA TNFR2 higher 4.9 fold ($p = 0.001$), mRNA TRAF2 higher 5.5 fold ($p=0,000$), and mRNA NF- κ B higher 1.8 fold ($p=0,001$) to control. Protein TNFR2 in CM treated cells (11.5 pg/mg protein) was higher 1.4 fold to control (7.7 pg/mg protein). There was increase of proliferation T98G cells higher 1,7 fold to control ($p = 0.002$).

CONCLUSION: Conditioned medium umbilical cord derived mesenchymal stem cells (CM UCSCs) have increased the expression of TNF- α signaling for T98G glioblastoma multiforme cell survival.