



Arikel Penelitian

KADAR PGE2 MIKROENKAPSULASI MSC DENGAN COATING : STUDI PRELIMINARI TERAPI SELULER MDR-TB

PGE2 LEVELS OF MICROENCAPSULATED MSCS WITH COATING: PRELIMINARY STUDY OF MDR-TB CELLULAR THERAPY

Yeremias Marturia Rocky Panggabean^a, Ade Pryta R. Simaremare^b, Saharnauli J Verawaty Simorangkir^c

^aMahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen, Jl. Sutomo No.4-A, Medan, 20232, Indonesia

^bBagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen, Jl. Sutomo No.4-A, Medan, 20232, Indonesia

^cBagian Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen, Jl. Sutomo No.4-A, Medan, 20232, Indonesia

Histori Artikel

Diterima:
15 Februari 2024

Revisi:
16 Mei 2024

Terbit:
1 Juni 2024

ABSTRAK

Tuberkulosis merupakan penyakit yang paling umum menyerang paru-paru. Penggunaan obat yang tidak teratur dengan ketentuan dokter menyebabkan pasien mengalami *multi drug resistant tuberculosis* (MDR-TB). Terapi MDR-TB memiliki efek samping yang menimbulkan keluhan lainnya, oleh karena itu penting untuk menemukan rejimen terapi alternatif untuk meningkatkan hasil pengobatan. Terapi dengan *Mesencymal Stem Cell* (MSC) dapat menjadi pilihan alternatif. Salah satu sitokin yang disekresikan oleh MSC adalah Prostaglandin E2 (PGE2) yang berperan sebagai molekul sinyal yang bekerja secara cepat dalam kondisi fisiologis. Untuk meningkatkan ketahanan dan viabilitas hidup dari *stem cell* dilakukan mikroenkapsulasi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kadar PGE2 Mikroenkapsulasi MSC dengan *Coating* sebagai studi preliminari terapi seluler MDR-TB. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif observasional. Dengan melakukan isolasi, kultur, mikroenkapsulasi sel punca asal tali pusat dan uji kadar PGE2 menggunakan spektrofotometri. Sekresi PGE2 di hari ke-2 melalui spektrofotometri didapati 2085,4598 pg/ml. Dan pada hari ke-7 terjadi penurunan angka kadar sekresi PGE2 dengan jumlah 1218,5624 pg/ml. Pada hari ke-14 terjadi penurunan kembali dari hasil sekresi PGE2 dengan jumlah 1165,487 pg/ml. Pada hari ke-21 terjadi peningkatan hasil sekresi PGE2 dengan jumlah 2868,487 pg/ml. Peranan mikroenkapsulasi pada MSC dapat meningkatkan ketahanan dan viabilitas hidup dari *stem cell* sehingga menghasilkan sekresi PGE2 yang baik.

Kata Kunci

Tuberkulosis,
Sel Punca, PGE2.

ABSTRACT

Tuberculosis is a disease that most commonly affects the lungs. Irregular use of drugs as prescribed by the doctor causes patients to develop multi-drug resistant tuberculosis (MDR-TB). MDR-TB therapy has side effects that cause other complaints, therefore it is important to find alternative therapy regimens to improve treatment outcomes. Therapy with Mesenchymal Stem Cell (MSC) may be an alternative option. One of the cytokines secreted by MSCs is Prostaglandin E2 (PGE2) which acts as a signaling molecule that acts rapidly under physiological conditions. To increase the survival and viability of stem cells, microencapsulation was performed. The purpose of this study was to determine the PGE2 levels of MSC Microencapsulation with Coating as a preliminary study of MDR-TB cellular therapy. This study is an observational descriptive study. By isolating, culturing, and microencapsulating stem cells from the umbilical cord and testing PGE2 levels using spectrophotometry. PGE2 secretion on day 2 through spectrophotometry was found to be 2085.4598 pg/ml. And on day 7 there was a decrease in the number of PGE2 secretion levels with a total of 1218.5624 pg/ml. On day 14 there was a decrease

again from the results of PGE2 secretion with an amount of 1165.487 pg/ml. On the 21st day, there was an increase in the secretion of PGE2 with an amount of 2868.487 pg/ml. The role of microencapsulation in MSC can increase the survival and viability of stem cell life to produce good PGE2 secretion.

Korespondensi

Telp. 082268838147
Email:
Yeremias.panggabean
@student.Uhn.ac.id

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit yang paling umum menyerang paru-paru, yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.^{1,2} Orang yang diperkirakan telah terkena penyakit TB di Indonesia adalah 397.377.³ Terapi pada TB harus dilakukan dengan tepat, Perilaku penggunaan obat pada pasien TB juga mempengaruhi tingkat keberhasilan terhadap terapinya. Penggunaan obat yang tidak sesuai dengan ketentuan dapat menyebabkan *Multi drug resistant* (MDR-TB).⁴

Multi drug resistant (MDR-TB) adalah tuberkulosis yang resistant terhadap berbagai jenis obat yang setidaknya rifampisin dan isoniazid, minimal 2 obat anti tuberkulosis lini pertama. *Multi drug resistant* (MDR-TB) sering diobati dengan aminoglikosida suntik seperti kanamisin atau amikasin.⁵ *World Health Organization* (WHO) baru baru ini mengusulkan opsi untuk mengganti aminoglikosida dengan alternatif oral seperti bedaquiline.⁵ Rejimen pengobatan jangka pendek yang paling terjangkau tetap menggunakan amikasin dan streptomisin selama setidaknya 4 bulan. Selama fase pengobatan suntik, sebagian besar pasien mengalami gangguan pendengaran permanen akibat kerusakan sel rambut apoptosis yang tidak dapat di pulihkan pada koklea.⁵ Sangat penting untuk menemukan rejimen terapi yang baru untuk meningkatkan hasil pengobatan. Salah satu pengobatan yang memungkinkan adalah *Mesenchymal Stem cell* (MSC).⁶

Mesenchymal Stem cell (MSC) atau yang sering kita kenal sebagai sel punca merupakan sel multipoten yang muncul sebagai cara yang

paling menjanjikan untuk terapi sel alogenik.⁷ *Mesenchymal Stem cell* (MSC) memiliki karakteristik imunomodulator yang melekat seperti kemampuan trofik, pembaharuan diri yang tinggi secara *in vitro*, dan dapat dengan mudah direkayasa karena memiliki kapasitas untuk diferensiasi multi-generasi kedalam berbagai jenis sel yang berbeda untuk meningkatkan fungsi modulasi kekebalannya.^{7,8} *Mesenchymal Stem cell* (MSC) mempengaruhi fungsi sebagian besar sel efektor imun, melalui kontak langsung melalui sel imun dan faktor lingkungan mikro setempat. Hal ini di karenakan MSC memiliki kemampuan bermigrasi dan *homing* yang memungkinkan mereka untuk masuk ke daerah cedera.⁸ Efek imunomodulator MSC terutama dikomunikasikan melalui sitokin yang disekresikan oleh MSC.⁷ Menurut sebuah studi oleh Matas dkk., dalam uji coba fase I/II menggunakan strategi dosis UC-MSC yang diulang menghasilkan profil keamanan yang baik dan memiliki hasil klinis yang lebih baik untuk pengobatan nyeri jangka panjang pada pasien *osteoarthritis* lutut.⁹ Bukti terbaru menunjukkan bahwa efek menguntungkan yang diamati dengan terapi berbasis MSC dapat dimediasi melalui pelepasan parakrin vesikel ekstraseluler dan protein terlarut lainnya atau molekul aktif biologis, yang secara kolektif membentuk sekresi MSC.^{8,10,11}

Salah satu yang di sekresikan oleh MSC adalah *Prostaglandin E2* (PGE2), yang disekresikan secara konstitutif, dengan kadar yang bervariasi tergantung lingkungan sekitarnya.^{10,11} Fungsi PGE2 secara signifikan mengurangi ekspresi permukaan beberapa

reseptor imunologi.¹⁰ *Mesenchymal Stem cell* (MSC) yang di mikroenkapsulasi juga memiliki tujuan untuk dapat memberikan peningkatan pada kestabilan dan daya larut dari suatu bahan.^{12,13} Setelah di keluarkan dan di isolasi dalam jaringan, MSC secara cepat dapat kehilangan status, fungsi, dan kelangsungan pada hidupnya. Sehingga di butuhkan adanya *coating* yang bertujuan untuk dapat mempertahankan MSC baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.¹⁴

Berdasarkan uraian pendahuluan di atas dan sesuai kemunculan metode baru dalam penyembuhan MDR-TB sehingga penelitian ini ditujukan untuk mengetahui kadar PGE2 yang dihasilkan oleh mikroenkapsulasi MSC yang diberikan *coating* untuk potensi terapi MDR-TB.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif observasional. Penelitian ini dilakukan di *Stem Cells and Tissue Engineering (SCTE) Indonesian Medical Education and Research Institute (IMERI) FK UI*, dengan tahapan sebagai berikut, pertama dilakukan isolasi MSC yang berasal dari *Wharton's Jelly* tali pusat menggunakan metode *multiple harvest explant*. Sel dikultivasi pada suhu 37°C dalam inkubator 5% CO₂. Ekspresi MSC ditandai dengan CD 105, CD 90, CD 73 diukur menggunakan *flow cytometry*. Selanjutnya dilakukan kultur MSC dalam *T Flask*, menggunakan medium MEM yang disuplementasi dengan *platelet-rich plasma* (PRP) dan heparin. MSC kemudian di panen dengan metode *Triple Select*.

Mesenchymal Stem cell yang sudah dipanen kemudian di mikroenkapsulasikan dengan cara suspensi 1.600.000 sel dalam 0,4 mL medium kultur sel. MSC diletakkan di dalam *tube* 1,5 mL, kemudian 3 mL larutan alginate 1,8% dicampurkan dengan 0,5 mL larutan yang berisi 8.000.000 MSC. Proses *coating* dilakukan dengan suspensi PRP 2 mL ditambah heparin 200 mikrokapsul, dan diinkubasikan selama 10 menit. Analisis kadar PGE2 dilakukan pada hari ke-2, hari ke-7, hari ke-14, hari ke-21, sehingga sampel penelitian ini di kelompokkan menjadi 4. Kadar PGE2 diukur menggunakan Human ELISA Kit PGE2, kemudian sinyal absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 450nm. Penelitian ini telah lulus kaji etik dengan nomor S-436/UN2.F1/ETIK/PPM.00.02/2023.

HASIL

Telah dilakukan perhitungan untuk mengetahui kadar PGE2 yang dihasilkan oleh mikroenkapsulasi MSC yang diberikan *coating* menggunakan metode ELISA seperti yang dapat kita lihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Sekresi PGE2 pada MSC Mikroenkapsulasi dengan Coating

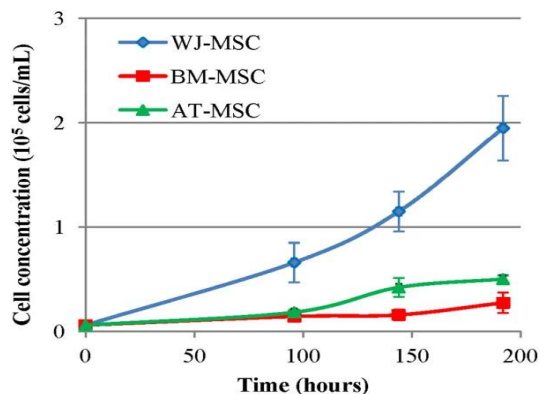
	Coating			
	Day 2	Day 7	Day 14	Day 21
MSC	2085,4598 pg/mL	1218,5624 pg/mL	1165,487 pg/mL	2868,487 pg/mL

Pada hari ke-2 melalui spektrofotometri kadar sekresi PGE2 didapati 2085,4598 pg/ml. Dan pada hari ke-7 terjadi penurunan angka kadar sekresi PGE2 dengan jumlah 1218,5624 pg/ml. Pada hari ke-14 terjadi penurunan kembali dari hasil sekresi PGE2 dengan jumlah

1165,487 pg/ml. Pada hari ke-21 terjadi peningkatan hasil sekresi PGE2 dengan jumlah 2868,487 pg/ml.

DISKUSI

Pada saat melakukan kultur, MSC tidak di berikan perlakuan khusus. Sehingga proses dari sekresi PGE2 mulai dari hari ke-2 hingga ke-21 pada MSC yang diberikan *coating* di peroleh dari proliferasi sel.¹⁵ Pada MSC yang di ambil dari tali pusat juga memiliki potensi proliferasi yang lebih tinggi hingga empat kali lebih tinggi di bandingkan MSC yang di gunakan dari sumber lain, sehingga dapat mencapai konsentrasi sel akhir yang lebih banyak.¹⁵ Tetapi terjadi penurunan dalam proliferasi sel pada hari ke-7 dan hari ke-14, dan telah diamati untuk semua jenis sel hal ini terjadi dikarenakan jumlah penggandaan sel yang meningkat sehingga menyebabkan nutrisi pada media kultur sel perlahan-lahan habis.¹⁵



*Ket: WJ-MSC: Wharton Jelly
BM-MSC: Bone Marrow
AT-MSC: Adipose Tissue

Gambar 1. Perbandingan Jumlah Proliferasi Sel pada MSC Tali Pusat¹⁵

Berdasarkan konsentrasi PGE2 dalam media pematangan dengan menggunakan kit ELISA, PGE2 yang sesuai dengan kurva standar PGE2 berkisar antara 19,6 hingga 2500

pg/ml.¹⁶ Kadar PGE2 dalam darah yang diambil dari vena dan dianalisis menggunakan ELISA Kit PGE2 menunjukkan nilai normal dengan nilai 200-400 pg/ml, dan rendah jika nilainya kurang dari 200 pg/ml.¹⁷

Dengan hasil data yang didapatkan bahwa pada hari ke-21 hasil sekresi PGE2 berada di atas hasil kurva standar PGE 2 dan kadar PGE2 dalam darah manusia dengan jumlah 2868,487 pg/ml. Pada penelitian ini juga diberikan *coating* pada MSC, Secara pengertian *coating* adalah untuk meningkatkan efisiensi, selektivitas, dan bioavailibitasnya sehingga dapat melindungi dan mempertahankan MSC serta hasil sekresinya.¹⁸

Jenis *coating* yang digunakan pada penelitian ini adalah *Platelet Rich Plasma* (PRP). PRP merupakan plasma otologus yang memiliki jumlah platelet terkonsentrasi untuk dapat meningkatkan ploriferasi sel.¹⁹ Hal ini di sebabkan oleh faktor pertumbuhan yang penting untuk merangsang proliferasi sel induk pada MSC.²⁰ Kemampuan yang dimiliki oleh PRP yang digunakan sebagai *coating* tidak hanya meningkatkan proliferasi MSC tetapi juga mampu melindungi MSC dan hasil sekresinya.

Sekresi PGE2 pada penelitian ini juga lebih tinggi dari jumlah yang ada pada darah manusia.²¹ Hal ini juga menjadi bukti bahwa penggunaan *coating* pada MSC juga dapat meningkatkan viabilitas pada MSC mikroenkapsulasi dan meningkatkan kemampuan pada hasil sekresi PGE 2.²¹

KESIMPULAN

Dari hasil yang didapatkan terdapat adanya penurunan kadar PGE2

mikroenkapsulasi MSC pada hari ke-7 dan ke-14, pada hari ke-21 terjadi peningkatan hasil sekresi PGE2 dengan jumlah 2868,405pg/mL. mikroenkapsulasi pada MSC dapat meningkatkan ketahanan dan viabilitas hidup dari *stem cell*.

DAFTAR REFERENSI

1. WHO. Tuberkulosis. World Health Organization. Published 2023. <https://www.who.int/indonesia/news/campaign/tb-day-2022/fact-sheets>
2. Weng T, Sun F, Li Y, et al. Refining MDR-TB Treatment Regimens for Ultra Short Therapy (TB-TRUST): Study Protocol for a Randomized Controlled Trial. *BMC Infect Dis.* 2021;21(1):2. doi:10.1186/s12879-021-05870-w
3. Damanik BN. Analisis Pelaksanaan Strategi Directly Observed Treatment Shortcourse (DOTS) dalam Program Penanggulangan TB di Puskesmas Bromo Kecamatan Medan Denai Tahun 2023. 2023;1(1):1-8.
4. CDC. Multidrug-Resistant Tuberculosis (MDR TB) Fact Sheet. Center for Disease Control and Prevention. Published 2022. <https://www.cdc.gov/tb/topic/drtb/default.htm>
5. Hong H, Dowdy DW, Dooley KE, et al. Risk of Hearing Loss Among Multidrug-resistant Tuberculosis Patients According to Cumulative Aminoglycoside Dose. *HHS Public Access.* 2020;24(1):65-72. doi:10.5588/ijtld.19.0062.Risk
6. Kanai R, Nakashima A, Doi S, et al. Interferon- γ Enhances The Therapeutic Effect of Mesenchymal Stem Cells on Experimental Renal Fibrosis. *Sci Rep.* 2021;11(1):1-14. doi:10.1038/s41598-020-79664-6
7. Song N, Scholtemeijer M, Shah K. Mesenchymal Stem Cell Immunomodulation: Mechanisms and Therapeutic potential. *HHS Public Access.* 2020;41(9):653-664. doi:10.1016/j.tips.2020.06.009.Mesenchymal
8. Driscoll J, Patel T. The Mesenchymal Stem Cell Secretome as an Acellular Regenerative Therapy for Liver Disease. *J Gastroenterol.* 2019;54(9):763-773. doi:10.1007/s00535-019-01599-1
9. Matas J, Orrego M, Amenabar D, et al. Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stromal Cells (MSCs) for Knee Osteoarthritis: Repeated MSC Dosing Is Superior to a Single MSC Dose and to Hyaluronic Acid in a Controlled Randomized Phase I/II Trial. *Stem Cells Transl Med.* 2019;8(3):215-224. doi:10.1002/sctm.18-0053
10. Pellegrini JM, Martin C, Morelli MP, et al. PGE2 Displays Immunosuppressive Effects During Human Active Tuberculosis. *Sci Rep.* 2021;11(1):1-14. doi:10.1038/s41598-021-92667-1
11. Kulesza A, Paczek L, Burdzinska A. The Role of COX-2 and PGE2 in the Regulation of Immunomodulation and Other Functions of Mesenchymal Stromal Cells. *Biomedicines.*

- 2023;11(445):1-21.
doi:10.3390/biomedicines11020445
12. Aristizabal C, Foxwell M, D W, L R. Microencapsulation of Rhizobium Leguminosarum Bv. Trifolii with Guar Gum: Preliminary Approach Using Spray Drying. *J Biotechnol.* 2019;302:32-41.
 13. Ang LF, Darwis Y, Por LY, Yam MF. Microencapsulation Curcuminoids for Effective Delivery in Pharmaceutical Application. *Pharmaceutics.* 2019;11(9):1-23.
doi:10.3390/pharmaceutics11090451
 14. Kim H, Bae C, Kook YM, Koh WG, Lee K, Park MH. Mesenchymal Stem Cell 3D Encapsulation Technologies for Biomimetic Microenvironment in Tissue Regeneration. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(51):1-14. doi:10.1186/s13287-018-1130-8
 15. Amable PR, Teixeira MVT, Carias RBV, Granjeiro JM, Borojevic R. Protein synthesis and secretion in human mesenchymal cells derived from bone marrow, adipose tissue and Wharton's jelly. *Stem Cell Res Ther.* 2014;5(2):1-13. doi:10.1186/scrt442
 16. Boruszewska D, Kowalczyk-Zieba I, Suwik K, et al. Prostaglandin E2 Affects In Vitro Maturation of Bovine Oocytes. *Reprod Biol Endocrinol.* 2020;18(1):1-19. doi:10.1186/s12958-020-00598-9
 17. Setiawan HW, Yudhawati R, Syafaah I. Association Between Serum PGE2 Levels and Degree of Acid-fast Bacilli Positivity in Sputum of Pulmonary Tuberculosis Patients. *Ann Med Surg.* 2021;71(6):103008.
doi:10.1016/j.amsu.2021.103008
 18. Salawi A. Pharmaceutical Coating and Its Different Approaches, a Review. *Polymers (Basel).* 2022;14(16). doi:10.3390/polym14163318
 19. Murlistyarini S, Emy K. Injeksi Platelet-Rich Plasma Versus Ijeksi Platelet-Rich Fibrin Pada Terapi Skar Akne. 2020;1(April):13-26.
 20. Akhir K. Efek Penambahan Platelet-Rich Plasma (PRP) dan Stromal Vascular Fraction (SVFs) Terhadap Kadar Serum Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) Pada Penyembuhan Luka Bakar Deep Dermal Tikus Effect of Platelet-Rich Plasma (PRP) and Stromal Vascular Frac. Published online 2020.
 21. Cheng H, Huang H, Guo Z, Chang Y, Li Z. Role of prostaglandin E2 in tissue repair and regeneration. *Theranostics.* 2021;11(18):8836-8854.
doi:10.7150/thno.63396