



## KADAR TNF $\alpha$ MIKROENKAPSULASI SEL PUNCA HEMATOPOIETIK CD34 $^{+}$

Christine Verawaty Sibuea<sup>1✉</sup>, Joseph Partogi Sibarani<sup>2</sup>, Rachel Teodora Silaen<sup>3</sup>, Sarah Christina br Samosir<sup>4</sup>, Glenessa Kuara<sup>5</sup>, Kharnis Marsha Madora Ginting<sup>6</sup>

<sup>1,2,3,4,5,6</sup>Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen  
christine.sibuea@yahoo.com

### Abstrak

Sel punca hematopoietik CD34 $^{+}$  memiliki kemampuan angiogenik, plastisitas dan sebagai imunoregulator. Hal ini menyebabkan sel punca hematopoietik CD34 $^{+}$  banyak digunakan pada terapi seluler. Rendahnya kemampuan proliferasi dan rendahnya viabilitas migrasi ke host, memberikan keterbatasan pendekatan terapi seluler yang menggunakan sel punca hematopoietik CD34 $^{+}$ . Enkapsulasi mempertahankan fungsi sel punca hematopoietik CD34 $^{+}$  dan dapat meregulasi sistem imun. Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) merupakan molekul pro-inflamasi yang berperan penting dalam imunoregulasi. TNF $\alpha$  berperan penting dalam reaksi penolakan transplantasi sel punca hematopoietik CD34 $^{+}$ . Penelitian ini menganalisa kadar TNF $\alpha$  pada enkapsulasi sel punca hematopoietik CD34 $^{+}$ . Sel punca hematopoietik CD34 $^{+}$  dikapsulasi dengan menggunakan alginate *cross linked* dengan CaCl<sub>2</sub>, dan dikultur hingga 21 hari. Kadar TNF $\alpha$  dianalisa dengan metode ELISA. Kadar TNF $\alpha$  menurun pada hari ke-7 dan tidak ditemukan hingga hari ke-21. Enkapsulasi menurunkan kadar TNF $\alpha$  dan dapat digunakan untuk pengembangan terapi seluler sel punca hematopoietik CD34 $^{+}$ .

**Kata Kunci:** *enkapsulasi, sel punca hematopoietik CD34 $^{+}$ , TNF $\alpha$*

### Abstract

CD34 $^{+}$  hematopoietic stem cells have angiogenic, plastic, and immunoregulatory abilities. This causes CD34 $^{+}$  hematopoietic stem cells to be widely used in cellular therapy. The low proliferative ability and low migration viability to the host limit cellular treatment approaches that use CD34 $^{+}$  hematopoietic stem cells. Encapsulation maintains the function of CD34 $^{+}$  hematopoietic stem cells and can regulate the immune system. Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) is a pro-inflammatory molecule that plays an important role in immunoregulation. TNF $\alpha$  plays an important role in the rejection reaction of CD34 $^{+}$  hematopoietic stem cell transplantation. This study analyzed the levels of TNF $\alpha$  in encapsulated CD34 $^{+}$  hematopoietic stem cells. CD34 $^{+}$  hematopoietic stem cells were encapsulated using alginate cross-linked with CaCl<sub>2</sub> and cultured for up to 21 days. TNF $\alpha$  levels were analyzed using the ELISA method. TNF $\alpha$  levels decreased on day 7 and were not found until day 21. Encapsulation reduces TNF $\alpha$  levels and can be used to develop CD34 $^{+}$  hematopoietic stem cell cellular therapy.

**Keywords:** *encapsulation, hematopoietic stem cells CD34 $^{+}$ , TNF $\alpha$*

@Jurnal Ners Prodi Sarjana Keperawatan & Profesi Ners FIK UP 2023

✉ Corresponding author :

Address : Jl. Sutomo No. 4

Email : christine.sibuea@yahoo.com

Phone : 08116178678

## PENDAHULUAN

Sel punca hematopoietik merupakan unit fungsional hematopoiesis untuk perbaikan diri dan galur multilini. Sel punca hematopoietik mampu membentuk seluruh progenitor sel darah untuk hematopoiesis dan sistem imun tubuh. Sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> merupakan diferensiasi hemangioblast, yang juga dapat berdiferensiasi menjadi progenitor sel endotel. Penanda permukaan yang sering digunakan sebagai karakteristik sel punca hematopoietik adalah CD14, CD34, dan CD45 (Du, 2014: 6006). Sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> dapat diisolasi dari darah tepi, sumsum tulang dan dari darah tali pusat. Sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> asal darah tali pusat memiliki kemampuan angiogenik yang tinggi, mendukung plastisitas dan imunomodulator (Sibuea, 2020: 5).

Sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> saat ini juga banyak dikembangkan untuk terapi seluler. Kemampuan angiogenik, plastisitas dan imunomodulator yang dimiliki sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> memberikan peluang yang besar untuk terapi seluler transplantasi sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup>. Kesempatan pengembangan ini dibatasi oleh rendahnya kemampuan proliferasi sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup>, sehingga viabilitas sel menurun pada durasi homing dengan host. Enkapsulasi dapat mempertahankan fungsi sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> (Nurhayati, 2021: 1). Enkapsulasi dapat menjadi jawaban atas keterbatasan dalam terapi seluler sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup>.

TNF $\alpha$  merupakan senyawa pro-inflamasi yang penting dalam imunoregulasi tubuh. TNF $\alpha$  mempengaruhi sel T dan berperan dalam diferensiasi sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> (Senyuk, 2019: 1; Ugovsek, 2022: 1). TNF $\alpha$  juga berperan penting dalam proses homing transplantasi sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> dengan host (Senyuk, 2019: 1). Penelitian ini menganalisa kadar TNF $\alpha$  enkapsulasi sel hematopoietik CD34<sup>+</sup>, dimana sangat bermanfaat untuk pengembangan terapi seluler sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup>

## METODE

Penelitian in-vitro ini dilakukan di Kluster SCTE IMERI FK UI dengan kaji etik KET-732/UN2.F1/ETIK/PPM.00.02/2022.

## Isolasi dan Kultur Sel Punca Hematopoietik CD34<sup>+</sup>

Sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> diisolasi darah tali pusat bayi baru lahir dengan menggunakan larutan Ficoll-Hypaque untuk memperoleh buffy coat seperti pada tahap penelitian sebelumnya (Sibuea, 2021: 5; Nurhayati, 2021). Darah tali pusat dan larutan Ficoll-Hypaque disentrifugasi dan dicuci secara bertahap menggunakan PBS. Kit isolasi EasySep digunakan untuk mengisolasi sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> sesuai dengan protokol produsen kit. Suspensi disentrifugasi, dan pelet diresuspensi dengan medium kultur RPMI. Penghitungan sel dilakukan dengan menggunakan trypan blue, dan kemurnian sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> dianalisis menggunakan flowcytometry.

## Enkapsulasi Sel Punca Hematopoietik CD34<sup>+</sup>

Suspensi  $2,5 \times 10^5$  sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> dicampur dengan larutan alginate dengan perbandingan 1:4. Pembentukan kapsul dilakukan dengan meneteskan suspensi sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup>-alginate ke dalam CaCl<sub>2</sub> dan diinkubasi selama 5 menit. Kapsul yang terbentuk dicuci sebanyak 3 kali dengan PBS dan dikultur duplo dalam medium kultur CD34<sup>+</sup> selama 21 hari.

## Analisa TNF $\alpha$ Enkapsulasi Sel Punca Hematopoietik CD34<sup>+</sup>

Analisa TNF $\alpha$  dilakukan pada kultur enkapsulasi sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> hari ke-7, ke-14 dan ke-21. Medium kultur enkapsulasi sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> disentrifugasi dengan kecepatan 15.000 rpm dan dilakukan analisa IL-10 dengan menggunakan Human TNF $\alpha$  ELISA Kit (Quantikine) Cat: DTA00D sesuai dengan protokol produsen kit. Analisa TNF $\alpha$  dilanjutkan dengan pembacaan kadar TNF $\alpha$  dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar TNF $\alpha$  enkapsulasi sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> sangat rendah dan menurun pada hari ke-7. TNF $\alpha$  tidak ditemukan dari hari ke-14 hingga hari ke-21 (Tabel 1 dan Gambar 1).

Kadar TNF $\alpha$  rendah pada hari ke-7. Kultur in-vitro ini dilakukan pada kondisi basal, dimana kerusakan jaringan sangat minimal, hanya berasal

dari apoptosis sel hematopoietik yang terjadi selama durasi kultur. Rendahnya kadar TNF $\alpha$  pada penelitian ini dapat menunjukkan bahwa CD34<sup>+</sup> hanya sedikit mensekresikan TNF $\alpha$  pada kondisi basal.

TNF $\alpha$  merupakan mediator pro-inflamasi, yang berperan penting dalam respon imun dan hemostasis. TNF $\alpha$  juga akan mengaktifkan sekresi sitokin inflamasi lainnya. Sekresi TNF $\alpha$  akan menginduksi apoptosis progenitor sel punca hematopoiesis (Yamashita, 2019: 357). TNF $\alpha$  yang disekresikan menginduksi apoptosis sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup>, sehingga viabilitas sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> dapat semakin menurun. Sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> sulit

Adanya peningkatan sekresi TNF $\alpha$  akan menghambat homing dengan host (Senyuk, 2019: 1). Rendahnya kadar TNF $\alpha$  pada enkapsulasi sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> ini menunjukkan bahwa dapat sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> yang dienkapsulasi dapat mengatasi keterbatasan reaksi penolakan pada transplantasi sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup>. Enkapsulasi sel punca sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> menurunkan kadar TNF $\alpha$ .

**SIMPULAN**

Sekresi TNF $\alpha$  rendah pada enkapsulasi sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup>. Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk pengembangan terapi seluler sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup>.

**DAFTAR PUSTAKA**

Du C, Narayanan K, Leong MF, Wan AC. Induced pluripotent stem cell-derived hepatocytes and endothelial cells in multi-component hydrogel fibers for liver tissue engineering. *Biomaterials*. 2014;35(23):6006-14.

Sibuea CV, Pawitan J, Antarianto R, Jasirwan COM, Sianipar IR, Luviah E, et al. 3D Co-Culture of Hepatocyte, a Hepatic Stellate Cell Line, and Stem Cells for Developing a Bioartificial Liver Prototype. *International Journal of Technology*. 2020;11(5).

Nurhayati RW, Cahyo RD, Alawiyah K, Pratama G, Agustina E, Antarianto RD, et al. Development of double-layered alginate-chitosan hydrogels for human stem cell microencapsulation. *The 4th Biomedical Engineering's Recent Progress n Biomaterials, Drugs Development, Health, and Medical Devices: Proceedings of the International Symposium of Biomedical Engineering (ISBE) 2019/2019*.

Nurhayati RW, Cahyo RD, Pratama G, Anggraini D, Mubarak W, Kobayashi M, et al. Alginate-Chitosan Microencapsulated Cells for Improving CD34+ Progenitor Maintenance and Expansion. *Applied Sciences*. 2021;11(17).

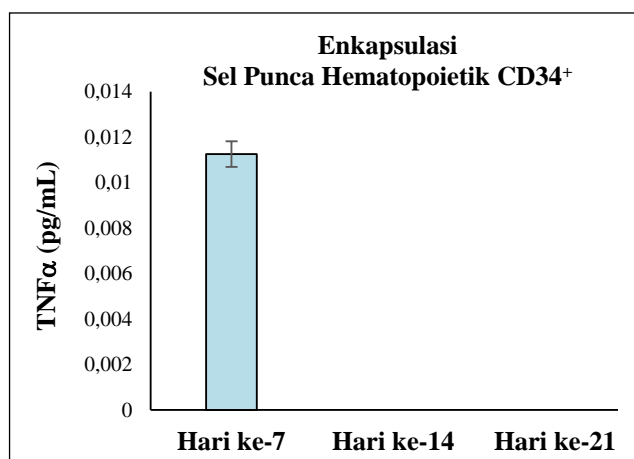
Senyuk V, Patel P, Mahmud N, Rondelli D. Blockade of TNFalpha to Improve Human CD34+ Cell Repopulating Activity in Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Front Immunol*. 2018;9:3186.

Tabel 1. Kadar IL-10 Sel Punca Hematopoietik CD34<sup>+</sup>

	Kadar TNF $\alpha$ (pg/dL)		
	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
Enkapsulasi Sel Punca Hematopoietik CD34 <sup>+</sup>	0,011	0	0

berproliferasi pada kultur in-vitro, sehingga kondisi ini mengakibatkan sekresi TNF $\alpha$  semakin menurun hingga tidak ditemukan pada hari ke-14.

Penurunan kadar TNF $\alpha$  juga dapat menunjukkan bahwa kondisi basal in-vitro tidak menginduksi sitokin pro-inflamasi.



Gambar 1. Kadar TNF $\alpha$  pada Enkapsulasi Sel Punca Hematopoietik CD34<sup>+</sup>

TNF $\alpha$  juga berperan penting pada proses homing transplantasi sel punca hematopoiesis.

Ugovsek S, Rehberger Likozar A, Finderle S, Poglajen G, Okrajsek R, Vrtovec B, et al. TNF-alpha Predicts Endothelial Function and Number of CD34(+) Cells after Stimulation with G-CSF in Patients with Advanced Heart Failure. *J Cardiovasc Dev Dis.* 2022;9(8).

Yamashita M, Passegue E. TNF-alpha Coordinates Hematopoietic Stem Cell Survival and Myeloid Regeneration. *Cell Stem Cell.* 2019;25(3):357-72 e7.