

# PENGARUH *SECRETOME* SEL PUNCA MESENKIMAL TERHADAP EKSPRESI *INTERLEUKIN-1 $\beta$* DAN *CASPASE-1*

## *THE EFFECT OF MESENCHYMAL STEM CELL SECRETOME TOWARD INTERLEUKIN-1 $\beta$ AND CASPASE-1 EXPRESSION*

Toumi Shiddiqi, Zainal Arifin Adnan, Arifin, Arief Nurudhin

Sub Bagian Reumatologi, Bagian Ilmu Penyakit Dalam

FK UNS / RSUD Dr. Moewardi Surakarta

Korespondensi: dr. Toumi Shiddiqi, Sp. PD. Email: toumi.shiddiqi.05@gmail.com

### ABSTRAK

Systemic Lupus Erythematosus adalah penyakit inflamasi autoimun kronis dengan manifestasi klinis beragam dan luas. Pemberian injeksi pristan intraperitoneal dapat menginduksi lupus pada mencit. IL-1 $\beta$  merupakan sitokin inflamasi yang berperan pada patogenesis SLE melalui jalur Caspase-1. Secretome sel punca mesenkimal mengandung Stanniocalcin-1 yang berperan sebagai antiinflamasi. Tujuan Penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh secretome sel punca mesenkimal terhadap ekspresi IL-1 $\beta$  dan Caspase-1 pada mencit model lupus dengan induksi pristan. Penelitian eksperimental dengan metode post test only control group design, sampel 21 ekor mencit betina Mus Musculus galur Balb/C, dibagi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol (injeksi intraperitoneal NaCl 0,9% 0,5 ml), kelompok pristan (injeksi pristan intraperitoneal 0,5 ml) dan kelompok pristan+secretome (injeksi intraperitoneal pristan 0,5 ml dan secretome 0,45 ml). Penelitian dilakukan selama 3 minggu, secretome diberikan pada akhir penelitian. Dinilai ekspresi IL-1 $\beta$  dan Caspase-1 secara imunohistokimia. Analisis statistik menggunakan IBM SPSS 20 dengan uji ANOVA dilanjutkan uji post hoc LSD. P bermakna jika  $p < 0,05$ . Hasil penelitian menunjukkan rata-rata ekspresi IL-1 $\beta$  pada ketiga kelompok yaitu kontrol (22,75 $\pm$ 8,30); pristan (79,67 $\pm$ 18,24); pristan+secretome (19,94 $\pm$ 6,41), dengan kemaknaan  $p = 0,000$ . Terdapat perbedaan bermakna ekspresi IL-1 $\beta$  antara kelompok kontrol vs pristan (-56,92 $\pm$ 6,69;  $p = 0,000$ ), kelompok pristan vs pristan+secretome (61,31 $\pm$ 6,69;  $p = 0,000$ ). Rata-rata ekspresi Caspase-1 pada ketiga kelompok yaitu kontrol (17,04 $\pm$ 6,30); pristan (81,25 $\pm$ 17,32); pristan+secretome (21,97 $\pm$ 12,59), dengan kemaknaan  $p = 0,000$ . Terdapat perbedaan bermakna ekspresi Caspase-1 antara kelompok kontrol vs pristan (-64,21 $\pm$ 6,69;  $p = 0,000$ ) dan kelompok pristan vs pristan+secretome (59,28 $\pm$ 6,69;  $p = 0,000$ ). Simpulan yang dapat diambil adalah secretome sel punca mesenkimal menurunkan ekspresi IL-1 $\beta$  dan Caspase-1 pada mencit model lupus dengan induksi pristan.

**Kata Kunci:** Caspase-1, Interleukin-1 $\beta$ , Pristan, Secretome, Systemic Lupus Erythematosus.

### ABSTRACT

*Systemic lupus Erythematosus is a chronic autoimmune inflammatory disease with extensive clinical features and diverse course of the disease. Giving intraperitoneal pristane can induce lupus in mice. IL-1 $\beta$  is a inflammatory cytokine that role in SLE pathogenesis via Caspase-1 pathway. Mesenchymal Stem cells secretome consist stanniocalcin-1, which is role as antiinflammatory. The objectives is Knowing mesenchymal stem cells secretome effect on the expression of IL-1 $\beta$  and Caspase-1 in murine lupus models induced by pristane. A randomized experimental study, post test only control group design, sample of 21 female Mus Musculus mice strain Balb/C, divided into 3 groups : control group (intraperitoneal injection of 0.5 ml of 0.9% NaCl), pristane group (intraperitoneal injection of 0.5 ml pristane), and pristane + secretome group (intraperitoneal injection of 0.5 ml pristane and 0.45 ml of secretome). The study carried out for 3 weeks, secretome given at the end of study. Expression of IL-1 $\beta$  and Caspase-1 (immunohistochemistry) assessed after administration of secretome. Statistical analysis using IBM SPSS 20 using ANOVA test and LSD post hoc test. Significant if  $p < 0,05$ . Results: The average expression of IL-1 $\beta$  in three groups are : control group (22,75 $\pm$ 8,30); pristan group (79,67 $\pm$ 18,24); pristan+secretome group (19,94 $\pm$ 6,41),  $p = 0,000$ . There are significant differences in the expression of IL-1 $\beta$  in the control group vs pristane group (-56,92 $\pm$ 6,69;  $p = 0,000$ ), pristan group vs pristan+secretome group (61,31 $\pm$ 6,69;  $p = 0,000$ ). The average expression of Caspase-1 in three groups are : control groups (17,04 $\pm$ 6,30); pristan group (81,25 $\pm$ 17,32); pristan + secretome group (21,97 $\pm$ 12,59),  $p = 0,000$ . There are significant differences expression of Caspase-1 in control group vs pristan groups (-64,21 $\pm$ 6,69;  $p = 0,000$ ) and pristane group vs pristane + secretome*

group (59,28±6,69; p=0,000). Conclusions: Mesenchymal stem cells secretome decreased the expression of IL-1 $\beta$  and Caspase-1 in murine lupus models induced by pristane.

**Keywords:** Caspase-1, Interleukin-1 $\beta$ , Pristane, Secretome, Systemic Lupus Erythematosus.

## PENDAHULUAN

*Systemic Lupus Erythematosus* (SLE) merupakan penyakit autoimun heterogen dengan ciri inflamasi kronis yang melibatkan banyak organ berbeda dengan gambaran klinis yang bervariasi (Kuhn, *et al.*, 2015; Schaper *et al.*, 2014; Zickert, 2013). Etiopatologi SLE melibatkan interaksi yang kompleks dan multifaktorial antara variasi genetik dan faktor lingkungan (Suarjana, 2014). Penyakit ini terutama menyerang wanita usia reproduksi dengan angka kematian yang cukup tinggi. Insidensi SLE pada wanita 9 kali lebih tinggi dibanding pria (Sterner, *et al.*, 2014). Faktor genetik, imunologik dan hormonal serta lingkungan diduga berperan dalam patofisiologi SLE (Perhimpunan Rematologi Indonesia, 2011).

Karakteristik SLE yaitu terbentuknya autoantibodi terhadap komponen inti sel, deposisi kompleks imun, dan kerusakan organ yang diperantarai sel inflamasi. Sistem imun alami berperan dalam patogenesis penyakit. Salah satu abnormalitas yang terjadi yaitu stimulasi sinyal *toll like receptor* (TLR) oleh kompleks imun, aktivasi respon persisten IFN 1, dan produksi berlebihan *neutrophil extracellular traps* (NET) (Kahlenberg dan Kaplan, 2014). *Inflammasome* yaitu kompleks molekul multiprotein sitosol, yang bila terinduksi oligomerisasi akibat respon terhadap patogen dan penanda bahaya lainnya, akan mengaktifkan *caspase-1*, yang merupakan enzim utama yang bertanggungjawab dalam mengaktifasi sitokin proinflamasi IL-1 $\beta$  dan IL-18 (Vanaja *et al.*, 2015). Aktivasi *inflammasome*, khususnya bila terjadi infeksi intraseluler, akan menyebabkan kematian sel yang diperantarai *caspase-1*, yang disebut *pyroptosis*. Kompleks imun yang terbentuk sekunder dari pengenalan antibodi dari antigen DNA atau RNA, diketahui menstimulasi aktivasi *inflammasome* melalui peningkatan aktivasi *TLR-dependent Nuclear Factor- $\kappa$ B* (NF- $\kappa$ B) dan aktivasi NLRP3 *inflammasome*. Komplemen C3a, yang rilis saat aktivasi komplemen di jaringan, membantu aktivasi *inflammasome* melalui peningkatan sekresi ATP. Kedua proses tersebut, deposisi kompleks imun dan konsumsi komplemen pada organ, yang terjadi pada SLE, mengaktifasi *inflammasome* dan memperburuk

kerusakan organ (Kahlenberg dan Kaplan, 2014; Reeves, 2014; Bauernfeind dan Hornung, 2013).

*Inflammasome* memiliki peranan penting dalam patogenesis SLE, oleh karena itu, tatalaksana SLE salah satunya yaitu dengan memodulasi efek pada aktivitas *inflammasome*.

*Caspase-1* dikenal juga sebagai *interleukin-1 converting enzyme/ICE*, memiliki peranan pada patogenesis SLE, yaitu mengubah pro IL-1 $\beta$  dan pro IL-18 menjadi bentuk aktifnya. *Caspase-1* melalui NLRP3 ( salah satu gen *inflammasome* ) akan diaktivasi melalui 2 jalur, yaitu melalui TLR atau TNF $\alpha$ R dan secara langsung mengaktifasi NLRP3 oleh ATP atau toksin bakteri yang membentuk lubang pada membran sel, sehingga terjadi peningkatan konsentrasi ion Na dan K (Reeves, 2014).

IL-1 $\beta$  dan IL-18 adalah satu keluarga sitokin yang mempunyai efek pada berbagai proses biologis yang berperan pada infeksi, inflamasi, dan proses autoimun. Selain itu, keduanya berperan dalam perburukan dan keparahan dari nefritis lupus (Ka *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2013).

Penggunaan terapi immunosupresi pada SLE telah digunakan secara luas, baik kortikosteroid dan siklofosfamid, memberikan perbaikan dan penurunan progresivitas menuju gagal organ stadium akhir dalam dekade terakhir. Namun keduanya memiliki efek samping yang signifikan. Agen immunosupresi lain seperti *mycophenolate mofetil* (MMF) dan rituximab, efektif pada SLE yang resisten, namun dibutuhkan biaya tinggi dan memiliki efek samping yang signifikan. Meskipun menggunakan agen immunosupresi yang poten, beberapa pasien mengalami refrakter dengan progresivitas yang meningkat dan mengancam pada kematian (Liang *et al.*, 2010).

Pemberian sel punca mesenkimal menunjukkan perbaikan pada pasien SLE berat yang refrakter (Sun *et al.*, 2010). *Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantaion* memberikan respon yang memuaskan pada SLE refrakter (Wang *et al.*, 2014). Sel punca mensekresikan sejumlah protein (*secretome*) termasuk faktor pertumbuhan, kemokin, sitokin, metabolit dan lipid bioaktif yang mengatur secara autokrin atau parakrin sambil merekayasa interaksi dengan lingkungan mikro

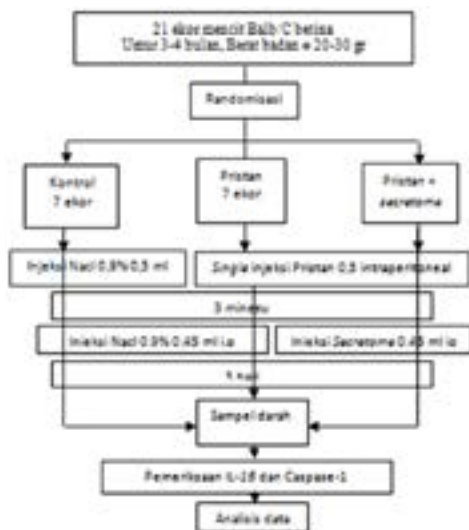
sekitarnya (Drago *et al.*, 2013). Beberapa stimulan dapat ditambahkan pada medium kultur, yaitu prekondisi hipoksia, inflamasi, dan penumbuhan sel kultur dalam bidang 3 dimensi akan merangsang sekresi dari berbagai faktor terapeutik potensial (Madrigal *et al.*, 2014).

Penelitian Oh *et al.* (2014) menunjukkan bahwa sel punca mesenkimal manusia mengurangi aktivasi *inflammasome* NLRP3 pada makrofag manusia atau makrofag tikus yang distimulasi dengan LPS dan ATP. Aktivasi *caspase-1* dan rilis IL-1 $\beta$  menurun pada makrofag yang di kokultur dengan sel punca mesenkimal manusia. Sel punca mesenkimal menekan pembentukan *reactive oxygen species* mitokondria pada makrofag. Sel punca mesenkimal mensekresi *stanniocalcin* (STC-1), sebuah protein antiapoptosis yang menghambat aktivasi *inflammasome* dan menekan produksi ROS.

Pristan (*Tetra methyl penta decane* / TMPD) merupakan zat yang berperan untuk menginduksi SLE pada hewan (Kahlenberg *et al.*, 2014). Pristan menginduksi SLE melalui jalur TLR2 (Urbonaviciute *et al.*, 2013).

Penelitian yang menggunakan *secretome* sel punca mesenkimal pada SLE belum ada sehingga peneliti ingin meneliti pengaruh *secretome* sel punca mesenkimal pada kultur medium terkondisi hipoksia terhadap ekspresi IL-1 $\beta$  dan *Caspase-1* pada mencit model lupus dengan induksi pristan.

## METODE PENELITIAN



Gambar 1. Alur Penelitian

Rancangan penelitian ini yaitu penelitian eksperimental randomisasi dengan metode *post test only control group design*. Perlakuan pada hewan coba dilakukan sesuai dengan *ethical clearance*.

Ekspresi imunohistokimia dinilai dengan Skor Histo (H) = (% inti sel terwarnai positif dengan intensitas lemah x1) + (% inti sel terwarnai positif dengan intensitas sedang x2) + (% inti sel terwarnai positif dengan intensitas kuat x3), penghitungan dilakukan pada 10 lapang pandang berbeda dengan mikroskop cahaya, perbesaran 400x Olympus BX 50 Model BX-50F-3. ScopeImage 9.0 Digital Camera 2.0 Megapixel. Data berupa rerata 10 lapang pandang tersebut (Fedchenko dan Reifenrath, 2014; Ma *et al.*, 2013).

Analisis statistik menggunakan IBM SPSS 20. Uji beda 3 rerata menggunakan uji parametrik (ANOVA) jika data variabel berdistribusi normal lalu dilanjutkan dengan LSD *Post Hoc Test*. Sedangkan bila datanya berdistribusi tidak normal digunakan uji *Kruskal-Wallis* yang akan dilanjutkan dengan *Mann whitney*. P bermakna jika  $p < 0,05$ .

## HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Data hasil penelitian ini yaitu variabel ekspresi IL-1 $\beta$  dan *Caspase-1* berupa nilai rerata dan SD, didapatkan hasil:

Tabel 1. Deskripsi dan Uji Normalitas Variabel ekspresi IL-1 $\beta$

Kelompok	Rata-rata $\pm$ SD (unit)	Uji Normalitas	
		Stat-KS	Sig
1. Kontrol	22,75 $\pm$ 8,30	0,151	0,200
2. Pristan	79,67 $\pm$ 18,24	0,192	0,200
3. Pristan + secretome	19,57 $\pm$ 6,41	0,186	0,200

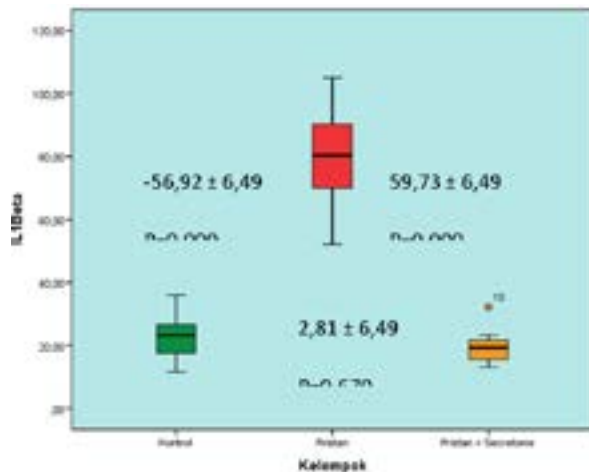
Distribusi data variabel IL-1 $\beta$  semua berdistribusi normal.

Tabel 2. Variasi atau Perbedaan Tiga Rata-rata Variabel IL-1 $\beta$  menurut Kelompok Sampel.

Kontrol		Pristan		Pristan + Secretome	
Rata-rata	SD	Rata-rata	Rata-rata	SD	Std
22,75	8,30	79,67	22,75	8,30	2,8431
Nilai F = 53,89		p = 0,000*			

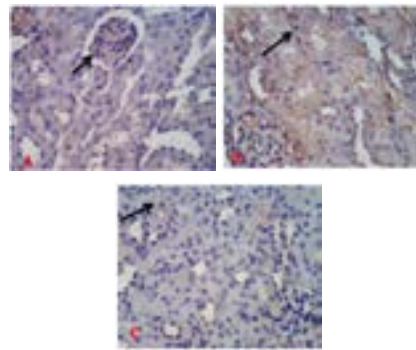
Keterangan :\*) Signifikan pada derajat signifikansi 5 persen.

Hasil analisis variasi atau beda 3 rata-rata di atas menunjukkan bahwa perbedaan 3 rata-rata variabel IL-1 $\beta$  tersebut menghasilkan nilai F hitung =53,89 dengan tingkat signifikansi sebesar 0,000 yang berarti beda 3 rata-rata itu signifikan.



Gambar 2. Perbandingan rata-rata IL-1 $\beta$  antar kelompok sampel

Hasil analisis beda 2 rata-rata sampel independen menggunakan penelusuran *Post Hoc Test* dengan LSD di atas menunjukkan bahwa uji terhadap variabel IL-1 $\beta$  antara kelompok Kontrol dan pristan signifikan pada derajat signifikansi sebesar 0,000 persen ( $p < 0,05$ ). Hal itu dapat dikatakan bahwa pada mencit kelompok pristan rata-rata IL-1 $\beta$  lebih tinggi (meningkat) secara meyakinkan dibandingkan kelompok kontrol. Setelah diberikan terapi *secretome* (pristan+*secretome*) maka rata-rata variabel IL-1 $\beta$  lebih rendah (mengalami penurunan) dibandingkan pada kelompok pristan dengan tingkat signifikansi sebesar 0,000 ( $p < 0,05$ ). Dengan demikian hipotesis pertama yang menyatakan bahwa: “Pemberian *secretome* menurunkan IL-1 $\beta$  pada mencit model *lupus induksi pristan*” benar-benar dapat terbukti secara meyakinkan. Perbedaan rata-rata IL-1 $\beta$  kelompok terapi pristan dan *secretome* sel punca mesenkimal dengan kelompok kontrol memiliki tingkat signifikansi sebesar  $p = 0,670$  yang berarti tidak signifikan pada derajat signifikansi sebesar 5 persen ( $p > 0,05$ ), sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian *secretome* sel punca mesenkimal mampu menurunkan ekspresi IL-1 $\beta$  mendekati ekspresi IL-1 $\beta$  kelompok kontrol.



Gambar 3. Perbandingan gambaran ekspresi IL-1 $\beta$  antar kelompok.

Ekspresi IL-1 $\beta$  pada inti sel epitel glomerulus dan sel tubulus ginjal nampak berwarna coklat (panah). A: kelompok kontrol; B: kelompok Pristan; C: kelompok Pristan+*secretome*

Tabel 3. Deskripsi dan Uji Normalitas Variabel ekspresi *Caspase-1*

Kelompok	Rata-rata ± SD (unit)	Uji Normalitas	
		Stat-KS	Sig
1. Kontrol	17,04 ± 6,30	0,282	0,096
2. Pristan	78,70 ± 14,47	0,185	0,200
3. Pristan + <i>secretome</i>	21,97 ± 12,59	0,339	0,015

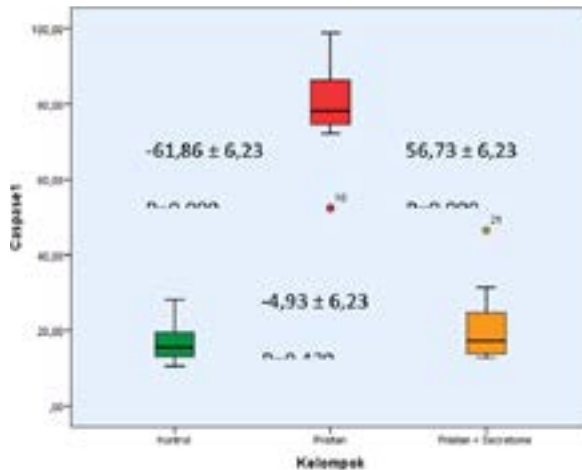
Distribusi data variabel *Caspase-1* berdistribusi normal pada kelompok kontrol dan pristan, sedangkan kelompok pristan + *secretome* tidak normal, maka selanjutnya dilakukan uji *one sample kolmogorov-Smirnov*, dan didapatkan data distribusi normal.

Tabel 4. Variasi atau Perbedaan Tiga Rata-rata Variabel *Caspase-1* menurut Kelompok Sampel.

Kontrol	Pristan	Pristan + <i>Secretome</i>
Rata-rata ± SD	Rata-rata ± SD	Rata-rata ± SD
17,04 ± 6,30	78,70 ± 14,47	21,97 ± 12,57
F=53,89	p = 0,000*	

Keterangan :\*) Signifikan pada derajat signifikansi 5 persen.

Hasil analisis variasi atau beda 3 rata-rata di atas menunjukkan bahwa perbedaan 3 rata-rata variabel *Caspase-1* tersebut menghasilkan nilai F hitung =53,89 dengan tingkat signifikansi sebesar 0,000 yang berarti beda 3 rata-rata itu signifikan.

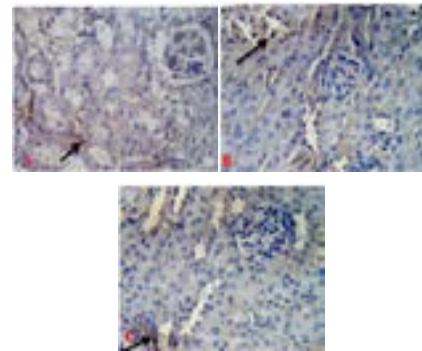


Gambar 4. Perbandingan rata-rata *Caspase-1* antar kelompok sampel

Hasil analisis beda 2 rata-rata sampel independen menggunakan penelusuran *Post Hoc Test* dengan LSD diatas menunjukkan bahwa uji terhadap variabel *Caspase-1* antara kelompok kontrol dan pristan signifikan pada derajat signifikansi sebesar 0,000 persen ( $p < 0,05$ ). Hal itu dapat dikatakan bahwa pada mencit kelompok pristan rata-rata *Caspase-1* lebih tinggi (meningkat) secara meyakinkan dibandingkan kelompok kontrol. Setelah diberikan terapi *secretome* (pristan+*secretome*) maka rata-rata variabel *Caspase-1* lebih rendah (mengalami penurunan) dibandingkan pada kelompok pristan dengan tingkat signifikansi sebesar 0,000 ( $p < 0,05$ ). Dengan demikian hipotesis kedua yang menyatakan bahwa: “Pemberian *secretome* menurunkan *Caspase-1* pada mencit model lupus induksi pristan” benar-benar terbukti secara meyakinkan Perbedaan rata-rata *Caspase-1* kelompok terapi pristan dan *secretome* sel punca mesenkimal dengan kelompok kontrol memiliki tingkat signifikansi sebesar  $p = 0,439$  yang berarti tidak signifikan pada derajat signifikansi sebesar 5 persen ( $p > 0,05$ ), sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian *secretome* sel punca mesenkimal mampu menurunkan ekspresi *Caspase-1* mendekati ekspresi *Caspase-1* kelompok kontrol.

Pada penelitian ini, pemberian *secretome* sel punca mesenkimal pada mencit model lupus yang diinduksi pristan dapat menurunkan ekspresi IL-1 $\beta$  dan *Caspase-1*. Hal ini terbukti dari ekspresi IL-1 $\beta$  dan *Caspase-1* lebih rendah pada kelompok pristan + *secretome* dibandingkan dengan kelompok pristan. Dimana ekspresi IL-1 $\beta$

dan *Caspase-1* pada kelompok pristan + *secretome* tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol.



Gambar 5. Perbandingan gambaran ekspresi *Caspase-1* antar kelompok. Ekspresi *Caspase-1* pada inti sel epitel glomerulus dan sel tubulus ginjal nampak berwarna coklat (panah). A: kelompok kontrol; B: kelompok Pristan; C: kelompok Pristan+*secretome*

Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Oh *et al.*, 2014 dimana pemberian sel punca mesenkimal dapat menghambat NLRP3 *inflammasome* dengan menurunkan *reactive oxygen species* (ROS) mitokondria. ROS berperan penting dalam mengaktifasi NLRP3 *inflammasome* (Martinon, 2010). NLRP3 *inflammasome* berperan penting dalam mengaktifasi *caspase-1* yang akan mengubah pro IL-1 $\beta$  menjadi IL-1 $\beta$  aktif yang berperan pada mekanisme inflamasi pada SLE (Reeves, 2014). Oleh karena itu, penghambatan aktivasi NLRP3 *inflammasome* dijadikan sebagai target terapi dalam tatalaksana SLE, khususnya nefritis lupus (Zhao *et al.*, 2013).

Pada penelitian ini, terjadi penurunan ekspresi IL-1 $\beta$  dan *Caspase-1* pada kelompok pristan + *secretome*, hal ini kemungkinan disebabkan oleh penghambatan aktivasi NLRP3 *inflammasome* sehingga tidak terjadi aktivasi *caspase-1* yang menyebabkan tidak terbentuknya IL-1 $\beta$ . Penghambatan aktivasi NLRP3 *inflammasome* disebabkan karena *secretome* sel punca mesenkimal mengandung *stanniocalcin-1* (STC-1) yang juga berperan dalam menghambat produksi ROS (Oh *et al.*, 2014).

Pristan digunakan pada penelitian ini karena pristan dapat menginduksi mencit menyerupai kondisi pada pasien SLE (Rottman and Willis, 2010) SLE yang terjadi pada mencit sangat mirip

dengan yang terjadi pada manusia dalam hal produksi autoantibodi dan keterlibatan penyakit ginjal. Mencit betina lebih mudah menderita SLE. Salah satu cara menginduksi mencit *strain* normal menjadi lupus adalah dengan injeksi pristan (minyak hidrokarbon) dosis tunggal yang menyebabkan mencit memberikan gambaran klinis seperti pada manusia penderita SLE. Gambaran klinis tersebut adalah artritis, serositis, nefritis, vaskulitis, antigen anti smith, anti dsDNA, anti ribosomal P, dan *anti small nuclear ribonucleoprotein* (Reeves *et al*, 2009; Rottman and Willis, 2010). Injeksi pristan intraperitoneal pada mencit normal memicu timbulnya sindrom autoimun seperti lupus (Kahlenberg *et al.*, 2014). Pristan dengan dosis tunggal 0,5 ml intraperitoneal menginduksi apoptosis *in vitro* dan *in vivo* pada sel-sel limfoid kavum peritoneal yang menjadi inti autoantigen (Calvani *et al*, 2005).

Pristan menginduksi autoimunitas dengan adanya produksi interferon 1, yaitu berupa IFN  $\alpha$  dan IFN  $\beta$ . IFN 1 akan berikatan dengan reseptornya IFNAR dan menyebabkan aktivasi respon imun *innate* dan adaptif. Adanya inflamasi pada peritoneum akan menyebabkan pengeluaran dari monosit imatur Ly6C dari sumsum tulang. Monosit imatur Ly6C inilah yang berperan memproduksi IFN 1 melalui berbagai mekanisme yang kompleks. Monosit ini akan berubah menjadi makrofag di jaringan. Adanya sisa apoptosis dari sel akan dikenali oleh TLR7, suatu sensor untuk *unmethylated CpG DNA* yang dapat mengenali asam nukleat (Reeves *et al.*, 2009) Rangsangan endosomal TLR 7 selanjutnya akan merangsang molekul adaptor MyD88 (Kawai dan Akira, 2007). Langkah selanjutnya melibatkan kinase IRF (*interferon regulatory factor*) 7. Sinyal dari IRF 7 ini akan menyebabkan transkripsi gen IFN 1 dan terjadi produksi IFN 1 yaitu IFN  $\alpha$  dan IFN  $\beta$  (Reeves *et al*, 2009).

Pristan juga menginduksi produksi autoantibodi melalui peran *toll like receptor-2* (TLR 2). HMGB1 yang berasal dari sel yang apoptosis, akan berikatan pada TLR-2 dan menginduksi produksi autoantibodi (Urbonaviciute *et al.*, 2013).

Penggunaan pristan akan terjadi reaksi inflamasi akibat bahan-bahan kimiawi (pristan) dan fragmentasi sel ataupun molekul *damage-associated molecular pattern* (DAMP) akibat

proses apoptosis dapat menimbulkan aktivasi makrofag, menginduksi terjadinya aktivasi NF $\kappa$ B dan memproduksi sitokin proinflamasi. Sitokin IL-6 akan menginduksi endotelin, endotelin akan mengaktifkan NADPH dan terbentuklah ROS. Selain itu, TNF- $\alpha$  juga akan mengaktifkan NADPH untuk membentuk ROS (Boeltz, 2013). Ekspresi gabungan sitokin dan ROS menghasilkan inflamasi ginjal dan fibrosis, yang mengakibatkan kerusakan jaringan kumulatif baik di tingkat glomerular dan tingkat tubular (Nowling dan Gilkeson, 2011).

*Secretome* sel punca mesenkimal pada penelitian ini diperoleh dengan metode hipoksia, sehingga mendukung aktivasi caspase 3, Bcl-2, MTP-2, TGF-  $\beta$ 1 pada sel target meningkatkan resistensi apoptosis; meningkatkan kapasitas regeneratif dari otot dan sel-sel endotel (Madrigal, 2014).

Media sekresi sel punca mesenkimal mempunyai efek imunomodulasi. Pada prekondisi hipoksia akan menyebabkan sekresi dari VEGF, HGF 1, IGF -1, SDF-1. (Madrigal *et al*, 2014) VEGF akan meningkatkan angiogenesis dan mencegah apoptosis endotel sehingga akan mengurangi derajat vaskulitis. HGF berperan dalam menurunkan aktifitas autoreaktif sel limfosit B (Kuroiwa *et al.*, 2006), sehingga produksi antibody akan menurun. Selain itu HGF juga akan menurunkan apoptosis endotel sehingga akan menurunkan vaskulitis. IGF 1 berperan dalam menurunkan apoptosis endotel dan meningkatkan toleransi dari sel APC. Sedangkan SDF akan meningkatkan apoptosis sel T autoreaktif dan menurunkan sel B autoreaktif (Madrigal *et al*, 2014). STC-1 berperan menghambat NLRP3 *inflammasome* sehingga tidak terbentuk sitokin pro inflamasi (Oh *et al.*, 2014). Sehingga dengan pemberian media sekresi sel punca mesenkimal ini akan terjadi perbaikan dari kerusakan organ sasaran.

Penelitian ini memiliki beberapa kelemahan yaitu jumlah sampel yang sedikit, penilaian imunohistokimia menggunakan cara manual, dan lama penelitian 2 minggu. Perlu dilakukan penelitian mengenai kandungan dari *secretome*, dan penelitian lanjutan dengan subyek penelitian yang lebih besar agar peran *secretome* sel punca mesenkimal dapat diterapkan pada manusia.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil-hasil penelitian yang dilakukan maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

a. Pemberian *secretome* sel punca mesenkimal berpengaruh terhadap penurunan ekspresi

IL-1 $\beta$  pada mencit model lupus induksi pristan

b. Pemberian *secretome* sel punca mesenkimal berpengaruh terhadap penurunan ekspresi *Caspase-1* pada mencit model lupus induksi pristan

## DAFTAR PUSTAKA

- Bauernfeind F dan Hornung V. 2013. Of inflammasomes and pathogens - sensing of microbes by the inflammasome. *Embo Mol Med* 5: 814–26
- Boeltz S, Kienhoefer, D, and Hoffmann, MH., 2013. Wolves in sheeps' clothing: how chemically inert hydrocarbon oil induce autoimmunity. *Immunome Research*, vol. 10, hlm. 1-5.
- Calvani N, Caricchio R, Tucci M, Sobel ES, Silvestris F, Tartaglia P, Richards HB, 2005. Induction of apoptosis by the hydrocarbon oil pristane: implications for pristane-induced lupus. *The Journal of Immunology*, vol.175, no.7, hlm.4777-82.
- Drago D, Cossetti C, Iraci N, Gaude E, Musco G, Bachi A, Pluchino S. 2013. The stem cell secretome and its role in brain repair. *Biochimie*, no. 95, hlm. 2271-2285.
- Fedchenko N and Reifenrath J. 2014. Different approaches for interpretation and reporting of immunohistochemistry analysis results in the bone tissue – a review. *Diagnostic Pathology*. 9:221
- Ka, SM, Lin JC, Lin TJ, Liu FC, Chao LK, CL, *et al.* 2015, Citral alleviates an accelerated and severe lupus nephritis model by inhibiting the activation signal of NLRP3 inflammasome and enhancing Nrf2 activation. *Arthritis Research & Therapy*, 17:331.
- Kahlenberg JM, dan Kaplan MJ. 2014. The Inflammasome and lupus another innate immune mechanism contributing to disease pathogenesis. *Curr Opin Rheumatol*; 26(5): 475–81
- Kawai T dan Akira S. 2006. Innate immune recognition of viral infection. *Nature Immunology*, vol. 7, hlm. 131–137.
- Kuhn A, 2015. The diagnosis and treatment of systemic lupus erythematosus. *Dtsch Arztebl Int*. 112: 423–32.
- Kuroiwa T, Iwasaki T, Sano H. 2006. Hepatocyte growth factor prevents lupus nephritis in murine lupus model of chronic graft-versus-host disease. *Arthritis Research and Therapy*, vol. 8, no. 4, hlm.1-8.
- Liang J, Zhang H, Hua B, Wang H, Lu L, Shi S, Hou Y, Zeng X, Gilkeson GS, Sun L. 2010. Allogenic mesenchymal stem cell transplantation in refractory systemic lupus erythematosus : a pilot clinical study. *Annals of the Rheumatic Disease*, no. 69, hlm.1423-29.
- Ma H, Lu Y, Marchbanks PA, Folger SG, Strom BL, McDonald JA, Simon MS, Weiss LK, Malone KE, Burkman RT, Sullivan-Halley J, Deapen DM, Press MF and Bernstein L. 2013. Quantitative measures of estrogen receptor expression in relation to breast cancer-specific mortality risk among white women and black women. *Breast Cancer Research*, 15:R90
- Madrigal M, Rao KS, Riordan NH. 2014. A review of therapeutic effects of mesenchymal stem cell secretions and induction of secretory modification by different culture methods. *Journal of Translational Medicine*, vol. 12, no. 260, hlm. 1-14.
- Martinon F. 2010. Activation mechanisms Signaling by ROS drives inflammasome activation. *Eur. J. Immunol.*40: 595–653
- Nowling TK, dan Gilkeson GS. 2011. Mechanism of tissue injury in lupus nephritis. *Arthritis Research and Therapy*, vol. 13, hlm. 250.

- Oh, JY., Ko, JH., Lee, HJ., Yu, JM., Choi, H., Kim, MK., Wee, WR., dan Prockop, DJ. 2014. Mesenchymal Stem/Stromal Cells Inhibit the NLRP3 Inflammasome by Decreasing Mitochondrial Reactive Oxygen Species. *Stem Cells Express*, 32:1553–63
- Perhimpunan Rematologi Indonesia, 2011. Rekomendasi Perhimpunan Reumatologi Indonesia Untuk Diagnosis dan Pengelolaan Lupus Eritematosus Sistemik.
- Reeves, WH. 2014. SLE Death by fire and ICE. *Arthritis Rheumatol*; 66(1): 6–9.
- Reeves, W.H., Lee PY, Weinstein JS, Satoh M, Lu L, 2009. Induction Of Autoimmunity By Pristane And Other Naturally Occurring Hydrocarbons. *Trends Immunology*, vol. 30, no.9, hlm. 455–464.
- Rottman JB dan Willis CR. 2010. Mouse models of systemic lupus erythematosus reveal a complex pathogenesis. *Veterinary Pathology*, vol. 47, no. 4, hlm. 664-676.
- Schaper F, Westra J, and Bijl M. 2014. Recent developments in the role of high-mobility group box 1 in systemic lupus erythematosus. *Molmed*. 20: 72-79.
- Sterner RM, Hartono SP, dan Grande JP. 2014. The pathogenesis of lupus nephritis. *J Clin Cell Immunol*. ; 5(2):
- Suarjana, I.N., 2014. Imunopatogenesis Lupus Eritematosus Sistemik. hlm. 3331-45. Dalam : Simadibrata M., *et al.* (editors). Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III Edisi VI. Jakarta : Interna Publishing FK UI.
- Sun, L., Wang, D., Liang, J., Zhang, H., Feng, X., Wang, H. 2010. Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Severe and Refractory Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis & Rheumatism*, vol. 62, no. 8, hlm. 2467-2475.
- Urbonaviciute V, Starke C, Pirschel W, Pohle S, Frey S, Daniel C, Amann K, Schett G, Herrmann M, and Reinhard E. 2013. Toll-like receptor 2 is required for autoantibody production and development of renal disease in pristane-induced lupus. *American College of Rheumatology*. 65: 1612–23
- Vanaja SK, Rathinam VAK, dan Fitzgerald KA. 2015. Mechanisms of inflammasome activation: recent advances and novel insights. *Trends in Cell Biology*. (25):5
- Wang D, Li J, Zhang Y, Zhang M, Chen J, Li X, Hu X, Jiang S, Shi S and Sun L. 2014. Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in active and refractory systemic lupus erythematosus: a multicenter clinical study. *Arthritis Research & Therapy*. 16:R79
- Zhao J, Wang H, Dai C, Wang H, Zhang H, Huang Y, Wang S, Gaskin F, Yang N, and Fu SM. 2013. P2x7 blockade attenuates murine lupus nephritis by inhibiting activation of the nlrp3/asc/caspase 1 pathway. *Arthritis Rheum*. 65(12): 3176–3185.
- Zickert, A. 2013. Studies on lupus nephritis. Tesis, Department of medicine, Karolinka Institute, Stockholm, Sweden.