



# Peran Sel Punca dalam Pengobatan Regeneratif

Silmi Mariya<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Pusat Studi Satwa Primata, IPB University, Bogor, Indonesia

## Keywords

Sel Punca, Regeneratif, Stem Cells

## Pendahuluan

Penggunaan sel punca merupakan hal yang sangat menguntungkan bagi ilmu pengetahuan, bagaimana organisme dapat berkembang dari satu sel dan bagaimana sel yang sehat dapat mengganti kerusakan sel pada makhluk hidup. Hal yang menjanjikan ini membuat para peneliti mengembangkan lebih jauh kemungkinan pengobatan menggunakan sel punca, untuk suatu penyakit yang dikenal dengan pengobatan regeneratif. Sel punca mempunyai dua karakteristik penting, yang membedakan mereka dari jenis sel lainnya.

Pertama, sel punca belum terspesialisasi dan mampu melakukan pembelahan dalam waktu yang lama. Kedua, dalam kondisi fisiologi tertentu, sel punca dapat diinduksi menjadi sel dengan fungsi khusus misalnya sel jantung yang berdetak atau sel pankreas yang menghasilkan insulin. Sel punca yang sudah banyak dikerjakan berasal dari manusia dan hewan adalah sel punca embrionik dan sel punca dewasa.

Sel punca dapat dipelajari di laboratorium sehingga dapat diketahui sifat penting sel punca dan apa yang membuat sel punca berbeda dengan sel jenis lainnya. Hal yang dapat diperoleh dengan mengembangkan sel punca, tidak hanya untuk cell-based therapies, tetapi juga untuk penapisan obat baru dan racun dan juga pengetahuan tentang kelainan pada

kelahiran. Perkembangan stem cells based therapeutic untuk perbaikan jaringan, seleksi jenis sel punca yang akan digunakan sangat penting, sel punca dewasa adalah salah satu yang dapat dipertimbangkan sebagai sumber paling menjanjikan dalam perbaikan jaringan.

© 2020 SMJ, Jakarta

## Jenis Sel Punca

### Sel Punca Embrionik (SPE)

Sel punca asal embrio dikultur di laboratorium di awali dengan fertilisasi secara invitro, pada usia embrio tiga sampai lima hari yang dinamakan blastosis akan terbentuk inner cell mass, sel-sel tersebut bersifat pluripoten. Karakteristik dasar SPE mempunyai kapasitas hidup yang lama, pertumbuhannya sangat cepat, self-renewal, dapat berdiferensiasi menjadi beberapa jenis sel lain secara in-vitro dan in-vivo.

Kultur SPE secara in vitro memerlukan feeder layer yang bersumber dari mouse embryo fibroblast yang suatu lapisan sel menunjang pertumbuhannya membantu dalam ekspresi secara genotif dan fenotif.

Pengembangan SPE manusia masih tersangkut dalam masalah etik walaupun embrio yang diperoleh berasal dari fertilisasi in vitro dimana sel telur dan sperma diperoleh dari donor. Kultur SPE harus mengekspresikan beberapa marka pluripotensial diantaranya OCT4, NANOG, SOX2, SSEA1, C-kit.

### Sel Punca Dewasa

#### Sel Punca Mesenkimal (SPM)

Definisi yang benar untuk sel ini awalnya menjadi perdebatan, dan akhirnya sel punca mesenkimal (SPM) dapat didefinisikan sebagai populasi sel yang dapat menempel pada substrat plastik dan berdiferensiasi secara in-vitro menjadi sel osteogenik, kondrogenik, adipogenik, mampu mempertahankan stemness sesuai sel induknya.

Adanya signal spesifik dengan penambahan faktor penumbuh, sitokin, dan komponen matriks ekstra seluler, populasi dari sel turunannya diarahkan pada rentetan diferensiasi yang sama sesuai dengan ekspresi gen sel aslinya. Potensi self-renewal dan diferensiasi adalah dua karakteristik yang mendefinikan sebagai sel punca mesenkimal.

Morfologi sel punca mesenkimal adalah fibroblast like, bentuk spindle. Sel punca mesenkimal pertama kali diisolasi dari sumsum tulang, tumbuh menempel pada substrat plastik. Sumber lain sel punca mesenkimal diantaranya adalah Wharton's jelly tali pusat, darah tali pusat, cairan amnion, pulpa gigi, darah tepi dan jaringan adiposa. Marka yang harus dimiliki oleh sel punca mesenkimal diantaranya adalah Cd73, Cd90, dan CD105.

#### Sel Punca Hematopoietik (SPH)

Penelitian dalam mempelajari sel punca hematopoietik sudah berlangsung lama sejak para ilmuwan telah mengembangkan pemahaman untuk digunakan sebagai terapi. Transplantasi sel punca hematopoietik sekarang secara rutin digunakan untuk mengobati pasien kanker dan gangguan lain dari darah dan sistem kekebalan tubuh.

Sel punca hematopoietik diisolasi dari darah atau sumsum tulang yang dapat memperbarui diri, dapat berdiferensiasi menjadi berbagai sel-sel spesifik, bisa memobilisasi keluar dari sumsum tulang ke dalam sirkulasi darah, dan dapat menjalani kematian sel yang terprogram.

Sumsum tulang masih menjadi gold standard untuk membuktikan bahwa sel yang berasal dari sumsum tulang mengandung sel punca hematopoietik. Marka yang harus dimiliki oleh sel punca haematopoietik diantaranya adalah CD34, SCA1, Thy1, CD38, c-Kit.

#### Sel punca kelenjar susu

Berdasarkan model neurosfir, hanya sedikit populasi sel punca kelenjar susu yang dapat bertahan hidup dan berproliferasi dengan adanya substrat eksogenus. Teknik kultur sel dikembangkan dengan menumbuhkan sel epitel kelenjar susu pada substrat non-adhesif, dengan tujuan membuat sel berada dalam kondisi anoikis. Namun demikian, sel dalam jumlah yang sedikit ini mampu bertahan hidup dan berproliferasi membentuk multiseluler sphere yang dinamakan mamosfir.

Sel punca asal kelenjar susu dapat dipisahkan dari bantalan lemak dan dilaporkan mengandung banyak sel punca pada populasi sel area basal. Hal ini dibuktikan dengan penanda antigen permukaan yang menunjukkan rendahnya ekspresi sel epitel (CD24) serta ekspresi yang tinggi dari beta integrin (ITGB1) dan alfa integrin (ITGA6). Sel-sel ini tidak mengekspresikan reseptor hormon, namun diaktivasi hormon melalui sinyal parakrin.

Terbentuknya sphere dapat mengindikasikan adanya sel punca dan sel progenitor, populasi sphere yang terbentuk diduga mempunyai jumlah sel punca dan sel progenitornya akan sama dengan populasi sel epitel kelenjar susu. Mamosfir juga dapat bertahan tidak berdiferensiasi setelah melalui beberapa kali subkultur. Penggunaan sistem kultur sel jalur sinyal self renewal dan diferensiasi dapat diidentifikasi. Marka yang harus dimiliki oleh sel punca kelenjar susu diantaranya adalah CD34, SCA1, Thy1, CD38, c-Kit.

#### Induced pluripotent stem cells (iPSCs)

Induced pluripotent stem cells (iPSCs) dihasilkan secara artifisial dari sel somatik, dan fungsinya mirip sel punca dengan karakteristik pluripotensi. Kultur dan pemanfaatannya sangat menjanjikan untuk pengobatan regeneratif saat ini dan masa depan. Mirip dengan ES, iPS mampu berdiferensiasi menjadi sel yang spesifik dari ketiga lapisan ektoderm, endoderm dan mesoderm. iPS telah terbukti berdiferensiasi menjadi fenotip neuron (motoneuron, neuron dopaminergik dan kolinergik), kardiomyosit.

Faktor lainnya yang harus dipertimbangkan adalah kekhawatiran terjadi risiko modifikasi genetik dari sel donor dan sel inang terkait dengan transplantasi sel iPSCs, yang dihasilkan oleh transfeksi vektor virus. Namun demikian, sel iPSCs dapat dijadikan sumber yang sangat berguna untuk penelitian dasar dalam mempelajari patologi penyakit yang berbeda, serta dalam pengembangan dan penapisan kandidat obat.

## Stem Cells Homing

Masalah yang masih ada dalam bidang terapi berbasis sel adalah perjalanan sel ke lokasi kerusakan jaringan, suatu proses yang disebut "homing." Efektivitas terapi sangat tergantung pada kemampuan mereka untuk menghasilkan faktor parakrin yang meningkatkan regenerasi sel. Migrasi dan homing ke jaringan yang rusak dipengaruhi oleh beberapa faktor termasuk usia dan jumlah sel, kondisi kultur, metode aplikasinya dan Host Receptability-Injury versus Noninjured.

Homing adalah bagian yang sangat tergantung pada reseptor kemokin, CXCR4, dan ligand yang sudah diketahui, yaitu CXCL12. Protein CXCR4 membantu migrasi dan homing yang bergantung pada CXCL12. Selain dari CXCR4, kultur SPM mengekspresikan CCR1, CCR4, CCR7, CCR10, CCR9, CXCR5, dan CXCR6 yang juga terlibat dalam migrasi SPM.

Mekanisme yang mendasari migrasi dan homing berasal dari studi yang mengevaluasi migrasi leukosit ke dalam jaringan, SPH dan sel-sel kanker metastasis. Beberapa referensi terkait dengan mekanisme migrasi SPM ke jaringan target disebutkan adanya peran reseptor juga molekul permukaan sel dalam membantu migrasi ini. Peran sel endotel yang teraktivasi dalam migrasi SPM juga terus dipelajari secara ekstensif. Populasi SPM mengekspresikan banyak reseptor dan molekul adhesi sel yang membantu dalam migrasi dan homing ke jaringan target. Namun, mekanisme yang tepat di mana SPM direkrut belum sepenuhnya dipahami.

Fibroblast Growth Factor (bFGF) dan reseptornya mempunyai peranan penting dalam proses proliferasi dan diferensiasi sel endotel, sangat penting juga untuk perkembangan normal dan kesalahan fungsinya akan memicu perkembangan abnormal juga menginformasikan bahwa ada jalur sinyal yang lain untuk komunikasi sel dan terlibat dalam regulasi proliferasi sel, diferensiasi dan spesifikasi.

## Penelitian sel punca In-vitro

Tantangan yang berhubungan dengan keunikan properti dari sel punca harus dipahami sebelum berlanjut pada identifikasi aplikasi klinik dan pertumbuhan selanjutnya. Tujuan akhir dari stem cells based therapies untuk mengobati kerusakan jaringan adalah koneksi yang tepat dan tetap antara sel dengan sinyal molekul ekstraseluler.

Penelitian sel punca in-vitro dikembangkan dengan metoda kultur sel dua dimensi yang banyak dilakukan menggunakan SPM. Populasi SPM mempunyai kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi osteogenik, kondrogenik, adipogenik, miogenik, dan alur stromal dengan penambahan agen agen tertentu.

Metoda kultur tiga dimensi sudah mulai banyak dikembangkan dengan tujuan meningkatkan jumlah progenitor dan sel punca, digunakan dalam uji kandidat obat juga dalam bidang toksikologi. Kultur sel tiga dimensi memungkinkan menjadi model yang lebih akurat mimik jaringan in-vivo tanpa menggunakan hewan sebagai hewan model penelitian.

Suspensi sel tunggal diperoleh dari disosiasi sel secara mekanik dan enzimatis dapat ditumbuhkan tidak menempel pada substrat tempat tumbuhnya. Sel primer akan mengalami kematian yang tinggi mati dalam kondisi ini, dan sel yang bertahan hidup jumlahnya sedikit dan menghasilkan koloni spherical yang melayang dalam kultur.

Teknologi pengembangan kultur sel punca in-vitro lainnya dengan pembentukan tissue organoid. Kultur tissue organoid dieksplorasi ke dalam matriks komersial, seperti Matrigel atau kolagen, yang memungkinkan terbentuknya optical imaging. Ketika potongan-potongan jaringan ditumbuhkan ke dalam kultur, organoid yang dihasilkan mengandung berbagai jenis sel epitel yang diatur dalam konfigurasi spasial normal seperti yang diamati secara in-vivo. Kondisi kultur seperti ini telah digunakan untuk mempelajari pergerakan sel yang mengarah organogenesis dan perubahan genetik dalam pemodelan sel juga jaringan.

## Penelitian sel punca In-vivo

Beberapa hewan model yang banyak digunakan untuk kepentingan pengobatan regeneratif, dari hewan laboratorium yang kecil sampai hewan laboratorium yang besar dengan beberapa kelebihan dan kekurangannya. Semua prosedur dalam penggunaan hewan untuk penelitian harus mendapatkan persetujuan dari komisi etik penggunaan hewan penelitian. Tahap eskpansi dalam cell based therapy, sangat mahal dan memakan waktu, pada beberapa kasus sel mungkin akan kehilangan multipotensialitasnya in-vivo dan tidak berhasil mencapai tujuan akhirnya.

## Mencit dan Tikus

Penemuan SPE pada mouse pada tahun 1981 merevolusi studi perkembangan biologi dan tikus yang sekarang digunakan secara ekstensif untuk mempelajari biologi sel punca. Model ini tidak sepenuhnya menunjukkan kondisi penyakit manusia tertentu.

Jarak evolusi antara donor dan hewan resipien juga akan memberikan efek pada daya hidup sel punca yang ditransplantasikan karena perbedaan spesies dan sifat dari jaringannya. Sel punca asal mencit adalah sel punca embrionik, sumsum tulang, dan sel punca mesenkimal asal jaringan adiposa.

Isolasi sampel diperoleh jumlah sedikit memerlukan hewan yang banyak. Tikus merupakan sumber SPM dan SPH asal sumsum tulang, juga SPM asal jaringan adiposa. Isolasi sampel diperoleh jumlah sedikit memerlukan hewan yang banyak. Tidak dapat digunakan dalam tranplantasi autologus.

## Kelinci

Sumber SPM asal sumsum tulang dan SPM asal jaringan adiposa. Kelemahan menggunakan model ini yaitu reagensia untuk deteksi penanda baik dalam ekspresi gen dan protein cukup sulit.

Spesies hewan yang lebih besar yang sangat kritikal untuk pengembangan terapi SPH, mempunyai kemampuan yang lebih tinggi untuk prediksi efikasi klinis dibanding mencit. Penggunaan hewan model yang lebih besar diharapkan dapat meningkat karena perkembangan lebih lanjut akan memerlukan sel punca dari spesies hewan yang lebih besar. Pemilihan spesies hewan yang lebih besar akan menjadi penting untuk melihat potensi setiap terapi pada manusia.

### Babi

Sumber SPM dan SPH asal darah perifer. Banyak digunakan sebagai hewan model luka bakar, kosmetik dan penyakit jantung. Reagensia untuk deteksi penanda baik dalam ekspresi gen dan protein cukup banyak.

### Kuda

Sumber SPM dan SPH asal darah perifer dan tali pusat. Reagensia untuk deteksi penanda baik dalam ekspresi gen dan protein sulit.

### Satwa Primata

Merupakan sumber SPE dan SPM asal sumsum tulang, darah perifer, darah tali pusat, matriks tali pusat, jaringan adiposa. Transplantasi sel dapat dilakukan secara autologus dan allograft. Satwa primata memiliki kemiripan dengan manusia, kemiripan tersebut dalam anatomi dan fisiologi, sehingga dapat memberikan keuntungan dalam penelitian biomedis, antara lain sebagai hewan model.

Hewan model tersebut diantaranya sebagai sumber sel punca, penggunaan sel punca satwa primata sangat penting untuk menjembatani kesenjangan pengetahuan yang dihasilkan dari penelitian sel punca menggunakan rodensia, serta memberikan informasi penting yang diperlukan untuk uji klinis pada manusia. Genus *Macaca* merupakan salah satu jenis satwa primata yang banyak digunakan untuk pengujian dan sebagai hewan model penyakit manusia.

Reagensia untuk deteksi penanda baik dalam ekspresi gen dan protein dapat menggunakan pereaksi manusia untuk beberapa spesies satwa primata. Kekurangannya penggunaan satwa primata karena biaya penggunaannya mahal, sukar untuk digunakan sebagai model kerusakan organ. Spesies tertentu tidak tersedia reagensianya dan tidak dapat bereaksi dengan reagensia manusia.

### Kesimpulan

Pengobatan regeneratif berbasis sel punca telah membuka jalan baru untuk strategi terapi yang ditujukan untuk perlindungan atau penggantian sel dalam gangguan degeneratif, traumatis dan iskemik. Kajian lebih lanjut mengenai mekanisme dalam perbaikan jaringan tersebut masih harus terus dipelajari lagi, baik secara seluler maupun molekuler sebagai strategi dalam pengobatan regeneratif.

### Daftar Pustaka

- Cibelli J, Emborg ME, Prockop DJ, Robert M, Schatten G, Rao M, Harding J, Mirochnitchenko O. 2017. Strategis for Improving Animal Models for Regenerative Medicine. *Cell Stem Cell* 12 March 17. Elseiver Inc.
- Dontu G, Abdallah WM, Foley JM, Jackson KW, Clarke MF, Kawamura MJ, Wicha MS. 2003. In vitro propagation and transcriptional profiling of human mammary stem / progenitor cells. *Genes Dev.* 17:1253–1270.
- Harding J, Roberts RM, Mirochnitchenko O. 2013. Large animal models for stem cell therapy. *Stem Cell Research & Therapy* 4:23
- Mariya S, Dewi FN, Suparto IH, Wilkerson GK, Cline JM, Permanawati, Iskandriati D, Budiarsa IN, Sajuthi D. 2017. Mammary Gland Cell Culture of *Macaca fascicularis* as a Reservoir for Stem Cells. *HAYATI Journal of Biosciences* 24 136-141
- Mariya S, Dewi FN, Suparto IH, Wilkerson GK, Cline JM, Permanawati, Iskandriati D, Budiarsa IN, Sajuthi D. 2019. Mammosphere culture of Mammary Cells from *Cynomolgus Macaque (Macaca fascicularis)*. *Comparative Medicine* Volume 69 No. 2 Rajabzadeh N, Fathi E, Farahzadi R. 2019. Review Article. Stem cell-based regenerative medicine. *Stem Cell Investig* 2019;6:18
- Ryan JM, Barry FP, Murphy JM and Mahon BP. 2005. Review Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection. *Journal of Inflammation* 2005, 2:8
- Seita J, Weissman IL. 2010. Hematopoietic Stem Cell: Self-renewal versus Differentiation. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.* 2010 ; 2(6): 640–653.
- SinghMahla R. 2016. Review Article Stem Cells Applications in Regenerative Medicine and Disease Therapeutics. *International Journal of Cell Biology* Volume 2016.
- Sohni A and Verfaillie CM. 2013. Review Article Mesenchymal Stem Cells Migration Homing and Tracking. *Hindawi Publishing Corporation Stem Cells Internasional* Volume 2013, Article ID 130763.
- Sykova E and Forostyak S. 2013. Stem Cells in Regenerative Medicine. *Laser Therapy* 22.2:87-92
- Williams JK, Mariya S, Suparto IH. 2017. Gender, Age and Differences in Stem Cell Expression and Efficacy. *Journal of Stem Cell Research & Therapeutics*. Volume 3 Issue 2 – 2017
- Wognum AW, Szilvassy SJ. 2013. *Hematopoietik Stem and Progenitor Cells*. Stem cells Technologies