



**MODUL MATA KULIAH stem cell
(IBP 631)**

Topik :
KARAKTERISTIK STEM CELL DAN ASAL MUASALNYA

DISUSUN OLEH :
Dr. TITTA NOVIANTI, S.Si., M.Biomed.

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2020

Karakteristik stem cell dan asal muasalnya

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

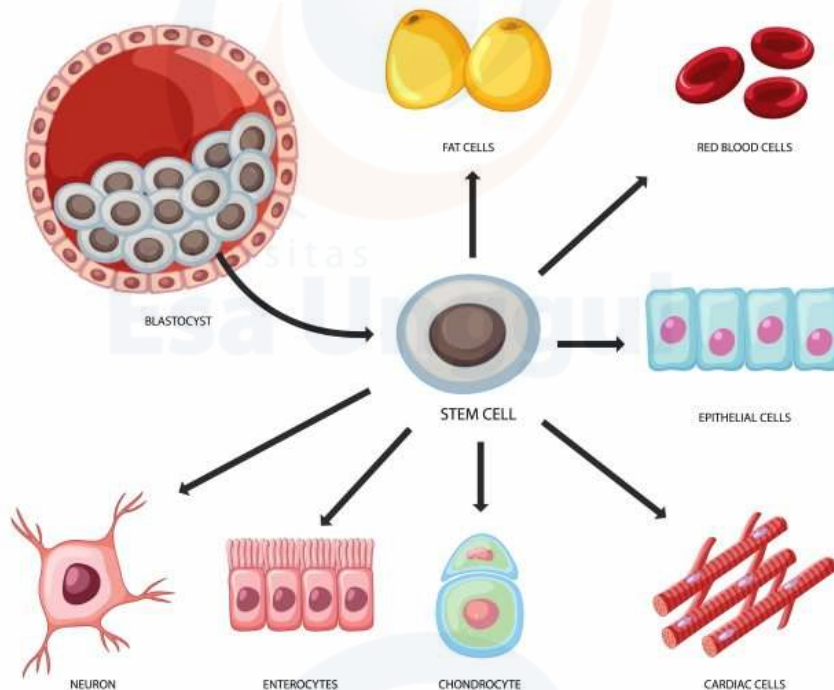
1. Menjelaskan sejarah dan pengertian stem cell atau sel punca
2. Menganalisis asal muasal stem cell serta manfaatnya bagi kesehatan

B. Uraian

1. Pendahuluan

Stem cell atau Sel punca adalah sel yang tidak terprogram dalam tubuh manusia yang dapat digambarkan sebagai “pengubah bentuk”. Sel-sel ini memiliki kemampuan untuk berubah menjadi jenis sel lain. Sel punca berada di pusat bidang ilmu baru yang disebut pengobatan regeneratif. Karena sel punca dapat menjadi tulang, otot, tulang rawan, dan jenis sel khusus lainnya, sel punca berpotensi mengobati banyak penyakit, termasuk Parkinson, Alzheimer, diabetes, dan kanker. Pada akhirnya, mereka juga dapat digunakan untuk meregenerasi organ, mengurangi kebutuhan akan transplantasi organ dan operasi terkait.

“Sel punca seperti anak kecil yang, ketika mereka besar nanti, dapat memasuki berbagai profesi,” kata Dr. Marc Hedrick dari Fakultas Kedokteran UCLA. “Seorang anak bisa menjadi petugas pemadam kebakaran, dokter atau tukang ledeng, tergantung pada pengaruh dalam kehidupan – atau lingkungan mereka. Dengan cara yang sama, sel punca ini dapat menjadi banyak jaringan dengan membuat perubahan tertentu di lingkungan mereka.”



Gambar 1. Sel punca atau stem cell dan kemampuan proliferasi untuk menjadi berbagai jaringan

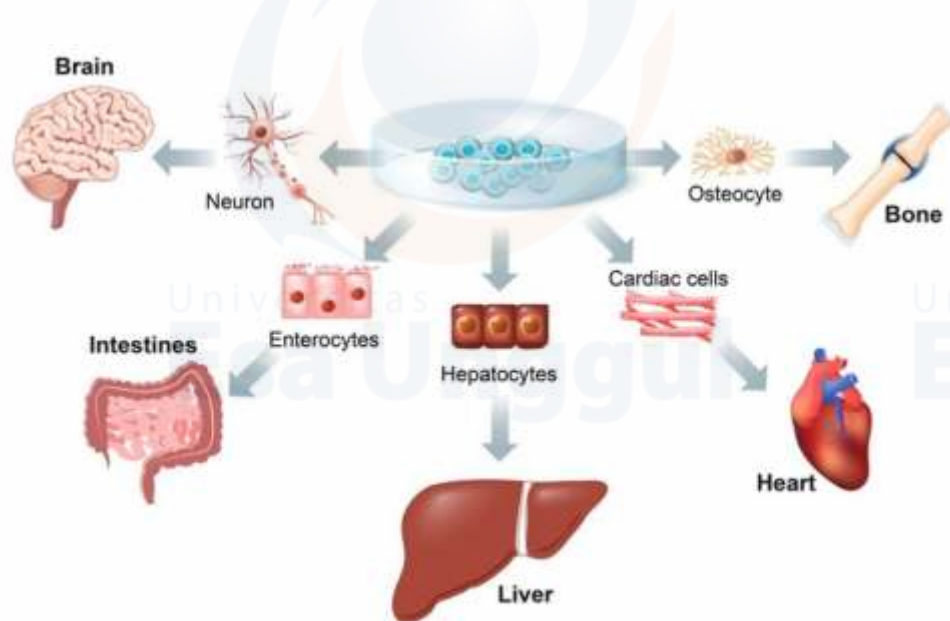
Sel punca biasanya dapat dipecah menjadi empat jenis:

- Sel punca embrio - Sel punca diambil dari embrio manusia
- Sel punca janin- Sel punca diambil dari jaringan janin yang diaborsi
- Sel punca umbilikalis - Sel punca diambil dari tali pusat
- Sel punca dewasa - Sel punca diambil dari jaringan dewasa

Sel punca embrio dan janin mempunyai potensi untuk berubah menjadi sel yang lebih beragam dibandingkan sel punca dewasa.

2. Sejarah penemuan sel punca

Pada bulan April 2001, para peneliti di UCLA dan Universitas Pittsburgh menemukan sel punca dalam lemak yang disedot dari pasien sedot lemak. Sebelumnya, sel punca hanya ditemukan di sumsum tulang, jaringan otak, dan jaringan janin – sumber yang menyebabkan masalah logistik dan etika. Sel punca dari lemak memiliki kemampuan untuk berkembang menjadi jenis sel spesifik lainnya, termasuk otot, tulang, dan tulang rawan, namun berapa banyak jenis lainnya yang masih belum diketahui.



Gambar 2. Berbagai sel punca yang berasal dari embrio yang akan dikultur dalam jaringan yang diharapkan akan menyusun organ yang diharapkan

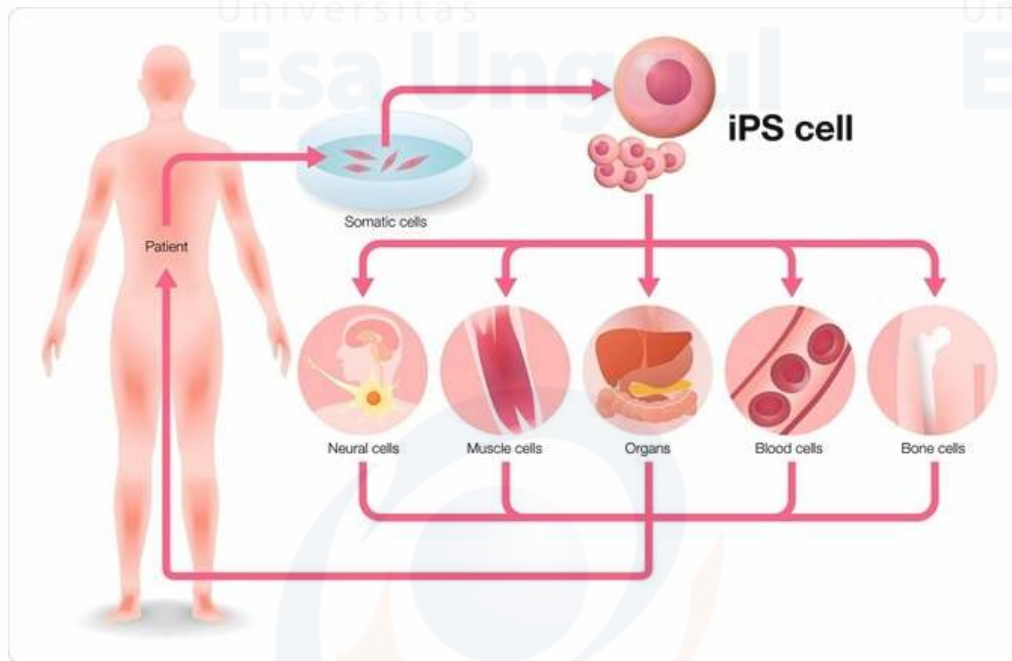
Sebelum ditransplantasikan ke jaringan seseorang untuk memulai regenerasi jaringan tersebut, sel punca harus melalui diferensiasi. Diferensiasi adalah proses di mana para ilmuwan melakukan pra-spesialisasi sel punca, hampir seperti memprogram sel punca untuk menjadi sel tertentu. Sel-sel ini kemudian disuntikkan ke area tubuh yang menjadi target regenerasi jaringan. Ketika sel punca bersentuhan dengan bahan kimia pertumbuhan di dalam tubuh, bahan kimia tersebut memprogram sel punca untuk tumbuh ke dalam jaringan di sekitarnya.

Sel punca sudah digunakan untuk mengobati leukemia dan beberapa perbaikan sendi. Misalnya, transplantasi sumsum tulang dilakukan dengan menyuntikkan sel punca dari donor ke dalam aliran darah pasien. Sel punca dari sumsum tulang juga memiliki kemampuan untuk memperbaiki hati. Para peneliti sedang mempelajari sel punca untuk mengetahui apakah mereka dapat memperbaiki kerusakan otak akibat penyakit Parkinson. Sampai saat ini, para ilmuwan terutama bekerja dengan dua jenis sel punca dari hewan dan manusia: sel punca embrionik dan sel punca "somatik" atau "dewasa" non-embrio. Para ilmuwan menemukan cara untuk memperoleh sel punca embrionik dari embrio tikus awal hampir 30 tahun yang lalu, pada tahun 1981.

Studi rinci tentang biologi sel punca tikus mengarah pada penemuan, pada tahun 1998, sebuah metode untuk memperoleh sel punca dari embrio manusia dan menumbuhkan sel tersebut di laboratorium. Sel-sel ini disebut sel punca embrio manusia. Embrio yang digunakan dalam penelitian ini diciptakan untuk tujuan reproduksi melalui prosedur fertilisasi in vitro. Ketika mereka tidak lagi diperlukan untuk tujuan tersebut,

mereka disumbangkan untuk penelitian dengan persetujuan dari donor.

Pada tahun 2006, para peneliti membuat terobosan lain dengan mengidentifikasi kondisi yang memungkinkan beberapa sel dewasa khusus untuk "diprogram ulang" secara genetik untuk mengambil keadaan seperti sel punca. Jenis sel punca baru ini sekarang dikenal sebagai Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs).



Gambar 3. Induced Pluripotent Stem Cells

Sel punca penting bagi organisme hidup karena berbagai alasan. Pada embrio berumur 3 sampai 5 hari, yang disebut blastokista, sel-sel bagian dalam membentuk seluruh tubuh organisme, termasuk semua jenis sel dan organ khusus seperti jantung, paru-paru, kulit, sperma, telur dan jaringan lainnya. Di beberapa jaringan orang dewasa, seperti sumsum tulang, otot, dan otak, populasi sel punca dewasa yang terpisah menghasilkan pengganti sel yang hilang karena kerusakan normal, cedera, atau penyakit.

Mengingat kemampuan regeneratifnya yang unik, sel punca menawarkan potensi baru untuk mengobati penyakit seperti diabetes, dan penyakit jantung. Namun, masih banyak pekerjaan yang harus dilakukan di laboratorium dan klinik untuk memahami bagaimana menggunakan sel-sel ini untuk terapi berbasis sel untuk mengobati penyakit, yang juga disebut sebagai pengobatan regeneratif atau reparatif.

Studi laboratorium tentang sel punca memungkinkan para ilmuwan mempelajari sifat-sifat penting sel dan apa yang membedakannya dari jenis sel khusus. Para ilmuwan telah menggunakan sel punca di laboratorium untuk menyaring obat-obatan baru dan mengembangkan sistem model untuk mempelajari pertumbuhan normal dan mengidentifikasi penyebab cacat lahir.

Penelitian tentang sel punca terus memajukan pengetahuan tentang bagaimana suatu organisme berkembang dari satu sel dan bagaimana sel-sel sehat menggantikan sel-sel yang rusak pada organisme dewasa. Penelitian sel punca adalah salah satu bidang yang paling menarik dalam biologi kontemporer, namun, seperti banyak bidang penyelidikan ilmiah yang berkembang, penelitian tentang sel punca menimbulkan pertanyaan-pertanyaan ilmiah secepat penelitian tersebut menghasilkan penemuan-penemuan baru.

Beberapa sel punca, seperti sumsum tulang dewasa atau sel punca darah tepi, telah digunakan dalam terapi klinis selama lebih dari 40 tahun. Terapi lain yang menggunakan sel punca termasuk penggantian kulit dari sel punca dewasa yang diambil dari folikel rambut yang telah ditumbuhkan untuk menghasilkan cangkok kulit. Uji klinis lain untuk kerusakan/penyakit saraf juga telah dilakukan dengan menggunakan sel punca saraf. Terdapat efek samping yang menyertai penelitian ini dan diperlukan penyelidikan lebih lanjut. Meskipun masih banyak penelitian yang harus dilakukan di masa depan, penelitian ini memberi kita harapan untuk masa depan terapi dengan penelitian sel punca.

3. Terapi Potensial menggunakan Sel Punca

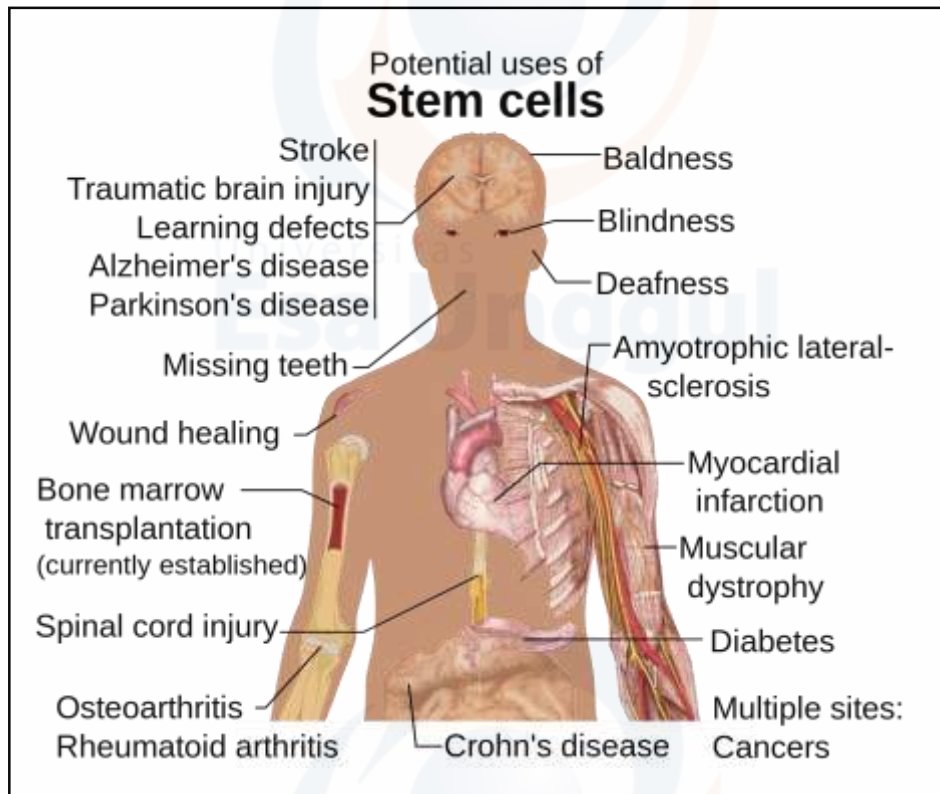
Terapi Sel Punca Dewasa

Transplantasi sumsum tulang dan sel punca darah tepi telah digunakan selama lebih dari 40 tahun sebagai terapi kelainan darah seperti leukemia dan limfoma, dan masih banyak lagi penyakit lainnya. Para ilmuwan juga telah menunjukkan bahwa sel punca berada di sebagian besar jaringan tubuh dan penelitian terus mempelajari cara mengidentifikasi, mengekstrak, dan memperbanyak sel-sel ini untuk digunakan lebih lanjut dalam terapi. Para ilmuwan berharap dapat menghasilkan terapi untuk penyakit seperti diabetes tipe I dan perbaikan otot jantung setelah serangan jantung.

Para ilmuwan juga telah menunjukkan bahwa ada potensi dalam memprogram ulang ASC yang menyebabkan mereka melakukan transdiferensiasi (berubah kembali menjadi jenis sel yang berbeda dari jaringan residen yang diisi ulang).

Terapi Sel Punca Embrionik (ESC).

Ada potensi ESC untuk mengobati penyakit tertentu di masa depan. Para ilmuwan terus mempelajari bagaimana ESC berdiferensiasi dan setelah metode ini lebih dipahami, harapannya adalah menerapkan pengetahuan tersebut agar ESC berdiferensiasi menjadi sel pilihan yang diperlukan untuk terapi pasien. Penyakit yang menjadi sasaran terapi ESC antara lain diabetes, cedera tulang belakang, distrofi otot, penyakit jantung, dan gangguan penglihatan/pendengaran.



Gambar 4. Berbagai penyakit yang dapat disembuhkan dengan terpi stem cell

Terapi Sel Induced Pluripotent Stem Cellsn (iPSC)

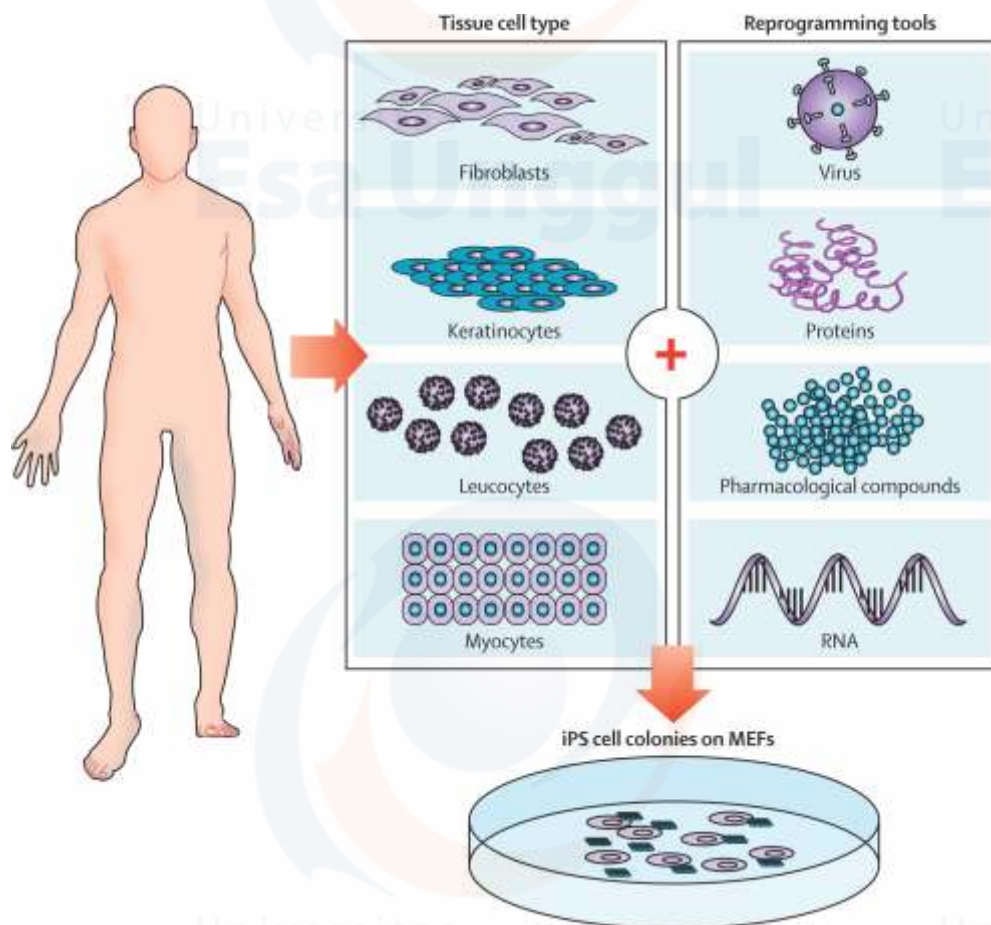
Terapi menggunakan iPSC sangat menarik karena sel somatik penerima dapat diprogram ulang ke keadaan “seperti ESC”. Kemudian mekanisme untuk membedakan sel-sel ini dapat diterapkan untuk menghasilkan sel-sel yang membutuhkan. Hal ini menarik bagi para dokter karena hal ini menghindari masalah histokompatibilitas dan imunosupresi seumur hidup, yang diperlukan jika transplantasi menggunakan sel punca donor.

Sel iPS meniru sebagian besar sifat ESC karena merupakan sel berpotensi majemuk, namun saat ini tidak membawa beban etis penelitian dan penggunaan ESC karena sel iPS belum dapat dimanipulasi untuk menumbuhkan lapisan luar sel embrio yang diperlukan untuk pengembangan. sel menjadi manusia.

Sel Punca Dewasa (ASC):

ASC adalah sel-sel yang tidak berdiferensiasi yang ditemukan hidup di dalam jaringan-jaringan spesifik yang terdiferensiasi dalam tubuh kita yang dapat memperbarui diri atau menghasilkan sel-sel baru yang dapat mengisi kembali jaringan yang mati atau rusak. Anda mungkin juga melihat istilah “sel punca somatik” yang digunakan untuk merujuk pada sel punca dewasa. Istilah “somatik” mengacu pada sel-sel non-reproduksi

dalam tubuh (telur atau sperma). ASC biasanya langka di jaringan asli sehingga sulit dipelajari dan diekstraksi untuk tujuan penelitian.



Gambar 5. Proses iPSC

Berada di sebagian besar jaringan tubuh manusia, populasi ASC yang terpisah menghasilkan sel untuk menggantikan sel yang hilang karena perbaikan normal, penyakit, atau cedera. ASC ditemukan sepanjang hidup seseorang di jaringan seperti tali pusat, plasenta, sumsum tulang, otot, otak, jaringan lemak, kulit, usus, dll. ASC pertama diekstraksi dan digunakan untuk produksi darah pada tahun 1948. Prosedur ini diperluas pada tahun 1948. 1968 ketika sel sumsum tulang dewasa pertama digunakan dalam terapi klinis untuk penyakit darah

Studi yang membuktikan kekhususan pengembangan ASC masih kontroversial; beberapa menunjukkan bahwa ASC hanya dapat menghasilkan jenis sel dari jaringan tempat tinggalnya sedangkan yang lain menunjukkan bahwa ASC mungkin dapat menghasilkan jenis jaringan lain selain yang ada di dalamnya. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengkonfirmasi perselisihan ini.

Jenis Sel Punca Dewasa:

Universitas Esa Unggul
<http://esaunggul.ac.id>

Sel Punca Hematopoietik (Sel Punca Darah)

Sel Punca Mesenkim

Sel Punca Saraf

Sel Punca Epitel

Sel Punca Kulit

Sel Punca Embrionik (ESC):

Selama hari ke 3-5 setelah pembuahan dan sebelum implantasi, embrio (pada tahap ini disebut blastokista), mengandung massa sel bagian dalam yang mampu menghasilkan semua jaringan khusus yang membentuk tubuh manusia. ESC berasal dari massa sel bagian dalam embrio yang telah dibuahi secara in vitro dan disumbangkan untuk tujuan penelitian setelah mendapat persetujuan. ESC tidak berasal dari sel telur yang dibuahi dalam tubuh wanita.

Sel punca berpotensi majemuk ini berpotensi menjadi hampir semua jenis sel dan hanya ditemukan pada tahap pertama perkembangannya. Para ilmuwan berharap dapat memahami bagaimana sel-sel ini berdiferensiasi selama perkembangan. Saat kita mulai memahami proses perkembangan ini, kita mungkin dapat menerapkannya pada sel punca yang tumbuh secara in vitro dan berpotensi menumbuhkan kembali sel seperti saraf, kulit, usus, hati, dll untuk transplantasi.

Sel Punca Pluripoten Terpuncasi (iPSCs)

Sel punca berpotensi majemuk terpuncasi adalah sel punca yang dibuat di laboratorium, suatu media bahagia antara sel punca dewasa dan sel punca embrio. iPSC diciptakan melalui pengenalan gen embrio ke dalam sel somatik (misalnya sel kulit) yang menyebabkannya kembali ke keadaan “seperti sel punca”. Sel-sel ini, seperti ESC, dianggap berpotensi majemuk. Ditemukan pada tahun 2007, metode pemrograman ulang genetik untuk menciptakan sel mirip embrio ini adalah hal baru dan memerlukan penelitian bertahun-tahun sebelum digunakan dalam terapi klinis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Centers for Disease Control, Heart Failure Fact Sheet, (accessed 10/25/2010), http://www.cdc.gov/dhdsplibrary/fs_heart_failure.htm
2. Dunn, Kyla, NOVA: The Politics of Stem Cell Research (accessed 10/29/2010) <http://www.pbs.org/wgbh/nova/body/stem-cells-politics.html>

3. Harris, Gardiner, Stem Cell financing Ban Ends, for Now, New York Times, October 2, 2010 (accessed 10/28/2010)
<http://www.nytimes.com/2010/09/10/health/policy/10stem.html?ref=stemcells>
4. Harris, Gardiner, U.S. Judge Rules Against Obama's Stem Cell Policy, New York Times, Au. 23, 2010 (accessed 10/28/2010)
<http://www.nytimes.com/2010/08/24/health/policy/24stem.html?ref=stemcells>
5. Michael J. Fox Foundation. October 6, 2010 Press Release "Michael J. Fox Foundation Announces over \$10 Million in Fund"
http://www.michaeljfox.org/newsEvents_mjffInTheNews_pressReleases_article.cfm?ID=446
6. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease, National Institutes of Health, Nationals Diabetes Statistics 2007 (accessed 10/25/2010),
<http://diabetes.niddk.nih.gov/dm/pubs/statistics/index.htm#allages>
7. Oda, Y et al, Induction of Pluripotent Stem Cells From Third Molar Mesenchymal Stromal Cells, J Biol Chem 285, 29270-29278, 2010 (accessed 10/20/2010) <http://www.jbc.org/content/285/38/29270>
8. Parkinson's Disease Foundation, Statistics on Parkinson's (accessed 10/26/2010) http://www.pdf.org/en/parkinson_statistics.
9. Wright, Laura, 2003, Potent Stem Cells Found in Baby Teeth, Scientific American online (accessed 10/28/2010) <http://www.scientificamerican.com/article.cfm?id=potent-stem-cells-found-i>



**MODUL MATA KULIAH stem cell
(IBP 631)**

Topik :
**SUMBER EMBRYONIC
STEM CEL**

DISUSUN OLEH :
Dr. TITTA NOVIANTI, S.Si., M.Biomed.

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2020

Sumber Embryonic Stem Cel

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

1. Menjelaskan pengertian embrionik stem cell
2. Menganalisis sumber embrionik stem cell dan manfaatnya bagi industri kesehatan

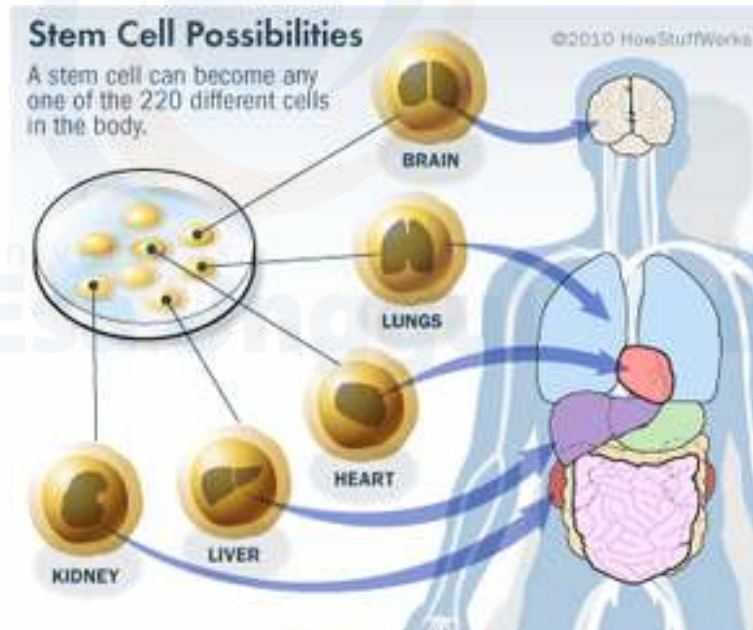
B. Uraian

1. Pendahuluan

Sel induk pada dasarnya adalah bahan pembangun tubuh manusia. Sel induk mampu membelah dalam jangka waktu lama, tidak terspesialisasi, namun dapat berkembang menjadi sel terspesialisasi. Sel induk paling awal dalam tubuh manusia adalah yang ditemukan pada embrio manusia. Sel induk di dalam embrio pada akhirnya akan membentuk setiap sel, jaringan, dan organ dalam tubuh janin. Berbeda dengan sel biasa, yang hanya dapat bereplikasi untuk menghasilkan lebih banyak jenis selnya sendiri, sel induk bersifat majemuk. Ketika membelah, ia dapat menghasilkan salah satu dari 220 sel berbeda di tubuh manusia. Sel induk juga memiliki kemampuan untuk memperbaharui diri -- mereka dapat memperbanyak diri berkali-kali lipat.

Ada beberapa jenis sel induk, antara lain:

- a. Sel induk embrionik - Sel induk embrio mencakup sel yang ditemukan di dalam embrio, janin, atau darah tali pusat. Tergantung pada kapan sel tersebut dipanen, sel induk embrionik dapat menghasilkan hampir semua sel dalam tubuh manusia.
- b. Sel induk dewasa – Sel induk dewasa dapat ditemukan pada bayi, anak-anak, dan orang dewasa. Mereka berada di jaringan yang sudah berkembang seperti jantung, otak dan ginjal. Mereka biasanya menimbulkan sel-sel di dalam organ tempat tinggalnya.
- c. Sel induk berpotensi majemuk terinduksi (IPSC) – Sel induk ini adalah sel dewasa yang telah berdiferensiasi dan telah “diprogram ulang” secara eksperimental menjadi keadaan seperti sel induk.



Gambar 1. Stem cell dapat berkembang menjadi berbagai jaringan dalam tubuh

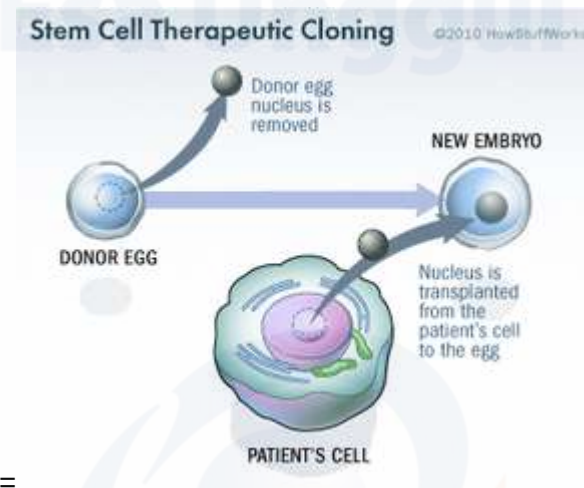
2. Embrionik stem cell

Setelah sel telur dibuahi oleh sperma, sel tersebut akan membelah dan menjadi embrio. Di dalam embrio, terdapat sel induk yang mampu menjadi semua jenis sel tubuh manusia. Untuk penelitian, para ilmuwan mendapatkan embrio dengan dua cara. Banyak pasangan yang hamil melalui proses fertilisasi in vitro. Dalam proses ini, sperma dan sel telur pasangan dibuahi dalam cawan kultur. Telur tersebut berkembang menjadi embrio, yang kemudian ditanamkan pada betina. Namun, lebih banyak embrio yang dibuat daripada yang bisa ditanamkan. Jadi, embrio ini biasanya dibekukan. Banyak pasangan menyumbangkan embrio mereka yang belum terpakai untuk penelitian sel induk.

Cara kedua yang dilakukan para ilmuwan untuk mendapatkan embrio adalah dengan kloning terapeutik. Teknik ini menggabungkan sel (dari pasien yang membutuhkan terapi sel induk) dengan sel telur donor. Inti sel telur dikeluarkan dan diganti dengan inti sel pasien. (Untuk melihat lebih detail prosesnya, lihat Cara Kerja Kloning) Telur ini dirangsang untuk membelah baik secara kimiawi atau dengan listrik, dan embrio yang dihasilkan membawa materi genetik pasien, yang secara signifikan mengurangi risiko tubuh pasien menolak batang tersebut. sel setelah mereka ditanamkan.

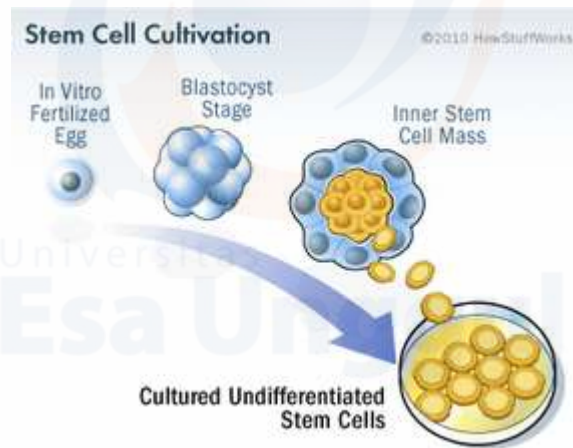
Kedua metode tersebut – menggunakan embrio yang sudah dibuahi dan menciptakan embrio baru khusus untuk tujuan penelitian – masih kontroversial. Namun sebelum kita membahas kontroversi ini, mari kita cari tahu bagaimana para ilmuwan membuat sel induk untuk direplikasi di laboratorium guna mempelajarinya.

Ketika embrio mengandung sekitar delapan sel, sel induk bersifat totipoten – mereka dapat berkembang menjadi semua jenis sel. Pada tiga sampai lima hari, embrio berkembang menjadi bola sel yang disebut blastokista. Sebuah blastokista berisi total sekitar 100 sel dan sel induk ada di dalamnya. Pada tahap ini, sel induk bersifat majemuk - mereka dapat berkembang menjadi hampir semua jenis sel.



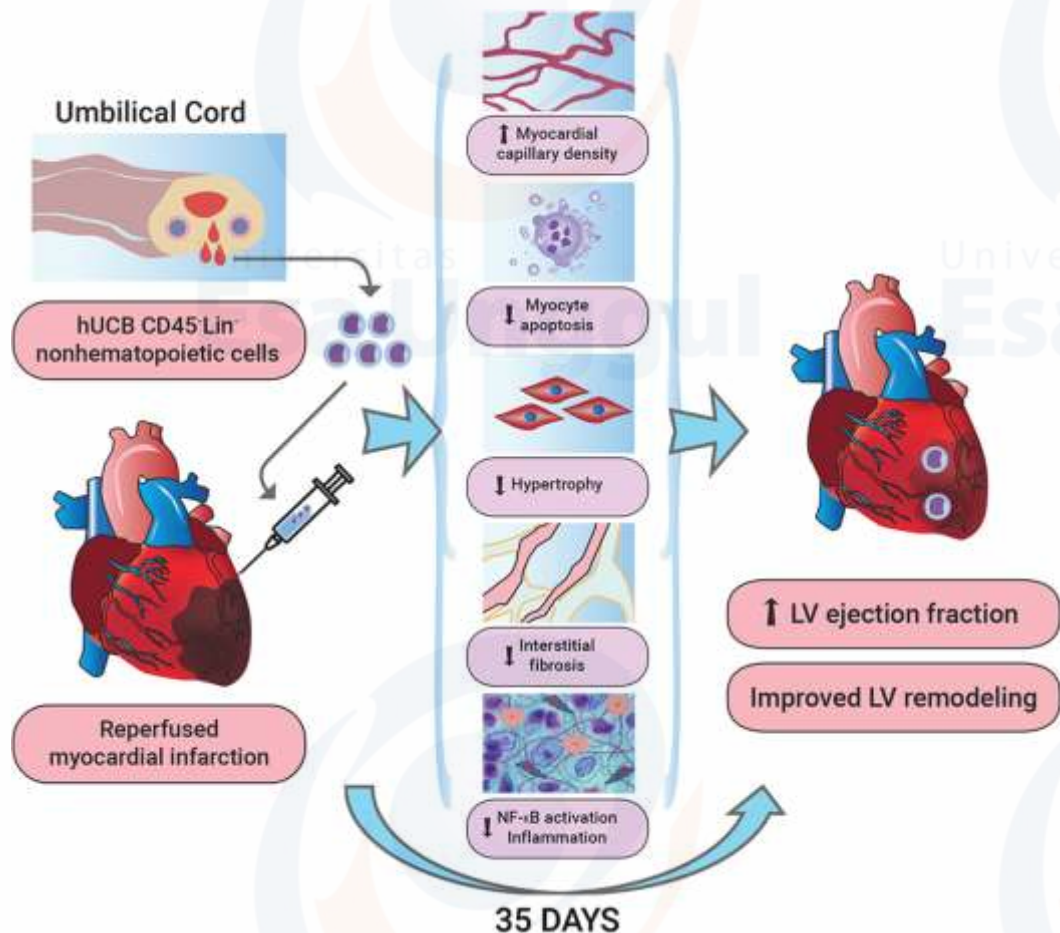
Gambar 2. Sel induk stem cel digunakan sebagai therapeutic berbagai penyakit dengan menggunakan sel embrio sel telur hasil kloning

Untuk menumbuhkan sel induk, para ilmuwan mengeluarkannya dari blastokista dan membiakkannya (menumbuhkannya dalam larutan kaya nutrisi) dalam cawan Petri di laboratorium. Sel induk membelah beberapa kali dan para ilmuwan membagi populasinya ke dalam piringan lain. Setelah beberapa bulan, ada jutaan sel induk. Jika sel terus tumbuh tanpa berdiferensiasi, maka para ilmuwan memiliki garis sel induk. Garis sel dapat dibekukan dan dibagikan antar laboratorium. Seperti yang akan kita lihat nanti, garis sel induk diperlukan untuk mengembangkan terapi.



Gambar 3, Sel embrionik stem cell yang berasal dari sel blastula

Saat ini, banyak ibu hamil yang ditanya tentang penyimpanan tali pusat -- proses penyimpanan darah tali pusat setelah melahirkan. Mengapa seseorang ingin melakukan itu? Begitu seorang ibu melahirkan, tali pusat dan sisa darahnya seringkali dibuang. Namun darah ini juga mengandung sel induk dari janin. Darah tali pusat dapat diambil dan sel induk embrionik ditumbuhkan dalam kultur. Tidak seperti sel induk embrionik yang perkembangannya lebih awal, sel induk janin dari darah tali pusat bersifat multipoten - sel induk tersebut dapat berkembang menjadi jenis sel dalam jumlah terbatas.



Gambar 5. Kemampuan human umbilical cord dalam terapi berbagai penyakit

Sel induk embrionik (ESC) ditemukan di massa sel bagian dalam blastokista manusia, tahap awal perkembangan embrio yang berlangsung dari hari ke-4 hingga ke-7 setelah pembuahan. Dalam perkembangan embrio normal, mereka menghilang setelah hari ke 7, dan mulai membentuk tiga lapisan jaringan embrio. Namun, ESC yang diekstraksi dari massa sel bagian dalam selama tahap blastokista dapat dikultur di laboratorium dan dalam kondisi yang tepat akan berkembang biak tanpa batas. ESC yang tumbuh dalam keadaan tidak berdiferensiasi ini mempertahankan potensi untuk berdiferensiasi menjadi sel-sel dari ketiga lapisan jaringan embrionik. Penelitian yang melibatkan ESC manusia menjadi pusat perdebatan etis mengenai penggunaan sel induk dan potensinya dalam pengobatan regeneratif. Embrio dari mana ESC diekstraksi akan dihancurkan dalam prosesnya.

Beberapa pertanyaan ilmiah penting ketika mempertimbangkan potensi sel

induk untuk digunakan dalam pengobatan regeneratif serta masalah kebijakan dan etika yang muncul:

- Sifat ESC apa yang menjanjikan untuk pengobatan regeneratif?
- Bukti langsung apa yang mendukung efektivitas penggunaan ESC dalam pengobatan regeneratif?
- Hambatan dan risiko apa yang terkait dengan penggunaan ESC dalam pengobatan regeneratif?

3. Sifat-Sifat ESC Penting Untuk Pengobatan Regeneratif

ESC manusia berhasil ditanam di laboratorium untuk pertama kalinya pada tahun 1998 (Thompson et al., 1998). Di bawah kondisi kultur yang sesuai, ESC telah menunjukkan kemampuan luar biasa untuk memperbaharui diri secara terus-menerus, yaitu menghasilkan lebih banyak sel yang multipoten seperti dirinya. Seperti yang ditunjukkan pada lokakarya oleh Thomas Okarma dan Ron McKay, garis ESC yang dibuat dari sel tunggal telah terbukti berkembang biak melalui 300-400 siklus penggandaan populasi. ESC manusia yang telah diperbanyak selama lebih dari 2 tahun juga menunjukkan komplemen kromosom yang stabil dan normal, berbeda dengan komplemen garis sel kanker embrio yang tidak stabil dan abnormal yang digunakan di masa lalu untuk mempelajari tahap awal perkembangan embrio. Pemantauan yang cermat terhadap galur ESC yang menua akan diperlukan untuk mengevaluasi signifikansi perubahan genetik yang diperkirakan akan terjadi seiring berjalannya waktu.

Karena ESC manusia baru tersedia untuk penelitian baru-baru ini, sebagian besar yang diketahui tentang ESC berasal dari penelitian pada tikus, yang, seperti disebutkan dalam Bab 2, tidak dapat dianggap memberikan bukti pasti mengenai kemampuan sel manusia.

Namun demikian, ESC yang berasal dari blastokista tikus telah dipelajari selama 2 dekade dan memberikan dasar pengetahuan penting tentang biologi dan budidaya sel-sel ini (Torres, 1998; Wobus dan Boheler, 1999). Faktor-faktor yang memungkinkan ESC tikus untuk terus bereplikasi di laboratorium tanpa diferensiasi dan metode untuk memicu diferensiasi menjadi tipe sel berbeda yang menunjukkan fungsi normal telah dieksplorasi secara aktif. Di antara jenis sel yang berasal dari ESC tikus yang dikultur adalah sel lemak, berbagai sel otak dan sistem

saraf, sel pankreas yang memproduksi insulin, sel tulang, sel hematopoietik, kantung kuning telur, sel endotel, sel endodermal primitif, dan otot polos dan lurik. sel, termasuk kardiomiosit—sel otot jantung.

Pengalaman dengan ESC tikus telah memberikan petunjuk mengenai metode untuk membiakkan ESC manusia dan mengarahkan mereka untuk membedakannya. ESC tikus akan berkembang biak dalam keadaan yang tidak terdiferensiasi dengan adanya biokimia yang disebut faktor penghambat leukemia (LIF), namun kondisi kultur yang diperlukan untuk menjaga agar ESC manusia tidak dapat berdiferensiasi termasuk menumbuhkannya dalam cawan petri pada lapisan fibroblas embrio tikus (disebut sebagai “sel pengumpan”) dalam media yang mengandung serum dari sapi. Sel pengumpan dinonaktifkan, sehingga tidak membelah dan berkembang, namun menghasilkan faktor pertumbuhan yang menopang ESC. Mekanisme bagaimana sel pengumpan mempertahankan proliferasi ESC yang tidak berdiferensiasi tidak diketahui. Kultur in vitro semacam ini menghadirkan bahaya teoritis tertentu terhadap penggunaan sel induk untuk pengobatan regeneratif, seperti penyebaran virus dan agen infeksi lainnya yang biasanya tidak ditemukan pada manusia. Ketika dikeluarkan dari sel pengumpan dan ditumbuhkan dalam suspensi (dalam cairan), ESC manusia membentuk kumpulan sel yang disebut “badan embrio”, yang dilaporkan menimbulkan beragam jenis sel yang mewakili ketiga lapisan perkembangan jaringan embrio (Itskovitz -Eldor dkk., 2000; Reubinoff dkk., 2000; Schuldiner dkk., 2000). Bukti diferensiasi dalam kultur mencakup deteksi produk gen yang terkait dengan tipe sel berbeda dan dalam beberapa kasus dengan bentuk karakteristik yang khas untuk tipe sel berbeda. Sel-sel yang berasal dari tubuh embrio manusia meliputi “kardiomiosit yang berkontraksi secara ritmis, sel-sel epitel berpigmen dan non-pigmen, dan sel-sel saraf yang menunjukkan pertumbuhan akson dan dendrit yang luar biasa” (Odorico et al., 2001). Dalam percobaan lain, sel yang muncul dari ESC manusia telah dilaporkan mengekspresikan gen yang terkait dengan fungsi hati dan pankreas (Schuldiner et al., 2000). ESC manusia yang ditumbuhkan secara kokultur dengan sel stroma sumsum tulang tikus telah dilaporkan menghasilkan koloni prekursor hematopoietik manusia dan akhirnya sel dari darah (Kaufman et al., 1999).

Bukti lebih lanjut mengenai kemampuan multipoten ESC manusia

didasarkan pada penelitian dalam kondisi in vivo. ESC manusia yang disuntikkan ke tikus membentuk sejenis tumor jinak yang disebut teratoma yang terdiri dari jaringan dari ketiga lapisan embrio. Jaringan yang timbul pada tumor sering kali bersifat lanjut, terorganisir, dan kompleks, dan mencakup gigi, usus, folikel rambut, kulit, epitel, otot, tulang, tulang rawan, jaringan paru-paru, dan sel saraf (Thompson et al., 1998). Percobaan menunjukkan kemampuan ESC untuk menghasilkan berbagai jaringan, namun hasilnya juga menyoroti kompleksitas “program” biologis pengembangan jaringan yang dapat terjadi di lingkungan biologis yang berbeda. Hasil ini juga menekankan potensi ESC yang tidak normal dan berpotensi neoplastik ketika ditempatkan di lingkungan yang tidak alami.

Masih banyak pertanyaan besar mengenai faktor genetik atau lingkungan dalam tubuh yang mengendalikan nasib ESC dan tentang pentingnya berbagai faktor selama berbagai tahap diferensiasi sel. Meskipun berdasarkan temuan yang terbatas, kemampuan untuk menumbuhkan ESC manusia secara in vitro dan membedakannya di laboratorium menjadikannya alat yang penting dan unik untuk melakukan penelitian dasar yang sangat penting untuk landasan regeneratif di masa depan. terapi. Misalnya, dimungkinkan untuk membuat garis keturunan ESC tikus yang menghasilkan prekursor sel saraf (Li et al., 1998). Studi tentang gen yang dihidupkan dan dimatikan ketika sel mulai berdiferensiasi, yang sudah dilakukan dengan ESC, akan memungkinkan pemahaman yang lebih baik tentang kontrol genetik yang penting dalam diferensiasi jaringan (Duncan et al., 1998). Studi in vitro terhadap ESC juga memberikan kesempatan untuk mengeksplorasi peran biokimia yang diproduksi dalam lingkungan seluler normal yang menginduksi sel induk untuk berdiferensiasi, bermigrasi ke tempat yang memerlukan perbaikan, dan berasimilasi ke dalam jaringan (Schuldiner et al., 2000).

4. Bukti Yang Mendukung Potensi Escs Untuk Digunakan Dalam Pengobatan Regeneratif

Pada lokakarya tersebut, James Thomson dan Thomas Okarma menyarankan bahwa ESC manusia suatu hari nanti akan menyediakan sumber sel yang berpotensi tidak terbatas, yang dapat dibedakan secara in vitro, untuk terapi transplantasi yang melibatkan hati, sistem saraf, dan pankreas. Irving Weissman

menyinggung kemungkinan penggunaan ESC untuk meningkatkan keberhasilan transplantasi seluruh organ. Jika HSC yang berasal dari ESC manusia dapat berhasil ditransplantasikan ke dalam sistem darah penerima transplantasi (dengan menggunakan obat imunosupresif), jaringan implan lebih lanjut (misalnya ginjal atau pankreas) yang dikembangkan dengan ESC yang sama, secara teori, tidak akan ditolak oleh penerima transplantasi. penerima karena sel kekebalan yang diproduksi dalam darah penerima oleh HSC akan melihat jaringan implan sebagai “dirinya”.

Namun hal tersebut masih jauh dari harapan, seperti dicatat oleh Marcus Grompe, karena belum ada seorang pun yang menunjukkan pemulihan fungsi organ secara in vivo baik pada manusia maupun hewan percobaan dengan sel yang berasal dari ESC manusia. Selain itu, ESC dalam kultur jaringan menghasilkan campuran tipe sel sekaligus, dan teknik biokimia, kultur jaringan, dan biologi molekuler untuk mengendalikan dan membatasi diferensiasi memerlukan penyelidikan lebih lanjut.

Karena ESC manusia baru tersedia untuk penelitian baru-baru ini, dan karena dana publik untuk penelitian tersebut terbatas, penelitian tentang seberapa baik ESC atau jaringannya yang berbeda melakukan fungsi fisiologis sebagian besar dilakukan dengan model tikus. Ron McKay menggambarkan kemajuan yang dicapai dalam membujuk diferensiasi in vitro ESC manusia menjadi sel-sel yang memproduksi insulin yang mungkin berguna dalam mengobati diabetes, namun ia juga mencatat bahwa penelitian telah dilakukan dengan sel-sel tikus analog yang ditransplantasikan ke tikus-tikus yang menderita diabetes dan sebagiannya lagi menderita diabetes. pemulihan regulasi insulin diamati (Lumelsky et al., 2001). Penelitian lain telah menunjukkan bahwa ESC tikus dapat berhasil ditransplantasikan ke hewan pengerat yang memiliki gejala penyakit Parkinson dan meringankan sebagian gejala tersebut (Studer et al., 1998). Demikian pula, penelitian menunjukkan bahwa ESC tikus dapat ditransplantasikan ke hewan yang mengalami cedera tulang belakang dan mengembalikan sebagian fungsi saraf (McDonald et al., 1999).

Penelitian tersebut memberikan harapan, namun bukan bukti pasti, bahwa pengobatan serupa bisa efektif pada manusia. ESC manusia perlu diuji pada model primata, seperti model penyakit Parkinson dan diabetes mellitus pada monyet

rhesus. Metode untuk transplantasi ESC perlu dikembangkan, begitu juga dengan cara menentukan apakah sel berkembang dan berfungsi dengan baik setelah transplantasi. Dalam beberapa kasus, penting untuk memastikan bahwa sel atau jaringan yang ditransplantasikan terpasang dan ditempatkan dengan benar dibandingkan dengan jaringan yang ada, seperti di jaringan jantung dan saraf; interaksi tiga dimensi sel-ke-sel akan memainkan peran penting dalam fungsi suatu organ. Sel lain, seperti sel pulau pankreas, atau sel hematopoietik, memerlukan penggabungan yang tidak terlalu rumit.

Selain itu, perbanyakkan ESC manusia dalam skala besar dalam kultur memerlukan pertumbuhan tanpa sel pengumpan (Odorico et al., 2001). Penelitian diperlukan untuk menjelaskan mekanisme sel pengumpan dalam menekan diferensiasi dan menemukan alternatif penggantinya, sekaligus menghilangkan potensi virus hewan dari sel pengumpan dapat ditransfer ke ESC.

Terakhir, telah disebutkan sebelumnya bahwa kromosom ESC manusia telah terbukti stabil dalam kultur jaringan. Namun ini tidak berarti bahwa garis ESC tidak akan mengalami mutasi acak yang mempengaruhi semua garis sel seiring bertambahnya usia. Pada sel manusia dan hewan lain, kira-kira satu mutasi terjadi setiap kali sel membelah. Oleh karena itu, sebuah sel yang telah membelah sebanyak 200 kali dalam kultur diperkirakan akan menampung sekitar 200 mutasi yang berbeda (Kunkel dan Bebenek, 2000). Sejauh ini, belum ada penelitian yang dipublikasikan mengenai perubahan yang mungkin terjadi pada lini sel induk yang ada. Pemantauan yang cermat terhadap integritas lini sel yang ada sangat penting untuk memungkinkan pemahaman tentang dampak kultur jangka panjang, dan lini sel induk baru mungkin perlu dikembangkan di masa depan.

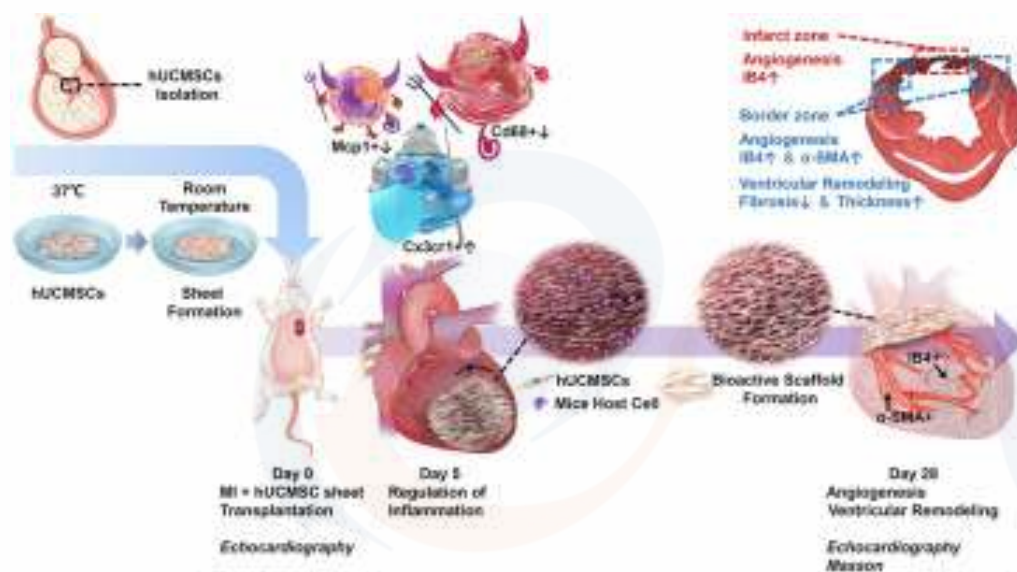
5. Hambatan dan Risiko Terkait dengan Penggunaan ESC

Selain menunjukkan efektivitas fungsional dari transplantasi ESC, penting untuk mengidentifikasi dan meminimalkan, atau menghilangkan, risiko yang mungkin ditimbulkan oleh ESC. Dua risiko yang dapat diidentifikasi adalah pembentukan tumor dan penolakan kekebalan. Seperti disebutkan sebelumnya, ESC manusia yang disuntikkan ke tikus dapat menghasilkan tumor jinak yang terdiri dari beragam jaringan; respons ini diyakini terkait dengan multipotensi sel yang tidak berdiferensiasi dalam lingkungan *in vivo*. Namun, dalam sejumlah kecil penelitian jangka pendek pada tikus, ESC manusia yang diizinkan untuk memulai proses diferensiasi sebelum transplantasi tidak menghasilkan pembentukan tumor yang signifikan (Odorico et al., 2001). Jelas sekali, ini adalah masalah penting untuk dipahami dan dikendalikan.

Oleh karena itu, masih terlalu dini untuk mengatakan apakah tepat menggunakan ESC manusia secara langsung dalam pengobatan regeneratif. Tentu saja banyak hal yang harus dijelaskan tentang bagaimana tubuh mengendalikan diferensiasi sel induk, dan hal ini masih belum dapat direproduksi secara *in vitro*. Selain itu, perilaku ESC yang ditanamkan pada organ tertentu belum diteliti dengan baik. Suatu hari nanti mungkin saja menambahkan faktor pertumbuhan melalui transplantasi untuk merangsang produksi jenis sel tertentu atau beberapa jenis sel. “Jaringan penginduksi” yang berinteraksi dengan sel induk mungkin ditransplantasikan bersama dengan ESC untuk mencapai hasil yang serupa. Kemungkinan-kemungkinan tersebut masih dalam penyelidikan eksperimental.

Di sisi lain, kemungkinan masalah yang terkait dengan transplantasi ESC adalah hal yang umum terjadi pada semua transplantasi, seperti risiko infeksi dan risiko penolakan jaringan. Sebagaimana dibahas dalam Bab 2, penolakan merupakan hambatan serius bagi keberhasilan transplantasi sel induk dan jaringan yang berasal darinya. Ada dugaan bahwa ESC lebih sedikit memicu reaksi imun dibandingkan transplantasi seluruh organ, namun masih belum jelas apakah hal ini berlaku pada jaringan yang diregenerasi yang berasal dari ESC. Beberapa jenis sel (seperti sel dendritik, sel sistem kekebalan tubuh, dan sel endotel vaskular) membawa lebih banyak antigen histokompatibilitas yang memicu reaksi imun dibandingkan sel lainnya. Jenis-jenis tersebut terdapat di jaringan seluruh organ;

mereka menghubungkan organ dengan aliran darah dan sistem saraf. Namun, jaringan yang diturunkan secara in vitro dari ESC, seperti jaringan hati, tidak akan mengandung sel-sel tersebut dan oleh karena itu secara teoritis akan memicu respon imun yang lebih ringan; hal ini mengasumsikan bahwa teknik untuk mengendalikan diferensiasi ESC akan tersedia. Selain itu, sel-sel hati kemungkinan besar tidak akan memiliki semua antigen permukaan, sehingga, jika tidak ada teknik lain untuk mengurangi penolakan transplantasi, penggunaan obat immunosupresif masih harus digunakan, dengan risiko infeksi dan toksisitas yang menyertainya.



Gambar 7. Hasil penelitian umbilical cord dari tikus yang mampu memproliferasi berbagai jaringan yang mengalami kerusakan

Meskipun sulit untuk dibayangkan, pembuatan garis ESC dalam jumlah yang sangat besar mungkin menjadi salah satu cara untuk mendapatkan keragaman sel yang secara teoritis dapat meningkatkan kemungkinan pencocokan antigen histokompatibilitas penerima transplantasi. Ada juga pendapat bahwa ESC dapat dibuat kurang reaktif dengan menggunakan rekayasa genetika untuk menghilangkan atau memasukkan keberadaan antigen permukaan pada ESC (Odorico, 2001). Secara teori, kecocokan genetik yang tepat antara penerima transplantasi dan jaringan yang dihasilkan dari ESC juga dapat dicapai dengan menggunakan transfer inti sel somatik untuk membuat ESC yang histokompatibel (Gambar 4). Sel yang dibuat dengan teknik ini akan mengatasi masalah penolakan imun. Namun, mungkin tidak tepat untuk mentransplantasikan sel-sel tersebut

pada seseorang dengan penyakit berbasis genetik, karena sel-sel tersebut akan membawa informasi genetik yang sama. Bagaimanapun juga, pemahaman tentang cara mencegah penolakan sel yang ditransplantasikan merupakan hal mendasar agar sel tersebut berguna dalam pengobatan regeneratif dan merupakan salah satu tantangan terbesar bagi penelitian di bidang ini.

6. Hasil penelitian dengan menggunakan tali pusar manusia (human umbilical cord)

Eksplorasi potensi sel punca mesenkimal terus dilakukan untuk memperluas pemanfaatannya khususnya dalam bidang medis yaitu pengobatan regeneratif. Titta Novianti dkk (2020) menggunakan Sel punca mesenkimal yang diisolasi dari jaringan tali pusat atau *umbilical cord mesenchymal stem cell* (hUC-MSC). Sel hUC-MSC memiliki berbagai fitur penting sebagai imunomodulator, tingkat proliferasi yang tinggi dan imunogenesitas rendah. Upaya menggali potensi sel hUC-MSC tidak terlepas dari ekspansi sel ini dengan teknik kultur in vitro. Kultur in vitro harus dapat mempertahankan karakteristik dan sifat fungsional sel hUC-MSC sehingga tetap memiliki kemampuan sebagaimana sifat alaminya. Namun kultur in vitro seringkali menyebabkan sel mengalami stress karena tekanan selama melalui prosedur kultur. Akibatnya sel mengalami peristiwa senescence serta berujung pada apoptosis. Hal ini dapat mengurangi kemampuan proliferasi sel hUC-MSC. Padahal stabilitas proliferasi sel hUC-MSC sangat diperlukan untuk mendukung keberhasilan terapi. kurkumin merupakan senyawa aktif yang potensinya telah banyak dipelajari sebagai agen terapi karena aktivitasnya yang menarget berbagai jalur pensinyalan molekuler. Penelitian ini membuktikan bahwa kurkumin pada dosis $< 10 \mu\text{M}$ mampu mempertahankan stabilitas proliferasi hUC-MSC pada waktu paparan selama 72 jam dan 168 jam. Sedangkan kurkumin pada konsentrasi $0,5 \mu\text{M}$ dan $1 \mu\text{M}$ mampu meningkatkan proliferasi kultur hUC-MSC pada waktu paparan 72 jam hingga 168 jam secara signifikan. Temuan ini dapat menjadi pertimbangan akan pemanfaatan kurkumin sebagai suplemen kultur untuk mempertahankan stabilitas dan kemampuan proliferasi pada kultur in vitro sel hUC-MSC.

DAFTAR PUSTAKA

- Chen, C., Hu, Z., Liu, S., & Tseng, H. (2012). Emerging trends in regenerative medicine: A scientometric analysis in CiteSpace. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 12(5), 593–608. <https://doi.org/10.1517/14712598.2012.674507>
- Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F. C., Krause, D. S., Deans, R. J., Keating, A., Prockop, D. J., & Horwitz, E. M. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8(4), 315–317. <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>
- Gu, Q., Cai, Y., Huang, C., Shi, Q., & Yang, H. (2012). Curcumin increases rat mesenchymal stem cell osteoblast differentiation but inhibits adipocyte differentiation. *Pharmacognosy Magazine*, 8(31), 202–208. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.99285>
- Jin, H. J., Bae, Y. K., Kim, M., Kwon, S. J., Jeon, H. B., Choi, S. J., Kim, S. W., Yang, Y. S., Oh, W., & Chang, J. W. (2013). Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood as sources of cell therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(9), 17986–18001. <https://doi.org/10.3390/ijms140917986>
- Li, Y., Charif, N., Mainard, D., Bensoussan, D., Stoltz, J. F., & de Isla, N. (2014). Donor's age dependent proliferation decrease of human bone marrow mesenchymal stem cells is linked to diminished clonogenicity. *Bio-Medical Materials and Engineering*, 24(1), 47–52. <https://doi.org/10.3233/BME-140973>
- Lian, J., Lv, S., Liu, C., Liu, Y., Wang, S., Guo, X., Nan, F., Yu, H., He, X., Sun, G., & Ma, X. (2016). Effects of serial passage on the characteristics and cardiac and neural differentiation of human umbilical cord wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells International*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9291013>
- Macrin, D., Joseph, J. P., Pillai, A. A., & Devi, A. (2017). Eminent Sources of Adult Mesenchymal Stem Cells and Their Therapeutic Imminence. *Stem Cell Reviews and Reports*, 13(6), 741–756. <https://doi.org/10.1007/s12015-017-9759-8>
- Marino, L., Castaldi, M. A., Rosamilio, R., Ragni, E., Vitolo, R., Fulgione, C.,

- Castaldi, S. G., Serio, B., Bianco, R., Guida, M., & Selleri, C. (2019). Mesenchymal stem cells from the Wharton's jelly of the human umbilical cord: Biological properties and therapeutic potential. *International Journal of Stem Cells*, 12(2), 218–226. <https://doi.org/10.15283/ijsc18034>
- Shang, Y., Guan, H., & Zhou, F. (2021). Biological Characteristics of Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells and Its Therapeutic Potential for Hematological Disorders. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9(May), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.570179>
- Sheng, G. (2015). The developmental basis of mesenchymal stem/stromal cells (MSCs). *BMC Developmental Biology*, 15(1), 26–31. <https://doi.org/10.1186/s12861-015-0094-5>
- Stanić, Z. (2017). Curcumin, a Compound from Natural Sources, a True Scientific Challenge – A Review. In *Plant Foods for Human Nutrition* (Vol. 72, Issue 1). <https://doi.org/10.1007/s11130-016-0590-1>
- Wanjiang, W., Xin, C., Yaxing, C., Jie, W., Hongyan, Z., Fei, N., Chengmin, L., Chengjian, F., Jichao, Y., & Jiangkai, L. (2022). Curcumin Improves Human Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cell Survival via ERK1/2 Signaling and Promotes Motor Outcomes After Spinal Cord Injury. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 42(4), 1241–1252. <https://doi.org/10.1007/S10571-020-01018-7>

Bab 3 Adult stem cell : sumber dan Kegunaannya

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

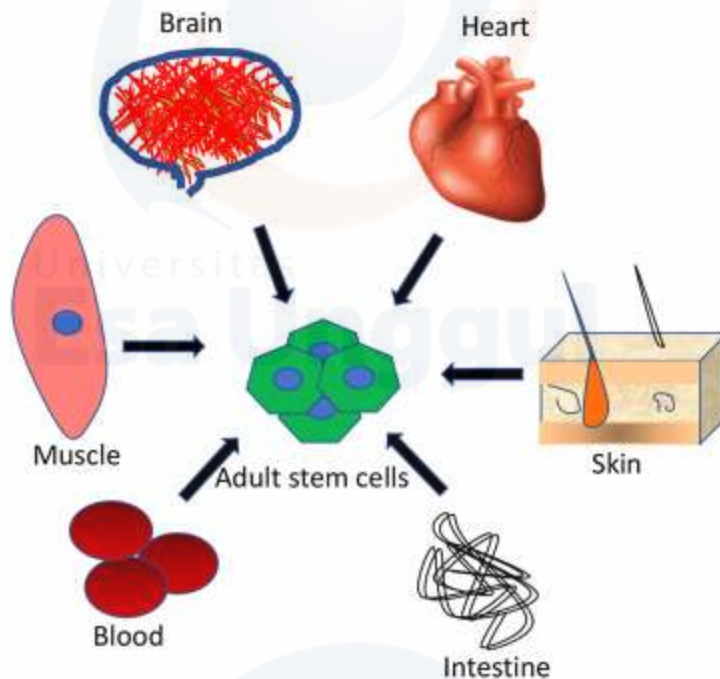
1. Menjelaskan mengenai pengertian adult stem cell serta asal atau sumber se; tersebut
2. Kegunaan dari adult stem cell tersebut

B. Uraian

1. Pendahuluan

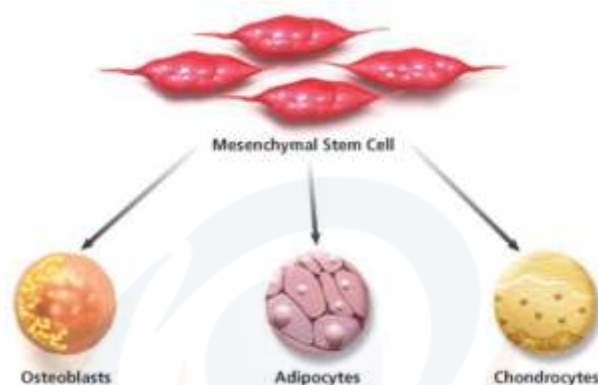
Sel punca dewasa adalah sel yang tidak berdiferensiasi, ditemukan di seluruh tubuh setelah berkembang, yang berkembang biak melalui pembelahan sel untuk mengisi kembali sel-sel yang mati dan meregenerasi jaringan yang rusak. Juga dikenal sebagai sel punca somatik (dari bahasa Yunani $\sigma\omega\mu\alpha\tau\iota\kappa\acute{o}\varsigma$, yang berarti tubuh), sel ini dapat ditemukan pada hewan remaja, hewan dewasa, dan manusia, tidak seperti sel punca embrionik.

Kepentingan ilmiah terhadap sel punca dewasa berpusat pada dua karakteristik utama. Yang pertama adalah kemampuan mereka untuk membelah atau memperbaharui diri tanpa batas waktu, dan yang kedua adalah kemampuan mereka untuk menghasilkan semua jenis sel dari organ asal mereka, sehingga berpotensi meregenerasi seluruh organ dari beberapa sel. Berbeda dengan sel punca embrionik, penggunaan sel punca manusia dewasa dalam penelitian dan terapi tidak dianggap kontroversial, karena sel punca tersebut berasal dari sampel jaringan dewasa dan bukan dari embrio manusia yang ditujukan untuk penelitian ilmiah.



Gambar 1. Sel punca dewasa yang akan berdiferensiasi menjadi berbagai jaringan

Fungsi utama sel punca dewasa adalah untuk menggantikan sel-sel yang berisiko mati akibat penyakit atau cedera dan untuk mempertahankan keadaan homeostatis di dalam sel. Ada tiga metode utama untuk menentukan apakah sel punca dewasa mampu menjadi sel khusus. Sel punca dewasa dapat diberi label *in vivo* dan dilacak, dapat diisolasi dan kemudian ditransplantasikan kembali ke dalam organisme, dan dapat diisolasi secara *in vivo* dan dimanipulasi dengan hormon pertumbuhan. Mereka terutama telah dipelajari pada manusia dan organisme model seperti tikus



Gambar 2, morfologi sel mesenchymal yang akan menjadi beberapa sel atau jaringan

Struktur Sel punca dewasa

Pembaruan diri adalah kemampuan untuk melewati berbagai siklus pembelahan sel sambil tetap mempertahankan keadaannya yang tidak berdiferensiasi. Sel punca dapat bereplikasi beberapa kali dan dapat menghasilkan pembentukan dua sel punca, satu sel punca lebih terdiferensiasi dibandingkan yang lain, atau dua sel terdiferensiasi.

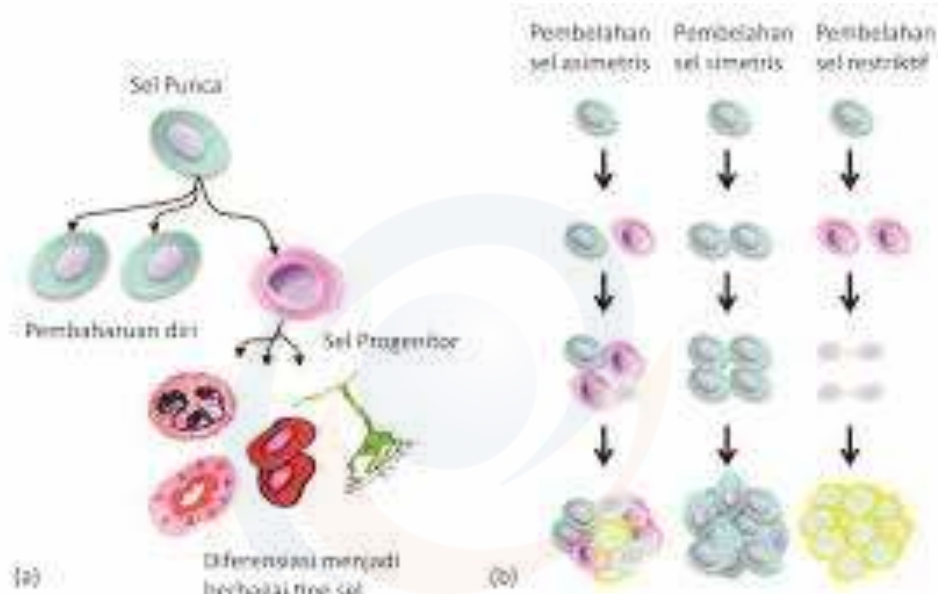
Multipotensi atau potensi multidiferensiatif adalah kemampuan untuk menghasilkan keturunan dari beberapa jenis sel yang berbeda, (misalnya sel glial dan neuron) dibandingkan dengan unipotensi, yaitu istilah untuk sel yang dibatasi untuk menghasilkan satu jenis sel. Namun, beberapa peneliti tidak menganggap multipotensi sebagai hal yang penting dan percaya bahwa sel punca yang dapat memperbaharui diri secara unipotensi memang ada. Sifat-sifat ini dapat diilustrasikan dengan relatif mudah secara *in vitro*, dengan menggunakan metode seperti uji klonogenik, dimana keturunan dari satu sel dikarakterisasi. Namun, diketahui bahwa kondisi kultur sel *in vitro* dapat mengubah perilaku sel, sehingga membuktikan bahwa subpopulasi sel tertentu memiliki sifat sel punca secara *in vivo* merupakan hal yang menantang, sehingga banyak perdebatan yang muncul mengenai apakah beberapa populasi sel punca yang diusulkan ada pada orang dewasa. memang merupakan sel punca.

Pembelahan sel

Untuk memastikan pembaruan diri, sel punca menjalani dua jenis pembelahan sel (lihat diagram pembelahan sel punca dan diferensiasi). Pembelahan simetris menghasilkan dua sel punca anak yang identik, sedangkan pembelahan asimetris menghasilkan satu sel punca dan satu sel progenitor dengan potensi pembaharuan diri yang terbatas. Nenek moyang dapat melalui beberapa putaran pembelahan sel sebelum akhirnya berdiferensiasi menjadi sel dewasa. Dipercaya bahwa perbedaan molekuler antara pembelahan simetris dan asimetris terletak pada pemisahan diferensial protein membran sel (seperti reseptor) dan protein terkait di antara sel anak.

Dalam kondisi normal, sel punca jaringan membelah secara perlahan dan jarang. Mereka menunjukkan tanda-tanda terhentinya pertumbuhan atau terhentinya pertumbuhan secara reversible. Tempat di mana sel punca ditemukan memainkan peran besar dalam menjaga ketenangan. Relung yang terganggu

menyebabkan sel punca mulai aktif membelah lagi untuk menggantikan sel yang hilang atau rusak hingga relung tersebut pulih. Dalam sel punca hematopoietik, jalur MAPK/ERK dan jalur PI3K/AKT/mTOR mengatur transisi ini. Kemampuan untuk mengatur siklus sel sebagai respons terhadap isyarat eksternal membantu mencegah kelelahan sel punca atau hilangnya sel punca secara bertahap setelah perubahan keseimbangan antara keadaan tidak aktif dan aktif. Pembelahan sel yang jarang juga membantu mengurangi risiko terjadinya mutasi DNA yang akan diteruskan ke sel anak.



Gambar 3 Pembelahan sel punca yang akan menstimulasi pergantian sel kamker oleh sel normal

Penemuan dalam beberapa tahun terakhir menunjukkan bahwa sel punca dewasa mungkin memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi tipe sel dari lapisan kuman yang berbeda. Misalnya, sel punca saraf dari otak, yang berasal dari ektoderm, dapat berdiferensiasi menjadi ektoderm, mesoderm, dan endoderm. Sel punca dari sumsum tulang, yang berasal dari mesoderm, dapat berdiferensiasi menjadi hati, paru-paru, saluran pencernaan, dan kulit, yang berasal dari endoderm dan mesoderm.

Fenomena ini disebut sebagai transdiferensiasi atau plastisitas sel punca. Hal ini dapat dipuncuasi dengan memodifikasi media pertumbuhan ketika sel punca dikultur secara in vitro atau dengan mentransplantasikannya ke organ tubuh yang

berbeda dari tempat asal sel tersebut diisolasi. Belum ada konsensus di antara para ahli biologi mengenai prevalensi dan relevansi fisiologis dan terapeutik dari plastisitas sel punca. Temuan yang lebih baru menunjukkan bahwa sel punca berpotensi majemuk mungkin berada dalam darah dan jaringan dewasa dalam keadaan tidak aktif. Sel-sel ini disebut sebagai sel punca "Blastomere Like Stem Cells" (BLSCs) dan sel punca "very small embryonic-like" (VSEL), dan menunjukkan potensi majemuk secara in vitro. Karena sel BLSC dan VSEL terdapat di hampir semua jaringan orang dewasa, termasuk paru-paru, otak, ginjal, otot, dan pankreas, pemurnian bersama sel BLSC dan VSEL dengan populasi sel punca dewasa lainnya dapat menjelaskan pluripotensi nyata dari sel punca dewasa. populasi sel punca dewasa. Namun, penelitian terbaru menunjukkan bahwa sel VSEL manusia dan murine tidak memiliki karakteristik sel punca dan tidak berpotensi majemuk.

Penuaan

Fungsi sel punca menjadi terganggu seiring bertambahnya usia, dan hal ini berkontribusi terhadap kemunduran progresif dalam pemeliharaan dan perbaikan jaringan. Kemungkinan penyebab penting peningkatan disfungsi sel punca adalah akumulasi kerusakan DNA yang bergantung pada usia pada sel punca dan sel yang membentuk lingkungan sel punca.

Namun, sel punca dewasa dapat dikembalikan secara artifisial ke keadaan di mana mereka berperilaku seperti sel punca embrionik (termasuk mekanisme perbaikan DNA yang terkait). Hal ini telah dilakukan pada tikus sejak tahun 2006. dengan prospek memperlambat penuaan manusia secara substansial. Sel-sel tersebut adalah salah satu dari berbagai kelas sel punca yang dipuncasi.

Fungsi

Penelitian sel punca dewasa telah difokuskan untuk mengungkap mekanisme molekuler umum yang mengontrol pembaharuan diri dan diferensiasinya. Jalur Notch telah dikenal oleh para ahli biologi perkembangan selama beberapa dekade. Perannya dalam pengendalian proliferasi sel punca kini telah dibuktikan untuk beberapa jenis sel termasuk sel punca hematopoietik, saraf, dan payudara. Jalur perkembangan ini juga sangat berperan sebagai regulator sel

dapat membentuk tipe sel luminal dan mioepitel pada kelenjar dan telah terbukti memiliki kemampuan untuk meregenerasi seluruh organ pada tikus.

Sel punca usus

Sel punca usus membelah terus menerus sepanjang hidup dan menggunakan program genetik yang kompleks untuk menghasilkan sel yang melapisi permukaan usus kecil dan besar. Sel punca usus berada di dekat dasar ceruk sel punca, yang disebut kriptas Lieberkuhn. Sel punca usus mungkin merupakan sumber sebagian besar kanker usus kecil dan usus besar.

Sel punca mesenkim

Sel punca mesenkim (MSC) berasal dari stroma dan dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jaringan. MSC telah diisolasi dari plasenta, jaringan adiposa, paru-paru, sumsum tulang dan darah, jeli Wharton dari tali pusat, dan gigi (ceruk perivaskular pulpa gigi dan ligamen periodontal). MSC menarik untuk terapi klinis karena kemampuannya untuk berdiferensiasi, memberikan dukungan trofik, dan memodulasi respons imun bawaan. Sel-sel ini berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel seperti osteoblas, kondroblas, adiposit, sel neuroektodermal, dan hepatosit. Mediator bioaktif yang mendukung pertumbuhan sel lokal juga disekresi oleh MSC. Efek anti-inflamasi pada lingkungan mikro lokal, yang mendorong penyembuhan jaringan, juga diamati. Respon inflamasi dapat dimodulasi oleh sel regeneratif turunan adiposa (ADRC) termasuk sel punca mesenkim dan limfosit T pengatur. Sel punca mesenkim mengubah hasil respon imun dengan mengubah sekresi sitokin dari subset sel dendritik dan sel T. Hal ini menyebabkan pergeseran dari lingkungan pro-inflamasi ke lingkungan sel anti-inflamasi atau toleran.

Sel punca endotel

Sel punca endotel adalah salah satu dari tiga jenis sel punca multipoten yang ditemukan di sumsum tulang. Mereka adalah kelompok langka dan kontroversial yang memiliki kemampuan berdiferensiasi menjadi sel endotel, sel yang melapisi pembuluh darah serta pembuluh limfatik. Sel punca endotel merupakan aspek penting dari jaringan pembuluh darah, bahkan mempengaruhi pergerakan sel darah putih.

Sel punca saraf

Keberadaan sel punca di otak orang dewasa telah dipostulasikan menyusul penemuan bahwa proses neurogenesis, kelahiran neuron baru, berlanjut hingga dewasa pada tikus. Kehadiran sel punca di otak primata dewasa pertama kali dilaporkan pada tahun 1967. Sejak itu telah terbukti bahwa neuron baru dihasilkan pada tikus dewasa, burung penyanyi, dan primata, termasuk manusia. Biasanya, neurogenesis dewasa terbatas pada dua area otak – zona subventrikular, yang melapisi ventrikel lateral, dan girus dentate dari formasi hipokampus. Meskipun pembentukan neuron baru di hipokampus sudah diketahui, keberadaan sel punca yang dapat memperbaharui diri di hipokampus masih diperdebatkan. Dalam keadaan tertentu, seperti kerusakan jaringan akibat iskemia, neurogenesis dapat dipicu di wilayah otak lain, termasuk neokorteks.

Sel punca saraf biasanya dikultur secara in vitro sebagai apa yang disebut neurosfer – kumpulan sel heterogen yang mengambang, yang mengandung sebagian besar sel punca. Mereka dapat berkembang biak dalam jangka waktu lama dan berdiferensiasi menjadi sel saraf dan glial, dan karenanya berperilaku sebagai sel punca. Namun, beberapa penelitian terbaru menunjukkan bahwa perilaku ini disebabkan oleh kondisi kultur dalam sel progenitor, keturunan dari pembelahan sel punca yang biasanya menjalani siklus replikasi in vivo dalam jumlah yang sangat terbatas. Selain itu, sel-sel yang berasal dari neurosfer tidak berperilaku seperti sel punca ketika ditransplantasikan kembali ke otak.

Sel punca saraf memiliki banyak kesamaan sifat dengan sel punca hematopoietik (HSC). Hebatnya, ketika disuntikkan ke dalam darah, sel-sel yang berasal dari neurosfer berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel sistem kekebalan tubuh.

Sel punca penciuman dewasa

Sel punca penciuman dewasa telah berhasil diambil dari sel mukosa penciuman manusia, yang ditemukan di lapisan hidung dan terlibat dalam indra penciuman. Jika diberi lingkungan kimia yang tepat, sel-sel ini memiliki kemampuan yang sama seperti sel punca embrio untuk berkembang menjadi berbagai jenis sel. Sel punca

penciuman memiliki potensi untuk aplikasi terapeutik dan, berbeda dengan sel punca saraf, dapat diambil dengan mudah tanpa membahayakan pasien. Artinya, terapi sel punca dapat diperoleh dengan mudah dari semua individu, termasuk pasien lanjut usia yang mungkin paling membutuhkan terapi sel punca.

Sel punca puncak saraf

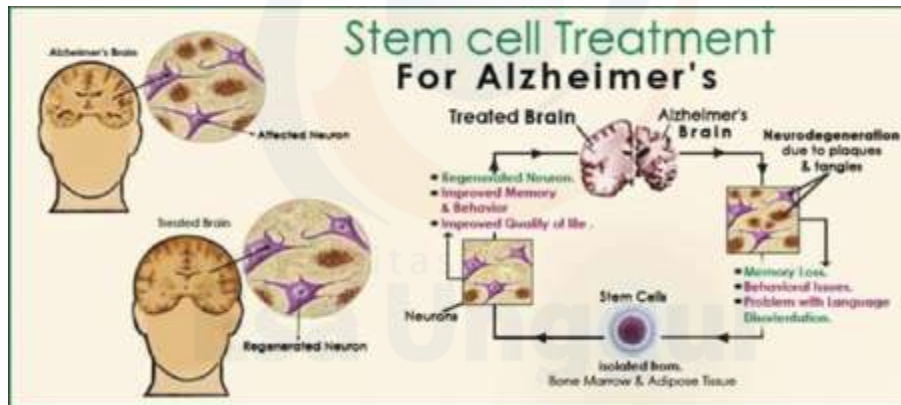
Folikel rambut mengandung dua jenis sel punca, salah satunya tampaknya mewakili sisa sel punca dari puncak saraf embrionik. Sel serupa telah ditemukan di saluran pencernaan, saraf skiatik, saluran keluar jantung, dan ganglia tulang belakang dan simpatis. Sel-sel ini dapat menghasilkan neuron, sel Schwann, miofibroblas, kondrosit, dan melanosit.

Sel testis

Sel punca multipoten yang diklaim setara dengan sel punca embrionik telah diturunkan dari sel progenitor spermatogonial yang ditemukan di testis tikus laboratorium oleh para ilmuwan di Jerman dan Amerika Serikat dan, setahun kemudian, peneliti dari Jerman dan Inggris mengkonfirmasi kemampuan yang sama dengan menggunakan sel dari testis manusia. Sel punca yang diekstraksi dikenal sebagai sel punca germline dewasa manusia (GSCs). Sel punca multipoten juga berasal dari sel germinal yang ditemukan di testis manusia.

Signifikansi klinis

Perawatan sel punca dewasa telah digunakan selama bertahun-tahun untuk berhasil mengobati leukemia dan kanker tulang/darah terkait dengan menggunakan transplantasi sumsum tulang. Penggunaan sel punca dewasa dalam penelitian dan terapi tidak dianggap kontroversial seperti penggunaan sel punca embrionik, karena produksi sel punca dewasa tidak memerlukan penghancuran embrio.



Gambara 5. Sel punca saraf

Aplikasi regeneratif awal sel punca dewasa berfokus pada pemberian progenitor darah secara intravena yang dikenal sebagai Sel Punca Hematopoietik (HSCs). Sel Punca hematopoietik CD34+ telah diterapkan secara klinis untuk mengobati berbagai penyakit termasuk cedera tulang belakang, sirosis hati, dan penyakit Vaskular Perifer. Penelitian telah menunjukkan bahwa Sel Punca hematopoietik CD34+ relatif lebih banyak pada pria dibandingkan pada wanita kelompok usia reproduksi di antara korban Cedera sumsum tulang belakang.

Aplikasi komersial awal lainnya berfokus pada Sel Punca Mesenkim (MSC). Untuk kedua jalur sel, injeksi langsung atau penempatan sel ke tempat yang membutuhkan perbaikan mungkin merupakan metode pengobatan yang lebih disukai, karena pengiriman melalui pembuluh darah mengalami "efek lintas pertama paru" di mana sel yang disuntikkan secara intravena diasingkan di paru-paru. Laporan kasus klinis dalam aplikasi ortopedi telah dipublikasikan. Waktiani telah menerbitkan serangkaian kasus kecil yang terdiri dari sembilan cacat pada lima lutut yang melibatkan transplantasi bedah sel punca mesenkim dengan cakupan cacat chondral yang diobati. Centeno dkk. telah melaporkan bukti MRI lapangan tinggi tentang peningkatan volume tulang rawan dan meniskus pada subjek klinis manusia individu serta studi keamanan besar n=227. Banyak pengobatan berbasis sel punca lainnya yang beroperasi di luar AS, dengan banyak kontroversi yang dilaporkan mengenai pengobatan ini karena beberapa orang merasa diperlukan lebih banyak peraturan karena klinik cenderung membesar-besarkan klaim keberhasilan dan meminimalkan atau menghilangkan risiko.

Terapi

Potensi terapeutik sel punca dewasa menjadi fokus banyak penelitian ilmiah, karena kemampuannya untuk diambil dari tubuh punca yaitu wanita selama persalinan. Sama halnya dengan sel punca embrionik, sel punca dewasa dapat berdiferensiasi menjadi lebih dari satu jenis sel, namun tidak seperti sel punca embrionik, sel punca dewasa sering kali terbatas pada jenis atau "garis keturunan" tertentu.

Kemampuan sel punca yang berdiferensiasi dari satu cell line untuk menghasilkan sel dari cell line yang berbeda disebut transdiferensiasi. Beberapa jenis sel punca dewasa lebih mampu melakukan transdiferensiasi dibandingkan yang lain, namun bagi banyak jenis sel punca dewasa, tidak ada bukti bahwa transformasi semacam itu mungkin terjadi. Akibatnya, terapi punca dewasa memerlukan sumber sel punca dari garis keturunan tertentu yang dibutuhkan, dan memanen dan/atau membiakkannya hingga jumlah yang dibutuhkan merupakan sebuah tantangan. Selain itu, isyarat dari lingkungan terdekat (termasuk seberapa kaku atau keroposnya struktur sekitarnya/matriks ekstraseluler) dapat mengubah atau meningkatkan nasib dan diferensiasi sel punca.

Sumber Sel punca dewasa

Sel punca berpotensi majemuk, yaitu sel yang dapat menghasilkan semua jenis sel janin atau dewasa, dapat ditemukan di beberapa jaringan, termasuk darah tali pusat. Dengan menggunakan pemrograman ulang genetik, sel punca berpotensi majemuk yang setara dengan sel punca embrionik telah diperoleh dari jaringan kulit manusia dewasa. Sel punca dewasa lainnya bersifat multipoten, yang berarti ada beberapa jenis sel terbatas yang dapat menjadi sel tersebut, dan umumnya disebut berdasarkan asal jaringannya (seperti sel punca mesenkim, sel punca turunan adiposa, sel punca endotel, dll.). Banyak penelitian sel punca dewasa berfokus pada penyelidikan kapasitas sel punca untuk membelah atau memperbaharui diri tanpa batas waktu, dan potensi diferensiasinya. Pada tikus, sel punca berpotensi majemuk dapat dihasilkan langsung dari kultur fibroblas dewasa.

Riset

Kanker

Dalam beberapa tahun terakhir, penerimaan konsep sel punca dewasa semakin meningkat. Saat ini terdapat hipotesis bahwa sel punca berada di banyak jaringan dewasa dan bahwa reservoir sel yang unik ini tidak hanya bertanggung jawab untuk proses reparatif dan regeneratif yang normal namun juga dianggap sebagai target utama perubahan genetik dan epigenetik, yang berpuncak pada banyak perubahan abnormal. kondisi termasuk kanker.

Resistensi multi-obat

Sel punca dewasa mengekspresikan transporter dari keluarga kaset pengikat ATP yang secara aktif memompa keragaman molekul organik keluar sel. Banyak obat-obatan yang diekspor oleh transporter ini memberikan resistensi multi-obat ke dalam sel. Hal ini mempersulit perancangan obat, misalnya terapi bertarget sel punca saraf untuk pengobatan depresi klinis.

Virus penyebab COVID-19, SARS-CoV-2, merusak paru-paru secara luas jika terjadi respons imun yang terlalu reaktif. Sel punca dewasa diekstraksi dari biopsi paru-paru dalam dan digunakan untuk membuat model paru-paru lengkap dengan epitel saluran napas proksimal dan distal. Setelah dikembangkan dalam kultur 3D, organoid dipisahkan menjadi sel individual untuk membentuk lapisan tunggal 2D. Model paru-paru ini digunakan untuk mempelajari kerusakan yang disebabkan oleh SARS-CoV-2 ketika diterapkan pada sisi apikal transwell.

Pengobatan Stroke

Karena sifat multipotensi yang dimiliki sel punca memiliki kapasitas untuk melepaskan faktor pertumbuhan, dan kemampuan imunomodulatornya, terapi berbasis sel punca telah menjadi alat yang tepat untuk pengobatan stroke fase akut dan tertunda. Dengan mengpuncasi neurogenesis, angiogenesis, dan sinaptogenesis serta mengaktifkan proses restoratif endogen melalui pembentukan sitokin dan faktor trofik, transdiferensiasi ini dapat membentuk sel dengan garis keturunan saraf.

Referensi

1. Mahla RS (2016). "Stem Cells Applications in Regenerative Medicine and Disease Therapeutics". *International Journal of Cell Biology*. **2016**: 6940283. doi:10.1155/2016/6940283. PMC 4969512. PMID 27516776.
2. The Adult Stem Cell | stemcells.nih.gov". stemcells.nih.gov. Archived from the original on 29 July 2018. Retrieved 7 March 2021.
3. What are the unique properties of all stem cells? | stemcells.nih.gov". stemcells.nih.gov. Retrieved 22 February 2021.
4. Mlsna L (1 January 2011). "Stem Cell Based Treatments and Novel Considerations for Conscience Clause Legislation". *Indiana Health Law Review*. **8** (2). doi:10.18060/2020. OCLC 54703225.
5. Culurgioni S, Mari S, Bonetti P, Gallini S, Bonetto G, Brennich M, et al. (March 2018). "Insc:LGN tetramers promote asymmetric divisions of mammary stem cells". *Nature Communications*. **9** (1): 1025. Bibcode:2018NatCo...9.1025C. doi:10.1038/s41467-018-03343-4. PMC 5844954. PMID 29523789.
6. So WK, Cheung TH (2018). "Molecular Regulation of Cellular Quiescence: A Perspective from Adult Stem Cells and Its Niches". *Cellular Quiescence. Methods in Molecular Biology*. Vol. 1686. pp. 1–25. doi:10.1007/978-1-4939-7371-2_1. ISBN 978-1-4939-7370-5. PMID 29030809.
7. Baumgartner C, Toifl S, Farlik M, Halbritter F, Scheicher R, Fischer I, et al. (June 2018). "An ERK-Dependent Feedback Mechanism Prevents Hematopoietic Stem Cell Exhaustion". *Cell Stem Cell*. **22** (6): 879–892.e6. doi:10.1016/j.stem.2018.05.003. PMC 5988582. PMID 29804890.
8. Clarke DL, Johansson CB, Wilbertz J, Veress B, Nilsson E, Karlström H, et al. (June 2000). "Generalized potential of adult neural stem cells". *Science*. **288** (5471): 1660–1663. Bibcode:2000Sci...288.1660C. doi:10.1126/science.288.5471.1660. PMID 10834848.
9. Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu O, Hwang S, Gardner R, et al. (May 2001). "Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell". *Cell*. **105** (3): 369–377. doi:10.1016/s0092-8674(01)00328-2. PMID 11348593. S2CID 11666138.

BB 4. Induced Pluripotent Stem cell (iPSC)

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

1. Menjelaskan mengenai Induced Pluripotent Stem Cell
2. Kegunaan dari Induced Pluripotent Stem Cell bagi pengetahuan dan kesehatan

B. Uraian

1. Pendahuluan

Induced Pluripotent Stem Cell adalah sel induk yang dibuat di laboratorium, suatu media antara sel induk dewasa dan sel induk embrio. iPSC diciptakan melalui pengenalan gen embrio ke dalam sel somatik (misalnya sel kulit) yang menyebabkannya kembali ke keadaan "seperti sel induk". Sel-sel ini, seperti ESC, dianggap berpotensi majemuk. Ditemukan pada tahun 2007, metode pemrograman ulang genetik untuk menciptakan sel mirip embrio ini adalah hal baru dan memerlukan penelitian bertahun-tahun sebelum digunakan dalam terapi klinis.

Induced Pluripotent Stem Cell yang diinduksi (juga dikenal sebagai sel iPS atau iPSCs) adalah sejenis berpotensi majemuk sel induk yang dapat dihasilkan langsung dari sel somatik. Teknologi iPSC dipelopori oleh Shinya Yamanaka dan Kazutoshi Takahashi di Kyoto, Jepang, yang bersama-sama menunjukkan pada tahun 2006 bahwa pengenalan empat gen spesifik (bernama Ya ampun, Okt3/4, Sox2 dan Klf4), secara kolektif dikenal sebagai faktor Yamanaka, pengkodean faktor transkripsi dapat mengubah sel somatik menjadi sel induk berpotensi majemuk. Shinya Yamanaka dianugerahi Hadiah Nobel 2012 bersama dengan Sir John Gurdon "untuk penemuan bahwa sel-sel dewasa dapat diprogram ulang menjadi berpotensi majemuk."

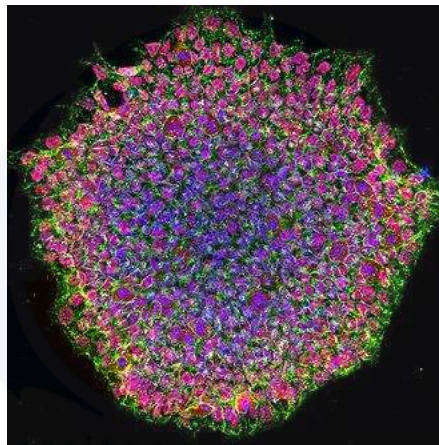
Induced Pluripotent Stem Cell menjanjikan di bidang pengobatan regeneratif. Karena sel-sel tersebut dapat berkembang biak tanpa batas waktu, dan juga membentuk setiap jenis sel lain di dalam tubuh (seperti sel-sel neuron, jantung, pankreas, dan hati), sel-sel tersebut mewakili satu sumber sel yang dapat digunakan untuk menggantikan sel-sel yang hilang akibat kerusakan. atau penyakit.

Jenis sel induk berpotensi majemuk yang paling terkenal adalah sel induk embrionik. Namun, karena generasi sel induk embrio melibatkan penghancuran (atau setidaknya manipulasi)^[4] dari embrio tahap pra-implantasi, sudah banyak yang

terjadi kontroversi sekitar penggunaannya. Garis sel induk embrionik yang cocok dengan pasien sekarang dapat diperoleh dengan menggunakan transfer inti sel somatik (SCNT).

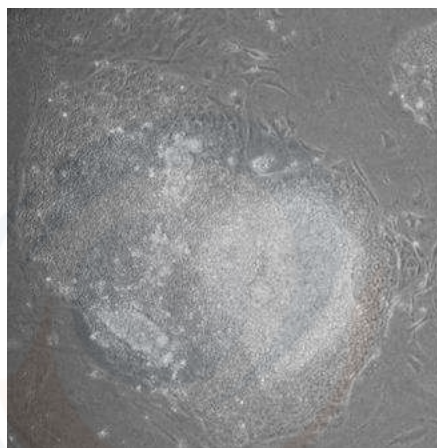
Karena iPSC dapat diturunkan langsung dari jaringan orang dewasa, iPSC tidak hanya mengabaikan kebutuhan akan embrio, namun juga dapat dibuat dengan cara yang disesuaikan dengan pasien, yang berarti bahwa setiap individu dapat memiliki lini sel induk berpotensi majemuknya sendiri. Persediaan tak terbatas ini autologus sel dapat digunakan untuk menghasilkan transplantasi tanpa risiko penolakan kekebalan. Meskipun teknologi iPSC belum mencapai tahap di mana transplantasi terapeutik dianggap aman, iPSC sudah siap digunakan dalam upaya penemuan obat yang dipersonalisasi dan memahami dasar penyakit spesifik pasien.

Yamanaka menamai iPSC dengan huruf kecil "i" karena popularitasnya iPod dan produk lainnya.



Gambar 1. mikroskopis konfokal dari koloni Induced Pluripotent Stem Cell manusia yang berasal dari pasien dengan okulokutaneus albinisme

Merah menunjukkan faktor transkripsi 4 Oktober, hijaukan proteinnya SSEA4, dan biru inti dari sel.

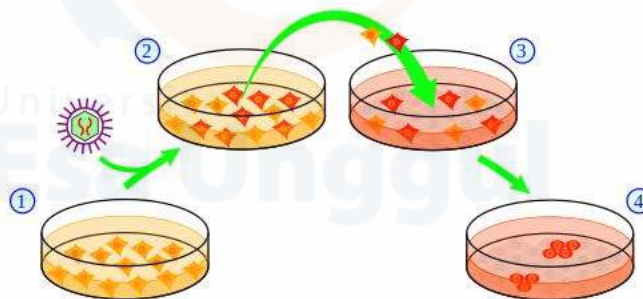


Gambar 2. Koloni sel iPS manus

Sel berbentuk gelendong di latar belakang adalah sel fibroblas tikus. Hanya sel-sel yang membentuk koloni pusat yang merupakan sel iPS manusia. Dalam seminar Nobelnya, Yamanaka mengutip karya penting sebelumnya Harold Weintraub tentang peran protein penentuan myoblast 1(MyoD) dalam memprogram ulang nasib sel menjadi garis keturunan otot sebagai pendahulu penting bagi penemuan iPSCs.

Produksi

iPSC biasanya diperoleh dengan memasukkan produk dari kumpulan gen tertentu yang terkait dengan pluripotensi, atau "faktor pemrograman ulang", ke dalam tipe sel tertentu. Kumpulan faktor pemrograman ulang yang asli (juga disebut faktor Yamanaka) adalah faktor transkripsi Pou5f1, Sox2, Klf4 dan c-Myc. Meskipun kombinasi ini paling konvensional dalam menghasilkan iPSC, masing-masing faktor dapat digantikan secara fungsional oleh faktor transkripsi terkait, miRNA, molekul kecil, atau bahkan gen yang tidak terkait seperti penentu garis keturunan.^[12] Jelas juga bahwa faktor pro-mitosis seperti C-MYC/L-MYC atau represi pos pemeriksaan siklus sel, seperti p53, merupakan saluran untuk menciptakan keadaan seluler yang sesuai untuk pemrograman ulang iPSC.



Gambar 3. Skema generasi sel induk berpotensi majemuk terinduksi (iPSC). (1) Isolasi dan kultur sel donor. (2) Transduksi gen terkait sel induk ke dalam sel melalui vektor virus. Sel darah merah menunjukkan sel yang mengekspresikan gen eksogen. (3) Memanen dan membiakkan sel sesuai dengan sel ES budaya, menggunakan dinonaktifkan secara mitosis sel pengumpulan (Abu-abu muda). (4) Sebagian kecil dari sel yang ditransfusikan menjadi sel iPSC dan menghasilkan koloni mirip ES.

Derivasi iPSC biasanya lambat dan prosesnya tidak efisien, memakan waktu 1–2 minggu untuk sel tikus dan 3–4 minggu untuk sel manusia, dengan efisiensi sekitar 0,01–0,1%.

Namun, banyak kemajuan telah dicapai dalam meningkatkan efisiensi dan waktu yang diperlukan untuk memperoleh iPSC. Setelah faktor pemrograman ulang diperkenalkan, sel mulai membentuk koloni yang menyerupai sel induk berpotensi majemuk, yang dapat diisolasi berdasarkan morfologinya, kondisi yang dipilih untuk pertumbuhannya, atau melalui ekspresi penanda permukaan atau gen reporter.

Generasi pertama (tikus)

Sel induk berpotensi majemuk terinduksi pertama kali dihasilkan oleh Shinya Yamanaka dan Kazutoshi Takahashi di Universitas Kyoto, Jepang, pada tahun 2006. Mereka berhipotesis bahwa gen yang penting bagi fungsi sel induk embrionik (ESC) mungkin dapat menginduksi keadaan embrionik pada sel dewasa. Mereka memilih dua puluh empat gen yang sebelumnya diidentifikasi penting dalam ESC dan menggunakan retrovirus untuk mengirimkan gen ini ke fibroblas tikus.

Fibroblas direkayasa sehingga setiap sel yang mengaktifkan kembali gen spesifik ESC, *Fbx15*, dapat diisolasi dengan menggunakan seleksi antibiotik. Setelah pengiriman kedua puluh empat faktor tersebut, muncul koloni mirip ESC yang mengaktifkan kembali reporter *Fbx15* dan dapat menyebar tanpa batas. Untuk mengidentifikasi gen yang diperlukan untuk pemrograman ulang, para peneliti menghilangkan satu faktor pada satu waktu dari dua puluh empat faktor. Melalui proses ini, mereka mengidentifikasi empat faktor, Oct4, Sox2, cMyc, dan Klf4, yang masing-masing diperlukan dan bersama-sama cukup untuk menghasilkan koloni mirip ESC yang diseleksi untuk reaktivasi *Fbx15*.

Generasi kedua (tikus)

Pada bulan Juni 2007, tiga kelompok penelitian terpisah, termasuk kelompok Yamanaka, Universitas Harvard dari Kalifornia, Los Angeles kolaborasi, dan kelompok di MIT, menerbitkan penelitian yang secara substansial meningkatkan pendekatan pemrograman ulang, sehingga memunculkan iPSC yang tidak dapat dibedakan dari ESC. Berbeda dengan iPSC generasi pertama, iPSC generasi kedua ini menghasilkan tikus chimeric yang layak dan berkontribusi pada germline tikus, sehingga mencapai 'standar emas' untuk iPSC.

iPSC generasi kedua ini berasal dari fibroblas tikus melalui ekspresi yang dimediasi retroviral dari empat faktor transkripsi yang sama (Oct4, Sox2, cMyc, Klf4). Namun, alih-alih menggunakan *Fbx15* untuk memilih sel berpotensi majemuk, para peneliti menggunakan *Fbx15nanog*, gen yang secara fungsional penting dalam ESC. Dengan menggunakan strategi berbeda ini, para peneliti menciptakan iPSC yang secara fungsional identik dengan ESC

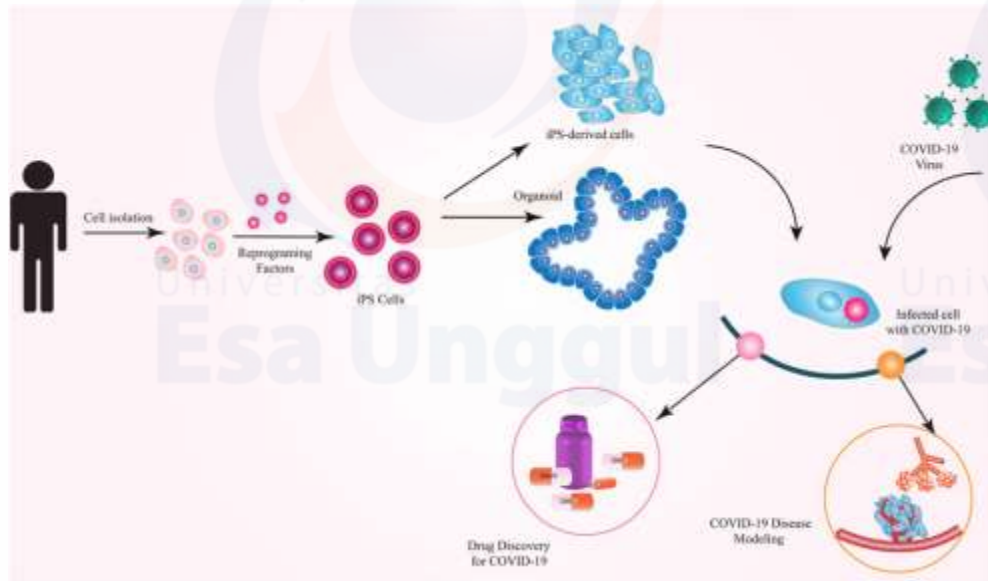
Sel induk berpotensi majemuk yang diinduksi manusia Generasi dari fibroblas manusia

Pemrograman ulang sel manusia ke iPSC dilaporkan pada bulan November 2007 oleh dua kelompok penelitian independen: Shinya Yamanaka dari Universitas Kyoto, Jepang, yang memelopori metode iPSC asli, dan James Thomson dari Universitas Wisconsin-Madison yang merupakan orang pertama yang mengembangkan sel induk embrio manusia. Dengan prinsip yang sama yang digunakan dalam pemrograman ulang tikus, kelompok Yamanaka berhasil mengubah fibroblas manusia menjadi iPSC dengan empat gen penting yang sama, Oct4, Sox2, Klf4, dan cMyc, menggunakan aretroviral sistem,^[18] sementara Thomson dan rekannya menggunakan serangkaian faktor yang berbeda, Oct4, Sox2, Nanog, dan Lin28, menggunakan lentiviral sistem.

Generasi dari tipe sel tambahan

Mendapatkan fibroblas untuk memproduksi iPSC melibatkan biopsi kulit, dan terdapat dorongan untuk mengidentifikasi jenis sel yang lebih mudah diakses.^{[20] [21]} Pada tahun 2008, iPSC berasal dari keratinosit manusia, yang dapat diperoleh dari satu pencabutan rambut. Pada tahun 2010, iPSC berasal dari sel darah tepi, dan pada tahun 2012, iPSC dibuat dari sel epitel ginjal dalam urin.

Pertimbangan lain untuk memulai jenis sel termasuk beban mutasi (misalnya, sel kulit mungkin mengandung lebih banyak mutasi karena paparan sinar UV), waktu yang diperlukan untuk memperluas populasi sel awal, dan kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi tipe sel tertentu.



Gambar 4. Reprogramming sel pada teknologi iPSC

Gen yang digunakan untuk menghasilkan iPSC

Pembentukan sel berpotensi majemuk yang diinduksi sangat bergantung pada faktor transkripsi yang digunakan untuk induksi. Okt-3/4 dan produk tertentu dari family gen Sox (Sox1, Sox2, Sox3, dan Sox15) telah diidentifikasi sebagai regulator transkripsional penting yang terlibat dalam proses induksi yang ketidakhadirannya membuat induksi menjadi tidak mungkin. Namun, gen tambahan, termasuk anggota tertentu dari Klf keluarga (Klf1, Klf2, Klf4, dan Klf5), itu keluarga Myc (c-myc, L-myc, dan N-myc), nanog, dan LIN28, telah diidentifikasi untuk meningkatkan efisiensi induksi.

Okt-3/4 (Pou5f1) Okt-3/4 adalah salah satu keluarga faktor transkripsi oktamere ("Oktober"), dan memainkan peran penting dalam menjaga kemajemukan. Absennya Okt-3/4 di Okt-3/4⁺ sel, seperti blastomer dan sel induk embrionik, menyebabkan spontan trofoblas diferensiasi, dan kehadiran Okt-3/4 sehingga menimbulkan potensi pluripotensi dan diferensiasi sel induk embrionik. Berbagai gen lain dalam keluarga "Oktober", termasuk gen Okt-3/4 kerabat dekat, 1 Oktober dan 6 Oktober, gagal untuk mendapatkan pelantikan, sehingga menunjukkan eksklusivitas tanggal 3/4 Oktober dalam proses pelantikan. Namun tim yang dipimpin oleh Hans Schöler (yang menemukan gen Oct4 pada tahun 1989) menunjukkan bahwa overekspresi Oct4 selama pemrograman ulang menyebabkan perubahan epigenetik yang memperburuk kualitas iPSC. Dibandingkan dengan OSKM (Oct4, Sox2, Klf4 dan c-Myc), pemrograman ulang SKM baru (Sox2, Klf4 dan c-Myc) menghasilkan iPSC dengan potensi perkembangan yang setara dengan sel induk embrionik, seperti ditentukan oleh kemampuan mereka untuk menghasilkan tikus semua-iPSC embrio tetraploid pelengkap.

keluarga Sox: Keluarga faktor transkripsi Sox dikaitkan dengan pemeliharaan pluripotensi serupa dengan 4 Okt, meskipun hal ini dikaitkan dengan sel induk multipoten dan unipoten berbeda dengan Okt-3/4, yang secara eksklusif diekspresikan dalam sel induk pluripoten. Ketika Sox2 adalah gen awal yang digunakan untuk induksi oleh Yamanaka et al., Jaenisch et al., dan Thomson et al., faktor transkripsi lain dalam keluarga Sox ditemukan bekerja dengan baik dalam proses induksi. Sox1 menghasilkan iPSC dengan efisiensi yang sama seperti Sox2, dan gen Sox3, Sox15, dan Sox18 juga menghasilkan iPSC, meskipun dengan efisiensi yang menurun. Velychko dkk. merekayasa faktor pemrograman ulang chimeric, Sox2-17, yang meningkatkan generasi iPSC tikus, manusia, monyet cynomolgus, babi, dan sapi.

Keluarga Klf: Klf4 dari keluarga faktor transkripsi Klf awalnya diidentifikasi oleh Yamanaka et al. dan dikonfirmasi oleh Jaenisch dkk. Sebagai faktor pembentukan sel iPS tikus dan ditunjukkan oleh Yamanaka et al. sebagai faktor pembentukan sel iPS manusia. Namun, Thomson dkk. melaporkan bahwa Klf4 tidak diperlukan untuk menghasilkan sel iPS manusia dan pada kenyataannya gagal menghasilkan sel iPS manusia. Klf2 dan Klf4 ditemukan sebagai faktor yang mampu menghasilkan sel iPS, dan gen terkait Klf1 dan Klf5 melakukannya dengan baik, meskipun dengan efisiensi yang berkurang.

keluarga Myc: Keluarga faktor transkripsi Myc adalah proto-onkogen terlibat dalam kanker. Yamanaka dkk. dan Jaenisch dkk. menunjukkan bahwa c-myc adalah faktor yang terlibat dalam pembentukan sel iPS tikus dan Yamanaka et al. menunjukkan bahwa itu adalah faktor yang terlibat dalam pembentukan sel iPS manusia. Namun, Thomson dkk., Yamanaka dkk. penggunaan keluarga gen "myc" dalam induksi sel iPS mengganggu kemungkinan sel iPS sebagai terapi klinis, karena 25% tikus yang ditransplantasikan dengan sel iPS yang diinduksi c-myc berkembang menjadi mematikan teratoma. N-myc dan L-myc telah diidentifikasi untuk menginduksi alih-alih c-myc dengan efisiensi serupa.

nanog: Dalam sel induk embrionik, Nanog, bersama dengan Oct-3/4 dan Sox2, diperlukan dalam meningkatkan potensi majemuk. Oleh karena itu, sangat mengejutkan ketika Yamanaka dkk. melaporkan bahwa Nanog tidak diperlukan untuk induksi meskipun Thomson et al. telah melaporkan kemungkinan untuk menghasilkan sel iPS dengan Nanog sebagai salah satu faktornya.

LIN28: LIN28 adalah protein pengikat mRNA diekspresikan dalam sel induk embrionik dan sel karsinoma embrionik yang berhubungan dengan diferensiasi dan proliferasi. Thomson dkk. menunjukkan hal itu LIN28 merupakan faktor dalam generasi iPSC yang dikombinasikan dengan OCT4, SOX2, dan NANOG.

Glis1: Glis1 adalah faktor transkripsi yang dapat digunakan dengan Oct-3/4, Sox2 dan Klf4 untuk menginduksi pluripotensi. Ini memberikan banyak keuntungan bila digunakan sebagai pengganti C-myc.

Tantangan dalam memprogram ulang sel menuju potensi majemuk

Meskipun metode yang dipelopori oleh Yamanaka dan lainnya telah menunjukkan bahwa sel dewasa dapat diprogram ulang menjadi sel iPS, masih terdapat tantangan yang terkait dengan teknologi ini:

1. Efisiensi rendah: secara umum, konversi ke sel iPS sangat rendah. Misalnya, tingkat di-manasomatiksel yang diprogram ulang menjadi sel iPS dalam penelitian tikus asli Yamanaka adalah 0,01-0,1%. Tingkat efisiensi yang rendah mungkin mencerminkan kebutuhan akan waktu yang tepat, keseimbangan, dan tingkat ekspresi absolut dari gen yang memprogram ulang. Mungkin juga menyarankan perlunya perubahan genetik atau epigenetik yang langka pada aslinyasomatikpopulasi sel atau dalam kultur berkepanjangan. Namun, baru-baru ini ditemukan jalan untuk pemrograman ulang yang efisien yang memerlukan downregulasinukleosomremodeling dan deasetilasi(NuRD)kompleks. Ekspresi berlebihan Mbd3, subunit NuRD, menghambat induksi iPSCs. Penipisan. Mbd3, di sisi lain, meningkatkan efisiensi pemrograman ulang, yang menghasilkanpemrograman ulang sel iPS yang deterministik dan tersinkronisasi (efisiensi mendekati 100% dalam tujuh hari dari sel tikus dan manusia).
2. Penyisipan Genomik: integrasi genom faktor transkripsi membatasi kegunaan pendekatan faktor transkripsi karena risiko mutasi dimasukkan ke dalam genom sel target. Strategi umum untuk menghindari penyisipan genom adalah dengan menggunakan vektor yang berbeda sebagai masukan.Plasmid,adenovirus,Dantransposonsemua vektor telah dieksplorasi, namun hal ini sering kali disertai dengan keluaran yang lebih rendah.^{[36] [37] [38]}
3. Tumorigenisitas: Tergantung pada metode yang digunakan, pemrograman ulang sel dewasa untuk mendapatkan iPSC dapat menimbulkan risiko signifikan yang dapat membatasi penggunaannya pada manusia. Misalnya, jika virus digunakan untuk mengubah sel secara genom, ekspresi dari onkogen(gen penyebab kanker) berpotensi terpicu. Pada bulan Februari 2008, para ilmuwan mengumumkan penemuan teknik yang dapat menghilangkan onkogen setelah induksi pluripotensi, sehingga meningkatkan potensi penggunaan sel iPS pada penyakit manusia. Dalam penelitian lain, Yamanaka melaporkan bahwa seseorang dapat membuat iPSC tanpa onkogen c-Myc. Prosesnya memakan waktu

lebih lama dan tidak efisien, namun chimera yang dihasilkan tidak berkembang menjadi kanker. Inaktivasi atau

4. Pemrograman ulang yang tidak lengkap: pemrograman ulang juga menghadapi tantangan kelengkapan. Hal ini sangat menantang karena genomnya sangat luas kode epigenetik harus diformat ulang sesuai dengan jenis sel target untuk memprogram ulang sel sepenuhnya. Namun, tiga kelompok terpisah berhasil menemukan embrio tikus fibroblas (MEF) yang merupakan sel iPS yang dapat disuntikkan ke dalam nyatetraploid blastokista dan menghasilkan kelahiran hidup tikus yang seluruhnya berasal dari sel iPS, sehingga mengakhiri perdebatan mengenai kesetaraan sel induk embrionik (ESC) dan iPS dalam kaitannya dengan potensi majemuk.
5. penghapusan p53 penekan tumor, yang merupakan pengatur utama kanker, secara signifikan meningkatkan efisiensi pemrograman ulang. Jadi tampaknya ada trade-off antara efisiensi pemrograman ulang dan pembentukan tumor.

Pendekatan alternatif

Meniru faktor transkripsi dengan bahan kimia

Salah satu strategi utama untuk menghindari masalah (1) dan (2) adalah dengan menggunakan molekul kecil yang dapat meniru efek faktor transkripsi. Senyawa ini dapat mengkompensasi faktor pemrograman ulang yang tidak menargetkan genom secara efektif atau gagal memprogram ulang karena alasan lain; sehingga mereka meningkatkan efisiensi pemrograman ulang. Mereka juga menghindari masalah integrasi genom, yang dalam beberapa kasus berkontribusi terhadap asal mula tumor. Studi kunci yang menggunakan strategi tersebut dilakukan pada tahun 2008. Melton dkk. mempelajari efek dari histon deasetilase (HDAC) penghambat asam valproat. Mereka menemukan bahwa metode ini meningkatkan efisiensi pemrograman ulang 100 kali lipat (dibandingkan dengan metode faktor transkripsi tradisional Yamanaka). Para peneliti mengusulkan bahwa senyawa ini meniru sinyal yang ada biasanya disebabkan oleh faktor transkripsi c-Myc. Mekanisme kompensasi serupa diusulkan untuk meniru dampak dari hal tersebut Sox2. Pada tahun 2008, Ding dkk. menggunakan penghambatan histone methyl transferase (HMT) dengan BIX-01294 dalam kombinasi dengan aktivasi kalsium saluran dalam membran plasma untuk meningkatkan efisiensi pemrograman ulang. Deng dkk. dari Universitas Beijing melaporkan pada bulan Juli 2013 bahwa sel induk berpotensi majemuk yang diinduksi dapat dibuat tanpa modifikasi genetik apa pun. Mereka menggunakan campuran tujuh senyawa molekul kecil termasuk DZNep untuk menginduksi sel somatik tikus menjadi sel induk yang mereka sebut sel CiPS

dengan efisiensi – sebesar 0,2% – sebanding dengan yang menggunakan teknik produksi iPSC standar. Sel CiPS diperkenalkan ke dalam embrio tikus yang sedang berkembang dan ditemukan berkontribusi pada semua jenis sel utama, membuktikan potensi majemuknya.

Ding dkk. menunjukkan alternatif untuk pemrograman ulang faktor transkripsi melalui penggunaan bahan kimia mirip obat. Dengan mempelajari MET(transisi mesenkim-epitel)proses di mana fibroblas didorong ke keadaan seperti sel induk, kelompok Ding mengidentifikasi dua bahan kimia – penghambat ALK5 SB431412 dan penghambat MEK (mitogen-activated protein kinase) PD0325901 – yang terbukti meningkatkan efisiensi metode genetik klasik hingga 100 kali lipat . Menambahkan senyawa ketiga yang diketahui terlibat dalam jalur kelangsungan hidup sel,Thiazovivinsemakin meningkatkan efisiensi sebesar 200 kali lipat. Penggunaan kombinasi ketiga senyawa ini juga menurunkan proses pemrograman ulang fibroblas manusia dari empat minggu menjadi dua minggu.

Pada bulan April 2009, telah ditunjukkan bahwa pembentukan sel iPS dimungkinkan tanpa adanya perubahan genetik pada sel dewasa: perlakuan berulang pada sel dengan protein tertentu yang disalurkan ke dalam sel dewasa.sel melaluijangkar poli-arginincukup untuk menginduksi pluripotensi. Singkatan yang diberikan untuk iPSC tersebut adalah piPSCs (sel induk berpotensi majemuk yang diinduksi protein).

Vektor alternatif

Strategi kunci lainnya untuk menghindari masalah seperti tumorigenesis dan throughput yang rendah adalah dengan menggunakan bentuk vektor alternatif:adenovirus,plasmid,dan senyawa DNA atau protein telanjang. Pada tahun 2008, Hochedlinger dkk. menggunakan adenovirus untuk mengangkut empat faktor transkripsi yang diperlukan ke dalam DNA sel kulit dan hati tikus, menghasilkan sel yang identik dengan ESC. Adenovirus unik dari vektor lain seperti virus dan retrovirus karena tidak memasukkan gennya sendiri ke dalam inang yang ditargetkan dan menghindari potensi mutagenesis insersi. Pada tahun 2009, Freed dkk. menunjukkan keberhasilan pemrograman ulang fibroblas manusia menjadi sel iPS. Keuntungan lain menggunakan adenovirus adalah virus ini hanya perlu muncul dalam waktu singkat agar pemrograman ulang dapat dilakukan secara efektif.

Juga pada tahun 2008, Yamanaka dkk. menemukan bahwa mereka dapat mentransfer empat gen yang diperlukan dengan plasmid.Kelompok Yamanaka berhasil memprogram ulang sel tikus melalui transfeksi dengan dua konstruksi plasmid yang membawa faktor pemrograman ulang; plasmid pertama menyatakan c-Myc, sedangkan plasmid kedua menyatakan tiga faktor lainnya(4 Oktober,Klf4,DanSox2). Meskipun metode plasmid

menghindari virus, metode ini masih memerlukan gen pemicu kanker untuk menyelesaikan pemrograman ulang. Masalah utama lainnya dengan metode ini adalah bahwa metode ini cenderung kurang efisien dibandingkan dengan metode retroviral. Selain itu, plasmid yang ditransfusikan telah terbukti berintegrasi ke dalam genom inang dan oleh karena itu masih menimbulkan risiko mutagenesis insersi. Karena pendekatan non-retroviral menunjukkan tingkat efisiensi yang rendah, para peneliti berupaya untuk menyelamatkan teknik ini secara efektif dengan apa yang dikenal sebagai pendekatan non-retroviral. Sistem Transposon PiggyBac. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa sistem ini dapat secara efektif memberikan faktor-faktor kunci pemrograman ulang tanpa meninggalkan jejak mutasi pada genom sel inang. Sistem Transposon PiggyBac melibatkan eksisi ulang gen eksogen, yang menghilangkan isu mutagenesis insersi

Akuisisi sel pluripotensi yang dipicu oleh stimulus

Pada bulan Januari 2014, dua artikel diterbitkan yang mengklaim bahwa jenis sel induk berpotensi majemuk dapat dihasilkan dengan memberikan sel pada jenis stres tertentu (toksin bakteri, pH rendah 5,7, atau tekanan fisik); sel yang dihasilkan disebut sel STAP, misalnya akuisisi yang dipicu oleh stimulus dari kemajemukan.

Mengingat kesulitan yang dialami laboratorium lain untuk mereplikasi hasil penelitian yang mengejutkan ini, pada bulan Maret 2014, salah satu rekan penulis meminta agar artikel tersebut ditarik.^[52] Pada tanggal 4 Juni 2014, penulis utama, Obokata setuju untuk mencabut kedua surat tersebut^[53] setelah dia diketahui melakukan 'kesalahan penelitian' sebagaimana disimpulkan dalam penyelidikan oleh RIKEN pada tanggal 1 April 2014

molekul RNA

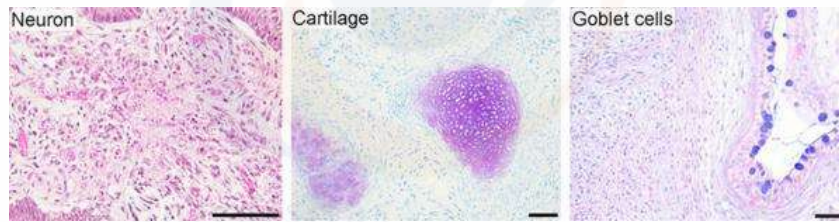
MicroRNA adalah molekul RNA pendek yang berikatan dengan rangkaian komplementer pada RNA pembawa pesan dan menghalangi ekspresi gen. Mengukur variasi ekspresi microRNA dalam sel iPS dapat digunakan untuk memprediksi potensi diferensiasinya.^[55] Penambahan microRNA juga dapat digunakan untuk meningkatkan potensi iPS. Beberapa mekanisme telah diusulkan. Molekul mikroRNA spesifik sel ES (seperti miR-291, miR-294 dan miR-295) meningkatkan efisiensi pluripotensi yang diinduksi dengan bertindak hilir c-Myc. MicroRNA juga dapat memblokir ekspresi penekan empat faktor transkripsi Yamanaka, dan mungkin terdapat mekanisme tambahan yang mendorong pemrograman ulang bahkan tanpa adanya tambahan faktor transkripsi eksogen.

Identitas

Sel induk berpotensi majemuk terinduksi mirip dengan sel induk berpotensi majemuk alami, seperti sel induk embrionik, dalam banyak aspek, seperti ekspresi gen dan protein sel induk tertentu, kromatin metilasi, waktu penggandaan, tubuh embrioid pembentukan, teratomaformasi, layak khayalan pembentukan, dan potensi diferensiasinya, namun sejauh mana hubungannya dengan sel induk berpotensi majemuk alami masih dikaji.

Ekspresi gen dan seluruh genom H3K4me3 dan H3K27me3 ditemukan sangat mirip antara sel ES dan iPSC. iPSC yang dihasilkan sangat mirip dengan sel induk berpotensi majemuk yang diisolasi secara alami (seperti sel induk embrionik tikus dan manusia, masing-masing mESC dan hESC) dalam hal berikut, sehingga menegaskan identitas, keaslian, dan potensi majemuk iPSC dengan sel induk berpotensi majemuk yang terisolasi secara alami :

- Sifat biologis seluler
 - Morfologi: iPSC secara morfologi mirip dengan ESC. Setiap sel berbentuk bulat, besar nukleolus dan sedikit sitoplasma. Koloni iPSC juga mirip dengan ESC. iPSC manusia membentuk koloni bertepi tajam, datar, dan padat mirip dengan hESC, sedangkan iPSC tikus membentuk koloni serupa dengan mESC, kurang datar dan lebih teragregasi.



Gambar 5. Tiga sel/jaringan garis germinal yang dibedakan dari iPSC: neuron (ektoderm), tulang rawan(tulang lunak,mesoderm)dan sel goblet di usus (endoderm).

koloni dibandingkan hESC.

- Sifat pertumbuhan: Menggandakan waktu dan mitosis aktivitas adalah landasan ESC, karena sel induk harus memperbaharui dirinya sendiri sebagai bagian dari definisinya. iPSC aktif secara mitosis, aktif memperbaharui diri, berkembang biak, dan membelah dengan kecepatan yang sama dengan ESC.
- Penanda sel induk: iPSC mengekspresikan penanda antigenik permukaan sel yang diekspresikan pada ESC. iPSC manusia mengekspresikan penanda khusus untuk hESC, termasuk SSEA-3, SSEA-4, TRA-1-60, TRA-1-81, TRA-2-49/6E, dan Nanog. iPSC tikus mengekspresikan SSEA-1 tetapi tidak mengekspresikan SSEA-3 atau SSEA-4, serupa dengan mESC.
- Gen Sel Punca: iPSC mengekspresikan gen yang diekspresikan dalam ESC yang tidak berdiferensiasi, termasuk Okt-3/4, Sox2, Nanog, GDF3, REX1, FGF4, ESG1, DPPA2, DPPA4, dan hTERT.
- Aktivitas telomerase: Telomerase diperlukan untuk mempertahankan pembelahan sel tanpa dibatasi oleh Batasan Hayflick~50 pembelahan sel. hESC mengekspresikan aktivitas telomerase yang tinggi untuk mempertahankan pembaharuan diri dan proliferasi, dan iPSC manusia juga menunjukkan aktivitas telomerase yang tinggi dan mengekspresikan hTERT (human telomerase reverse transkriptase), komponen penting dalam kompleks protein telomerase.

- Pluripotensi: iPSC mampu berdiferensiasi dengan cara yang mirip dengan ESC menjadi jaringan yang berdiferensiasi penuh.
- Diferensiasi saraf: iPSC dibedakan menjadineuron, mengekspresikan β III-tubulin, tirosin hidroksilase, AADC, DAT, ChAT, LMX1B, dan MAP2. Kehadiran dari katekolamin Enzim yang terkait dapat menunjukkan bahwa iPSC, seperti hESC, dapat dibedakan menjadidopaminergikneuron. Gen yang terkait dengan sel induk mengalami penurunan regulasi setelah diferensiasi.
- Diferensiasi jantung: iPSC dibedakan menjadikardiomiosityang secara spontan mulai berdetak. Kardiomiosit mengekspresikan TnTc, MEF2C, MYL2A, MYHC β , dan NKX2.5. Gen yang terkait dengan sel induk mengalami penurunan regulasi setelah diferensiasi.
- Pembentukan teratoma: iPSC disuntikkan ke dalam imunodefisiensi tikus terbentuk secara spontan teratoma setelah sembilan minggu. Teratoma adalah tumor dari beberapa garis keturunan yang mengandung jaringan yang berasal dari ketiganyalapisan kumanendoderm, mesoderm dan ektoderm; ini tidak seperti tumor lain, yang biasanya hanya terdiri dari satu jenis sel. Pembentukan teratoma adalah ujian penting untuk pluripotensi.
- Tubuh embrio: hESC dalam kultur secara spontan membentuk struktur mirip embrio yang disebut bola "tubuh embrio", yang terdiri dari inti hESC yang aktif secara mitosis dan berdiferensiasi serta pinggir sel yang berdiferensiasi penuh dari ketiga lapisan kuman. iPSC juga membentuk badan embrioid dan memiliki sel-sel yang berdiferensiasi perifer.
- Tikus chimeric: hESC secara alami berada di dalam massa sel bagian dalam (embrioblas) dari blastokista, dan pada embrioblas, berdiferensiasi menjadi embrio sedangkan cangkang blastokista (trofoblas) berdiferensiasi menjadi jaringan ekstra embrionik. Trofoblas berongga tidak dapat membentuk embrio hidup, sehingga sel induk embrio di dalam embrioblas perlu berdiferensiasi dan membentuk embrio. iPSC disuntikkan oleh mikropipet menjadi trofoblas, dan blastokista dipindahkan ke wanita penerima. Tidak masuk akal anak tikus yang hidup telah diciptakan: tikus dengan turunan iPSC dimasukkan ke seluruh tubuhnya dengan chimerisme 10–90%.
- Komplemen tetraploid: Sel iPS dari fibroblas janin tikus yang disuntikkan ke dalam blastokista tetraploid (yang hanya dapat membentuk jaringan ekstra-embrio) dapat membentuk tikus subur utuh, non-chimerik, meskipun dengan tingkat keberhasilan yang rendah.

- Pemrograman ulang epigenetik

- Demetilasi promotor: Metilasi adalah transfer gugus metil ke basa DNA, biasanya transfer gugus metil ke molekul sitosin dalam asitus CpG (bersebelahan urutan sitosin/guanin). Metilasi gen yang meluas mengganggu ekspresi dengan mencegah aktivitas protein ekspresi, atau dengan merekrut enzim yang mengganggu ekspresi. Jadi, metilasi suatu gen secara efektif membungkamnya dengan mencegah transkripsi. Promotor gen terkait pluripotensi, termasuk 4/3 Oktober, Rex1, dan Nanog, didemetilasi di iPSC, menunjukkan aktivitas promotornya dan promosi aktif serta ekspresi gen terkait pluripotensi di iPSC.
- Metilasi DNA secara global: Sel iPS manusia sangat mirip dengan sel ES dalam polanyasitosin adalah termetilasi, lebih banyak dibandingkan jenis sel lainnya. Namun, pada urutan seribu situs menunjukkan perbedaan dalam beberapa baris sel iPS. Separuh daripadanya menyerupai garis sel somatik asal sel iPS, selebihnya spesifik untuk iPSC. Puluhan daerah yang megabase ukurannya juga telah ditemukan di mana sel iPS tidak diprogram ulang ke keadaan sel ES.
- Demetilasi histon: sejarah adalah protein pepadatan yang secara struktural terlokalisasi pada rangkaian DNA yang dapat mempengaruhi aktivitasnya melalui berbagai modifikasi terkait kromatin. Histon H3 yang terkait dengan Okt-3/4, Sox2, dan Nanog mengalami demetilasi, menunjukkan ekspresi Okt-3/4, Sox2, dan Nanog.

Keamanan

- Kekhawatiran utama dengan potensi penerapan klinis iPSC adalah kecenderungannya untuk membentuk tumor. Sama seperti ESC, iPSC mudah terbentuk teratom ketika disuntikkan ke tikus yang imunodefisiensi. Pembentukan teratoma dianggap sebagai hambatan utama pengobatan regeneratif berbasis sel induk oleh FDA.
- Sebuah studi yang lebih baru mengenai pemulihan fungsi motorik setelah cedera sumsum tulang belakang pada tikus menunjukkan bahwa setelah sel induk berpotensi majemuk yang diinduksi manusia ditransplantasikan ke tikus, sel-sel tersebut berdiferensiasi menjadi tiga garis keturunan saraf di sumsum tulang belakang. Sel-sel tersebut merangsang pertumbuhan kembali sumsum tulang belakang yang rusak, mempertahankan mielinisasi, dan membentuk sinapsis. Hasil positif ini diamati selama lebih dari 112 hari setelah cedera sumsum tulang belakang, tanpa pembentukan tumor.^[62] Namun demikian, penelitian lanjutan oleh kelompok yang sama menunjukkan klon berbeda dari sel induk berpotensi majemuk yang diinduksi manusia pada akhirnya membentuk tumor.

- Karena iPSC saat ini hanya dapat diproduksi dengan efisiensi tinggi menggunakan modifikasi, iPSC secara umum diperkirakan kurang aman dan lebih bersifat tumorigenik dibandingkan hESC. Semua gen yang terbukti mendorong pembentukan iPSC juga dikaitkan dengan kanker dalam satu atau lain cara. Beberapa gen diketahui bersifat onkogen, termasuk anggota keluarga Myc. Meskipun menghilangkan Myc masih memungkinkan pembentukan iPSC, efisiensinya berkurang hingga 100 kali lipat.
- Metode non-genetik untuk memproduksi iPSC telah dibuktikan menggunakan protein rekombinan, namun efisiensinya cukup rendah. Namun, penyempurnaan metodologi ini menghasilkan efisiensi yang lebih tinggi dapat menghasilkan produksi iPSC yang lebih aman. Pendekatan lain seperti penggunaan adenovirus atau plasmid umumnya dianggap lebih aman dibandingkan metode retroviral.
- Area penting untuk penelitian masa depan di bidang iPSC adalah menguji secara langsung tumorigenisitas iPSC menggunakan metode yang meniru pendekatan yang akan digunakan untuk terapi pengobatan regeneratif. Penelitian semacam ini sangat penting karena iPSC tidak hanya membentuk teratoma, tetapi juga tikus yang berasal dari iPSC memiliki insiden kematian akibat kanker ganas yang tinggi. Sebuah makalah tahun 2010 diterbitkan di jurnal Stem Cells yang menunjukkan bahwa sel iPS jauh lebih bersifat tumorigenik dibandingkan ESC, mendukung gagasan bahwa keamanan sel iPS merupakan masalah serius.
- Kekhawatiran mengenai imunogenisitas sel IPS muncul pada tahun 2011 ketika Zhou et al. melakukan penelitian yang melibatkan uji pembentukan teratoma dan menunjukkan bahwa sel IPS menghasilkan respon imun yang cukup kuat untuk menyebabkan penolakan sel. Namun ketika prosedur serupa dilakukan pada sel ES yang setara secara genetik, Zhou et al. ditemukan teratoma, yang menunjukkan bahwa sel dapat ditoleransi oleh sistem kekebalan

Pada tahun 2013, Araki dkk. berusaha mereproduksi kesimpulan yang diperoleh Zhou et al. menggunakan prosedur yang berbeda. Mereka mengambil sel dari chimera yang telah ditumbuhkan dari klon iPSC dan embrio tikus, jaringan ini kemudian ditransplantasikan kesinergistikus. Mereka melakukan uji coba serupa menggunakan sel ES, bukan klon iPSC, dan membandingkan hasilnya. Temuan menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dalam respon imunogenik yang dihasilkan oleh sel IPS dan sel ES. Lebih lanjut, Araki dkk. melaporkan sedikit atau tidak ada respon imunogenik untuk kedua lini sel. Jadi, Araki dkk. tidak dapat mencapai hal yang sama. Prestasi terkini dan tugas masa depan untuk terapi sel berbasis iPSC yang aman dikumpulkan dalam tinjauan Okano dkk.

Penelitian medis

Tugas memproduksi sel iPS terus menjadi tantangan karena enam masalah yang disebutkan di atas. Pertimbangan utama yang harus diatasi adalah antara efisiensi dan integrasi genom. Kebanyakan metode yang tidak bergantung pada integrasi transgen tidak efisien, sedangkan metode yang mengandalkan integrasi transgen menghadapi masalah pemrograman ulang yang tidak lengkap dan asal usul tumor, meskipun sejumlah besar teknik dan metode telah dicoba. Serangkaian strategi besar lainnya adalah melakukan karakterisasi proteomik sel iPS. Studi lebih lanjut dan strategi baru harus menghasilkan solusi optimal terhadap lima tantangan utama. Salah satu pendekatan mungkin mencoba untuk menggabungkan atribut positif dari strategi ini menjadi teknik yang pada akhirnya efektif untuk memprogram ulang sel menjadi sel iPS.

Pendekatan lain adalah penggunaan sel iPS yang berasal dari pasien untuk mengidentifikasi obat terapeutik yang mampu menyelamatkan fenotipe. Misalnya, lini sel iPS yang berasal dari pasien yang terkena sindrom displasia ektodermal (EEC), di mana 63 gen bermutasi, menunjukkan komitmen epitel abnormal yang sebagian dapat diselamatkan oleh senyawa kecil.

Pemodelan penyakit dan pengembangan obat

Fitur yang menarik dari sel iPS manusia adalah kemampuannya untuk memperolehnya dari pasien dewasa untuk mempelajari dasar seluler penyakit manusia. Karena sel iPS dapat memperbaharui dirinya sendiri dan berpotensi majemuk, sel ini mewakili sumber sel yang berasal dari pasien yang secara teoritis tidak terbatas dan dapat diubah menjadi jenis sel apa pun di dalam tubuh. Hal ini sangat penting karena banyak jenis sel manusia lain yang berasal dari pasien cenderung berhenti tumbuh setelah beberapa kali dikultur di laboratorium. Sel iPS telah dihasilkan untuk berbagai macam penyakit genetik manusia, termasuk kelainan umum seperti sindrom Down dan penyakit ginjal polistik. Dalam banyak kasus, sel iPS yang diturunkan dari pasien menunjukkan kerusakan seluler yang tidak terlihat pada sel iPS dari subjek sehat, sehingga memberikan wawasan tentang patofisiologi penyakit. Sebuah proyek kolaborasi internasional, Stem BANCC, dibentuk pada tahun 2012 untuk membangun kumpulan lini sel iPS untuk skrining obat berbagai penyakit. Dikelola oleh Universitas Oxford, upaya ini mengumpulkan dana dan sumber daya dari 10 perusahaan farmasi dan 23 universitas. Tujuannya adalah untuk menghasilkan perpustakaan berisi 1.500 lini sel iPS yang akan digunakan dalam pengujian obat awal dengan menyediakan lingkungan simulasi penyakit

manusia. Selain itu, menggabungkan teknologi hiPSC dan indikator tegangan dan kalsium molekul kecil atau yang dikodekan secara genetis menyediakan platform berskala besar dan throughput tinggi untuk skrining keamanan obat kardiovaskular.

Sintesis organ

Sebuah bukti konsep penggunaan sel induk berpotensi majemuk terinduksi (iPSCs) untuk menghasilkan organ manusia untuk transplantasi dilaporkan oleh peneliti dari Jepang. Manusia 'hati buds' (iPSC-LBs) ditanam dari campuran tiga jenis sel induk: hepatosit (untuk fungsi hati) yang dibujuk dari iPSC; sel induk endotel (untuk membentuk lapisan pembuluh darah) dari tali pusar darah; Dan sel induk mesenkim (untuk membentuk jaringan ikat). Pendekatan baru ini memungkinkan berbagai jenis sel untuk mengatur dirinya sendiri menjadi organ yang kompleks, meniru proses di dalam janin perkembangan. Setelah tumbuh secara in vitro selama beberapa hari, tunas hati ditransplantasikan ke tikus di mana 'hati' tersebut dengan cepat terhubung dengan pembuluh darah inang dan terus tumbuh. Yang paling penting, ia menjalankan fungsi hati secara teratur termasuk memetabolisme obat-obatan dan memproduksi protein khusus hati. Penelitian lebih lanjut akan memantau umur panjang organ yang ditransplantasikan dalam tubuh inang (kemampuan untuk berintegrasi atau menghindari penolakan) dan apakah itu akan berubah menjadi tumor. Dengan menggunakan metode ini, sel dari seekor tikus dapat digunakan untuk menguji 1.000 senyawa obat untuk mengobati penyakit hati, dan mengurangi penggunaan hewan hingga 50.000.

Regenerasi organ

Pada tahun 2021, faktor Yamanaka yang dapat dialihkan-pemrograman ulang pendekatan berbasis untuk regenerasi kerusakan jantung tanpa pembentukan tumor ditunjukkan pada tikus dan berhasil jika intervensi dilakukan segera sebelum atau setelah serangan jantung

Perbaikan jaringan

Sel darah tali pusat embrio diinduksi menjadi sel induk berpotensi majemuk menggunakan DNA plasmid. Menggunakan penanda endotel/perisit permukaan sel CD31 Dan CD 146, para peneliti mengidentifikasi 'nenek moyang vaskular', sel induk vaskular multipoten yang berkualitas tinggi. Setelah sel iPS disuntikkan langsung ke dalam seperti kacac dari yang rusak retina tikus, sel induk yang tertanam di retina, tumbuh dan memperbaiki pembuluh darah. Diberi label turunan iPSC NSC disuntikkan ke hewan laboratorium dengan lesi otak terbukti bermigrasi ke lesi dan beberapa peningkatan fungsi motorik diamati.

Kardiomiosit

Mengalahkan sel otot jantung, diturunkan dari iPSC kardiomiosit, dapat diproduksi secara massal menggunakan protokol diferensiasi yang ditentukan secara kimia. Protokol-protokol ini biasanya memodulasi jalur sinyal perkembangan yang sama yang diperlukan perkembangan jantung. Kardiomiosit iPSC ini dapat merekapitulasi genetika ritmia dan respons obat jantung, karena menunjukkan latar belakang genetik yang sama dengan pasien asal obat tersebut

Pada bulan Juni 2014, Takara Bio menerima transfer teknologi dari iHeart Japan, sebuah perusahaan ventura dari Institut Penelitian Sel iPS Universitas Kyoto, yang memungkinkan penggunaan teknologi dan paten secara eksklusif yang mendorong diferensiasi sel iPS menjadi kardiomiosit di Asia. Perusahaan mengumumkan ide menjual kardiomiosit ke perusahaan farmasi dan universitas untuk membantu mengembangkan obat baru untuk penyakit jantung

Pada tanggal 9 Maret 2018, Komite Pengobatan Regeneratif Khusus Universitas Osaka secara resmi menyetujui rencana penelitian klinis pertama di dunia untuk mentransplantasikan "lembaran miokard" yang terbuat dari sel iPS ke jantung pasien dengan gagal jantung parah. Universitas Osaka mengumumkan bahwa mereka telah mengajukan permohonan ke Kementerian Kesehatan, Perburuan dan Kesejahteraan pada hari yang sama.

sel darah merah

Meskipun satu pint darah yang disumbangkan mengandung sekitar dua triliun sel darah merah dan lebih dari 107 juta donor darah dikumpulkan secara global, masih terdapat kebutuhan mendesak akan darah untuk transfusi. Pada tahun 2014 tipe O sel darah merah disintesis di Layanan Transfusi Darah Nasional Skotlandia dari iPSC. Sel-sel tersebut diinduksi menjadi amesoderm sel darah. Langkah terakhir adalah membuat mereka mengeluarkan intinya dan matang dengan baik. Tipe O dapat ditransfusikan ke semua pasien. Uji klinis pada manusia diperkirakan tidak akan dimulai sebelum tahun 2016.

Uji klinis

Manusia pertama uji klinis menggunakan autologi iPSCs telah disetujui oleh Kementerian Jepang Kesehatan dan akan dilakukan pada tahun 2014 di Pusat Biologi Perkembangan Rikendi dalam Kobe. Namun uji coba tersebut ditangguhkan setelah undang-undang pengobatan regeneratif baru Jepang mulai berlaku pada bulan November 2015.^[96] Lebih khusus lagi, pedoman yang sudah ada diperkuat agar mempunyai kekuatan hukum

(sebelumnya hanya sekedar rekomendasi). iPSC berasal dari sel kulit dari enam pasien dengan degenerasi makula terkait usia basah diprogram ulang untuk dibedakan menjadi epitel pigmen retina (RPE) sel. Lembaran sel akan ditransplantasikan ke pasien yang terkena dampak retina di mana jaringan RPE yang mengalami degenerasi dipotong. Pemantauan keselamatan dan pemulihan penglihatan berlangsung selama satu hingga tiga tahun.

Pada bulan Maret 2017, tim yang dipimpin oleh Masayo Takahashi menyelesaikan transplantasi sel retina turunan iPSC pertama yang berhasil dari donor ke mata seseorang dengan degenerasi makula lanjut. Namun dilaporkan bahwa mereka kini mengalami komplikasi. Keuntungan menggunakan iPSC autologus adalah secara teoritis tidak ada risiko penolakan dan menghilangkan kebutuhan untuk menggunakan sel induk embrionik. Namun, iPSC tersebut berasal dari orang lain.

Uji klinis baru yang melibatkan iPSC kini sedang berlangsung tidak hanya di Jepang, tetapi juga di AS dan Eropa. Penelitian pada tahun 2021 di registri uji coba ClinicalTrials.gov mengidentifikasi 129 daftar uji coba yang menyebutkan iPSC, tetapi sebagian besar bersifat non-intervensi.

Strategi untuk mendapatkan iPSC universal

Agar teknologi pengobatan regeneratif berbasis iPSC tersedia bagi lebih banyak pasien, penting untuk menciptakan iPSC universal yang dapat ditransplantasikan secara mandiri haplotipe dari HLA. Strategi penciptaan iPSC universal saat ini memiliki dua tujuan utama: menghilangkan ekspresi HLA dan mencegahnya sel NK serangan karena penghapusan dari HLA. Penghapusan B2M Dan CIITA Agen menggunakan CRISPR/Cas9 sistem telah dilaporkan untuk menekan ekspresi HLA kelas I dan kelas II, masing-masing. Untuk menghindari serangan sel NK, transduksi dari ligan menghambat sel NK, seperti HLA-E Dan CD47 telah digunakan.^[104] HLA-C diabaikan tidak berubah, karena 12 alel HLA-C yang umum cukup untuk mencakup 95% populasi dunia.

Sifat anti-penuaan

Sel induk mesenchymal multipoten, ketika diinduksi menjadi pluripotensi, sangat menjanjikan untuk memperlambat atau membalikkan fenotipe penuaan. Sifat anti-penuaan tersebut ditunjukkan dalam uji klinis awal pada tahun 2017. Pada tahun 2020, Universitas Stanford para peneliti menyimpulkan setelah mempelajari tikus tua bahwa sel-sel manusia yang tua ketika terkena faktor Yamanaka, mungkin akan meremajakan dan menjadi hampir tidak dapat dibedakan dari sel-sel yang lebih muda.

Referensi

1. Takahashi K, Yamanaka S (Agustus 2006). "Induksi sel induk berpotensi majemuk dari tikus kultur fibroblas embrionik dan dewasa berdasarkan faktor tertentu" (<https://doi.org/10.1016%2Fj.cell.2006.07.024>). Sel. 126 (4): 663–76.doi:10.1016/j.cell.2006.07.024 (<https://doi.org/10.1016%2Fj.sel.2006.07.024>).PMID16904174 (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16904174>). 
2. "Penghargaan Nobel dalam Fisiologi atau Kedokteran – Siaran Pers 2012" (https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2012/press.html). Nobel Media AB. 8 Oktober 2012.
3. Mahla RS (2016). "Aplikasi Sel Punca dalam Pengobatan dan Penyakit Regeneratif Terapi" (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4969512>). Jurnal Internasional Biologi Sel. 2016: 6940283.doi:10.1155/2016/6940283 (<https://doi.org/10.1155%2F2016%2F6940283>).PMC4969512 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4969512>).PMID27516776 (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27516776>).
4. Klimanskaya I, Chung Y, Becker S, Lu SJ, Lanza R (November 2006). "Garis sel induk embrio manusia berasal dari blastomer tunggal". Alam. 444 (7118): 481–5.Kode Bib:2006Natur.444..481K (<https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/2006Natur.444..481K>).
5. Hockemeyer D, Jaenisch R (Mei 2016). "Sel Induk Berpotensi Majemuk Terinduksi Bertemu Genom Pengeditan" (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4871596>). Sel Induk Sel. 18 (5): 573–86.doi:10.1016/j.stem.2016.04.013 (<https://doi.org/10.1016%2Fj.stem.2016.04.013>).PMC4871596 .
6. Mahla RS (2016). "Aplikasi Sel Punca dalam Pengobatan dan Penyakit Regeneratif Terapi" (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4969512>). Jurnal Internasional Biologi Sel. 2016: 6940283.doi:10.1155/2016/6940283 (<https://doi.org/10.1155%2F2016%2F6940283>).PMC4969512 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4969512>).
7. Klimanskaya I, Chung Y, Becker S, Lu SJ, Lanza R (November 2006). "Garis sel induk embrio manusia berasal dari blastomer tunggal". Alam. 444 (7118): 481–5.Kode Bib:2006Natur.444..481K

(<https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/2006Natur.444..481K>).doi:10.1038/nature05142

(<https://doi.org/10.1038%2Fnature05142>)..

8. Hockemeyer D, Jaenisch R (Mei 2016)."Sel Induk Berpotensi Majemuk Terinduksi Bertemu Genom Pengeditan" (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4871596>). Sel Induk Sel. 18 (5): 573–86.doi:10.1016/j.stem.2016.04.013 (<https://doi.org/10.1016%2Fj.stem.2016.04.013>).PMC4871596 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4871596>).PMID27152442

Bab 5 Teknik Isolasi Stem cell

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

1. Menjelaskan mengenai Induced Pluripotent Stem Cell
2. Kegunaan dari Induced Pluripotent Stem Cell bagi pengetahuan dan kesehatan

B. Uraian

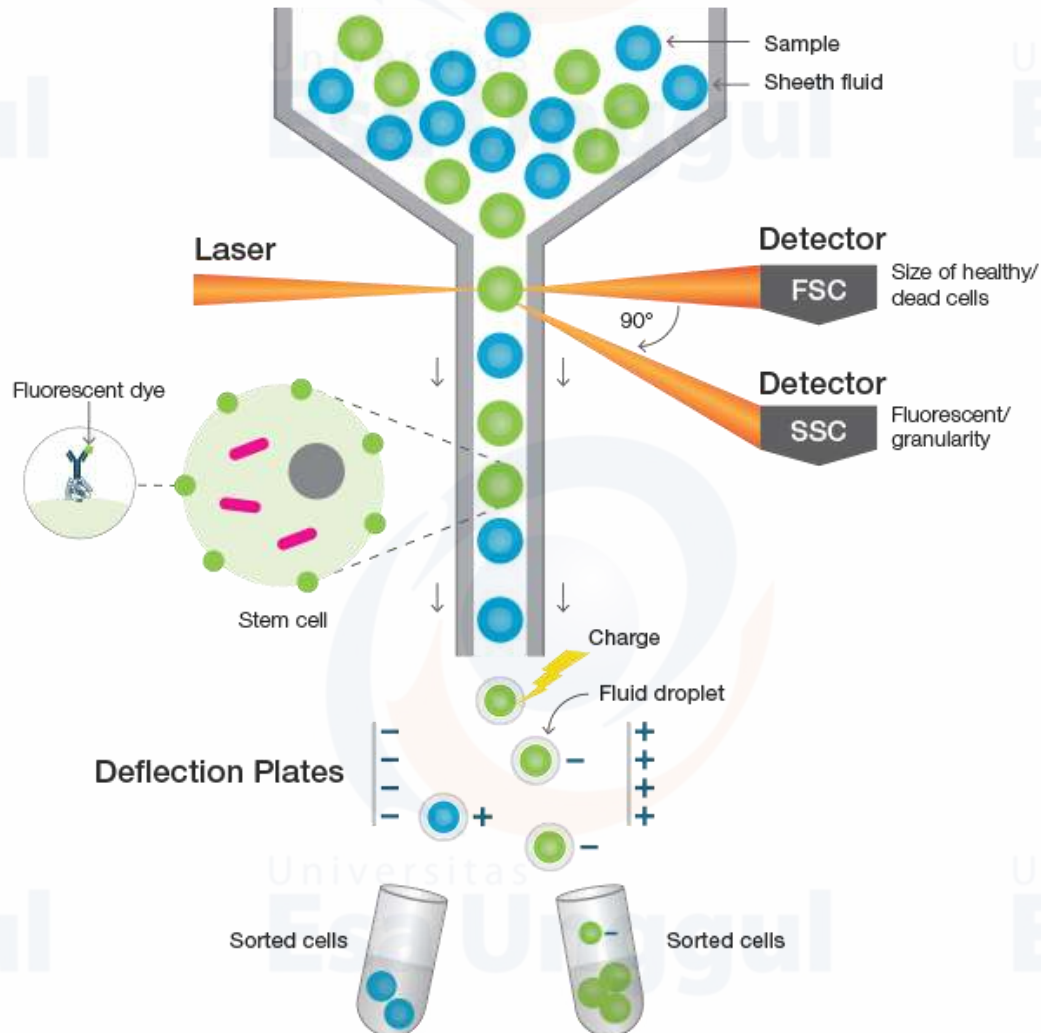
1. Pendahuluan

Meningkatnya minat terhadap potensi terapeutik sel induk telah menantang para peneliti untuk memilih produk seluler berkualitas tinggi untuk aplikasi klinis. Jaringan ekstra-embrio yang mendukung perkembangan janin biasanya dianggap terbuang setelah melahirkan. Diantara jaringan ini termasuk plasenta dengan selaput janin (amnion, korion) dan tali pusat. Sel-sel perinatal yang memiliki potensi batang dapat diturunkan dari jaringan-jaringan tersebut. Tingkat batang yang tinggi diwarisi dari jaringan ekstra embrio yang berkembang pada tahap awal kehamilan. Sel-sel ini memiliki ciri-ciri sel induk seperti kemampuan memperbaharui diri, mempertahankan keadaan tidak berdiferensiasi, dan potensi diferensiasi: mereka telah terbukti mampu berdiferensiasi menjadi sel-sel dari ketiga lapisan kuman. Di sisi lain, tidak seperti sel induk embrionik, sel ini tidak mampu membentuk teratoma ketika ditransplantasikan secara in vivo, dan memiliki sifat imunomodulator. Plastisitasnya, karakteristik imunologinya dan tidak adanya masalah etika terkait pemulihan sel, menjadikan sel-sel ini kandidat ideal untuk terapi sel di masa depan.

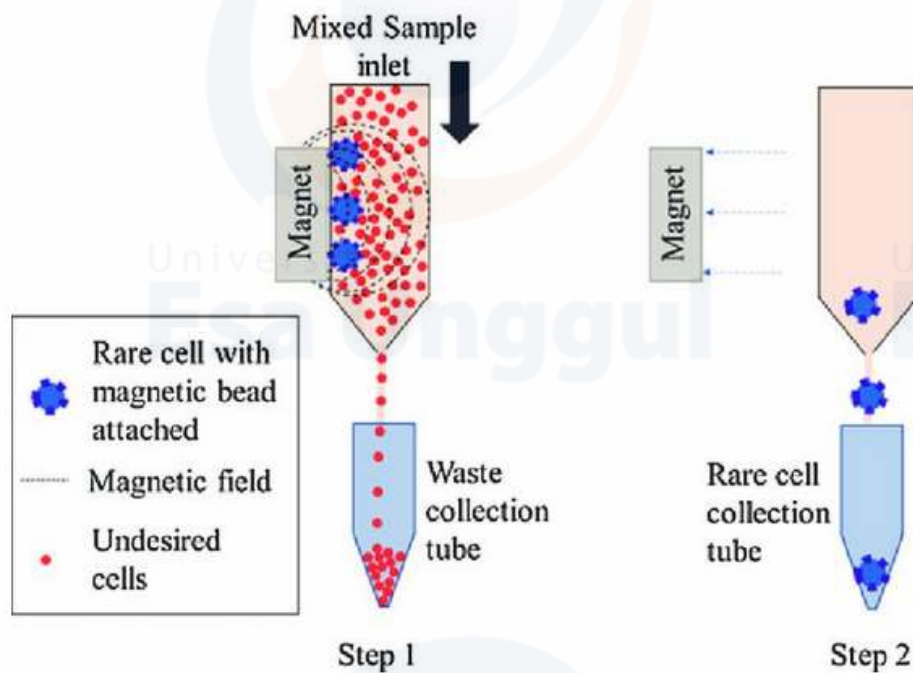
Oleh karena itu, minat besar baru-baru ini muncul terhadap metode baru penyortiran sel yang dirancang untuk mendapatkan populasi sel yang sangat murni dan dimanipulasi secara minimal. Rendahnya jumlah sel induk yang berpotensi majemuk atau multipoten pada sumber manusia yang berbeda dari embrio memerlukan penggunaan metode penyortiran/pengayaan sel yang efektif agar sel induk dalam jumlah yang cukup tersedia untuk aplikasi lebih lanjut. Namun, lokalisasi in vivo mereka tidak terdefinisi dengan baik. Selain itu, kurangnya homogenitas dalamediaan sel induk pluri/multipoten mengaburkan definisi dan mengesampingkan standarisasi yang diperlukan untuk keberhasilan terapi.

Untuk memperoleh sel induk homogen dalam jumlah yang cukup, diperlukan metode isolasi/pengayaan/penyortiran yang efektif. Penanda spesifik tipe sel seperti protein permukaan sel, yang digunakan dalam teknologi FACS (Fluorescence Activated Cell Sorting)

dan MACS (Magnetic Activated Cell Sorting), terbatas dan sering mengenali banyak anggota garis keturunan sel induk. Pemulihan dan fungsionalitas sel induk juga dipengaruhi oleh pelabelan.



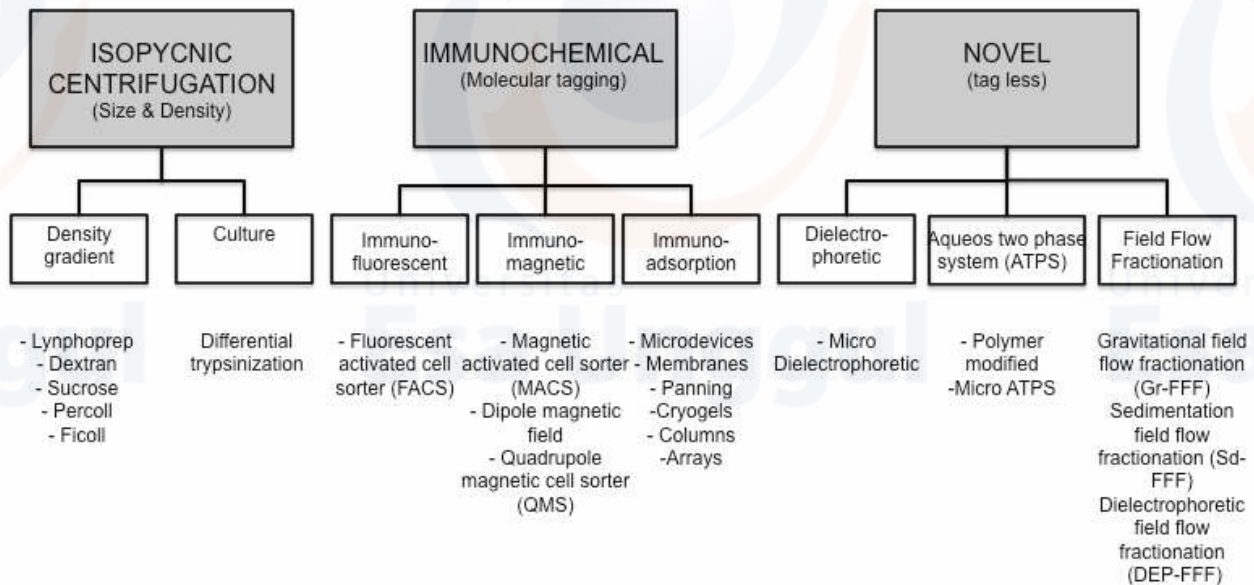
Gambar 5.1 Teknologi FACS (Fluorescence Activated Cell Sorting) untuk memfilter sel yang dapat dilakukan untuk test selanjutnya



Gambar 5.2 sistem MACS (Magnetic Activated Cell Sorting) memfilter ste cell dengan menggunakan magnetic

Sel stroma mesenkim, selanjutnya disebut MSC, adalah populasi sel multipoten yang melekat secara heterogen dan dapat diisolasi dari berbagai jaringan ikat manusia, seperti sumsum tulang, selaput janin, Wharton's Jelly, jaringan adiposa, dan pulpa gigi. MSC mengekspresikan panel antigen permukaan yang luas, sementara kurangnya penanda unik membuat sulit untuk membedakan subpopulasi MSC dan menghambat pengetahuan kita tentang subset MSC yang homogen secara tepat berdasarkan imuno-fenotipikal.

Untuk memperoleh sel induk homogen dalam jumlah yang cukup, diperlukan metode isolasi/pengayaan/penyortiran yang efektif. Penanda spesifik tipe sel seperti protein permukaan sel, yang digunakan dalam teknologi FACS (Fluorescence Activated Cell Sorting) dan MACS (Magnetic Activated Cell Sorting), terbatas dan sering mengenali banyak anggota garis keturunan sel induk. Pemulihan dan fungsionalitas sel induk juga dipengaruhi oleh pelabelan. Sel stroma mesenkim, selanjutnya disebut MSC, adalah populasi sel multipoten yang melekat secara heterogen dan dapat diisolasi dari berbagai jaringan ikat manusia, seperti sumsum tulang, selaput janin, Wharton's Jelly, jaringan adiposa, dan pulpa gigi. MSC mengekspresikan panel antigen permukaan yang luas, sementara kurangnya penanda unik membuat sulit untuk membedakan subpopulasi MSC dan menghambat pengetahuan kita tentang subset MSC yang homogen secara tepat berdasarkan imuno-fenotipikal.



Gambar 5.3. Klasifikasi metode isolasi sel induk.

Oleh karena itu, metode yang tidak terlalu bergantung pada identifikasi penanda tertentu untuk subpopulasi sel induk, dan yang mengeksplorasi perbedaan karakteristik biofisik sel, cukup menjanjikan dalam mengidentifikasi dan menyortir subpopulasi sel induk yang homogen. Metode pemurnian sel induk yang memanfaatkan karakteristik sel intrinsik, yang meliputi ukuran, kepadatan, dan sifat permukaan, merupakan solusi yang menjanjikan. Banyak makalah yang berfokus pada teknologi pemisahan untuk isolasi sel induk dan menyortir perlunya isolasi sel non-invasif dengan throughput tinggi.

Sebuah tinjauan baru-baru ini mengusulkan agar metode pemisahan untuk penyortiran sel induk diklasifikasikan dalam tiga kategori utama: (1) sentrifugasi; (2) imunokimia dan (3) novel. Skema klasifikasi metode penyortiran sel dilaporkan pada Gambar 5.3. Protokol sentrifugasi menggunakan larutan gradien densitas dalam tabung sentrifugasi. Sel-sel yang akan dipisahkan ditempatkan di bagian atas larutan ini dan selama sentrifugasi sel-sel tersebut bermigrasi melalui gradien densitas sampai suatu posisi dimana densitasnya sama dengan densitas larutan. Distribusi sel dan pemisahan sel bergantung pada karakteristik fisik: ukuran sel, kepadatan dan daya rekat, yang merupakan fitur pokok dalam pemulihan sel primer. Keterbatasan metode ini adalah waktu yang dibutuhkan dan rendahnya pemulihan sel; oleh karena itu mereka mengarah pada pengembangan teknologi penyortiran imunokimia.

Teknologi penyortiran imunokimia mencakup penandaan molekuler dengan manik-manik magnetik atau antibodi fluoresen (FACS dan MACS); saat ini mereka paling umum digunakan untuk pemisahan sel induk karena tingkat spesifisitas, kemurnian, dan hasil yang tinggi.

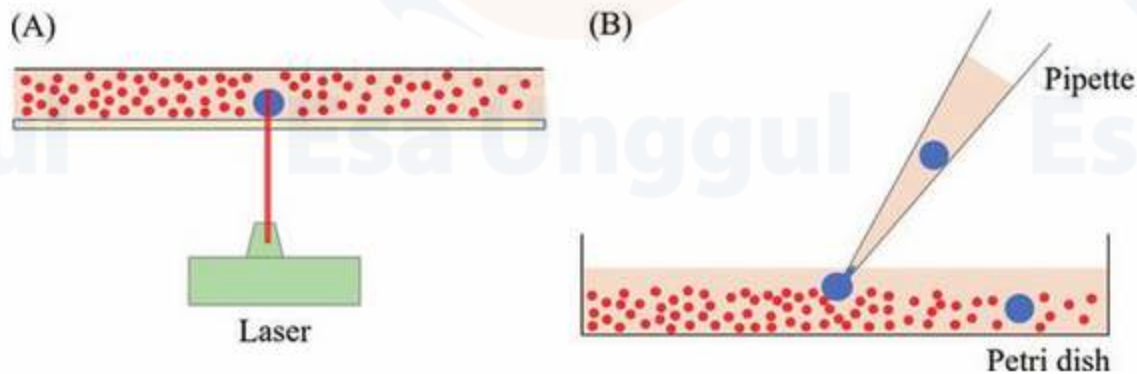
Namun demikian, teknik ini mempunyai kelemahan yaitu memerlukan investasi dan biaya operasional yang tinggi. Mereka juga memerlukan imunofenotipe sel induk yang khas, yang mungkin kurang dalam kasus sel induk multipoten/pluripoten.

Untuk mengatasi semua keterbatasan ini, para peneliti memusatkan perhatian mereka pada strategi baru.

Strategi baru didefinisikan sebagai pendekatan yang tidak memerlukan penandaan sel, pemisahannya didasarkan pada sifat sel asli dan sifat yang dipengaruhi oleh faktor dan rangsangan eksternal. Pendekatan baru ini juga menarik karena potensi miniaturisasi sistem. Di antara pendekatan-pendekatan baru ini, sistem dielektroforesis, sistem dua fasa berair, dan sistem fraksionasi aliran medan (FFF) mempunyai prospek yang menarik. Teknik pemisahan tanpa tag baru telah muncul sebagai alternatif terhadap metodologi isolasi sel induk saat ini karena prinsip pemisahan non-invasif, pengurangan biaya, dan manipulasi sel yang rendah.

Tinjauan ini berfokus pada sistem tanpa tag mikrofluida yang mungkin mewakili strategi yang menjanjikan untuk isolasi sel induk untuk aplikasi klinis yang bertujuan untuk mencapai kemurnian tinggi, kesederhanaan dan produksi massal sampel. Teknik berdasarkan penggunaan rangsangan eksternal seperti bidang dielektroforesis, optik dan akustik; atau yang mengeksploitasi efek hidrodinamik tergantung pada sifat sel intrinsik, dijelaskan dengan perhatian khusus pada parameter penting seperti throughput dan pemulihan sebagaimana diperlukan untuk penerapan dalam penelitian sel induk. Tidak semua teknik ini memiliki aplikasi untuk penyortiran sel induk; namun, kami menyajikan semua pendekatan baru ini karena semuanya berpotensi menjanjikan. Jika sudah dikembangkan, aplikasi untuk pemilahan sel induk, khususnya sel induk perinatal, akan selalu dikutip.

Meskipun semua teknik ini menjanjikan penerapan yang menarik pada isolasi sel induk dari spesimen klinis, di antara teknik tersebut hanya teknik turunan FFF yang telah diterapkan pada penyortiran sel induk dan khususnya penyortiran sel induk perinatal. Selain itu, penggunaannya sebagai teknik tunggal atau dalam tanda hubung dengan metode pra-pemurnian non-invasif memungkinkan penerapan langsung pada sampel klinis mentah, tanpa memerlukan sampel sel yang dimurnikan secara menyeluruh yang dapat hanya dipersiapkan dengan perlakuan sampel yang kompleks dan invasif



Gambar 5.4 Prpses pernyortiran sel dengan sinar laser

2. SISTEM MIKROFLUIDIK BERDASARKAN BIDANG EKSTERNAL

Sistem mikrofluida untuk isolasi tanpa tag dan manipulasi sel menggunakan medan eksternal dilaporkan dalam literatur. Sistem ini telah berhasil diterapkan pada pemisahan sel darah, sel langka, dan sel induk hematopoietik. Perkembangannya menuju pemilahan MSC masih dalam tahap kajian. Pada bagian berikut, kami menjelaskan teknik-teknik tersebut sebagai solusi yang menjanjikan untuk aplikasi klinis penyortiran sel induk non-invasif.

Dielektroforesis (DEP)

Salah satu strategi baru untuk isolasi sel didasarkan pada dielektroforesis. Dalam teknik dielektroforesis, sel dipisahkan menurut perbedaan respons polarisasi dielektrik yang bergantung pada frekuensi. Secara umum, sel disuntikkan ke dalam perangkat mikrofluida yang diisi dengan larutan buffer yang diterapkan medan listrik tidak seragam. Medan ini memberikan gaya total pada sel karena dipol yang diinduksi. Kekuatan gaya ini bergantung pada medium dan sifat listrik, bentuk dan ukuran partikel. Tinjauan mencakup teori, teknologi dan aplikasi Dielektroforesis (DEP) saat ini. DEP telah digunakan untuk mengkarakterisasi dan memanipulasi berbagai jenis sel seperti sel darah, neuron, sel bakteri, dan sel apoptosis. Perbaikan pada fabrikasi dan material perangkat telah menjadikan DEP kandidat untuk aplikasi penting termasuk penyortiran sel induk. Pengayaan sel induk hematopoietik dari sumsum tulang dan darah tepi, serta sel induk dewasa dari jaringan adiposa, telah terbukti

mungkin dilakukan dengan sistem DEP. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa DEP mampu membedakan sel induk/prekursor saraf dan sel-selnya yang berdiferensiasi. Sel dimasukkan ke dalam saluran dengan konsentrasi 8×10^5 sel/ml dengan laju aliran 0,1 hingga 10 μ L/menit. Kamera warna digital yang terhubung ke mikroskop digunakan untuk menghitung sel-sel yang terlihat terperangkap pada setiap frekuensi. Pembuatan profil DEP menunjukkan bahwa sel induk/prekursor saraf secara efisien terperangkap pada frekuensi yang berbeda dari keturunannya yang terdiferensiasi. Makalah ini menyoroti pentingnya DEP untuk karakterisasi sel induk selama proses diferensiasi sel dan penggunaannya untuk pengayaan sel induk selektif. Hal ini memberikan ruang lingkup yang menarik untuk penyortiran MSC, Faktanya, komitmen sel induk terhadap garis keturunan yang berbeda diatur oleh banyak faktor termasuk bentuk sel. Selain itu, dengan mengendalikan sifat dielektrik dari media suspensi, seseorang dapat mengontrol perilaku DEP sel dan kemudian mengisolasinya secara selektif.

Baru-baru ini Silicon Biosystems mematenkan teknologi berdasarkan DEP untuk penyortiran sel langka dan sel induk, dengan pemeliharaan viabilitas sel secara menyeluruh. Elektroda diterapkan pada permukaan chip yang menginduksi sangkar nDEP tertutup yang sesuai di mana partikel tunggal dapat terperangkap. Pemisahan populasi heterogen dapat dilakukan dengan mengubah kekuatan DEP. Chip tersebut menghasilkan medan listrik tidak seragam yang dapat diprogram pada permukaannya dan ratusan ribu sangkar tercipta. Deteksi sel dilakukan dibentuk dengan kamera digital yang digabungkan dengan mikroskop yang memanfaatkan sinyal fluoresensi atau morfologi sel. Selain itu, untuk sel yang kurang terpolarisasi dibandingkan media suspensi, DEP negatif dapat digunakan. Pendekatan ini lebih baik untuk manipulasi sel, karena sel-sel terperangkap jauh dari daerah medan tinggi dimana mereka terkena potensi transmembran yang besar.

Platform teknologi Silicon Biosystems bekerja dengan sampel beberapa mikroliter dan menganalisis larutan yang mengandung 1 hingga 100.000 sel. Sistem ini telah diusulkan sebagai cara mudah untuk memulihkan sel-sel janin yang langka dari darah ibu sebagai prosedur diagnosis non-invasif prenatal rutin. Namun, belum ada aplikasi untuk pemisahan sel induk yang dijelaskan. Kelemahan penggunaan sistem DEP untuk penyortiran sel induk untuk aplikasi klinis terutama terkait dengan sensitivitas tinggi gaya dielektroforesis terhadap kondisi penyangga (misalnya konsentrasi garam) dan keluaran sampel yang relatif rendah (biasanya <100 sel/detik per saluran mikro) .

Sistem Optik

Di antara sistem mikrofluida yang didasarkan pada penggunaan medan eksternal, perangkat optik mempunyai minat yang cukup besar. Meskipun sistem optik telah berhasil diterapkan pada partikel polimer dan protein, pemisahan sel masih harus dibuktikan dan dieksplorasi sepenuhnya. Sumber cahaya dapat digunakan untuk menggerakkan partikel atau membatasinya pada titik tertentu. Benda dengan indeks bias tinggi tertarik ke arah pusat sinar dan dipandu olehnya. Interaksi antara kisi optik dan materi bergantung pada kemampuan polarisasi relatif yang bertambah seiring dengan ukuran partikel. Dengan menggunakan konfigurasi berkas yang berbeda, partikel dielektrik dapat terperangkap dalam struktur tiga dimensi sehingga dapat dideteksi. Untuk tujuan penyortiran, konfigurasi berkas diintegrasikan dengan sistem mikrofluida; sementara sel mengalir dalam sistem ini, sel target dapat dibelokkan dan dikumpulkan melalui konfigurasi berkas tertentu. Biasanya throughput penyortiran adalah 25 partikel/detik.

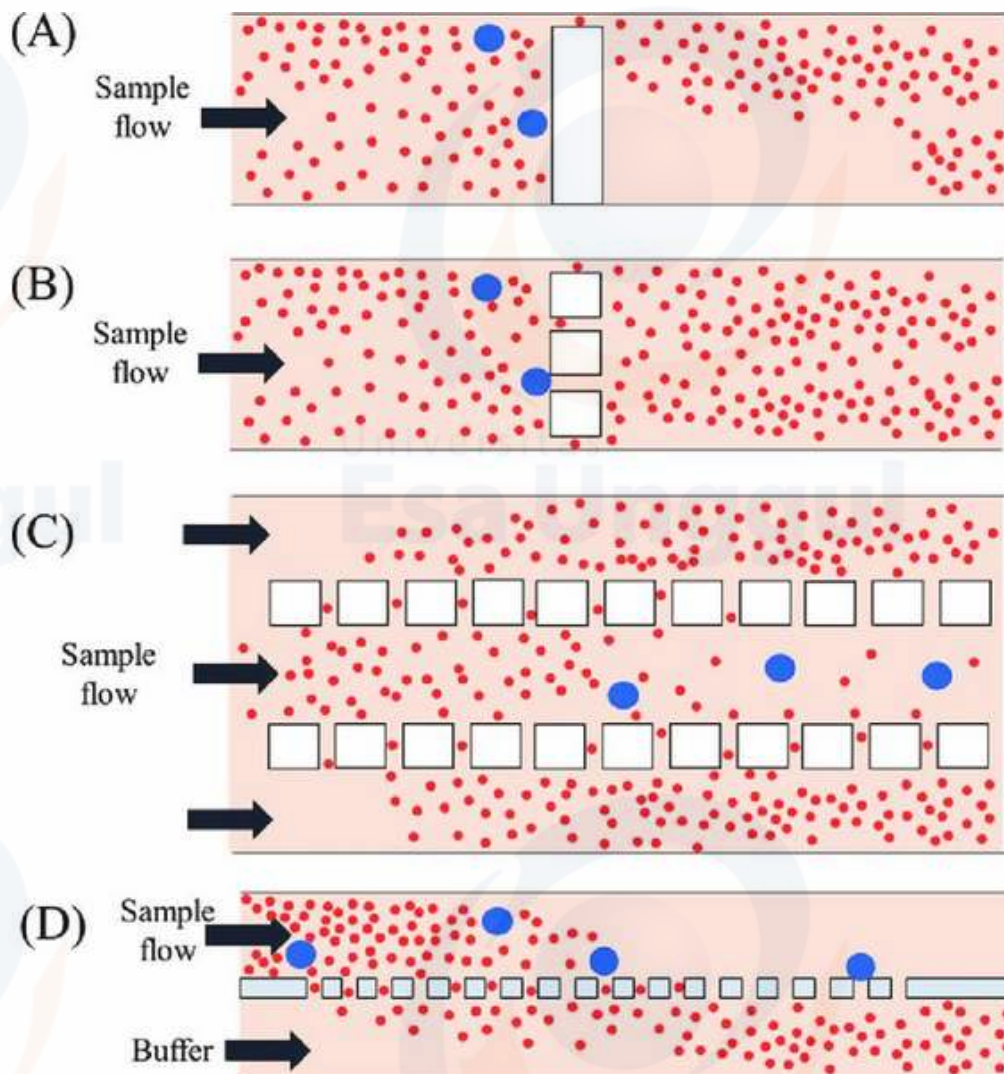
Karya awal mengeksplorasi perangkat sel di bidang optik, seperti pinset optik. Pinset optik adalah perangkat fotonik yang memanfaatkan sinar laser yang sangat terfokus untuk menjebak dan menerjemahkan sel dengan kontrol yang sangat presisi dan dengan cara non-invasif. Pinset optik telah menjadi alat yang kuat dan menarik untuk manipulasi sel dan telah digunakan dalam berbagai aplikasi biologis, seperti mengkarakterisasi kekuatan mekanik dalam memanipulasi sel hidup, pemisahan sel, perakitan dan pengorganisasian sel, menganalisis dinamika sel tunggal terhadap lingkungan. perubahan, dan menyelidiki sifat mekanik sel mikrobiologis. Sebuah makalah baru-baru ini menunjukkan penggunaan pinset optik untuk manipulasi sel dan chip mikrofluida untuk menggerakkan sel yang dipilih.

Penyortiran sel rasi dan sel induk embrio manusia digambarkan memiliki tingkat pemulihan dan kemurnian yang tinggi serta menangani volume sampel yang kecil. Untuk mengidentifikasi sel target, teknologi pemrosesan gambar yang mampu mengenali berbagai fitur, misalnya ukuran sel dan label fluoresensi, telah digunakan. Pompa jarum suntik adalah digunakan untuk mengontrol aliran dan kamera CCD untuk menangkap gambar sel ketika mereka melewati wilayah pengukuran sebelum pengumpulan sel target. Meskipun sel rasi dikenali dari ukurannya yang berbeda, hESC ditransfeksi dengan GFP untuk memanfaatkan sifat fluoresensinya. Sel rasi (1×10^7 sel/mL; seluruhnya 438 sel) dipisahkan dari campuran dengan manik mikro hingga kemurnian 98%. Untuk ESC konsentrasi 1×10^7 sel/mL digunakan dan 210 sel diurutkan.

Sel target GFP (ESC) dikumpulkan sementara sel non-Hesc dialirkan ke saluran limbah dengan aliran sampel. Sampel yang dipilih menunjukkan kemurnian atau tingkat pemulihan 90%. Eksperimen yang dilakukan berhasil mengisolasi model sel ini (sel rasi dan

hESC): tidak ada karakterisasi fungsional yang dinilai pada sel ini. Untuk meningkatkan keluaran sekaligus mempertahankan kemurnian dan tingkat pemulihan yang tinggi, strategi penyortiran paralel multiperangkap juga diterapkan. Sistem ini berpotensi menarik karena biayanya yang rendah, kemudahan penggunaan, dan kemurnian sel terpilih yang tinggi.

Namun, meskipun peningkatan sinyal dicapai dengan penggunaan sistem paralel, keluarannya masih kurang memuaskan dibandingkan dengan teknik referensi (FACS/MACS) yang digunakan untuk penyortiran sel dan untuk persyaratan beberapa aplikasi klinis sel induk. Saat ini, hanya sedikit metode yang ditemukan untuk mengisolasi sampel murni dari sampel kecil jaringan primer. Pada prinsipnya, sistem ini dapat diterapkan pada suspensi sel generik dengan menggunakan alat manipulasi generik berdasarkan kombinasi integrasi pinset optik dan teknologi mikrofluida; dengan demikian sel-sel langka dapat dipilih atau diperkaya.



Gambar 5.5 metode penyortiran dengan mikrofluida

Sistem Akustik

Penggunaan gaya akustik baru-baru ini muncul sebagai metode manipulasi sel tanpa kontak dan bebas label. Dengan menerapkan medan gelombang berdiri melalui saluran mikro di mana suspensi mengalir, medan akustik bertindak sebagai filter yang menghasilkan pita partikel yang terletak pada posisi titik tekanan. Karena aliran laminar, partikel-partikel yang ditempatkan pada pita berbeda dapat dipisahkan.

Partikel dalam medan gelombang berdiri akustik dikenakan dua gaya: gaya radiasi primer dan sekunder, dimana gaya primer berasal dari gelombang berdiri dan gaya sekunder disebabkan oleh gelombang suara yang dihamburkan oleh partikel. Sebagai hasil dari gaya primer, sel-sel diterjemahkan dan dikemas dalam konfigurasi yang kompak.

Gaya primer yang diinduksi sangat bergantung pada ukuran partikel dan dengan demikian, seiring dengan berkurangnya diameter partikel, gaya akustik berkurang dengan cepat. Dengan menyetel daya akustik, partikel yang lebih besar diangkut ke titik tekanan lebih cepat dibandingkan partikel yang lebih kecil.

Gaya sekunder berasal dari gelombang yang dihamburkan oleh partikel yang ada dalam sampel yang sama. Namun pengaruhnya biasanya sangat lemah. Gaya sekunder menjadi penting dalam aplikasi agregasi dan sedimentasi. Dimensi saluran berskala mikro (dari milimeter hingga puluhan mikrometer) di sini terbukti ideal mengingat gelombang berdiri dan juga kemudahan integrasi dengan komponen analitik mikrofluida yang lebih maju. Pendekatan ini menawarkan banyak keuntungan, karena gaya akustik relatif tidak sensitif terhadap pH, konsentrasi garam.

Sebuah aplikasi untuk pemurnian sel-sel yang hidup dari campuran sel-sel sehat dan sel-sel apoptosis telah dilaporkan. Sistem ini terbukti mampu memilih sel target dari campuran sel yang tersuspensi dalam buffer fosfat yang mengandung 106 sel/mL pada laju aliran hingga 12 mL/jam, sehingga memungkinkan hasil yang sebanding dengan teknik penyortiran sel konvensional.

Kinerja perangkat dievaluasi sebagai fungsi dari pengaturan instrumental dan efek dari parameter ini diukur dengan mengevaluasi pemulihan dan kemurnian sel. Karakterisasi sel dinilai melalui analisis aliran sitometri dan digunakan alat pewarnaan fluoresen untuk memberi label pada populasi sel yang layak dan tidak dapat hidup.

Acoustophoresis dapat digunakan untuk secara efisien menghabiskan sampel trombosit sel progenitor darah tepi, dan mengisolasi sel induk/progenitor target dan leukosit [43]. Karena sel-sel progenitor darah yang dikumpulkan dari darah setelah perawatan mobilisasi

digunakan dalam sebagian besar transplantasi, penghapusan kontaminasi trombosit yang tinggi akibat proses apheresis akan sangat meningkatkan keamanan donor dan kualitas produk. Dengan menerapkan medan gelombang berdiri akustik pada sampel darah tepi yang mengalir terus-menerus, leukosit dapat dipisahkan dan dikumpulkan dalam fraksi dengan kemurnian tinggi (98%) sementara trombosit dapat dihilangkan secara efisien (89%), berdasarkan ukuran darah yang berbeda. leukosit dan trombosit. Pemeliharaan viabilitas sel dan kemampuan pembentukan koloni setelah pemisahan telah ditunjukkan.

Viabilitas sel ditentukan menggunakan Propidium Iodide dalam analisis aliran sitometri: nilai pasca-penyortiran tidak berbeda dengan pra-penyortiran, yang menegaskan efek non-negatif Acoustophoresis terhadap viabilitas sel. Selain itu, kemampuan pembentukan koloni, yang menunjukkan kapasitas fungsional sel progenitor hematopoietik awal, tidak terpengaruh oleh prosedur ini. Dalam aplikasi yang menuntut throughput tinggi, beberapa saluran pemisahan dapat dioperasikan secara paralel, dengan laju aliran diatur ke 0,5 ml/menit. Acoustophoresis dengan demikian merupakan teknologi yang menarik untuk meningkatkan metode pemrosesan sel saat ini. Kit pemisahan akustik yang tersedia secara komersial diproduksi oleh ErySave AB (Swedia) untuk pemisahan biner sel darah merah dan lipid.

3. SISTEM MIKROFLUIDIK BERDASARKAN EFEK HIDRODINAMIS

Sistem mikrofluida berdasarkan gaya hidrodinamik telah dilaporkan untuk aplikasi manipulasi sel (termasuk MSC), dan meluas ke persiapan lingkungan mikro untuk kultur dan diferensiasi sel, stimulasi sel dengan faktor kimia dan fisik, pertumbuhan sel dan isolasi sel. Keuntungannya adalah kesesuaiannya untuk mengotomatisasi protokol dan kondisi non-invasif.

Banyak sistem mikrofluida berdasarkan aliran laminar atau filtrasi hidrodinamik telah dijelaskan untuk pemisahan sel, seperti sel darah merah dari darah utuh dan pengayaan leukosit. Dalam filtrasi hidrodinamik, pemisahan dicapai melalui perangkat kapiler dengan sejumlah saluran bercabang tegak lurus yang digunakan untuk menghilangkan cairan pembawa dan memaksa sel agar berdekatan dengan dinding saluran utama.. Dengan memodulasi aliran di saluran samping, pemisahan berdasarkan ukuran yang berbeda dapat diperoleh: sel-sel kecil yang terletak lebih dekat ke dinding saluran akan memasuki saluran bercabang lebih awal.

Baru-baru ini, perangkat mikrofluida yang mengeksploitasi gaya hidrodinamik berdasarkan perangkat yang menggabungkan struktur fokus dan struktur seperti kisi-kisi

yang tertanam sebagai mikrofilter disajikan untuk pemisahan sel induk ketuban dari cairan ketuban. Gambar struktur microchip dan pengaturan eksperimental dilaporkan pada Gambar. (2). Ini terdiri dari mikroskop optik yang dilengkapi dengan kamera semikonduktor oksida logam komplementer. Dua pompa jarum suntik digunakan untuk menyuntikkan larutan sampel sel dan larutan buffer, biasanya larutan buffer fosfat, ke dalam sistem mikrofluida. Sel induk ketuban dihitung dengan pewarnaan imunofluoresensi. Sel induk ketuban diberi label dengan mAb anti-CD105 primer diikuti oleh antibodi terkonjugasi FITC sekunder. Sel-sel yang terpisah diamati dan dihitung menggunakan penghitung di bawah mikroskop fluoresensi. Perangkat ini menunjukkan efisiensi tinggi untuk pemisahan sel induk ketuban dari sel ketuban dan sel kontaminan epitel, yang dapat mencapai nilai 97,1 % dengan langkah pemisahan yang terdiri dari dua proses.

Di dalam untuk mengembangkan sistem, digunakan volume 20 μL cairan ketuban dengan sel induk ketuban $2,4 \times 10^3$. Metode yang disajikan menghasilkan efisiensi yang lebih tinggi dibandingkan sistem mikrofluida lainnya, yang dapat berguna untuk pemisahan sel induk dan terapi sel. Throughput sistem ini dapat mencapai nilai 105 sel/menit, sehingga sebanding dengan yang umum teknik penyortiran sel (FACS dan MACS) dan prospek yang menjanjikan di bidang pendekatan pemisahan bebas label. Namun, beberapa upaya menuju standardisasi instrumental dan metodologi masih diperlukan sebelum mereka cocok untuk aplikasi kuat yang diperlukan dalam pemilahan sel induk.

Sistem Dua Fasa Berair

Sistem dua fase berair digunakan untuk pemisahan sampel biologis. Pemisahan di sini didasarkan pada perbedaan afinitas antara dua polimer yang tidak dapat bercampur atau antarmukanya. Afinitas sel ditentukan oleh sifat biofisiknya seperti ukuran, muatan permukaan, dan hidrofobisitas. Sistem dua fase berair menghadirkan fitur menarik seperti biokompatibilitas tinggi dan potensi peningkatan skala yang mudah serta mode operasi berkelanjutan (menarik secara klinis) dengan keluaran yang cukup baik. Mereka sering berguna ketika diperlukan pemrosesan cepat yang cenderung kehilangan presisi fraksinasi. Sistem mikrofluida yang menarik berdasarkan pendekatan dua fase berair telah dikembangkan untuk mengisolasi sel leukosit dan eritrosit dari sel darah utuh.

Sistem dua fase berair juga digunakan untuk isolasi sel CD34+ manusia dari seluruh darah tali pusat. Namun dalam kasus ini sel diberi tag dan sistem dua fase berair imunoafinitas (polietilen glikol dan dekstran) dikembangkan untuk mengisolasi dan memurnikan sel induk/progenitor CD34+ langsung dari seluruh darah tali pusat (UCB).

Metode seleksi baru memungkinkan hasil pemulihan 95% sel CD34+ dengan faktor pemurnian 245, sebagaimana dibuktikan melalui analisis aliran sitometri untuk ekspresi penanda CD34/ Meskipun ini adalah fitur yang menjanjikan untuk penyortiran sel tanpa tag, belum ada aplikasi untuk isolasi sel induk yang dijelaskan.

4. SISTEM TURUNAN FRAKSIASI ALIRAN LAPANGAN

Oleh karena itu, masih menjadi permasalahan bagaimana memilah/memilih sel induk yang hidup, melekat, dan multipoten seperti MSC dengan metode yang tidak hanya bergantung pada imunofenotipe sel, namun pada sistem yang relatif sederhana dan murah, tidak mempengaruhi viabilitas atau diferensiasi sel. kemampuan, dan dapat diterapkan oleh personel bangku dengan spesialisasi standar.

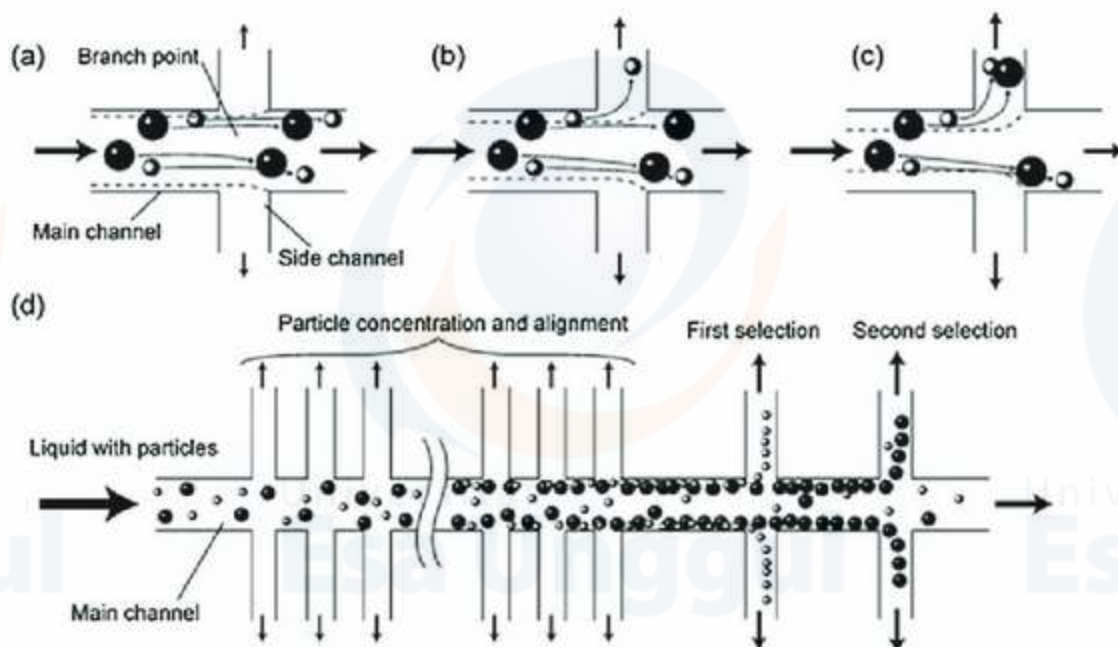
Di antara teknik pemisahan mikrofluida, fraksinasi aliran lapangan (selanjutnya disebut FFF) adalah salah satu teknik analisis yang mampu memilah sel hidup. FFF adalah metode pemisahan dampak lunak seperti kromatografi yang melakukan partisi berdasarkan massa, ukuran muatan, kepadatan, bentuk, dan kekakuan. Pemisahan dicapai dalam saluran kapiler dengan aksi gabungan dari fase gerak dalam aliran laminar dan medan yang diterapkan secara tegak lurus terhadap aliran. Pemisahan bergantung pada karakteristik fisik asli sel. Berbagai jenis medan telah digunakan dalam FFF: Aliran Medan Gravitasi (GrFFF), Aliran Medan Sedimentasi Sentrifugal (SdFFF) dan Aliran Medan Dielektroforesis (DEP); dan berbagai aplikasi berbeda untuk penyortiran sel telah dikembangkan.

Sebuah metode eksklusif berdasarkan modifikasi baru dari proses GrFFF yang mengeksplorasi medan gravitasi bumi untuk pemisahan telah berhasil diterapkan pada penyortiran MSC. Proses fraksinasi didasarkan pada perbedaan fitur sel yang diperoleh secara dinamis selama fraksinasi berbantuan aliran di bawah aksi gabungan aliran aliran, medan gravitasi, dan gaya angkat hidrodinamik (Non Equilibrium Earth Gravity Assisted-Dynamic Fractionation, NEEGA-DF). Setelah fraksinasi selesai, sel dapat kembali ke keadaan melekat, dan ciri fisik aslinya pulih sepenuhnya. Hal ini memungkinkan pemulihan sel yang tinggi dan pemeliharaan penuh viabilitas sel dan fitur diferensiasi.

Protokol ini mewakili alat baru untuk pemurnian sel induk tanpa tag dan penyortiran sel induk yang dapat dengan mudah diintegrasikan dalam platform penyortiran sel konvensional untuk mengurangi waktu dan membuat hasil sel induk berfungsi penuh. Varian FFF yang paling sederhana menggunakan gravitasi bumi (GrFFF) sebagai bidang yang diterapkan, dan mampu menjaga kelangsungan hidup dan integritas sel sepenuhnya. GrFFF terbukti mampu membedakan morfologi- perbedaan kalori dan biofisik dalam (sub) populasi

seluler yang berbeda, di antaranya adalah sel induk yang berpotensi lemah (hematopoietik) dari sumsum tulang tikus. Isolasi sel induk hematopoietik manusia (CD34+) berbasis GrFFF dari apheresis darah pasien, dan pembersihan neoplastik dari limfosit normal telah dibuktikan di laboratorium kami. DEP/GrFFF telah dikembangkan menjadi teknologi eksklusif untuk menyiapkan apusan untuk sitopatologi atau bentuk analisis seluler lainnya.

Varian hibrida DEP-GrFFF telah digunakan untuk pembersihan sel kanker dari limfosit T normal dan dari sel induk hematopoietik CD34+, untuk pemisahan subpopulasi leukosit utama, dan untuk pengayaan leukosit. DEP-GrFFF juga telah ditingkatkan untuk memproses hingga 1 juta sel per proses, yang dapat dibandingkan dengan kinerja FACS namun dengan biaya yang jauh lebih rendah. Namun, kebutuhan sedimentasi sel di GrFFF menimbulkan masalah teknis ketika digunakan untuk penyortiran sel induk yang patuh.



Gambar 5.6 Diagram Skematik separasi sel secara hydrodynamic

4.1.2. Persiapan Sampel

MSC diisolasi, setelah mendapat persetujuan dari donor, dari sumsum tulang manusia, jaringan adiposa, selaput janin, pulpa gigi, lipoaspirasi dan jeli Wharton mengikuti prosedur khusus untuk sumber sel yang berbeda. Populasi sel mesenkim yang diperoleh diperoleh dari tiga sumber donor dewasa atau perinatal, dikarakterisasi dan diuji untuk penanda dan diferensiasi mesenkim yang khas. Mengenai sel epitel, selaput janin manusia (n=3) diproses untuk isolasi sel epitel amniotik (hAEC) seperti yang dijelaskan sebelumnya. Sel epitel amniotik yang diperoleh dikultur dan dikarakterisasi dengan FC untuk mengetahui

adanya penanda antigenik spesifik.

4.1.3. Perangkat dan Operasi Fraksinasi

Perangkat fraksinasi adalah saluran kapiler kosong buatan sendiri seperti yang telah dijelaskan. Ringkasnya, sel 45 uL suspensi sel, pada konsentrasi 3×10^6 sel/mL disuntikkan ke dalam perangkat fraksinasi secara terus menerus. Aliran fase empedu pada laju aliran 0,46 mL/menit. PBS steril dicampur dengan 0,1%BSA, 100 U/mL penisilin, dan 100 µg/mL streptomisin digunakan sebagai fase gerak. Proses fraksinasi dipantau melalui sistem deteksi UV/Vis dan pengumpul fraksi digunakan untuk mengumpulkan sel yang dielusi. Sistem ditempatkan dalam tudung aliran laminar untuk menilai sterilitas. Dekontaminasi sistem fraksinasi dilakukan setiap awal hari kerja dengan cara membilas dengan natrium hipoklorit 2% dalam air steril sebagai klorin aktif.

Throughput sel cukup untuk memperoleh sel untuk studi lebih lanjut seperti diferensiasi atau analisis FACS; karena kemampuan reproduksinya yang tinggi, banyak pecahan yang dapat dikumpulkan. Pengulangan proses fraksinasi selalu tinggi (nilai %CV run-to-run waktu retensi di bawah 3%). Namun, throughput dapat ditingkatkan dengan menggunakan sistem paralel. Beberapa hasil yang menjanjikan dalam hal isolasi, penyortiran dan diferensiasi hasil MSC manusia dijelaskan di bawah ini.

Pemurnian MSC dari Spesimen Klinis

Ketika MSC diisolasi dari spesimen klinis, sel epitel mewakili kontaminan penting. Hal ini terutama berlaku pada kasus sumber perinatal seperti membran janin. Fraktogram representatif yang diperoleh untuk campuran Sel Epitel Amniotik (AEC) dan MSC yang diturunkan dari membran janin (FM-MSCs). Kedua sampel menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam waktu retensi dan profil fraksionasi. Hal ini terjadi karena karakteristik morfologi dan fenotip yang jelas berbeda dari dua populasi sel yang berbeda.

Menyortir MSC dari Sumber Berbeda

Metode NEEGA-DF diterapkan pada fraksinasi MSC yang diisolasi dari berbagai sumber berbeda. Hasil injeksi MSC dari sumber perinatal (FM, AM, COR, WJ) disorot. Fraktogram yang diperoleh sangat dapat direproduksi dan merupakan karakteristik dari masing-masing sumber. Fraktogram spesifik sumber ini mungkin mencerminkan perbedaan fitur biofisik sel. Literatur sebelumnya telah melaporkan bahwa MSC yang berasal dari sumber yang berbeda menunjukkan potensi diferensiasi yang berbeda. Oleh karena itu perbedaan fraktogram MSC dari berbagai sumber mungkin terkait dengan potensi

diferensiasi spesifiknya, yang memberikan ruang untuk meningkatkan karakterisasi.

5. PERKEMBANGAN SAAT INI DAN MASA DEPAN

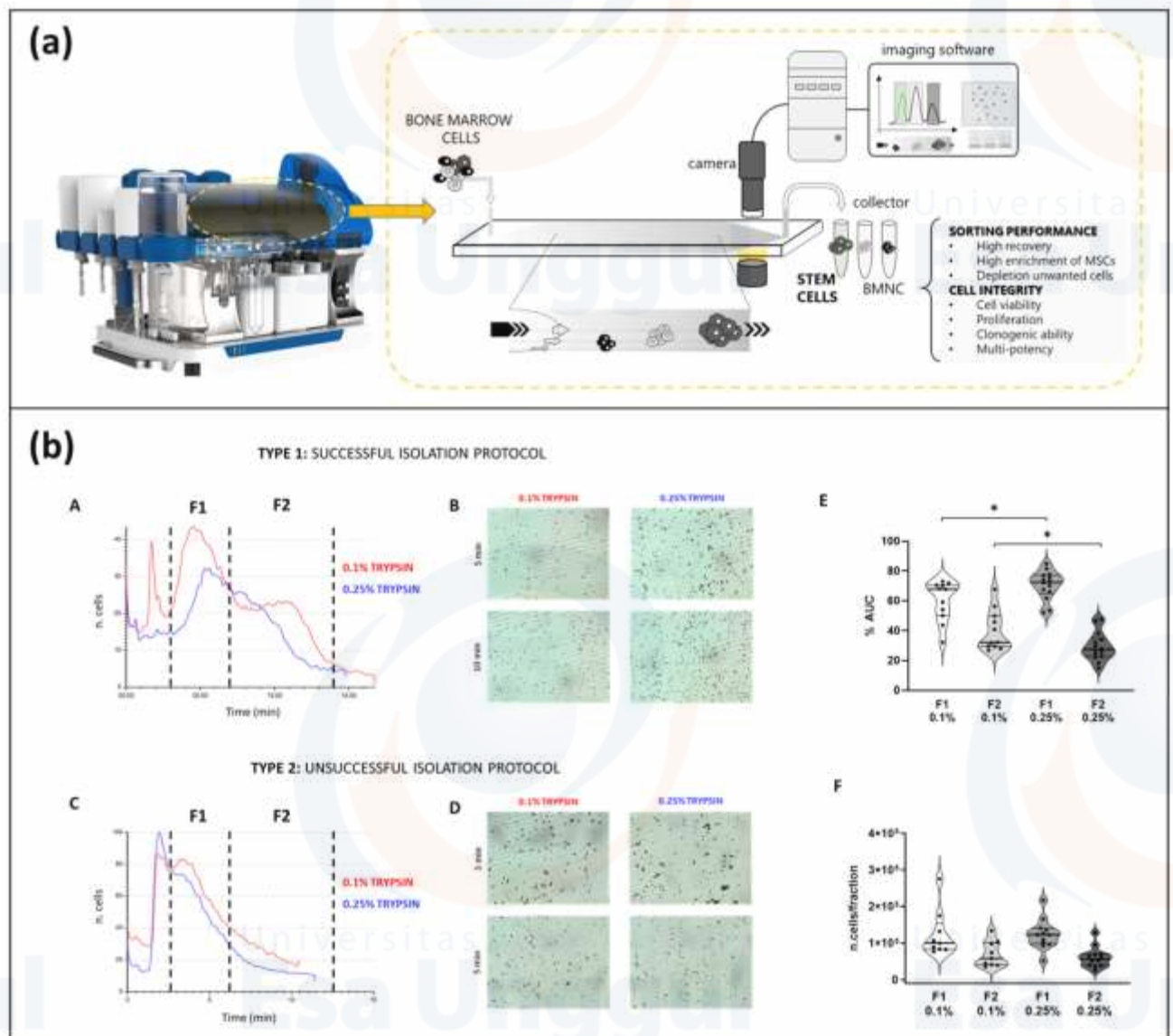
Berbagai macam metodologi untuk isolasi sel tersedia pada skala komersial atau laboratorium, namun demikian, tidak ada metode standar emas yang memenuhi semua persyaratan saat ini. Secara umum, kelemahannya meliputi: investasi yang tinggi, kebutuhan akan operator yang terampil, kapasitas produksi yang terbatas, dan kurangnya otomatisasi. Hasil sukses yang diperoleh dalam uji klinis pengobatan regeneratif telah membuka permintaan akan metode pemurnian yang ditingkatkan guna memenuhi kebutuhan sel induk berkualitas tinggi, yang berarti kemurnian tinggi, penipisan sel T, sterilitas, viabilitas dan diferensiasi tinggi. potensi. Dalam hal ini, metode tanpa tag menjanjikan solusi penting bukan hanya karena mekanisme pemisahannya yang lembut sehingga menjamin tekanan sel yang rendah, namun juga karena hal ini menunjukkan hambatan peraturan dapat diatasi dengan lebih cepat. Banyak perangkat dan prinsip mikrofluida telah dijelaskan, menunjukkan beberapa keuntungan terhadap penyortiran sel induk; namun tidak ada sistem tunggal yang mampu menjawab semua persyaratan penerapan dalam penelitian/praktik klinis dan sangat sedikit contoh yang diterapkan pada pemilahan MSC, termasuk sumber perinatal.

Sistem NEEGA-DF terbukti mampu memperoleh populasi MSC manusia yang dipilih dengan baik dari preparasi sel heterogen yang berasal dari spesimen klinis, untuk membedakan MSC dari sumber berbeda melalui karakteristik biofisiknya, dan untuk mengisolasi fraksi MSC dengan diferensiasi yang berbeda. potensi berkorelasi dengan derajat kebatilan. Populasi MSC yang dimurnikan dapat digunakan dalam pendekatan berbasis sel yang bertujuan untuk meregenerasi jaringan dan memulihkan fungsinya, karena potensi diferensiasinya, serta kemampuan trofik dan imunomodulatornya.

Meskipun teknologi ini masih dalam tahap prototipe, hasil ini mendorong kita untuk berharap bahwa di masa depan teknologi ini akan diintegrasikan ke dalam laboratorium klinis untuk implementasi lebih lanjut dalam prosedur isolasi dan penyortiran sel induk yang terstandarisasi. Keuntungan dari metode ini berkisar dari biaya teknologi yang rendah dan prosedur tenaga kerja yang mudah hingga biokompatibilitas penuh, reproduktifitas tinggi dan kemungkinan peningkatan skala hingga metodologi throughput sel yang tinggi.

Persyaratan mendasar pengobatan regeneratif adalah tidak adanya manipulasi sel, mulai dari saat isolasi dari sampel klinis mentah hingga penyiapan produk seluler. Semua metode mikrofluida yang diulas di sini memerlukan kebersihan sampel untuk dianalisis. Dalam sistem NEEGA-DF, sel dapat difraksinasi bahkan dari matriks yang kompleks, yang

berarti bahwa hanya sampel yang dimurnikan secara minimal yang dapat difraksinasi.



Gambar 5.7 Proses filterisasi dengan metoda Non Equilibrium Earth Gravity Assisted- Dynamic Fractionation, NEEGA-DF pada cell

Bab 6 Teknik Kultur sel dan propagasi Stem Cell

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

1. Menjelaskan mengenai Teknik Kultur sel dan propagasi Stem Cell
2. Kegunaan dari Teknik Kultur sel dan propagasi Stem Cell bagi

B. Uraian

1. Pendahuluan

Kultur sel adalah salah satu cara untuk menghasilkan produk Rekayasa sel berbasis riset. Hasil sel kultur adalah konsisten dan presisi. Terdapat 2 metode dalam isolasi dan kultur jaringan primer, yaitu teknik eksplan dan teknik disosiasi. Isolasi MSC asal darah tali pusat dengan sentrifuge bertingkat dengan ficoll, berdasarkan perbedaan gradien. Berbagai teknik kultur sel perlu dikuasai, mulai preparasi sampel, ruang kerja aspsis dalam laboratorium class 2, penggunaan beberapa prokol isolasi hingga panen sel dan cell counting. Cell hasil panen dapat digunakan untuk kepentingan studi/ aplikasi klinis dan atau subkultur kembali.

Kultur sel adalah salah satu sarana dalam mempelajari fisiologi dan biokimia sel termasuk sel punca, terkait metabolisme aging, efek obat/ herbal, senyawa toksik, mutagenesis hingga karsinogenesis. Sel kultur digunakan dalam screening dan pengembangan obat skala besar dalam memproduksi vaksin dan protein tertentu. Penelitian terkini melaporkan keterlibatan sel kultur sebagai terapi berbasis sel dalam berbagai penyakit metabolik dan atau degenerasi. Fakta diatas menunjukkan bahwa terjadi peningkatan penggunaan sel kultur pada dekade ini. Hal ini dimungkinkan karena umumnya hasil produk akhir sel kultur adalah konsisten pada setiap prosesnya sehingga memungkinkan mereproduksi kembali hasil secara presisi.

Studi in vivo baik yang melibatkan hewan coba dan atau relawan manusia seringkali mendapatkan hasil yang berbeda. Perbedaan hasil ini disebabkan karena adanya variasi yang pada subjek penelitian terutamapengaruh faktor epigenetik, sekalipun telah dilakukan proses homogenisasi sebelumnya. Kultur sel menjadi salah satu konsep solusi dalam homogenisasi suatu penelitian maupun produksi rekayasa. Hal ini dimungkinkan karena kultur sel mampu meminimalisir besarnya variasi yang terjadi selama proses penelitian.

Kultur sel relatif mudah mengontrol niche sebagai faktor epigenetik yang berpengaruh pada subjek penelitian. Sisi lain kultur sel memungkinkan meniru kehidupan/ suasana yang terjadi in-vivo melalui pembuatan lingkungan artificial in-vitro. Begitu pentingnya peranan kultur sel dalam berbagai bidang studi dan produk rekayasa, maka penulis terdorong untuk mengeksplorasi lebih lanjut mengenai prinsip dasar kultur sel yang menjelaskan berbagai faktor yang berpengaruh dalam sel kultur. Bab ini juga menjelaskan teknik dasar dalam isolasi dan kultur sel asal jaringan primer, termasuk protokol isolasi sel punca mesenkimal yang dilakukan dalam laboratorium kami dan akhirnya proses panen dan perhitungan sel untuk kepentingan aplikasi maupun subkultur.

Prinsip dasar kultur sel

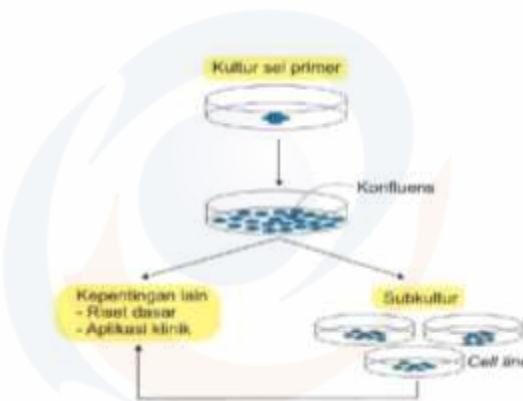
Berbagai studi terkini melaporkan bahwa terjadi penggunaan kultur dasar sel secara eksponensial, termasuk dalam hal teknik isolasi, metode kultur hingga karakterisasi. Hal ini menunjukkan bahwa penguasaan prinsip dasar kultur sel menjadi penting.

2.1 Pengertian kultur sel

Kultur sel adalah cara atau teknik untuk mempropagasi (perkembangbiakan) sebuah sel secara in-vitro melalui penyemaian sel, termasuk sel punca pada tempat yang berisi medium dengan kondisi tertentu. Kultur sel dapat berupa sel primer dan atau cell line yang tumbuh dan proliferasi membentuk monolayer.

2.2 Subkultur

Subkultur adalah proses pentransferan atau pemindahan sel kultur dari kultur sebelumnya yang telah mencapai konfluensi 80% ke dalam media pertumbuhan baru, sehingga memungkinkan sel kultur tersebut berkembangbiak kembali. Subkultur dikaitkan dengan proses passage dan seleksi terhadap kandidat sel yang akan dilakukan subkultur kembali, terutama terhadap kemampuan proliferasi. Kultur sel primer dan subkultur dijelaskan pada gambar 1 dibawah ini.



Gambar 1. Subkultur

Sel primer yang dikultur pada medium dengan kondisi tertentu akan tumbuh dan berkembang biak hingga konfluensi 80%, sehingga dapat digunakan untuk kepentingan riset dasar atau aplikasi klinis di samping dilakukan subkultur kembali.

2.3 Manfaat sel kultur

Kultur sel bertujuan untuk kepentingan berbagai penelitian dasar dan atau klinik, baik bidang biologi molekuler, bioteknologi hingga aplikasi klinis. Hal ini terlihat pada pencapaian hasil ekspansi sel kultur yang terus meningkat di berbagai bidang molekuler seperti tissue engineering yang melahirkan konsep kloning dan teknologi reprogramming sel yang melahirkan iPS yaitu rekayasa sel matur menjadi sel punca embrionik dengan menginduksi berbagai faktor transkripsi pada sel matur via lentivirus. Sel kultur juga dapat dimanfaatkan dalam terapi berbasis sel, termasuk transplantasi sel punca pada berbagai penyakit metabolik atau degenerasi.

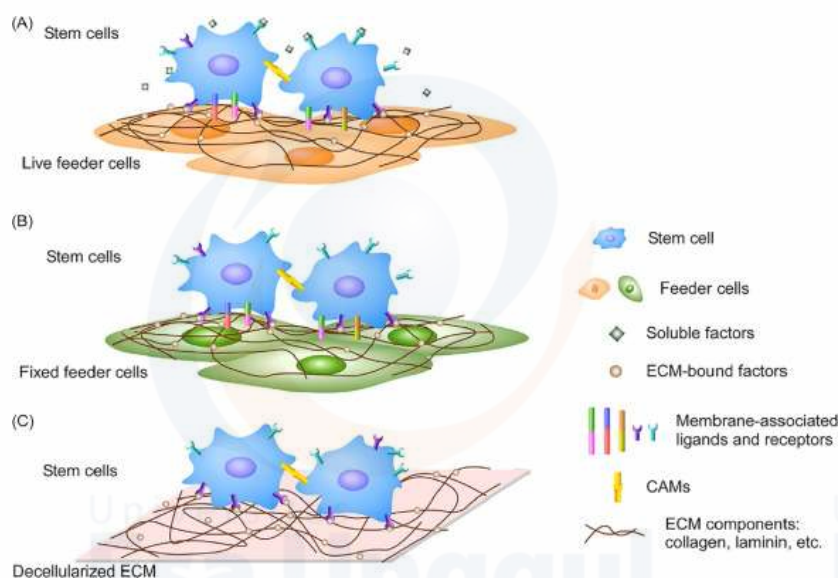
Kultur sel terdiferensiasi

Sel terdiferensiasi memiliki kemampuan terbatas dalam berkembang biak, oleh karena itu tidak berkontribusi dalam menghasilkan turunan sel. Sekalipun demikian kultur sel terdiferensiasi juga dibutuhkan dalam menunjang kultur primer yaitu sebagai feeder layer, disamping untuk menjelaskan status diferensiasi suatu sel punca. Kultur sel terdiferensiasi sebagai feeder layer adalah penting untuk meningkatkan daya

keterikatan sel pada disk kultur.

2.5 Feeder layer

Feeder layer adalah sel tertentu yang disemai pada lapisan permukaan disk culture dengan tujuan sebagai matriks penunjang bagi perlekatan dan proliferasi sel kultur. Sel yang biasa digunakan sebagai feeder layer adalah fibroblas dengan DNA yang telah dirusak sebelumnya baik dengan radiasi X-ray atau sinar gamma atau mitomisin-C. Sel fibroblas demikian ini tidak memungkinkan untuk berproliferasi kembali, namun masih mampu menghasilkan sekresi growth factor (fungsi metabolisme).



Gambar 19 Feeder layer

Sel fibroblast yang telah di radiasi disemai pada lapisan permukaan disk culture sebagai feeder layer sebagai matriks penunjang perlekatan dan proliferasi sel kultur.

2.6 Cell line

Cell line adalah setiap sel yang berasal dari subkultur sel primer dengan kemampuan replikasi terbatas. Secara umum kemampuan pembelahan cell line akan menurun dan berhenti setelah melewati pembelahan 40-60 kali, sesuai teori hayflick, kemudian memasuki fase senescence yang ireversibel. Penurunan kemampuan pembelahan cell line terkait dengan pemendekan telomer yang terjadi setiap kali pembelahan.

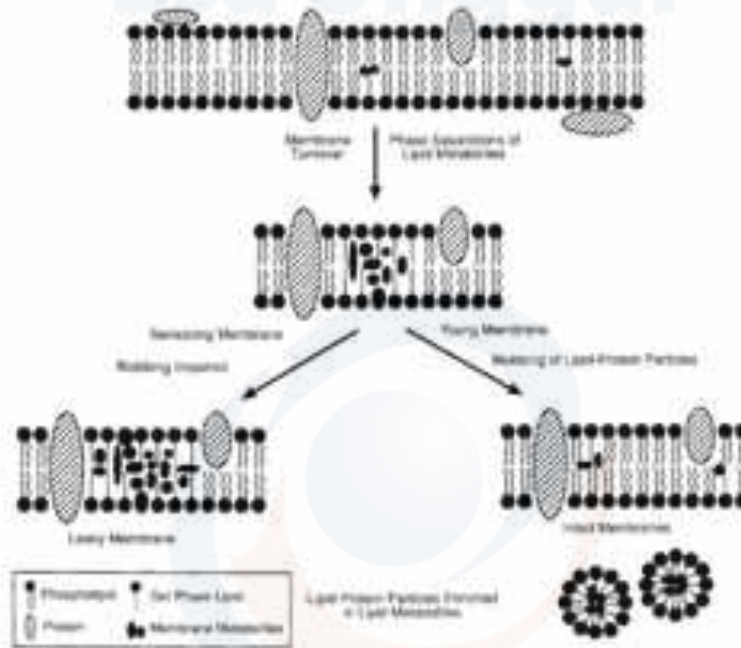
Setiap sel yang membelah akan diikuti dengan pemendekan telomer, dan setelah pembelahan melewati 40-60 kali maka telomer akan habis. Hal ini akan memicu sel untuk memasuki fase senescence yang ireversibel

2.7 Senescence

Senescence adalah suatu keadaan dimana sel tidak lagi mampu melakukan pembelahan dan hal ini terjadi secara ireversibel. Berbagai kondisi fisiologis kultur yang tidak sesuai ikut memicu percepatan terjadinya

senescence. Secara teoritis senescence dimediasi oleh pemendekan ujung telomer kromosom setiap kali pembelahan. Sel punca juga dapat mengalami senescence setelah memasuki fase G0 dalam jangka waktu yang lama atau ketika mengalami stres intraseluler/ ekstraseluler yang eksekutif (berlebihan). Program senescence dimaksudkan untuk mengunci sel dalam laju siklus sel agar tertahan dengan tujuan mencegah distribusi sinyal rusak pada turunannya, namun umumnya senescence berakhir dengan induksi program kematian secara apoptosis. Morfologi senescence dijelaskan pada gambar dibawah ini.

Proses senescence - Kerusakan membran



Gambar 21. Morfologi senescence

3. Kultur sel primer

Kultur primer mengandung campuran dari berbagai macam tipe sel sesuai dengan asal jaringan tersebut, sehingga diperlukan langkah seleksi untuk mendapatkan sel tertentu. Pembelahan sel yang terus-menerus, suatu saat akan memasuki tahapan dimana sel tidak lagi mampu melakukan pembelahan secara ireversibel dikenal sebagai sel senescence.

3.1 Pengertian kultur sel primer

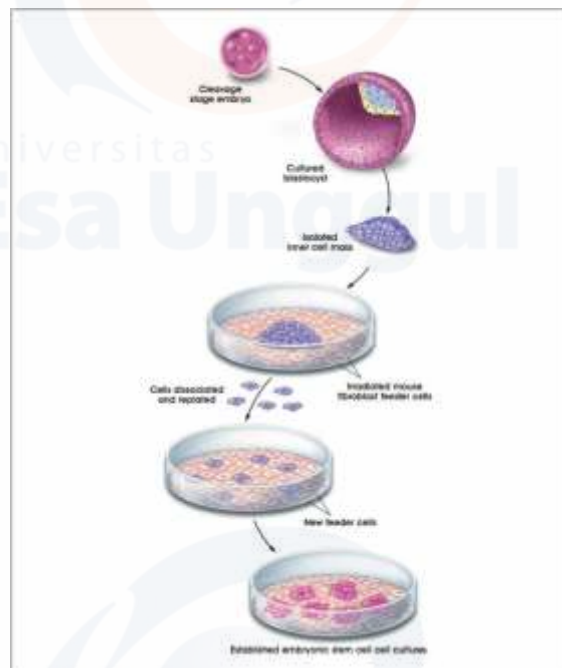
Kultur primer merupakan kultur sel yang didapat dari migrasi sel primer asal eksplan jaringan primer (potongan irisan kecil) dan atau sel primer hasil proses disosiasi mekanik/enzimatis. Sel primer yang dikultur pada kondisi tertentu akan mencapai kondisi konfluens, yaitu kondisi dimana sel mengisi seluruh permukaan ruangan disk kultur sehingga perlu dilakukan upaya pemindahan ke media lain yang dikenal sebagai proses panen sel (harvest) yang diikuti dengan subkultur (passage). Sel primer yang dihasilkan dari kultur eksplan atau disosiasi mekanik/enzimatis akan menempel pada substrat solid dan terus berproliferasi membentuk monolayer. Sel kultur hasil passage kedua ini disebut sebagai cell line.

Secara teoritis isolasi dan kultur sel primer dapat dilakukan melalui 2 teknik dasar :

1. Teknik kultur eksplan jaringan

2. Teknik kultur disosiasi jaringan

Kultur primer dengan teknik eksplan dan disosiasi mekanik dijelaskan pada gambar di bawah ini.

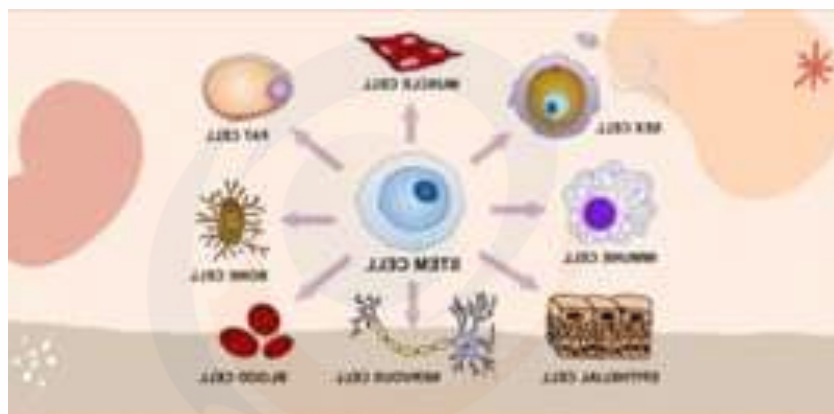


Gambar 7. Kultur sel primer

Secara sistematis kultur primer terbagi atas 2, yaitu 1). Kultur primer eksplan, dimana sel primer berasal dari migrasi sisi luar fragmen eksplan, 2). Kultur sel primer hasil disosiasi mekanik/enzimatis, dimana sel berupa single cell. Sel primer yang tumbuh dan berkembang biak mencapai konfluens 80% kemudian dilakukan subkultur dan turunannya dikenal sebagai cell line.

Teknik kultur eksplan jaringan primer

Kultur eksplan primer adalah kultur sel primer yang berasal dari migrasi sel asal sisi luar potongan kecil/ fragmen jaringan primer pada medium dengan kondisi tertentu. Sel primer ini akan terus tumbuh dan keluar mengisi seluruh permukaan disk/flask kultur hingga mencapai konfluens (memenuhi seluruh permukaan sel). Sel dengan kondisi konfluens 80% harus dilakukan proses subkultur. Proses subkultur dapat didahului dengan proses seleksi sel, yang didasarkan atas kemampuan sel dalam migrasi dan proliferasi.



Gambar 23. Teknik kultur eksplan jaringan primer

Teknik kultur eksplan primer dilakukan dengan cara melakukan pencacahan pada fragmen/ potongan kecil tali pusat yang telah dibersihkan sebelumnya termasuk ekstraksi vaskuler, yang kemudian diletakkan ke dalam disk dan diberikan medium lengkap

Kultur sel primer disosiasi jaringan

Kultur sel primer hasil disosiasi jaringan adalah kultur sel primer yang berasal dari proses disosiasi baik secara mekanik maupun enzimatik atau keduanya pada medium dan kondisi tertentu. Secara spesifik suspensi sel yang dihasilkan mengandung proporsi sel primer yang mampu melekat pada substrat kemudian tumbuh dan proliferasi membentuk monolayer. Sel primer dengan kemampuan proliferasi demikian kemudian diseleksi untuk disemai sebagai subkultur pertama seperti pada sel primer hasil kultur eksplan. Turunan sel yang dihasilkan dari kultur sel primer ini adalah cell line

Seleksi sel primer

Sel primer yang telah tumbuh dan berkembangbiak dengan baik hingga mencapai konfluens kemudian diseleksi untuk proses selanjutnya baik untuk kepentingan riset maupun subkultur. Seleksi sel primer hasil kultur eksplan didasarkan atas kemampuan sel tersebut dalam bermigrasi, sedangkan seleksi sel hasil proses subkultur atas kemampuan dalam proliferasi.

3.5 Perbedaan kultur eksplan dan kultur sel primer

Secara teoritis fraksi sel yang diperoleh hasil proses disosiasi jaringan akan lebih banyak dan lebih cepat dibandingkan dengan hasil teknik eksplan. Sekalipun demikian proses disosiasi jaringan memerlukan teknik isolasi yang kompleks dan dibutuhkan akurasi optimasi yang cermat terutama terkait penggunaan enzim disosiator tertentu dan waktu inkubasi. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan karakteristik pada setiap jaringan, sehingga memerlukan perlakuan enzimatik disosiator yang juga berbeda pada tiap jenis jaringan (variasi respon enzimatik) dan ini berdampak pada masa inkubasi yang juga berbeda. Ketidakesesuaian aplikasi enzimatik pada jaringan target dan ketidaktepatan waktu inkubasi, akan berdampak pada kegagalan dalam mendapatkan sel primer. Kultur eksplan lebih disukai karena potensi mendapatkan sel primer jauh lebih mudah dan banyak dimana tiap potongan kecil fragmen jaringan dapat menghasilkan sel primer selama teknik dan kondisi isolasi terpenuhi. Sisi lain fragilitas sel primer pasca disosiasi enzimatik juga tinggi sehingga berpotensi mengganggu pertumbuhan sel, dibandingkan dengan hasil eksplan yang relatif tidak ada.

4. Kondisi optimal kultur

Pertumbuhan sel yang sempurna membutuhkan kondisi tertentu guna mempertahankan keberlangsungan fungsi metabolisme dan biologik sel secara stabil baik pada kultur primer maupun cell linecontinuous. Hal ini dilakukan dengan cara meniru kondisi fisiologis jaringan in-vivo et in-situ yang kemudian diaplikasikan dalam kultur sel. Secara teoritis faktor tersebut berupa substrat atau medium yang menyediakan nutrisi baik asam amino, karbohidrat, vitamin dan mineral di samping nutrient essential berupa growth factor dan hormonal. Faktor lain yang juga penting dalam menunjang kultur sel adalah konsentrasi O₂ dan atau CO₂, di samping lingkungan psikokimia, berupa pH, tekanan osmotik dan temperatur. Secara spesifik semua faktor yang mempengaruhi kondisi optimum sel kultur dapat dibagi menjadi 2 yaitu :

1. Kondisi fisiologis kultur
2. Lingkungan mikroseluler kultur

4.1 Kondisi fisiologis kultur

Kondisi fisiologi kultur adalah kondisi kultur yang telah disesuaikan dengan kondisi in-vivo, sehingga sel kultur dapat beradaptasi dengan baik pada kondisi tersebut. Secara spesifik kondisi fisiologis sel kultur memiliki 4 faktor, yaitu;

1. Suhu

Suhu yang diperlukan dalam kultur sel adalah suhu yang sesuai dengan fisiologi tubuh yaitu 37°C.

2. pH

pH yang digunakan dalam kultur sel adalah pH 7,2-7,4 (netral). Fenol merah biasanya ditambahkan dalam medium sebagai indikator pH, yaitu dengan memantau perubahan pH secara kolorimetri

3. Osmolaritas

Osmolaritas terkait dengan konsentrasi partikel yang terlarut dalam medium sel kultur.

4. Tekanan CO₂

Tekanan CO₂ yang dibutuhkan dalam kultur adalah 5%.

4.2 Lingkungan mikroseluler kultur

Lingkungan mikroseluler kultur adalah kondisi lingkungan sekitar(niche) sel kultur berupa substratum yang menyerupai keadaan jaringan in-vivo. Secara spesifik substratum kultur berupa feeder layer Basic Molecular Stem Cell yang telah disemai pada permukaan disk kultur dan disuplementasi oleh medium kultur. Lingkungan mikroseluler kultur dapat dibagi menjadi 2, yaitu :

1. Disk kultur

Disk kultur merupakan permukaan tempat dimana sel kultur melekat dan tumbuh. Hal ini disebabkan karena permukaan disk tersebut telah dilapisi oleh feeder layer dengan matriks ekstraseluler Baik kolagen, serum, laminin, gelatin dan atau fibronectin. Penggunaan tipe disk/ flask kultur harus disesuaikan dengan densitas sel yang akan disemai. Berdasarkan densitas sel maka Well/ flask/disk dapat dibagi menjadi tabel di bawah ini.

2. Media kultur

Media kultur adalah medium tertentu yang menyediakan berbagai molekul nutrisi terlarut air sebagai sumber pertumbuhan dan penunjang aktifitas metabolisme sel. Berdasarkan kebutuhan utamasel kultur, maka komponen media kultur dapat dibagi menjadi 3 yaitu :

- 1) Asam amino

- 2) Faktor pertumbuhan

- 3) Hormonal

Secara teoritis medium merupakan faktor penting dalam kultur sel dan jaringan karena komponen medium kultur merupakan nutrientessential bagi aktifitas metabolisme, pertumbuhan dan proliferasi sel.

5.2 Fungsi media kultur dalam buffer pH

Media kultur juga berperan dalam menjaga pH dan osmolaritas sistem kultur di samping sebagai penyangga nutrisi esensial. Secara teoritis pH dipertahankan oleh satu atau dua sistem buffer baik melalui CO₂/ natrium bikarbonat atau fosfat dan atau HEPES. Fenol merah sebagai

indikator pH ditambahkan ke dalam medium untuk memantau adanya perubahan pH pada sel kultur secara kalorimetrik.

5.3 Klasifikasi medium

Mengingat kompleksitas formulasi medium dan variasi karakteristik sel kultur, maka medium diklasifikasikan berdasarkan atas:

1. Komposisi nutrient:

- 1) Medium berisi molekul precursor biosintetik anabolisme sel,
- 2) Medium berisi molekul katabolik metabolisme energi,
- 3) Medium berisi vitamin,
- 4) Medium berisi ion elektrolit dengan katalitik, buffer pH dan osmolaritas.

2. Media kultur yang umum digunakan meliputi:

1) Medium EMEM Medium Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM) adalah medium simpel yang sering difortifikasi dengan suplemen atau serum kadar tinggi. EMEM digunakan secara luas untuk kultur sel L dan HeLa dan MSC. Medium ini mengandung larutan Earle's balanced salt, asam amino non-esensial dan sodium piruvat.

2) Medium DMEM Medium Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) adalah medium dengan kadar asam amino dua kali lebih tinggi dibandingkan EMEM dan empat kali untuk kadar vitamin. Secara spesifik formulasi orisinal DMEM mengandung 1,000 mg/L glukosa dan 4,500 mg/L.

3) RPMI-1640

RPMI-1640 adalah medium yang digunakan secara luas terutama pada kultur sel dalam suspensi (limfosit darah perifer), HSC dan sel dengan pertumbuhan monolayer seperti sel MCF-7 kanker payudara.

4) Medium IMDM

Medium Iscove's Modified Dulbecco's Medium (IMDM) diformulasikan untuk pertumbuhan sel limfosit dan hibridoma.

6. Serum kultur

Serum medium memiliki peran sentral dalam proses kultur sel. Hampir seluruh aktifitas proliferasi sel kultur disuplementasi oleh keberadaan serum dalam bentuk foetal bovine serum (FBS) dengan konsentrasi yang bervariasi 10-20%. Secara spesifik serum berfungsi sebagai:

1. Faktor hormonal

Serum mengandung berbagai hormonal penting yang mampu pertumbuhan dan proliferasi sel, di samping mempromosikan diferensiasi.

2. Protein pembawa

Serum mengandung beberapa protein pembawa untuk hormone (transcortin), mineral dan elektrolit (transferin) dan lipid (lipoprotein).

3. Faktor perlekatan dan penyebaran

Serum berperan sebagai faktor perlekatan bagi sel yang mulai tumbuh dan bertunas.

4. Faktor stabilisasi dan detoksifikasi

Serum merupakan faktor stabilisasi bagi sel dalam mempertahankan pH dengan cara menghambat aktifitas protease baik secara langsung melalui α -antitrypsin or α 2-macroglobulin atau secara tidak langsung dengan unspecific sink (wastafel non spesifik). Serum juga berfungsi sebagai detoksifikasi terhadap molekul toksik lain.

7. Sistem buffer dan sodium bicarbonate

Sel memproduksi CO₂, namun juga membutuhkan CO₂, meskipun dalam jumlah sedikit untuk pertumbuhan dan kehidupan. CO₂ terlarut air akan diseimbangkan oleh ion bikarbonat. Hal ini dimanfaatkan pada banyak medium dengan memformulasikan reaksi CO₂/ bikarbonat untuk buffer PH medium.

7.1 Pengertian buffer PH medium

Buffer PH medium sel kultur adalah larutan medium yang dapat mempertahankan PH tertentu pada medium dimana sel dikultur. Dasar teorinya adalah CO₂ merupakan molekul yang mudah larut ke dalam cairan, termasuk medium sehingga akan bereaksi dengan air membentuk asam karbonat dan H⁺ yang berakibat PH medium menurun (asam) seperti reaksi dibawah ini:

7.2 Sodium bikarbonat dalam buffer PH medium

Sel kultur aktif melakukan fungsi metabolisme yang berkonsekuensi menghasilkan produk CO₂ lebih banyak. Hal ini akan berdampak pada pergeseran reaksi menunjukkan yang menghasilkan PH asam. Suplementasi sodium bikarbonat pada medium sel kultur akan mengeser reaksi kembali normal sehingga buffer PH medium menjadi optimum dengan range 7.2-7.4. Secara spesifik sodiumbikarbonat meregulasi CO₂ membentuk Na⁺ yang berakibat PH menjadi netral kembali, seperti reaksi berikut:

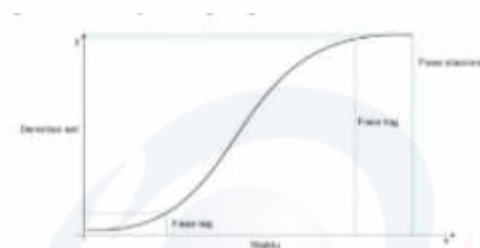


8. Karakteristik pola pertumbuhan sel

Pertumbuhan sel kultur memiliki karakteristik pola pertumbuhan tertentu yang dimulai dengan aktifitas adaptasi, kemudian tumbuh perlahan dan berlanjut dengan aktifitas proliferasi secara eksponensial serta berakhir dengan keadaan stasioner dimana terjadi penurunan pertumbuhan hingga terhenti. Oleh karena itu untuk menjaga sel kultur dalam densitas optimum pertumbuhan dan proliferasi maka sel kultur harus dilakukan subkultur (dipisahkan). Siklus sel pertumbuhan digambarkan sebagai grafik plot semi-logaritmik dengan menilai densitas sel dan waktu kultur. Secara spesifik kurva interval siklus pertumbuhan sel kultur terbagi atas 3 fase, yaitu :

1. Fase lag
2. Fase log
3. Fase stasioner

Ketiga fase di atas dijelaskan pada gambar di bawah ini. Gambar 5. Fase lag, log dan stasioner dalam pertumbuhan



8.1 Fase lag (laten)

Fase lag adalah periode pertama dalam kultur, dimana sel mulai beradaptasi dengan lingkungan

kultur paska disemai kembali. Fase ini belum menunjukkan aktifitas pertumbuhan sel sehingga disebut periode laten. Fase lag membutuhkan waktu hingga 48 jam, namun pada sel tertentu, termasuk punca lebih singkat yaitu 12-24 jam. Periode singkat ini memungkinkan sel kultur untuk recovery akibat proses tripsinasi dan merekonstruksi sitoskeleton serta mensekresi matrik untuk memfasilitasi perlekatan sel, disamping penyebaran. Lag phase akan dilanjutkan dengan log phase.

8.2 Fase log

Fase log adalah periode dimana sel tumbuh dan proliferasi secara eksponensial. Sel pada periode ini mampu menduplikasi diri secara cepat dengan waktu yang dapat ditentukan, sehingga dikenal sebagai doubling time. Pertumbuhan sel kultur dalam periode ini dapat mencapai konfluensi 80% sehingga sel memenuhi permukaan substrat yang tersedia dan menghabiskan banyak nutrisi. Ketika sel memenuhi seluruh substrat maka sel memasuki fase stasioner yang dapat menyebabkan reaksi sebaliknya. Oleh karena itu pada fase ini harus dilakukan proses subkultur.

8.3 Fase stasioner

Fase plateau dimana sel kultur berhenti melakukan pertumbuhan dan proliferasi. Terdapat beberapa kemungkinan yang akan terjadi dalam fase stasioner ini, yaitu :

1. Aktifitas diferensiasi menjadi sel matur

Kondisi sel yang penuh sesak pada fase stasioner dapat memicu beberapa sel untuk berdiferensiasi menjadi sel matur yang spesifik.

2. Memasuki fase G0

Fase stasioner dapat menyebabkan beberapa sel keluar siklus sel menuju fase G0 sekalipun masih viable.

Tidak disarankan untuk melakukan subkultur pada fase ini, disebabkan fraksi sel yang didapat dari fase ini pertumbuhannya lambat dan waktu recovery (lag fase) jauh lebih lama dibanding dengan subkultur pada fase log.

9. Teknik dasar kultur

Biosafety merupakan disiplin dan sistem kontainmen untuk pencegahan terhadap mikroorganisme menular dan atau agen biologi toksik.

9.1 Prinsip biosafety

Prinsip biosafety adalah melindungi peneliti/ pekerja laboratorium terhadap bahan biologi toksik dan menular dengan sistem kontainmen sistem laboratorium dasar, mulai teknik laboratoris yang tepat, peralatan keselamatan hingga proteksi terhadap mikroorganisme menular. Secara sistematis tingkat biosafety dibagi menjadi 4, sesuai dengan Departement of health and human service US, yaitu :

1. BSL-1

Laboratorium dengan proteksi dasar terhadap agen biologi/ bahan toksik yang berpotensi rendah dalam menyebabkan penyakit/kesehatan manusia. Lab ini banyak digunakan dalam berbagai penelitian. Perbedaan dengan BSL-2 adalah belum menggunakan biosafety cabinet (BSC) kelas II dan sistem pengawasan ventilasi udara.

2. BSL-2

Laboratorium dengan proteksi menengah terhadap agen biologik/ bahan toksik yang cukup potensial dalam menyebabkan penyakit/kesehatan manusia, misalnya bekerja dengan hepatitis-B, bakteri salmonella, dsb. Perbedaan dengan BSL-3 adalah belum menggunakan fasilitas udara antar ruang (HEPA filter exhaust) dan sistem pengawasan ventilasi udara.

3. BSL-3

Laboratorium dengan proteksi tinggi terhadap agen biologik/bahan toksis yang berpotensi infeksius letal dalam menyebabkan kesehatan manusia, misalnya bekerja dengan mycobacterium tuberculosis atau avian influenza virus. Perbedaan dengan BSL-4 adalah belum menggunakan ruang antara (ante room) yang dilengkapi air shower dan BSC kelas III.

4. BSL-4

Laboratorium dengan proteksi sangat tinggi terhadap agen yang berpotensi mengancam jiwa kehidupan.

9.2 Peralatan dasar sel kultur

Kultur sel menggunakan berbagai peralatan kultur dasar, diantaranya adalah :

1. Biosafety cabinet, Incubator CO₂

2. Temperature centrifugation, waterbath, Refrigerator (2-8°C), freezer (-20°C dan -80°C) dan liquid nitrogen (-194°C)

3. Inverted microscope, automatic cell counter, Seperangkat mikropipet/ serological pipet dan sterilizer (autoclave)

9.3 Ruang lingkup kerja kultur sel

Ruang lingkup kerja kultur sel adalah seluruh aspek alat dan bahan yang terlibat dalam proses kultur sel dan dilakukan dalam ruang kerja laboratorium aseptis dengan menggunakan biosafety cabinet (BSC). Isolasi sel punca dilakukan pada ruang lingkup kelas II. Secara teoritis ruang lingkup kerja kultur sel dibagi menjadi 3 kelas, yaitu :

1. Kelas I

Ruang lingkup kerja dengan proteksi personal dan lingkungan, namun belum/ tidak memproteksi material kultur terhadap potensi kontaminasi.

2. Kelas II

Ruang lingkup kerja dengan proteksi personal dan lingkungan di samping material yang berpotensi berbahaya. Kelas II dirancang untuk bekerja pada BSL level 2 dan 3 seperti pada kultur virus infeksius dan bahan karsinogenik.

3. Kelas III

Ruang lingkup kelas III didesain untuk bekerja pada BSL level 4 karena ruang lingkup kerja dapat memproteksi personal dan lingkungan material gas yang berpotensi membahayakan jiwa.

Daftar pustaka

1. Baksh D, Yao R, Tuan RS. Comparison of proliferative and multilineage differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow. *Stem Cells*.2007; 25:1384-92.
2. Kagami H, Agata H, Tojo A. Bone marrow stromal cells (bonemarrow- derived multipotent mesenchymal stromal cells) for bonetissue engineering: basic science to clinical translation. *Int J Biochem Cell Biol*. 2011; 43:286-9.
3. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8:315–7.'
4. Arutyunyan I, Elchaninov A, Makarov A, Fatkhudinov T. Umbilical Cord as Prospective Source for Mesenchymal Stem Cell-Based Therapy. *Stem Cells Int*. 2016;2016:6901286.
5. de Girolamo L, Lucarelli E, Alessandri G, et al. Mesenchymal stem/stromal cells: a new "cells as drugs" paradigm. Efficacy and critical aspects in cell therapy. *Curr Pharm Des*. 2013;19(13):2459-

73.

6. Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood*. 2007;110(10): 3499-506.
7. Kassem M. Mesenchymal stem cells: biological characteristics and potential clinical applications. *Cloning Stem Cells*. 2004;6(4): 369-374.
8. Bouffi C, Bony C, Courties G, Jorgensen C, Noel D. IL-6 dependent PGE2 secretion by mesenchymal stem cells inhibits local inflammation in experimental arthritis. *PloS One*. 2010;5(12): e14247.
9. Mei SH, Haitsma JJ, Dos Santos CC, Deng Y, Lai PF, et al. Mesenchymal stem cells reduce inflammation while enhancing bacterial clearance and improving survival in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010. 182(8): 1047-1057.
10. Putra A, Ridwan FB, Putridewi AI, et al. The Role of TNF- α induced MSCs on Suppressive Inflammation by Increasing TGF- β and IL-10. *Open Access Maced J Med Sci*. 2018;6(10):1779-1783.

Bab 7 Epigenetik Dan Faktor Transkripsi: Stemness - Reprogramming

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

1. Memahami definisi stemness sel punca, faktor transkripsi, epigenetik, modifikasi DNA dan histon, remodelling kromatin, non-coding RNA,
2. Menjelaskan peran faktor transkripsi dalam epigenetik, gen promosi diferensiasi, soluble molecule ekstraseluler, reprogramming, iPS, SCNT Transdiferensiasi dan dediferensiasi

B. Uraian

1. Pendahuluan

Konsep stemness didasarkan atas pandangan bahwa terdapat satu properti yang sama pada setiap jenis sel punca yaitu aktivitas stemness. Stemness sebagai parameter penting dalam menilai potensi suatu pembaharuan diri dengan melibatkan faktor transkripsi. Pembaharuan diri sel punca merupakan aktifitas sirkuit regulator faktor transkripsi Oct4, Sox2 dan Nanog yang mensupresi gen promosi diferensiasi GATA4, GATA6 dan Cdx2 serta PcG sebagai faktor epigenetik.

Faktor ekstrinsik ikut terlibat aktifitas stemness melalui pelepasan soluble molekul LIF dan BMP untuk mensupresi diferensiasi, sebaliknya FGF mendorong diferensiasi. Aplikasi konsep stemness dalam bentuk teknik reprogramming dan transdiferensiasi. Reprogramming memungkinkan pembelahan sel dalam dua arah termasuk mengubah kembali sel matur/ terdiferensiasi (fibroblast) menjadi sel punca embrionik dikenal sebagai induce pluripotent stem cell (iPS).

1. Latar belakang

Konsep stemness berawal dari pemikiran bahwa sel punca yang berada dalam jaringan berbeda akan mengekspresikan karakter yang juga berbeda. Sisi lain setiap sel punca mampu meregenerasi jaringan yang bukan asalnya. Hal ini mengesankan bahwa terdapat properti sel punca yang dapat dipertukarkan satu dengan lainnya, yang bersifat universal. Berbagai penelitian terkini melaporkan bahwa properti tersebut adalah ekspresi protein tertentu membentuk pola stemness. Secara spesifik protein tersebut berupa faktor transkripsi Oct4, Sox2, Klf4, c-myc, OSKM dan Nanog yang membentuk sirkuit regulator gen stemness.

Aktivitas sirkuit regulator stemness ini akan memicu peningkatan proses pembaharuan diri sel punca dan saat yang sama mensupresi gen promosi diferensiasi Gata6 dan Cdx2. Sisi lain potensi stemness juga dipengaruhi oleh faktor epigenetik melalui protein PcG dan soluble molecule BMP dan

LIF yang disekresi sel punca secara autokrin.

Penelitian ontogenesis sebelumnya mengungkapkan bahwa arah nasib suatu sel adalah berjalan searah, sehingga program diferensiasi berjalan dari sel punca menuju sel matur bukan sebaliknya. Sekalipun demikian hasil penelitian terkini melaporkan bahwa faktor transkripsi yang terekspresi secara kuat dalam suatu sel akan berdampak pada peningkatan potensi stemness pluripoten sel tersebut. Teori ini membuktikan bahwa arah ontogenesis dapat dirubah melalui induksi serangkaian faktor transkripsi dan proses epigenetik. Hal ini memungkinkan untuk melakukan program ulang terhadap sel matur menjadi sel punca pluripoten, dikenal sebagai reprogramming. Secara spesifik induksi faktor transkripsi Oct4, Sox2, Klf4 dan c-myc, OSKM mampu memprogram ulang sel fibroblas menjadi sel punca embrionik, yang dikenal sebagai iPS (induce pluripotent stem cells).

Lebih lanjut, pengenalan berbagai teknik reprogramming dan transdiferensiasi sebagai rekayasa molekuler dibutuhkan sebagai bentuk aplikasi teori potensi stemness. Pemahaman yang baik terkait protein faktor transkripsi, gen promosi diferensiasi, protein epigenetik dan soluble molecule menjadi hal krusial dalam reprogramming suatu sel. Mengingat begitu pentingnya potensi stemness dalam rekayasa seluler maka, perlu dilakukan pemahaman mendasar terkait faktor transkripsi, mulai terminologi, klasifikasi dan pembaharuan diri dan prinsip reprogramming.

2. Stemness sel punca

Sel punca harus membuat pilihan apakah melakukan pembaharuan diri atau diferensiasi paska terpapar faktor ekstrinsik. Hal ini tergantung pada properti stemness yang dimiliki oleh sel punca, yaitu pola ekspresi gen pembaharuan diri dalam bentuk faktor transkripsi pluripoten yang terintegrasi dengan gen promosi diferensiasi, protein epigenetik dan soluble molecule. Peningkatan ekspresi gen pembaharuan diri akan berkorelasi dengan peningkatan jumlah sel punca yang berdampak pada peningkatan potensi stemness.

Sekalipun potensi stemness sel punca embrionik pluripoten jauh lebih kuat dibandingkan sel punca dewasa multipoten, namun pada keduanya masih memiliki kesamaan pola stemness. Gambar 26. Stemness sel punca Terdapat properti yang sama antara populasi sel punca yaitu pola ekspresi gen yang berupa faktor transkripsi pluripoten, jalur epigenetik dan lingkungan mikroseluler yang berkaitan dengan potensi stemness. Potensi stemness merupakan akumulasi aktivitas pembaharuan diri dan supresi gen promosi diferensiasi.

2.1 Pengertian stemness

Stemness adalah properti sel punca berupa potensi pluripoten dalam memperbaharui diri dengantetap mempertahankan status tidak diferensiasi. Secara spesifik properti ini berupa pola ekspresi gen pluripoten yang membentuk sirkuit regulator stemness. Sirkuit stemness ini berupa protein faktor transkripsi pluripoten yang terintegrasi dengan protein epigenetik, gen promosi diferensiasi dan soluble molecule sebagai berikut. Sel punca dikatakan poten ketika mampu

melakukan aktivitas pembaharuan diri sekalipun niche didominasi oleh faktor diferensiasi.

Secara spesifik suatu sel punca Variasi genetik Jalur epigenetik Lingkungan mikro seluler (soluble molecule) Potensi stemness Stemness dikatakan stemness ketika mampu memperbaharui diri secara terus menerus dengan mempertahankan status tidak berdiferensiasi hingga propagasi ke 40-50. Potensi stemness suatu sel punca akan menurun secara signifikan seiring dengan diferensiasi menjadi sel matur.

2.2 Regulasi stemness

Regulasi stemness menentukan arah pembelahan sel punca, apakah menuju proses pembaharuan diri dan atau diferensiasi. Secara spesifik regulasi stemness melalui supresi jalur diferensiasi dan mendorong peningkatan aktivitas pembaharuan diri. Properti stemness pluripoten membentuk sirkuit regulator faktor transkripsi yang terdiri atas Oct4, Sox2 dan Nanog. Sirkuit regulator ini terintegrasi dengan faktor transkripsi lain yaitu Klf4 dan Ronin. Sisi lain faktor epigenetik Polycomb family G (PcG) dan faktor promosi diferensiasi Gata6 dan Cdx2 serta faktor soluble molecule BMP, LIF dan FGF ikut terlibat dalam regulasi stemness.

Secara sistematis faktor stemness pluripoten dibagi menjadi 4 kelompok utama, yaitu:

1. Faktor transkripsi pluripoten utama: 1. Oct4 2. Sox2 3. Nanog

Faktor transkripsi pluripoten penunjang: 1. Klf4 2. Ronin 2. Faktor epigenetik: Polycomb family G (PcG),

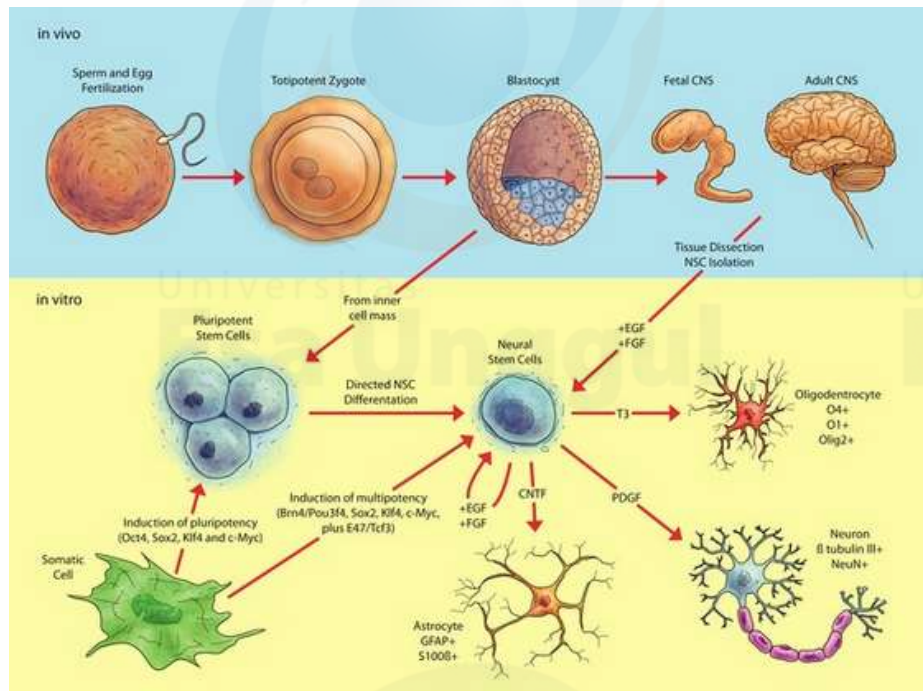
2. Faktor gen promosi diferensiasi : 1. Gata6 2. Cdx2

3. Faktor soluble molecule pluripoten utama: 1. BMP 2. LIF Basic Molecular Stem Cell 75 3. Wnt

Faktor soluble molecule pluripoten penunjang: 1. α 4-laminin

4. Faktor soluble molecule diferensiasi utama 1. FGF

Keterlibatan 4 faktor stemness dalam meregulasi pluripoten dijelaskan dalam gambar 25 dibawah ini.



Gambar 7.1 Stemness sel punca

Aktivasi faktor transkripsi utama Oct4, Sox2 dan Nanog membentuk sirkuit regulator untuk mempertahankan pluripoten, disamping mensupresi gen terkait promosi diferensiasi Gata6 dan Cdx2. Sisi lain faktor transkripsi lain Klf4 dan Ronin juga ikut mensupresi gen promosi diferensiasi. Faktor epigenetik juga ikut mempertahankan pluripotensi melalui pelepasan protein PcG, yang bersama dengan trithorax memodulasi ekspresi gen stemness melalui modifikasi histon. Sebaliknya aktivitas diferensiasi berjalan ketika Ronin dan Nanog di proteolisis (inaktif) oleh Caspase-3 dan atau paska stimulasi soluble molecule FGF yang mengaktivasi jalur proliferasi MAPK, sebaliknya stimulasi soluble molekul LIF dan BMP justru meningkatkan aktivitas pluripotensi.

3. Faktor transkripsi

3.1. Pengertian faktor transkripsi Faktor transkripsi stemness adalah protein Oct4, Sox2, Nanog, Klf4 yang berperan dalam mengontrol laju transkripsi genetik DNA ke mRNA dengan cara mengikat sekuens DNA tertentu terkait gen yang mempertahankan pluripoten, disamping mensupresi gen promosi diferensiasi.

3.2. Peran faktor transkripsi 1. Oct4 Oct4 adalah protein faktor transkripsi yang berperan penting dalam mempertahankan pluripoten sel punca embrionik dan sel punca dewasa. Ekspresi protein Oct4 meningkat pada inner cell mass embrionik, baik pada organogenesis *in vivo* atau dalam kultur *in vitro*.

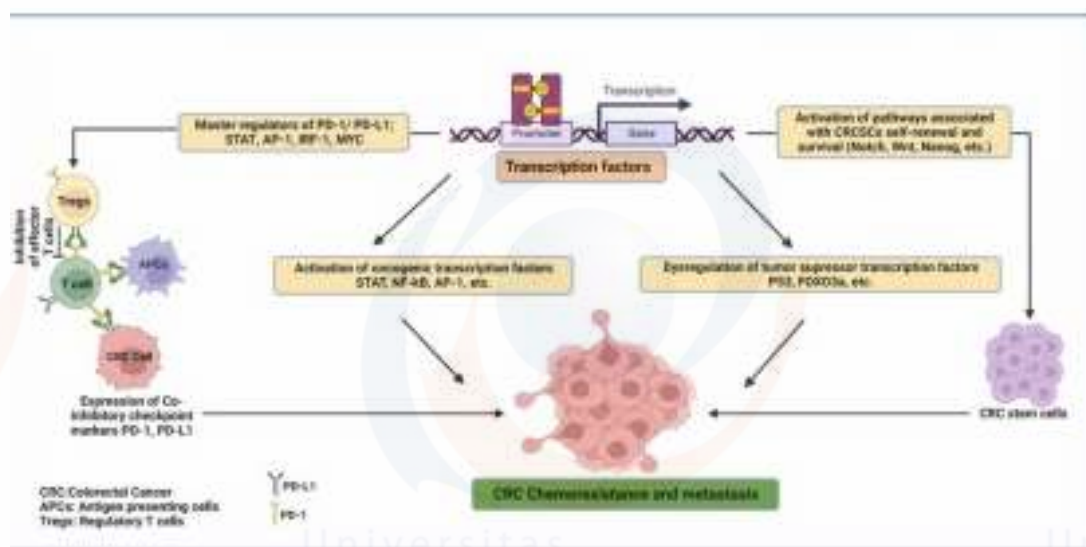
2. Sox2

Sox2 merupakan protein faktor transkripsi yang dibutuhkan dalam mempertahankan stemness sel punca pluripoten melalui kooperasi protein Oct4. Secara spesifik protein Sox2

mengaktivasi ekspresi sejumlah protein regulator pluripoten, termasuk Oct4 dan Nanog baik pada *in vivo* maupun *in vitro*.

3. Nanog

Nanog adalah protein faktor transkripsi yang juga dibutuhkan dalam mempertahankan keadaan pluripoten sel punca. Ekspresi Nanog secara berlebihan dapat memotong kebutuhan stemness akan LIF (studi *in vitro*), sehingga tetap mampu mempertahankan pluripotensi. Defisiensi Nanog menyebabkan sel punca cenderung berdiferensiasi spontan, meskipun demikian Nanog tidak mutlak diperlukan menjaga pluripotensi pada kondisi kultur yang baik. Peranan sirkuit regulator dan faktor transkripsi lain dalam mempertahankan stemness dijelaskan dalam gambar 7.2 dibawah ini.



Gambar 7.2 regulasi stemness dan transkripsi

Aktivasi faktor transkripsi pluripoten utama Oct4, Sox2, Nanog membentuk sirkuit regulator. Faktor transkripsi lain Ronin dan Klf4 mendorong sel punca mempertahankan stemness melalui aktivitas pembaharuan diri/proliferasi maupun signalling cell. Saat yang sama faktor transkripsi juga menghambat diferensiasi melalui PcG (proses epigenetik), disamping mensupresi gen promosi diferensiasi Gata6 dan Cdx2 lewat mekanisme sirkuit regulator faktor transkripsi 4. Ronin Faktor transkripsi Ronin juga mempertahankan pluripoten dengan cara mensupresi diferensiasi secara langsung melalui pengikatan dan supresi gen penginduksi diferensiasi Gata6 dan Cdx2.

Hal sebaliknya diferensiasi terjadi ketika Ronin dan Nanog diinaktivasikan secara proses proteolisis oleh Caspase-3. Ekspresi faktor transkripsi Ronin yang berlebihan juga dapat mempertahankan pluripotensi sekalipun tanpa dukungan LIF atau Oct4. 5. Klf4 Kruppel-like family of transcription factor (Klf4) adalah protein pengikat DNA yang berperan dalam meregulasi ekspresi gen sirkuit regulator utama stemness Oct4, Sox2, dan Nanog. Secara spesifik regulasi ini tergantung pada

area promotor dan atau korporasi faktor transkripsi lain.

Secara spesifik mekanisme molekuler Klf4 adalah:

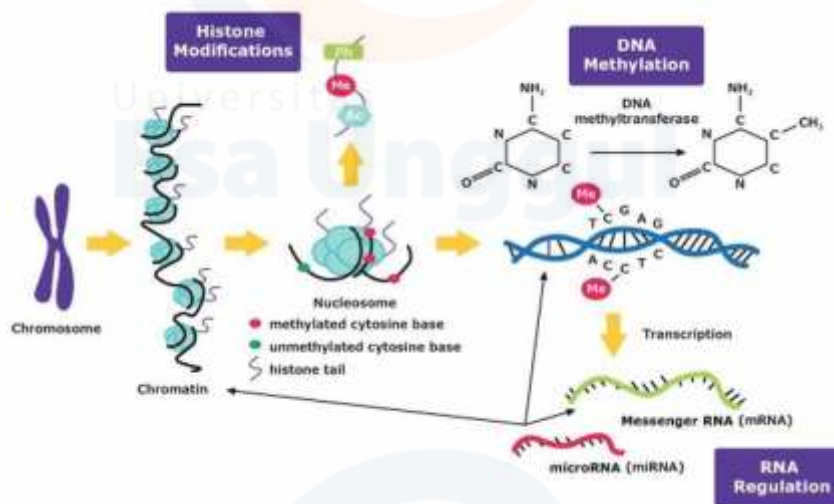
1. Mengaktifasi area promotor iNOS Hal ini berlangsung ketika terjadi koorporasi dengan Nf-kB
2. Mengaktifasi area promotor p21 Hal ini berlangsung ketika terjadi koorporasi dengan p53, yang berlanjut dengan aktifasi p21. p21 kemudian mensupresi cyclin D1 dan B1 sehingga siklus sel tertahan, sehingga menyebabkan hambatan proses proliferasi ke arah diferensiasi.

4. Epigenetik

Epigenetik merupakan proses yang terjadi diluar DNA namun mempengaruhi ekspresi dan aktivitas gen sehingga dapat menyebabkan perubahan fenotipe suatu sel baik karakter maupun morfologi. Hal ini dapat dipicu oleh perubahan niche (lingkungan mikroseluler) yang dramatis dan secara terus-menerus.

4.1 Pengertian epigenetik

Epigenetik adalah perubahan fenotip suatu sel yang diturunkan namun tanpa disertai perubahan sekuen DNA. Hal ini menunjukkan bahwa fenotip sel yang berubah bukan akibat perubahan sekuen gen, namun akibat proses diluar genetik. Perubahan fenotipe ini melibatkan metilisasi DNA, mikro-RNA, modifikasi histon, small/non-coding RNA, dan remodeling kromatin. Sekalipun demikian sekwen DNA tetap utuh (tidak berubah).



Gambar 7.3. Peristiwa Epigenetik pada berbagai komponen materi genetik

Perubahan fenotipe terjadi bukan didalam sekwen DNA, namun terjadi diluar DNA, baik melalui mikro-RNA, modifikasi histon, small/ non-coding RNA, dan remodeling kromatin.

4.2 Konsep molekuler epigenetik

Secara konseptual molekuler, proses epigenetik tidak terjadi pada sekuen DNA namun diluar DNA. Untuk memudahkan pembahasan mekanisme molekuler tiap proses epigenetik akan dibahas dalam sub-bab sendiri dibawah.

Sekalipun demikian secara garis besar konsep mekanisme molekuler epigenetik dibagi menjadi :

1. Modifikasi DNA post-translasi
2. Modifikasi histon,
3. Modifikasi struktur kromatin,
4. Non-coding RNA (micro-RNA)

Perubahan epigenetik terjadi diluar DNA melalui mekanisme : (1) Modifikasi DNA post-tranlasi yang berdampak pada proses replikasi, (2) Modifikasi histon yang berdampak pada proses regulasi transkripsi, (3) Remodeling kromatin yang berdampak pada proses packing kromatin dan (4) Non-coding RNA yang berpengaruh pada perbaikan DNA.

5. Modifikasi DNA

Modifikasi DNA post-translasi dapat terjadi baik secara asetilasi, deasetilasi, metilasi, maupun demetilasi terutama pada residu lisin.

5.1 Pengertian modifikasi DNA

Modifikasi DNA post-tranlasi adalah suatu proses dimana sekelompok gugus metil berikatan pada molekul DNA sehingga aktivitas segmen DNA berubah namun sekuen urutan DNA tetap. Proses ini dapat terjadi secara hipermetilasi untuk membuat gene silents atau dengan hipometilasi. Kedua hal ini menyebabkan ekspresi gen terganggu (tersupresi).

5.2 Mekanisme molekuler modifikasi DNA

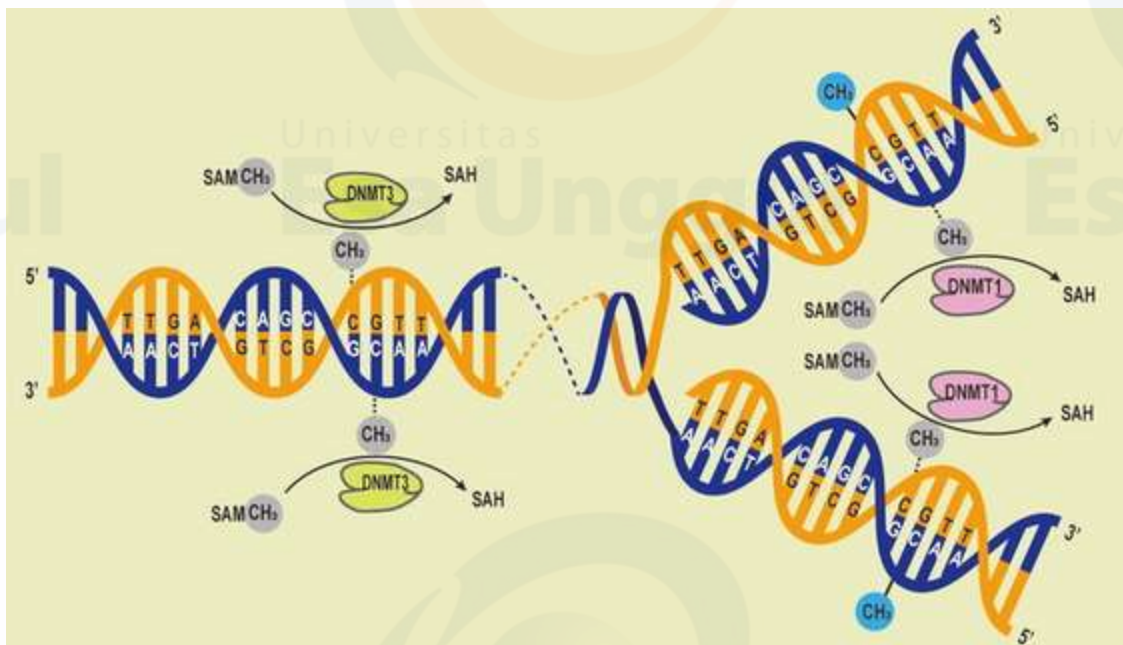
Secara spesifik mekanisme molekuler modifikasi DNA dapat terjadi secara metilasi pada area promotor genterutama pulau promotor CpG (sitosin). Metilasi pada area ini dapat mensupresi transkripsi, tergantung pada luas area metilasi dan seberapa besar metilasi pada sekuen DNA. Tahapan molekuler modifikasi DNA adalah sebagai berikut:

1. Proses membutuhkan DNA methyltransferase-1 (DNMT-1)
2. Terjadi pada area promoter gen (sitosin dinukleotida CpG)
3. Enzim DNMT-1 memfasilitasi pengikatan gugusan metil pada area promoter gen, berfungsi sebagai demetilasi DNA
4. Terjadi tambahan gugusan metil pada sekwen DNA sehingga terjadi hipermetilisasi
5. Fungsi transkripsi gen terganggu (tersupresi) Modifikasi DNA dijelaskan pada gambar dibawah ini.

DNMT melakukan dimetilasi DNA pada area sitosin dinukleotida CpG. Terjadi metilasi pada area promotor gen tersebut hingga hipermetilisasi yang berakibat pada supresi proses transkripsi.

5.3 Peran modifikasi DNA dalam studi dan klinis

Hasil penelitian melaporkan bahwa modifikasi DNA berperan dalam perkembangan sel, genomic imprinting, inaktivasi kromosom X, represi elemen transposable, penuaan dan karsinogenesis.



Gambar 7.3 Metilasi DNA

6. Modifikasi histon

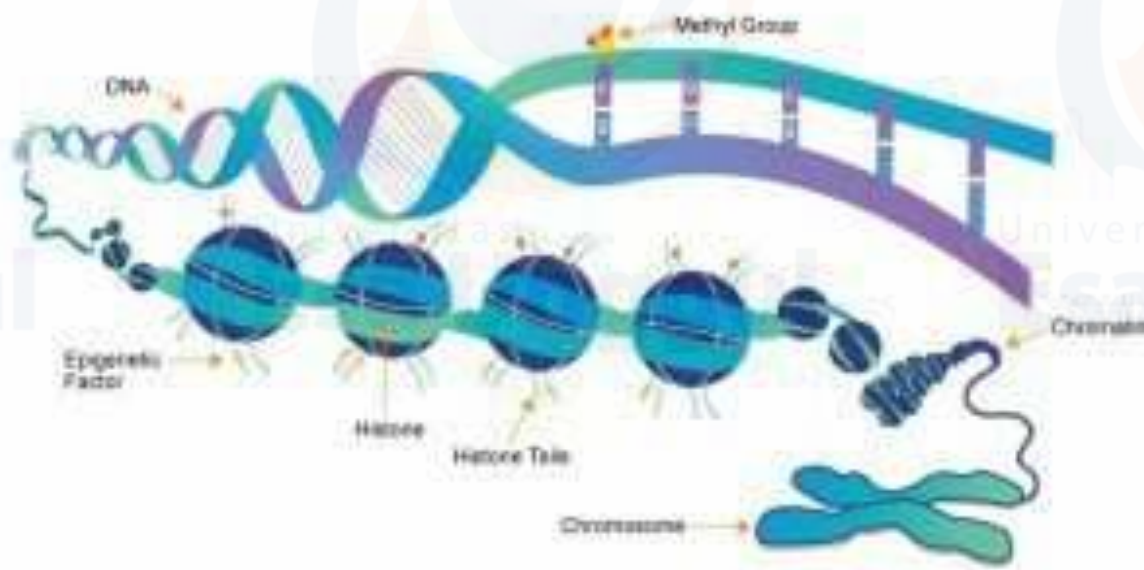
Modifikasi histon dapat menyebabkan aktivitas yang beragam mulai dari aktivasi atau inaktivasi transkripsi, kerusakan DNA, perbaikan DNA dan kromosom packing.

6.1 Pengertian histon

Histon adalah protein yang berperan dalam mengkondensasi atau memadatkan DNA sehingga dapat membungkus DNA ke dalam kromosom secara baik. Secara spesifik histon membungkus DNA menjadi struktur nukleosom sehingga molekul DNA dapat masuk ke dalam nukleus. Setiap nukleosom memiliki 2 sub unit, yang terdiri atas H2A, H2B, H3 dan H4.

6.2 Pengertian modifikasi histon

Modifikasi histon adalah proses post-translasi yang ikut menentukan ekspresi suatu gen. Proses modifikasi histon dengan cara merubah struktur kromatin atau memodifikasi histon. Modifikasi histon dapat terjadi secara metilasi histon dan asetilasi histon.



Gambar 7.4 Modifikasi histon

Modifikasi histon dapat terjadi secara metilisasi dan asetilasi. Metilisasi dapat menyebabkan heterokromatin, sedangkan asetilasi menyebabkan eukromatin.

6.3 Mekanisme molekuler modifikasi histon

Secara molekuler modifikasi histon terjadi secara:

1. Metilisasi histon Metilisasi histon terjadi dengan mentransfer gugusan 1-3 grup metil S-adenosyl-L-methionine pada residu arginin atau lisin dari protein histon menggunakan enzim histone methyl transferase (HMT)
2. Asetilasi histon Asetilasi histon terkait dengan struktur kromatin yang terbuka sehingga memungkinkan untuk mengakses protein faktor transkripsi yang berimplikasi pada peningkatan ekspresi gen. Asetilasi H3 sebagian besar terjadi pada area promotor terkait gen enhancer dan promotor. Enzim yang bertanggung jawab pada asetilasi ini adalah histon asetil transferase (HAT) dan histon deasetilase (meregulasi asetil histon tail).

7. Remodeling kromatin

Remodeling kromatin berperan sentral dalam meregulasi ekspresi gen dengan menyiapkan akses secara dinamik terhadap mesin transkripsi. Remodeling kromatin berperan sentral dalam berbagai proses biologis terutama pada perakitan dan pemisahan kromosom disamping replikasi DNA dan repair. Sisi lain remodeling kromatin juga berperan dalam pluripoten sel punca embrionik.

7.1 Pengertian remodeling kromatin

Remodeling kromatin adalah modifikasi dinamik dari arsitektur kromatin sehingga memungkinkan

mengakses DNA yang terkondensasi terutama area regulasi transkripsi sehingga mampu mengontrol ekspresi gen secara aktif.

7.2 Mekanisme molekuler remodeling kromatin

Secara prinsip molekuler remodeling kromatin terjadi secara:

1. Covalent histone modification Modifikasi histon kovalen menggunakan enzim HAT, Basic Molecular Stem Cell 84 deasetilasi dan metil transferase.
2. Komplek remodeling kromatin ATP dependent Pembentukan komplek ini dapat bergerak memasuki nucleosome atau rejeksi atau restrukturisasi nucleosome.

8. Non-coding RNA

Non-coding RNA adalah molekul RNA fungsional yang ditranskripsikan DNA namun tidak ditranslasikan menjadi protein. Non coding RNA berkontribusi dalam menginduksi berbagai penyakit kanker dan alzheimer.

Secara teoritis non-coding RNA dapat diklasifikasikan menjadi 3 bagian, yaitu :

1. MicroRNA (miRNA)
2. Short interfering RNA (siRNA)
3. Piwi-interacting RNA (piRNA)

8.1 MicroRNA

miRNA umumnya terikat pada target spesifik mRNA dengan suatu sekwen komplementer sebagai penginduksi terhadap pemotongan/ degradasi atau blok dari proses translasi protein. Hal ini merupakan mekanisme feedback yang melibatkan metilasi kromosom.

8.2 siRNA

Secara fungsional siRNA mirip dengan miRNA yaitu memediasi post-transcriptional gene silencing (PTGS) sebagai akibat dari proses degradasi mRNA. siRNA juga mampu menginduksi pembentukan heterochromatin melalui pembentukan kompleks RNA-induced transcriptional silencing (RITS) dan ketika mengikat siRNA akan mempromosi metilasi H3K9 dan kondensasi kromatin.

8.3 piRNA

piRNA dikenal karena interaksinya dengan family protein piwi. Fungsi primer molekul RNA ini adalah dalam regulasi kromatin dan supresi aktivitas transposon dalam sel somatik dan sel embrionik. Secara spesifik piRNA berperan sebagai anti-sense dalam mengekspresikan target transposon dan kemudian memotong transposon. Pemotongan ini menghasilkan piRNA tambahan yang kemudian mentarget dan memotong kembali transposon. Siklus ini terus menerus berulang hingga menghasilkan piRNA secara berlebihan yang dapat meningkatkan transposon silencing.

9. Peran faktor transkripsi dalam epigenetik

Faktor transkripsi pluripoten adalah master dalam aktivitas gen target pluripoten. Sekalipun demikian dalam realisasinya aktivitas faktor transkripsi ini ditentukan oleh aksesibilitas faktor

transkripsi tersebut terhadap gen target. Akses aksesibilitas gen target menjadi sulit atau sebaliknya sangat ditentukan oleh proses epigenetik baik melalui modifikasi DNA, modifikasi histon, remodeling kromatin dan atau non-coding RNA.

9.1 Peran faktor transkripsi dalam modifikasi histon

Protein faktor transkripsi dan atau protein faktor supresi direkrut untuk mengaktifkan atau mensupresi transkripsi sehingga berdampak pada ekspresi gen. Trimetilasi residu lisin-9 dan lisin-27 dari histone-H3 (H3K9 dan H3K27) memiliki fungsi representatif, sedangkan asetilasi H3K4me3 dan H3K9 (H3K9ac) dikaitkan dengan aktivasi gen

9.2 Peran faktor transkripsi dalam modifikasi DNA

Modifikasi DNA via metilisasi berakibat pada hipermetilisasi DNA. Keadaan ini menyebabkan proses transkripsi tersupresi yang berakibat pada ekspresi gen terganggu. Faktor transkripsi Sox2, Oct4, Nanog dan Klf4 berperan penting dalam melepas gugusan metil (demetilisasi) baik secara aktif maupun secara pasif pada sekwen DNA yang mengalami hipermetilisasi (modifikasi DNA).

Pemberian faktor transkripsi Sox2, Oct4 dan Klf4 pada area CpG single strand DNA yang mengalami hipermetilisasi menyebabkan gugusan metil terlepas (demetilisasi) secara pasif sehingga terjadi aktivasi transkripsi kembali. Pemberian faktor transkripsi pada area CpG double strand yang hipermetilisasi dapat menyebabkan demetilisasi secara aktif sehingga terjadi aktivasi transkripsi.

9.3 Peran PcG dalam pluripoten

Polycomb family (PcG) merupakan protein yang berperan dalam mensupresi gen diferensiasi dengan memodulasi ekspresi banyak gen terutama melalui modifikasi protein histon. Kompleks polycomb melakukan trimetilasi histone H3 pada lisin 27 (H3K27) kemudian membentuk kompleks yang mempromosi pepadatan kromatin. Protein trithox mencegah represi polycomb dengan metilisasi histone H3 di lisin 4 (H3K4) dan promosi transkripsi dengan merekrut enzim remodeling nukleosom dan asetilasi histon.

10. Gen promosi diferensiasi

Gata6 merupakan faktor transkripsi yang dibutuhkan dalam diferensiasi endoderm visceral. Gata6 diekspresikan di distal epitel pada perkembangan paru. Kehilangan Gata6 menyebabkan kehilangan kontrol dalam diferensiasi dan peningkatan sinyal Wnt, yang dapat menyebabkan tampilan jaringan seperti dewasa sebelum waktunya.

Secara spesifik gen promosi diferensiasi terdiri atas: 1. Cdx2 2. Gata4/6

10.1 Cdx2/

Cdx2 adalah protein faktor transkripsi yang dikode oleh gen Cdx2 yang berperan penting dalam promosi diferensiasi. Ekspresi Cdx2 dihambat oleh protein Grb2 pasca pengikatan reseptor growth factor (GF). Cdx2 diekspresikan dalam TE pada awal embrio sehingga menjadi penting dalam pembentukan TE yang benar. Cdx2 diasumsikan sebagai gen master diferensiasi untuk TE.

10.2 Gata 4/6

Gata4/6 adalah faktor transkripsi keluarga small family of zinc finger yang dikode oleh gen Gata6 dengan fungsi sebagai pemicu utama diferensiasi seluler melalui penghambatan faktor transkripsi Nanog dan mendorong pengikatan ligan FGF4 pada reseptor FGFR. Gata6 diekspresikan di awal embriogenesis dan mampu melokalisasi sel yang berasal dari endoderm dan mesoderm. Secara spesifik Gata6 berperan dalam meregulasi perkembangan gastrointestinal paru dan jantung. Gata6 diekspresikan di awal embriogenesis dengan fungsi memicu diferensiasi dengan menghambat faktor transkripsi Nanog pada nukleus. Sisi lain Gata6 juga mendorong pengikatan molekul ligan FGF pada reseptor FGFR sehingga terjadi aktivasi jalur MAPK.

11. Soluble molecule ekstraseluler

Soluble molecule adalah protein kecil terlarut air yang dilepas secara parakrin/ autokrin oleh berbagai sel/ komponen matriks sekitar dengan tujuan mempertahankan ekspresi berbagai protein faktor transkripsi stemness.

Secara sistematis dibagi menjadi: 1. BMP 2. LIF 3. Molekul α 4-laminin 4. FGF 5. Wnt

11.1 Molekul BMP

Bone morphogenetic protein (BMPs) adalah kelompok growth factor yang juga dapat berfungsi sebagai sitokin dan metabologen. Sekalipun demikian BMP pada awalnya diidentifikasi berdasarkan atas kemampuannya dalam menginduksi pembentukan tulang dan cartilage. Seiring dengan waktu BMP juga diketahui berperan sentral sebagai sinyal morphogenik dan ikut serta merancang perkembangan morfologi jaringan jantung, sistem syaraf dan kartilagea.

Sisi lain BMP berperan dalam menghambat jalur proliferasi MAPK (diferensiasi sel punca) melalui sinyal transduksi SMAD. Secara spesifik jalur sinyal BMP dimulai dengan pengikatan ligan molekul BMP pada reseptor BMPR, sehingga menimbulkan sinyal transduksi yang menyebabkan hambatan pada MAPK, sehingga mendorong aktifitas pembaharuan diri sel punca (stemness) Jalur molekul BMP dijelaskan pada gambar di bawah ini.

BMP merupakan soluble molecule yang mampu menghambat jalur MAPK (jalur diferensiasi sel punca) melalui aktivasi jalur SMAD.

11.2 LIF

LIF termasuk anggota famili sitokin IL-6, yang bekerja dengan mengikat reseptor heterodimerik (terdiri atas reseptor Lif dan gp130). LIF berperan dalam mensupresi jalur diferensiasi, sehingga dapat dikelompokkan dalam protein potensi stemness. Secara spesifik pengikatan LIF pada reseptor LIF-R sel embrionik akan mengaktivasi jalur kanonikal janus kinase signal transducer and activator of transcription (Jak/Stat) yang berakibat pada supresi MAPK (jalur diferensiasi) sehingga memperkuat sel embrionik dalam mempertahankan status pluripoten.

Secara spesifik target akhir STAT3 adalah gen c-Myc, disamping hambatan MAPK sehingga LIF meningkatkan aktivitas proliferasi MSC, disamping hambatan apoptosis (ketika strarvasi serum) dan hambatan diferensiasi kondrogenik dan adipogenik. Pemberian sitokine IL-6 dapat mempertahankan status stemness MSC. Lif menghambat jalur proliferasi MAPK via jalur STAT3, dengan target gen c-Myc dan Klf4 sehingga menghambat diferensiasi dan ikut mempertahankan status stemness (aktivitas pembaharuan diri)

11.2 Molekul α 4-laminin

α 4-laminin adalah molekul protein matriks ekstraseluler yang disekresi oleh komponen matriks ekstraseluler sekitar sel punca dengan fungsi untuk mempertahankan ekspresi berbagai faktor transkripsi stemness. α 4-laminin berperan dalam meregulasi stemness sel punca, termasuk MSC dengan cara meningkatkan aktivitas proliferasi dan menghambat diferensiasi menjadi sel osteoblast, kondrosit dan atau adiposit. Molekul ini ditemukan secara berlebihan dalam stromal sumsum tulang. Molekul α 4-laminin yang disintesis matriks ekstraseluler juga ikut meregulasi stemness sel punca dengan meningkatkan aktivitas proliferasi dan menghambat diferensiasi.

11.3 FGF

FGF adalah molekul growth factor (sub-famili FGF) yang disekresi sel aktif yang berperan sebagai mitogen poten dalam proliferasi dan diferensiasi. Molekul FGF bekerja dengan cara mengikat reseptor FGFR sel target yang mengandung heparin proteoglikan (afinitas tinggi molekul angiogenik), kemudian memicu kaskade transduksi sinyal yang berdampak pada banyak fungsi dan tipe sel mulai diferensiasi, proliferasi, mitogenik-angiogenesis, pluripoten, sehingga dikenal sebagai promiscuous growth factor. Secara spesifik ligan FGF mengikat reseptor FGFR, kemudian memicu kaskade transduksi sinyal MAPK, sehingga menyebabkan aktivitas proliferasi ke arah diferensiasi.

FGF termasuk soluble molecule yang berperan memicu proliferasi diferensiasi melalui jalur MAPK dan mTOR, sehingga aktifitas pembaharuan diri terhambat.

11.4 Wnt

Wnt merupakan molekul protein yang berperan penting dalam jalur sinyal proliferasi sel punca dan mampu mensupresi diferensiasi menjadi osteogenik. Hasil penelitian melaporkan bahwa jalur signaling Wnt terutama melalui Wnt3a, mempromosikan proliferasi MSC dan menekan diferensiasi menjadi osteogenik. Wnt dan α 4-laminin ikut mempengaruhi faktor transkripsi sel punca. Molekul protein matriks α 4-laminin yang disekresi komponen matriks sekitar sel punca juga ikut berperan dalam mempertahankan ekspresi berbagai faktor transkripsi stemness.

12. Faktor transkripsi dalam pluripot

Pluripoten merupakan upaya mempertahankan stabilitas pembaruan diri melalui pencegahan proses diferensiasi dan peningkatan aktivitas proliferasi. Upaya ini melibatkan protein faktor transkripsi Oct3/4, Sox2 dan Nanog. Pluripoten memungkinkan mempertahankan tingkat ekspresi berbagai gen yang terlibat dalam aktivitas stemness secara stabil.

12.1 Pengertian potensi pluripoten

Secara spesifik potensi pluripoten sel embrionik adalah kemampuan sel punca embrionik dalam mempertahankan aktivitas pembaharuan diri pada sel turunannya dengan cara mendorong sel embrionik tersebut memasuki jalur proliferasi, namun mencegah menjalani proses diferensiasi. Gambar 38. Konsep pluripoten Pluripoten dipertahankan dengan cara menghambat diferensiasi dan mendorong proliferasi sehingga meningkatkan pembaharuan diri.

12.2 Peran Oct3/4 dalam pluripoten

Oct3/4 sebagai faktor transkripsi famili POU (homeodomain) yang dikodekan Pou5f1. Ekspresi Oct3/4 wildtype kurang dari 50% akan mendorong sel embrionik berdiferensiasi menjadi TE, sedangkan meningkatkan ekspresi hingga 150% atau lebih justru memicu diferensiasi menjadi PrE like cells. Oleh karena itu, untuk mempertahankan aktivitas pluripotensi maka kadar ekspresi Oct3/4 wild type antara 50%- 150%.

Secara spesifik peranan Oct3/4 dalam pluripoten adalah :

1. Fase awal blastocyst : Oct3/4 meningkatkan ekspresi Cdx2 Tahap blastocyst organogenesis menghasilkan 2 bagian, yaitu lapisan luar yang berkembang menjadi trofektoderm (TE) sementara lapisan dalam membentuk inner mass cell (IMC) yang berisi sel embrionik pluripoten. Oct3/4 diekspresikan secara berlebihan oleh sel primitif endoderm (PrE), yaitu hasil pembentukan IMC tahap akhir blastocyst namun tidak dalam TE. Supresi Oct3/4 akan meningkatkan ekspresi Cdx2 (pemicu diferensiasi trofektoderm) sehingga sel embrionik berdiferensiasi sepanjang garis turunan trofektodermal.
2. Fase akhir blastocyst: Oct 3/4 mempertahankan pluripoten dan mencegah diferensiasi Secara spesifik Oct3/4 berperan sebagai penjaga gerbang sel embrionik (gatekeeper) dalam:
 - 1) Mempertahankan potensi pluripoten Oct 3/4 yang diekspresikan di fase akhir blastocyst berfungsi mendorong sel pluripoten berdiferensiasi menjadi sel primitif endoderm-like. Over ekspresi Oct3/4 menyebabkan supresi ekspresi Cdx2, sehingga mencegah diferensiasi.
 - 2) Mencegah diferensiasi trofektoderm Oct3/4 berinteraksi langsung pada Cdx2, membentuk kompleks repressor (penekan) yang mengganggu autoregulasi protein sehingga menimbulkan reciprocal inhibition system (pengaturan fungsi timbal balik). Interaksi ini secara spesifik menginhibisi Cdx2 sehingga menghambat proses diferensiasi trofektoderm.

12.3 Peran Oct3/4 dalam proses epigenetik

Secara spesifik protein faktor transkripsi Oct3/4 berperan dalam meregulasi modifikasi histon (histone demethylase) gen *Jmjd1a* yaitu domain jumonji yang mengandung 1A dan *Jmjd2c*, yang pada gilirannya akan mengatur ekspresi gen *Tcl1* dan *Nanog*, sehingga berkontribusi pada proliferasi sel dan stabilisasi pluripoten.

12.4 Peran Sox2 dalam pluripoten Sox2 menempati posisi penting dalam mempertahankan pluripotensi jaringan embrionik. Sox2 bekerja sama dengan Oct3/4 dalam mengaktifkan gen target Oct3/4. Sel embrionik yang mengandung situs pengikatan Oct3/4 dan Sox2 diidentifikasi dalam beberapa gen, diantaranya *Fgf4*, *osteopontin*, *Utf1*, *Fbxo15*, *Nanog* dan *Lefty1*.

Secara spesifik peran Sox2 dalam pluripoten adalah :

1. Fase awal blastocyst: Sox2 mempertahankan pluripoten Sox2 diekspresikan dalam sel germinal, ICM embrio awal, dan jaringan saraf. knockout Sox2 diawal embrio, seperti halnya Oct3/4 maka potensi pluripoten menjadi hilang pada tahap ICM. Embrio Sox2-null segera mati setelah implantasi dan knockdown Sox2.
2. Sox2 dalam pertahankan pluripoten dan mencegah diferensiasi Sox2 sangat penting dalam mempertahankan pluripoten. Sox2 bersama Oct3/4 berikatan pada regio enhancer gen *Fgf4* yang secara khusus diekspresikan dalam sel embrionik pluripoten. Oct4 dan Sox2 berperan secara kooperatif untuk mengikat DNA pada situs komposit Oct-Sox. Sox2 berperan dalam pembaharui diri tidak hanya pengikatan global enhancer komposit Oct/Sox, tetapi lebih pada pengontrolan terhadap ekspresi faktor transkripsi seperti *Nr2f2* dan *Nr5a2* yang mengatur ekspresi Oct4.

12.5 Peran Nanog dalam pluripoten

Nanog adalah faktor transkripsi homeobox NK-2 kelas yang diekspresikan oleh seluruh sel pluripotent ICM. Ekspresi Nanog sebagian diatur oleh Oct3/4 dan Sox2, anggota keluarga Sox (kotak HMG terkait SRY). Nanog awalnya diidentifikasi sebagai regulator utama pluripoten karena ketika diekspresikan berlebihan mampu memperbarui diri secara mandiri (tidak tergantung LIF). Secara spesifik peranan Nanog dalam pluripotensi adalah :

1. Nanog mempertahankan pluripoten dan mencegah diferensiasi

Nanog sebagai penjaga gerbang untuk mencegah sel embrionik berdiferensiasi menjadi endoderm primitif. Nanog juga memblokir diferensiasi neuron akibat pembuangan protein bone morphogenetic (BMP) dan LIF dari kultur bebas serum. Nanog merupakan kandidat baik pluripoten dengan menekan Gata-6. Sel embrionik dengan Nanog-null akan mudah berdiferensiasi menjadi sel endoderm like parietal positif Gata6.

2. Nanog dalam LIF

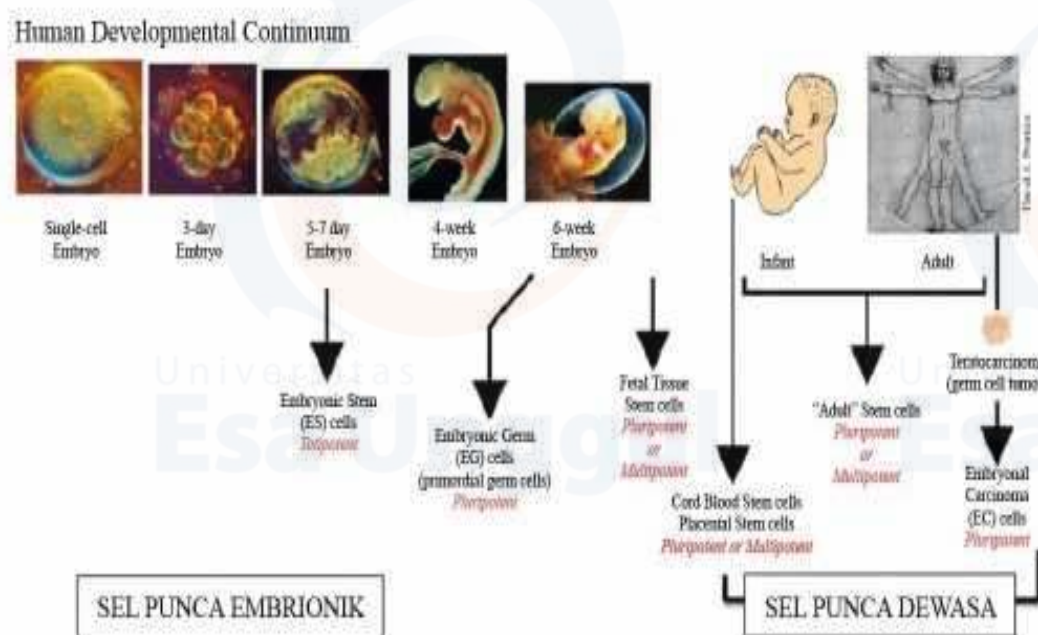
Ekspresi Nanog yang berlebihan dapat mempertahankan pluripoten meskipun tanpa LIF. Ekspresi Nanog sintetik dapat memblokir diferensiasi sel embrionik menjadi sel endoderm

primitif (diinduksi penarikan LIF) atau pembentukan tubuh embrioid (EB), yaitu struktur seperti bola yang terbentuk oleh sel embrionik dalam kultur (meniru tahap embriogenesis silinder-telur). Nanog juga mampu membalikkan mesoderm spesifik dengan mengkode faktor transkripsi T-box mesoderm spesifik. Faktor ini secara langsung mengaktifkan ekspresi Nanog, menunjukkan bahwa umpan balik negatif terlibat dalam keseimbangan antara pembaruan diri dan diferensiasi mesodermal.

3. Nanog dalam reprogramming

Nanog berperan dalam reprogramming dengan meningkatkan efisiensi proses reprogramming nukleus sel somatik mejadi sel embrionik pluripoten. Sel hibrid yang terbentuk dalam reprogramming adalah akibat fusi antara sel embrionik dan somatik paska pemberian Nanog, terutama dengan kombinasi Oct4, Sox2 dan lin28.

SEL PUNCA / STEM CELL



Gambar 7.5. Pluripotensi sel punca embrionik

Penghambatan aktivitas Stat3 dan ekspresi berlebih dari Oct3/4 menstimulasi sel embrionik berdiferensiasi menjadi sel primitif endoderm like. Ini didukung oleh bukti bahwa 'efek overdosis' Oct3/4 pada diferensiasi sel embrionik tidak memerlukan aktivitas pengikatan DNA Oct3/4. Gen target dari kompleks khusus ini biasanya akan mencegah sel embrionik berdiferensiasi menjadi endoderm primitif dengan menekan faktor pemicu, Gata6.

13. Reprogramming

Berbagai teori ontogenesis sebelumnya menyebutkan bahwa nasib suatu sel yang menjalani program diferensiasi adalah searah dan bersifat ireversibel. Hal ini menunjukkan bahwa arah diferensiasi terjadi secara hierarki adalah searah, yaitu dimulai dari sel punca terus ke sel progenitor yang berakhir dengan sel matur dan tidak dapat terjadi sebaliknya. Dogma ini berubah sejak diduplikasinya sel punca embrionik yang berasal dari sel matur oleh Tuan Yamanaka dengan cara menginduksi faktor transkripsi Oct4, Sox2, Klf4 dan cmyc, OSKM. Secara spesifik aktivasi faktor transkripsi mampu mengubah fenotip sel matur kembali menjadi embrionik dengan mengikatkan ekspresi gen pembaharuan diri dan supresi gen promosi diferensiasi. Faktor transkripsi ini berperan penting dalam menjaga potensi stemness suatu sel punca. Reprogramming dijelaskan dalam gambar dibawah ini.

Reprogramming yang dilakukan dengan menginduksi sel matur menjadi sel matur lain (memicu potensi berdiferensiasi) disebut dengan transdiferensiasi. Reprogramming yang dilakukan dengan mengubah sel matur menjadi sel punca embrionik disebut iPS.

13.1 Pengertian reprogramming

Reprogramming (program ulang) adalah upaya mengubah kembali fenotip dan genotip suatu sel terdiferensiasi (matur) menjadi bentuk imatur yaitu sel embrionik pluripoten. Fenotip yang berubah adalah ukuran, bentuk, potensi membran, aktivitas metabolik hingga respon terhadap sinyal. Perubahan fenotip sebagian besar akibat proses modifikasi post-tranlasi/modifikasi terkontrol (proses epigenetik) terhadap ekspresi gen. Proses reprogramming memakan waktu sedangkan transdiferensiasi lebih cepat dan efisien. Reprogramming menggunakan faktor transkripsi Oct4, Sox2, Klf4 dan c-myc (OSKM) dalam mengubah sel fibroblas matur menjadi sel punca embrionik pluripotent, dikenal sebagai induce pluripotent stem cell (iPS).

Peneliti lain mengganti c-Myc dan Klf4 dengan Nanog dan Lin28. Beberapa protokol kemudian dibuat menggunakan dua atau tiga faktor transkripsi atau dengan penambahan small soluble molecule. Semua metode tersebut memiliki efisiensi reprogramming yang berbeda yaitu antara 0,00001 - 1% .

13.2 Pengertian plastisitas sel

Plastisitas sel adalah kemampuan suatu sel untuk merubah nasibnya. Pendekatan ini dengan cara mengintroduksi gen Oct4, Sox2, Klf4 dan c-myc (OSKM) ke dalam sel fibroblast matur melalui infeksi sehingga sel matur tersebut direprogram kembali menjadi sel dengan status pluripoten. Sekalipun demikian sel ini juga dapat dilakukan proses diferensiasi kembali yaitu menjadi berbagai sel matur (sel lapisan germinal). Peristiwa plastisitas sel biasanya diikuti dengan diferensiasi menjadi sel matur, sehingga merupakan bagian dari proses transdiferensiasi.

13.3 Teknik reprogramming

Teknik reprogramming memungkinkan mengubah kembali fenotip dan genotip sel terdiferensiasi (matur) menjadi bentuk yang sebelumnya dan bahkan dapat diubah menjadi sel punca. Transdiferensiasi tidak membawa resiko tinggi dalam karsinogenesis dibandingkan program reprogramming. Hal ini disebabkan karena perubahan langsung sel ke sel tidak memerlukan waktu seperti dalam teknik introduksi faktor transkripsi, dimana terjadi status pluripoten intermediate dan seterusnya sehingga berpotensi tumorigenik.

Sel transdiferensiasi umumnya dikultur invitro dalam waktu yang lebih pendek daripada sel iPS, oleh karena itu peluang akumulasi untuk mutasi genetik kecil. Serupa dengan reprogramming, dalam transdiferensiasi dimana induksi terjadi terutama dengan penginduksian transgen. Gen ini biasanya merupakan faktor transkripsi yang menentukan nasib dari sel target.

Secara sistematis teknik ini dibagi menjadi 4 yaitu:

1. Introduksi faktor transkripsi reprogramming : iPS
2. Somatic cell nuclear transfer (SCNT)
3. Cell fusion
4. Transdiferensiasi

14. Introduksi faktor transkripsi (iPS)

Pendekatan reprogramming ini dilakukan dengan cara menggunakan virus integrasi atau non virus integrasi. Pendekatan virus integrasi dilakukan dengan cara mengintroduksi 4 protein faktor transkripsi secara injeksi yaitu: Oct4, Sox2, Klf4 dan c-myc (hasil temuan Mr Yamanaka) sebagai faktor reprogramming ke dalam sel fibroblast murin sehingga sel tersebut direprogram kembali menjadi sel punca pluripoten. Protein tersebut sekarang telah dibuat dalam bentuk cocktail OSKM. Peneliti lain mengganti 2 molekul terakhir dengan Nanog dan Lin untuk menyempurnakan fungsi.

Kelemahan reprogramming iPS adalah memunculkan tumor teratoma ketika sel iPS ini ditransplantasikan pada mencit dengan defisiensi imun. Oleh karena itu harus dipastikan ketika yang akan ditransplantasikan adalah sel iPS, maka dipastikan bahwa sel matur tersebut telah homogen dan tidak terkontaminasi dengan sisa turunan iPS dan tidak terjadi reaktivasi transgen yang dapat memicu tumorigenik.

iPS sebagai sel punca embrionik pluripoten hasil induksi sel somatik (fibroblas matur) oleh faktor transkripsi Oct3/4, Klf4, Sox2 dan c-Myc via lentivirus. Secara spesifik proses dimulai dengan pemberian c-Myc, kemudian Oct3/4 lalu Klf4 dan akhirnya Sox2. Sisi lain kekurangan Klf4 akan membuat sel tersebut menjadi senescence dan apoptosis

15. Somatic cell nuclear transfer (SCNT)

SCNT, dikenal sebagai "kloning" yaitu suatu teknik pentransferan nukleus sel somatik ke dalam oosit yang tidak dibuahi dan enukleasi (nukleus oosit telah dibuang), yang kemudian

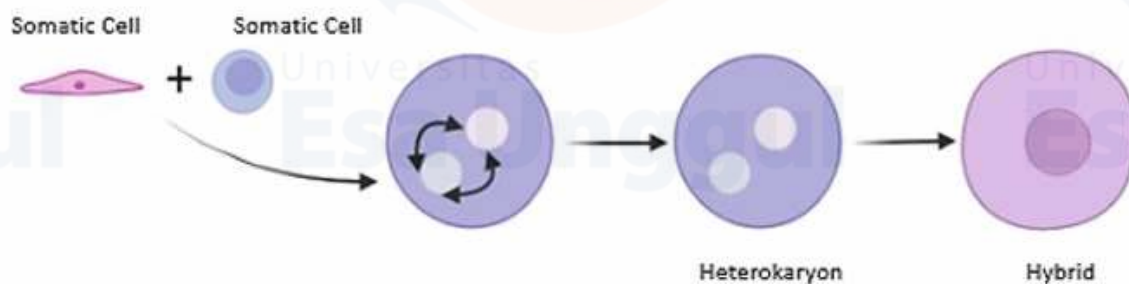
lingkungan sitoplasma oosit melakukan reprogramming (program ulang) terhadap nukleus sel somatik baru yang ditransfer sehingga terjadi aktivasi berbagai jalur pengembangan embrio.

SCNT merupakan pembuatan artifisial embrio dengan cara mentransfer nukleus somatik pada sel telur yang telah dilakukan enukleasi (pembuangan inti), sehingga terjadi integrasi dan pembentukan embrio baru. SCNT dikenal dengan teknik kloning.

16. Cell fusion

Cell fusion adalah suatu keadaan dimana sel somatik dipadukan dengan sel punca embrionik dan memaparkannya pada lingkungan reprogramming (program ulang). Metode ini menggunakan sel murine dan manusia. Metode alternatif untuk menginduksi fusi sel termasuk elektrofusi dan fusi yang disebabkan oleh virus Sendai. Kedua metode ini telah menunjukkan harapan, meskipun studi komparatif menemukan PEG sebagai penginduksi fusi superior karena dapat dicapai menggunakan sel induk embrionik manusia, tanpa kebutuhan khusus untuk oosit, itu membuat fusi sel memprogram ulang alternatif yang praktis dan etis menarik untuk aplikasi obat regeneratif. Namun, setelah fusi, sel hibrid yang dihasilkan mengandung bahan asam nukleat dari sel somatik dan sel induk embrionik yang digunakan. Karena faktor nuklir kemungkinan terlibat dalam proses pemrograman ulang oleh fusi sel, pengangkatan sel punca.

Fusi sel dijelaskan pada gambar dibawah ini.



Gambar 7.6 Fusi sel

Fusi sel merupakan hasil dari perpaduan antar dua sel yang berbeda, termasuk sel punca dengan sel target yang menghasilkan sel baru sebagai chimera.

17. Transdiferensiasi

Upaya lain dalam menghasilkan tipe sel terdiferensiasi adalah menggunakan transdiferensiasi. Penyuntikan satu cDNA dapat merubah fibroblas menjadi mioblas. Sebagaimana reprogramming,

karakteristik vektor untuk mengeskpresikan transgen juga dapat memicu kanker akibat mutasi insersi atau reaktivasi transgen in-vivo. Sebagai alternatif untuk menurunkan resiko kanker maka penghantaran gen menggunakan non-virus integrasi, diantaranya vektor excisable dan vektor episomeal. Transdiferensiasi melibatkan proses epigenetik dan oleh karena itu mungkin mengalami abnormalitas epigenetik yang sama, sehingga menjadi predisposisi sel membentuk tumor. Teknik transdiferensiasi lebih dahulu dideskripsikan namun kini reprogramming lebih banyak dikembangkan.

17.1 Pengertian transdiferensiasi

Transdiferensiasi adalah kemampuan sel punca untuk mengubah sel yang telah terdiferensiasi sebelumnya menjadi bentuk sel yang lebih spesifik. Hal ini dimungkinkan karena sel punca memiliki kemampuan berintegrasi dan mengubah fenotipe sel yang telah terdiferensiasi sebelumnya. Sebagai contoh sel pankreas dapat berubah menjadi sel liver atau sel- α (eksokrin) pankreas menjadi sel- β dengan mengintroduksi 3 faktor transkripsi pada perkembangan embrionik pankreas. Transdiferensiasi juga dilakukan pada human fibroblast menjadi sel kardiak dan human fibroblas menjadi sel korneal limbus.

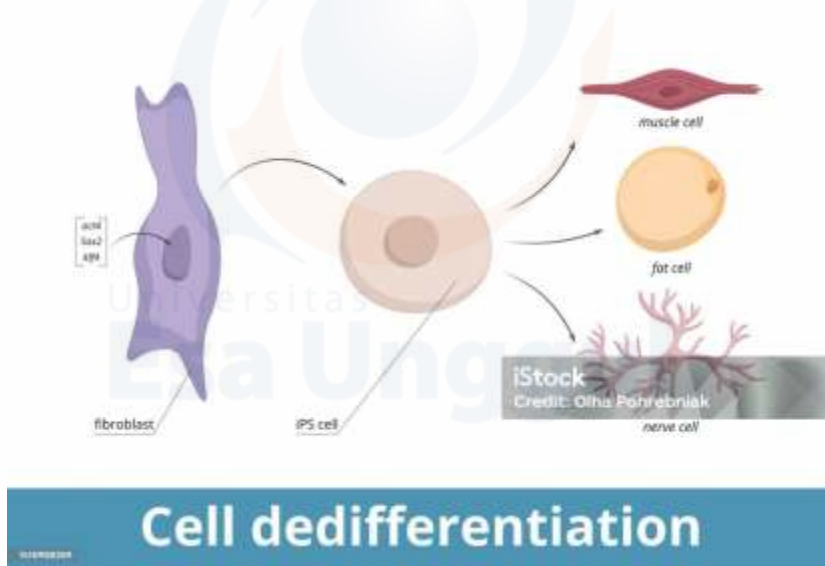
Sel punca memiliki kemampuan mengubah sel yang telah terdiferensiasi menjadi sel bentuk lain yang dikenal sebagai transdiferensiasi. Contohnya merubah sel eksokrin menjadi sel beta pankreas.

17.2 Tahapan transdiferensiasi

Beberapa protokol transdiferensiasi meliputi langkah dediferensiasi, namun sel ini tidak dapat kembali menjadi pluripoten, oleh karena itu potensi pembentukan tumor pada transdiferensiasi adalah rendah. Proses transdiferensiasi dalam banyak kasus terjadi dalam satu langkah, namun pada kasus lain juga dapat melalui status intermediate. Sebagai contoh adalah sebelum sel B lengkap transdiferensiasi menjadi sel makrofag maka sel ini mengekspresikan kedua gen spesifik yaitu sel B dan makrofag dalam konsentrasi rendah. Hal lain juga terjadi status dediferensiasi selama proses transdiferensiasi, namun hal ini tidak natural dan tidak stabil terutama Basic Molecular Stem Cell 105 saat dikultur status dediferensiasi akan hilang. Berbeda dengan sel iPS yang dapat dikultur tanpa kehilangan potensi pluripotensi.

18. Dediferensiasi

Dediferensiasi adalah suatu proses dimana sebagian atau seluruh sel yang telah terdiferensiasi mengalami kehilangan properti dan karakteristik diferensiasi sehingga sel matur tersebut kembali ke status sebelumnya yang kurang/ belum terdiferensiasi dan bahkan dapat kembali menjadi sel punca kembali. Dediferensiasi dijelaskan pada gambar dibawah ini.



Gambar 7.7 Dedifirensiasi sel

Dedifirensiasi merupakan sel yang kehilangan kemampuan diferensiasi akibat stimulasi sinyal Ras dan pRB.

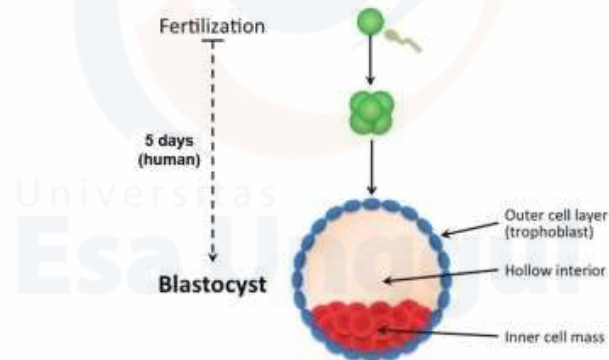
BAB 8. DIFFERENSIASI SEL PUNCA DARI BAGIAN LAPISAN MESODERM EMBRIONAL

1. PENDAHULUAN

Sel punca yang berasal dari lapisan mesoderm embrional dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, termasuk sel-sel yang membentuk jaringan otot, tulang, dan sistem peredaran darah. Proses ini penting untuk pembentukan organ dan jaringan dalam tubuh. Sel punca mesodermal, yang berasal dari lapisan mesoderm embrional, memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel yang penting untuk pembentukan berbagai jaringan dan organ dalam tubuh.

Berikut adalah beberapa jenis sel yang dapat dihasilkan dari sel punca mesodermal antara lain, sel otot (myocytes), sel tulang (osteocytes), sel darah (hematopoietic cells), sel endotel (endothelial cells), dan sel adiposa (adipocytes). Sel punca mesodermal dapat berdiferensiasi menjadi sel otot, termasuk otot rangka, otot jantung, dan otot polos. Sel-sel ini berperan dalam pergerakan tubuh dan fungsi organ. Sel punca mesodermal juga dapat berkembang menjadi sel-sel tulang, yang berfungsi dalam pembentukan dan pemeliharaan jaringan tulang. Sel punca ini dapat berdiferensiasi menjadi sel kartilago, yang membentuk jaringan elastis dan fleksibel, seperti yang ditemukan di sendi dan saluran pernapasan. Sel punca mesodermal dapat berkontribusi pada pembentukan sel-sel darah, termasuk sel darah merah, sel darah putih, dan trombosit, yang penting untuk sistem peredaran darah dan sistem kekebalan tubuh. Sel-sel endotelial membentuk lapisan yang melapisi pembuluh darah dan berperan dalam regulasi aliran darah serta pertukaran zat antara darah dan jaringan. Sel punca mesodermal juga dapat berdiferensiasi menjadi sel-sel lemak, yang berfungsi dalam penyimpanan energi dan isolasi termal.

Proses diferensiasi sel embrional ini dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk sinyal molekuler dan lingkungan mikro di sekitar sel punca. Penelitian tentang sel punca mesodermal memiliki potensi besar dalam bidang terapi regeneratif dan pengobatan berbagai penyakit, karena kemampuan mereka untuk memperbaiki atau mengganti jaringan yang rusak.



2. Embriogenesis

Embriogenesis adalah proses perkembangan embrio dari fertilisasi hingga pembentukan struktur dasar tubuh. Proses ini melibatkan beberapa tahapan yang penting, yang secara umum dapat dibagi menjadi beberapa fase utama.

1. Fertilization (Fertilisasi):

Adalah proses bertemunya sel sperma dan sel telur untuk membentuk zigot. Zigot ini adalah sel tunggal yang mengandung materi genetik dari kedua orang tua.

2. Cleavage (Pembelahan):

Setelah fertilisasi, zigot mulai membelah secara mitosis tanpa pertumbuhan yang signifikan, menghasilkan serangkaian sel yang lebih kecil yang disebut blastomer. Proses ini berlangsung hingga zigot menjadi morula (sekumpulan sel padat).

3. Blastulation (Pembentukan Blastula):

Morula berkembang menjadi blastula, yang merupakan struktur berongga yang terdiri dari lapisan sel yang disebut blastoderm dan rongga yang disebut blastocoel. Pada tahap ini, sel-sel mulai mengatur diri menjadi lapisan-lapisan yang berbeda.

4. Gastrulation (Gastrulasi):

Proses di mana blastula mengalami reorganisasi untuk membentuk tiga lapisan germinal: ectoderm, mesoderm, dan endoderm. Gastrulasi adalah tahap kunci yang menentukan jenis jaringan dan organ yang akan terbentuk.

5. Neurulation (Neurulasi):

Proses di mana lapisan ectoderm membentuk sistem saraf. Ini termasuk pembentukan tabung saraf, yang akan berkembang menjadi otak dan sumsum tulang belakang.

6. Organogenesis (Organogenesis):

Tahap di mana lapisan germinal mulai berdiferensiasi menjadi organ dan sistem organ. Setiap lapisan germinal berkontribusi pada pembentukan struktur tubuh yang berbeda. Lapisan Ectoderm akan menjadi Kulit, sistem saraf, dan organ sensorik. Lapisan mesoderm akan

berdiferensiasi menjadi : Otot, tulang, sistem peredaran darah, dan organ reproduksi. Lapisan Endoderm akan menjadi saluran pencernaan, hati, pankreas, dan sistem pernapasan.

7. **Fetogenesis (Fetogenesis):**

Setelah organogenesis, embrio berkembang menjadi fetus. Pada tahap ini, organ-organ yang telah terbentuk mulai matang dan berfungsi. Fase ini berlangsung hingga kelahiran.

8. **Kelahiran:**

Proses akhir dari embriogenesis, di mana fetus dilahirkan dan mulai berfungsi secara independen di luar rahim.



Gambar 8.2 Tahapan proses embriogenesis dari mulai fertilisasi, cleavage, organogenesis hingga proses kelahiran

Setiap tahapan embriogenesis sangat penting dan terkoordinasi dengan baik untuk memastikan perkembangan yang normal dan sehat dari individu. Gangguan pada salah satu tahap ini dapat menyebabkan kelainan perkembangan atau keguguran.

3. **Organogenesis**

Organogenesis adalah tahap dalam perkembangan embrio di mana lapisan germinal yang terbentuk selama gastrulasi mulai berdiferensiasi menjadi organ dan sistem organ. Proses ini sangat penting karena menentukan struktur dan fungsi berbagai bagian tubuh. Organogenesis terjadi setelah gastrulasi dan berlangsung hingga akhir perkembangan embrio, sebelum memasuki fase fetogenesis.

Proses Organogenesis

Organogenesis melibatkan beberapa langkah dan proses yang kompleks, yaitu diferensiasi sel dan pembentukan struktur dasar. Proses diferensiasi sel adalah proses diferensiasi sel-sel dari tiga lapisan germinal (ektoderm, mesoderm, dan endoderm) sel spesifik yang akan membentuk berbagai organ. Proses ini dipengaruhi oleh faktor-faktor genetik dan lingkungan.

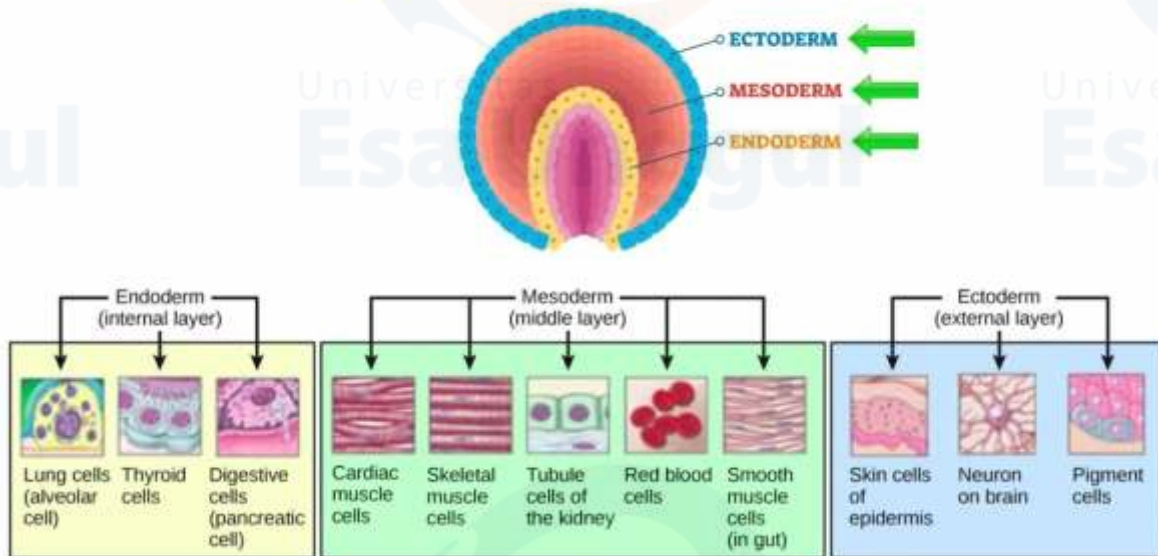
Setiap lapisan germinal berkontribusi pada pembentukan organ tertentu: Lapisan Ektoderm akan berkontribusi pada pembentukan sistem saraf (otak dan sumsum tulang belakang), kulit, dan organ sensorik (seperti mata dan telinga). Lapisan mesoderm: Berkontribusi pada pembentukan otot, tulang, sistem peredaran darah (jantung dan pembuluh darah), ginjal, dan organ reproduksi. Lapisan endoderm akan berkontribusi pada pembentukan saluran pencernaan, hati, pankreas, dan sistem pernapasan (paru-paru).

Pada embrio terjadi proses morfogenesis yaitu proses di mana sel-sel yang telah berdiferensiasi mulai mengatur diri dan membentuk struktur tiga dimensi yang lebih kompleks. Ini termasuk pembentukan lumen (rongga) dalam organ, pengaturan bentuk, dan pengembangan jaringan. Pada proses embryogenesis terjadi interaksi sel yaitu sel-sel dalam jaringan yang sedang berkembang berinteraksi satu sama lain melalui sinyal kimia dan mekanis, yang membantu mengarahkan diferensiasi dan morfogenesis. Interaksi ini penting untuk memastikan bahwa organ yang terbentuk memiliki struktur dan fungsi yang tepat.

Pembentukan Sistem Organ, selama organogenesis, berbagai organ dan sistem organ mulai terbentuk dan berfungsi. Misalnya, jantung mulai berdetak, dan sistem saraf mulai mengembangkan koneksi. Contoh Organogenesis, Pembentukan Jantung: Jantung mulai terbentuk dari mesoderm dan mengalami proses pembentukan tabung jantung yang kemudian membentuk bilik-bilik jantung. Pembentukan Paru-paru: Paru-paru berasal dari endoderm dan berkembang melalui pembentukan struktur yang disebut divertikulum paru, yang kemudian membentuk bronkus dan alveoli. Pembentukan Sistem Saraf: Tabung saraf yang terbentuk dari ektoderm akan berkembang menjadi otak dan sumsum tulang belakang, serta jaringan saraf perifer.

Organogenesis adalah tahap kritis dalam perkembangan embrio karena kelainan atau gangguan selama proses ini dapat menyebabkan cacat lahir atau kelainan perkembangan. Memahami proses organogenesis juga penting dalam bidang kedokteran regeneratif dan terapi sel punca, di mana pengetahuan tentang bagaimana organ dan jaringan terbentuk dapat digunakan untuk mengembangkan strategi untuk memperbaiki atau mengganti jaringan yang rusak.

Organogenesis



Gambar 8.3 Proses Organogenesis pada saat embrio

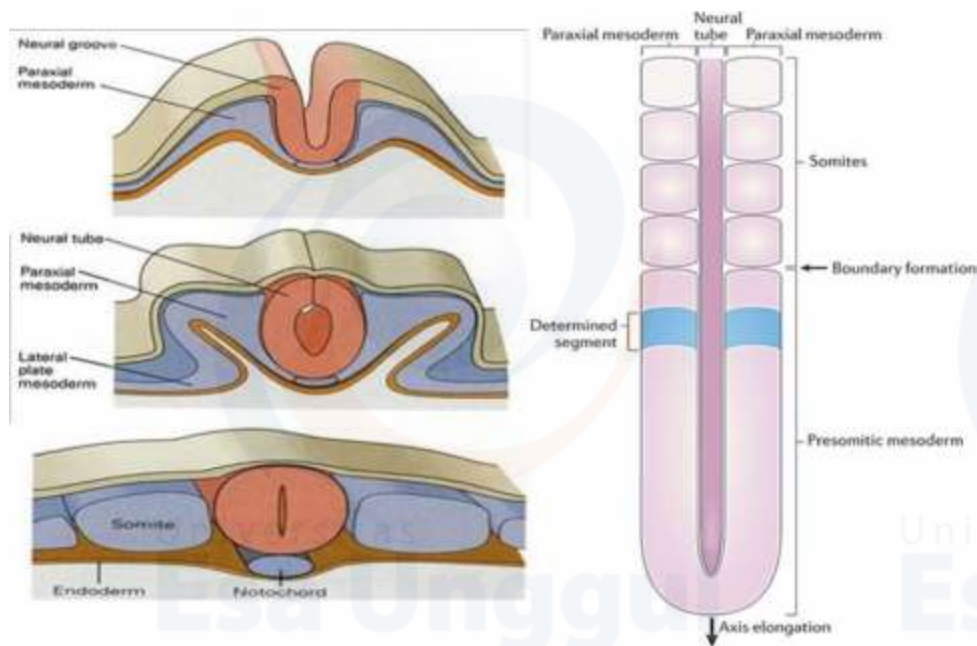
4. Lapisan mesoderm embrional

Lapisan mesoderm embrional adalah salah satu dari tiga lapisan germinal yang terbentuk selama gastrulasi, bersama dengan ektoderm dan endoderm. Lapisan mesoderm embrional adalah komponen kunci dalam perkembangan embrio, memberikan kontribusi penting terhadap pembentukan berbagai organ dan sistem dalam tubuh. Pemahaman tentang mesoderm dan peranannya sangat penting dalam biologi perkembangan, kedokteran, dan penelitian terkait terapi regeneratif. Gangguan dalam perkembangan mesoderm dapat menyebabkan berbagai kelainan dan cacat lahir.

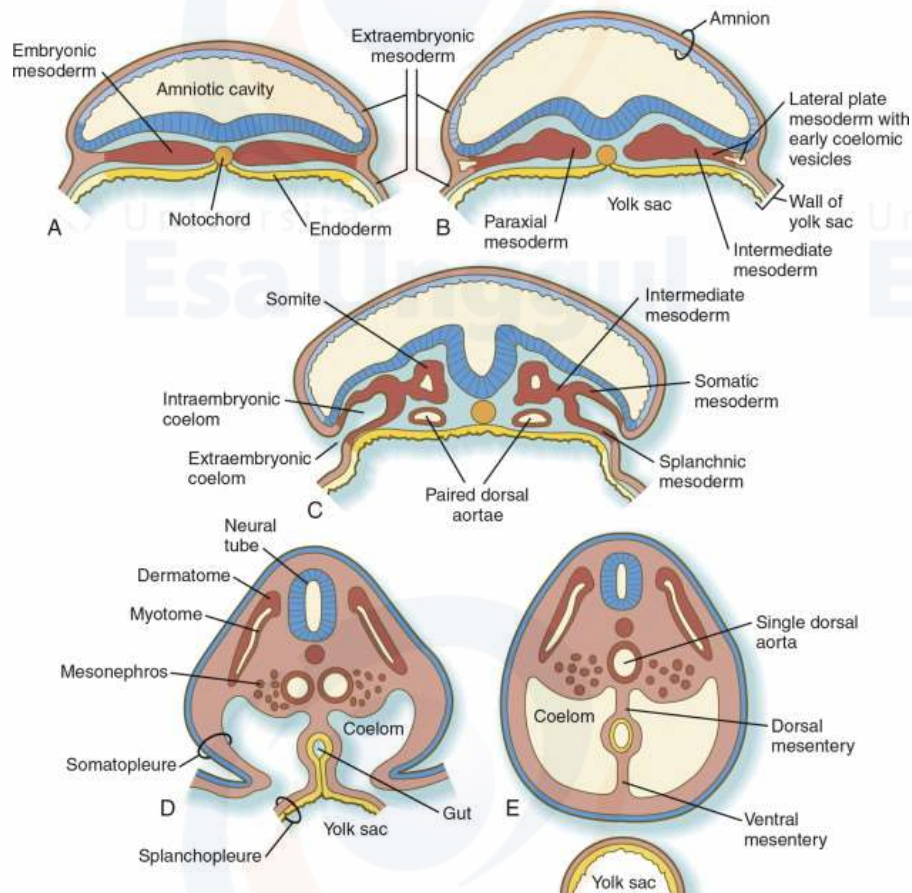
Mesoderm memainkan peran penting dalam perkembangan embrio dan berkontribusi pada pembentukan berbagai struktur dan organ dalam tubuh. Berikut adalah penjelasan lebih lanjut tentang mesoderm dan peranannya. Pembentukan Mesoderm terjadi selama proses gastrulasi, sel-sel dari lapisan ektoderm bergerak ke dalam dan membentuk mesoderm. Proses ini melibatkan invaginasi, involusi, dan migrasi sel, yang menghasilkan lapisan mesoderm di antara ektoderm dan endoderm.

Mesoderm dapat dibagi menjadi beberapa bagian atau jenis, yang masing-masing memiliki fungsi dan kontribusi spesifik terhadap perkembangan organ dan jaringan:

- Mesoderm Paraksial: Terletak di sisi kanan dan kiri dari garis tengah embrio dan berkontribusi pada pembentukan somite, yang akan berkembang menjadi otot rangka, tulang, dan dermis (lapisan dalam kulit).
- Mesoderm Intermediat: Terletak di antara mesoderm paraksial dan lateral dan berkontribusi pada pembentukan sistem ekskresi (ginjal) dan sistem reproduksi (gonad).
- Mesoderm Lateral: terbagi menjadi dua lapisan: lapisan somatik (dorsal) dan lapisan viseral (ventral). Lapisan somatik berkontribusi pada pembentukan jaringan ikat, otot, dan tulang di bagian tubuh. Lapisan viseral berkontribusi pada pembentukan jaringan yang melapisi organ dalam, termasuk jantung dan pembuluh darah.



Gambar 8,5 Perkembangan mesoderm paraksial



Gambar 8,6 Perkembangan mesoderm intermediate dan lateral

Mesoderm berperan dalam pembentukan berbagai struktur dan sistem organ, antara lain, sistem musculoskeletal adalah lapisan mesoderm berkontribusi pada pembentukan otot, tulang, dan jaringan ikat. Sistem Kardiovaskular juga berasal dari mesoderm membentuk jantung, pembuluh darah, dan sel-sel darah. Sistem Reproduksi merupakan lapisan mesoderm berkontribusi pada pembentukan gonad (testis dan ovarium) serta organ reproduksi lainnya. Sistem Ekskresi adalah system yang melibatkan mesoderm berperan dalam pembentukan ginjal dan saluran kemih. Serta sistem limfatik merupakan mesoderm juga berkontribusi pada pembentukan sistem limfatik.

Sel punca yang berasal dari lapisan mesoderm embrional memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel dan jaringan yang penting untuk pembentukan organ dan sistem dalam tubuh. Berikut adalah beberapa jenis sel punca yang terkait dengan mesoderm dan peranannya:

5. Berbagai jenis Sel Punca Mesodermal

a. Sel Punca Mesenkimal (Mesenchymal Stem Cells - MSCs):

Sel punca mesenkimal adalah komponen penting dalam penelitian dan aplikasi terapi regeneratif. Dengan kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel dan sifat imunomodulatornya, MSCs menawarkan potensi besar untuk mengobati berbagai kondisi medis. Penelitian yang berkelanjutan di bidang ini diharapkan dapat mengarah pada pengembangan terapi yang lebih efektif dan aman.

Sel punca mesenkimal dapat ditemukan di berbagai jaringan, termasuk sumsum tulang, jaringan adiposa, dan jaringan ikat. MSCs memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, termasuk: Osteoblas merupakan sel yang akan membentuk jaringan tulang, Chondrocytes adalah sel yang membentuk jaringan kartilago, Adipocytes adalah sel yang menyimpan lemak, dan Myocytes adalah Sel otot. Fungsi: MSCs adalah berperan dalam perbaikan jaringan, regenerasi, dan pengaturan respons imun.

Sel MSC adalah jenis sel punca yang memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel dan jaringan. MSCs ditemukan di berbagai jaringan tubuh, termasuk sumsum tulang, jaringan adiposa, dan jaringan ikat. Mereka memiliki potensi besar dalam bidang biomedis, terutama dalam terapi regeneratif dan pengobatan berbagai penyakit.

Karakteristik Sel Punca Mesenkimal adalah mampu berdiferensiasi: menjadi berbagai jenis sel, termasuk: Osteoblas: Sel yang membentuk jaringan tulang, Chondrocytes: Sel yang membentuk jaringan kartilago, Adipocytes: Sel yang menyimpan lemak, dan Myocytes membentuk sel otot. Selain itu, MSCs juga dapat berdiferensiasi menjadi sel-sel dari garis keturunan mesodermal lainnya.

Sel punca juga mampu melakukan Self-Renewal: yaitu kemampuan untuk membelah diri dan memperbanyak jumlahnya tanpa kehilangan potensi diferensiasi mereka. MSCs juga memiliki kemampuan untuk memodulasi respons imun (imunomodulator) yang membuat mereka menarik untuk terapi dalam kondisi yang melibatkan peradangan atau autoimunitas.

MSCs dapat diisolasi dari berbagai sumber, termasuk: Sumsum Tulang: Sumber utama MSCs. Jaringan Adiposa: MSCs dapat diambil dari lemak tubuh (liposuction). Jaringan Ikat: Dapat ditemukan di berbagai jaringan ikat dan Kandungan Umbilikal: MSCs juga dapat diisolasi dari jaringan tali pusat.

b. Sel Punca Hematopoietik (Hematopoietic Stem Cells - HSCs):

Sel punca hematopoietik adalah komponen kunci dalam sistem hematopoietik dan memiliki peran penting dalam pembentukan dan pemeliharaan sel darah. Dengan potensi terapeutik yang besar, HSCs terus menjadi fokus penelitian dalam pengobatan penyakit darah.

dan terapi regeneratif. Penelitian yang berkelanjutan di bidang ini diharapkan dapat mengarah pada pengembangan terapi yang lebih efektif dan aman untuk berbagai kondisi medis.

Sel punca hematopoietik berasal dari mesoderm dan biasanya ditemukan di sumsum tulang. Kemampuan Diferensiasi: HSCs dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel darah, termasuk: Sel Darah Merah (Eritrosit): Mengangkut oksigen ke seluruh tubuh, Sel Darah Putih (Leukosit): Berperan dalam sistem kekebalan tubuh, Trombosit: Berperan dalam pembekuan darah. Fungsi: HSCs penting untuk pembentukan dan pemeliharaan sistem peredaran darah.

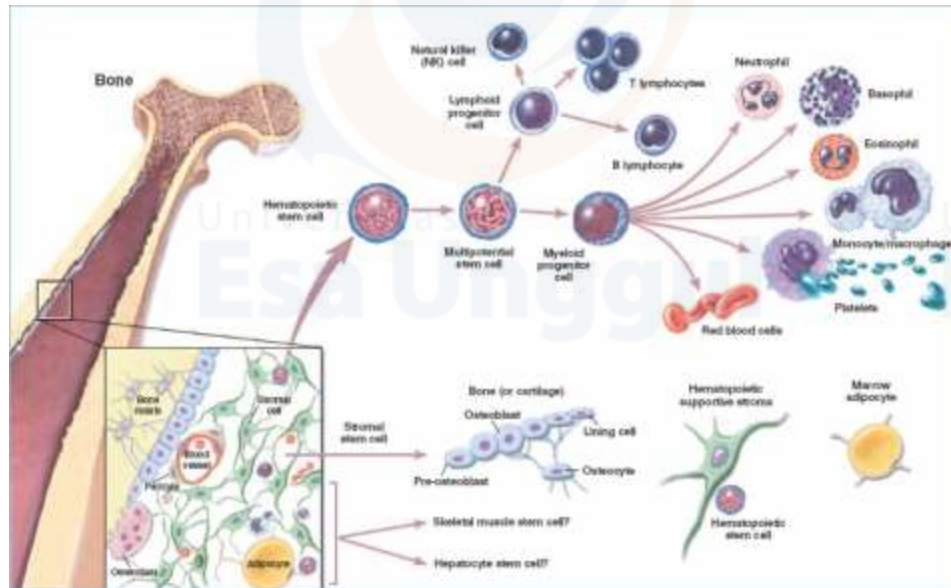
Sel Punca Hematopoietik (Hematopoietic Stem Cells - HSCs) adalah jenis sel punca yang memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel darah. HSCs berperan penting dalam pembentukan dan pemeliharaan sistem hematopoietik, yang mencakup semua sel darah, termasuk sel darah merah, sel darah putih, dan trombosit. Berikut adalah penjelasan lebih lanjut tentang HSCs:

Karakteristik Sel Punca Hematopoietik adalah mampu berdiferensiasi: menjadi berbagai jenis sel darah, termasuk: Eritrosit (sel darah merah): Mengangkut oksigen ke seluruh tubuh. Leukosit (sel darah putih): Berperan dalam sistem kekebalan tubuh dan melawan infeksi. Trombosit: Berperan dalam proses pembekuan darah. HSCs memiliki kemampuan untuk membelah diri dan memperbanyak jumlahnya tanpa kehilangan potensi diferensiasi mereka. Ini penting untuk menjaga pasokan sel darah sepanjang hidup individu.

HSCs dapat ditemukan di beberapa lokasi dalam tubuh, termasuk: Sumsum Tulang: Sumber utama HSCs pada individu dewasa. Kandungan Umbilikal: HSCs juga dapat diisolasi dari darah tali pusat, yang kaya akan sel punca. Sistem Limfatik: HSCs dapat ditemukan dalam jumlah kecil di organ limfoid sekunder.

Hematopoiesis adalah proses pembentukan sel darah yang dimulai dari HSCs. Proses ini terjadi di sumsum tulang dan melibatkan beberapa tahap:

1. Proliferasi dan Diferensiasi, HSCs dapat berdiferensiasi menjadi progenitor sel darah yang lebih spesifik, seperti sel progenitor myeloid dan sel progenitor limfoid. Sel progenitor ini kemudian akan berdiferensiasi lebih lanjut menjadi sel-sel darah yang matang.
2. Regulasi, Proses hematopoiesis diatur oleh berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin, yang mempengaruhi proliferasi dan diferensiasi HSCs dan progenitor sel darah.



Gambar 8.7 Sel punca haematopoetik dan pertumbuhannya

c. Sel Punca Endotelial (Endothelial Progenitor Cells - EPCs):

Sel Punca Endotelial (Endothelial Progenitor Cells - EPCs) adalah jenis sel punca yang memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi sel endotel, yang merupakan sel-sel yang membentuk lapisan yang melapisi pembuluh darah dan limfa. Sel-sel ini memainkan peran penting dalam angiogenesis (pembentukan pembuluh darah baru) dan pemeliharaan kesehatan sistem kardiovaskular. Berikut adalah penjelasan lebih lanjut tentang EPCs:

Sel punca endotelial adalah komponen penting dalam sistem kardiovaskular dan memiliki peran kunci dalam angiogenesis dan perbaikan jaringan. Dengan potensi terapeutik yang besar, EPCs terus menjadi fokus penelitian dalam pengobatan penyakit kardiovaskular dan terapi regeneratif. Penelitian yang berkelanjutan di bidang ini diharapkan dapat mengarah pada pengembangan terapi yang lebih efektif dan aman untuk berbagai kondisi medis.

Sel punca ini berasal dari mesoderm dan terlibat dalam pembentukan pembuluh darah. Kemampuan Diferensiasi: EPCs dapat berdiferensiasi menjadi sel endotel, yang membentuk lapisan yang melapisi pembuluh darah. Fungsi: EPCs berperan dalam angiogenesis (pembentukan pembuluh darah baru) dan perbaikan jaringan.

Kemampuan Diferensiasi, EPCs dapat berdiferensiasi menjadi sel endotel, yang membentuk lapisan endotel di dalam pembuluh darah. Sel endotel berfungsi untuk mengatur aliran darah, menjaga permeabilitas pembuluh darah, dan berperan dalam proses peradangan. EPCs dapat diisolasi dari berbagai sumber, termasuk: Darah Perifer: EPCs dapat ditemukan dalam jumlah kecil dalam darah perifer, terutama setelah stimulasi dengan faktor

pertumbuhan. Sumsum Tulang: EPCs juga dapat berasal dari sumsum tulang, di mana mereka diproduksi dan kemudian dilepaskan ke dalam sirkulasi. Jaringan Adiposa: Beberapa penelitian menunjukkan bahwa EPCs juga dapat diisolasi dari jaringan adiposa.

Aktivitas dan proliferasi EPCs diatur oleh berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin, seperti faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) dan faktor pertumbuhan fibroblast (FGF). Peran Sel Punca Endotelial adalah Angiogenesis: EPCs berperan penting dalam pembentukan pembuluh darah baru, terutama dalam proses penyembuhan luka dan regenerasi jaringan. Mereka membantu membentuk jaringan endotel yang baru dan memperbaiki pembuluh darah yang rusak. EPCs dapat berkontribusi pada perbaikan jaringan setelah cedera atau iskemia (kekurangan aliran darah). Mereka membantu memulihkan aliran darah ke area yang terpengaruh dan mendukung regenerasi jaringan. Sel endotel yang terbentuk dari EPCs berperan dalam mengatur respons inflamasi dan menjaga keseimbangan antara pro-inflamasi dan anti-inflamasi dalam tubuh.

6. Peran Sel Punca Mesodermal dalam Terapi Regeneratif

Sel punca mesodermal memiliki potensi besar dalam bidang terapi regeneratif dan pengobatan berbagai penyakit. Beberapa aplikasi potensial meliputi:

- Perbaikan Jaringan: MSCs dapat digunakan untuk memperbaiki jaringan yang rusak akibat cedera atau penyakit, seperti penyakit jantung, cedera tulang, dan kerusakan jaringan lunak.
- Transplantasi Sel: HSCs digunakan dalam transplantasi sel darah untuk mengobati berbagai kondisi, termasuk leukemia dan gangguan darah lainnya.
- Pengobatan Penyakit Degeneratif: Sel punca mesodermal dapat digunakan untuk mengembangkan terapi untuk penyakit degeneratif, seperti osteoarthritis dan penyakit jantung.

Sel punca yang berasal dari lapisan mesoderm embrional memiliki kemampuan luar biasa untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel dan jaringan. Penelitian tentang sel punca mesodermal terus berkembang, dan pemahaman yang lebih baik tentang potensi dan aplikasinya dapat membuka jalan untuk inovasi dalam pengobatan dan terapi regeneratif.

Aplikasi Terapi Sel Punca Mesenkimal (Mesenchymal Stem Cells - MSCs)

1. Terapi Regeneratif: MSCs digunakan untuk memperbaiki jaringan yang rusak akibat cedera, penyakit, atau penuaan. Contohnya termasuk perbaikan tulang, kartilago, dan jaringan lunak.

2. Pengobatan Penyakit Autoimun, Karena sifat imunomodulatornya, MSCs dapat digunakan untuk mengobati penyakit autoimun seperti lupus, rheumatoid arthritis, dan multiple sclerosis.
3. Penyakit Kardiovaskular, MSCs dapat digunakan untuk memperbaiki kerusakan jantung setelah serangan jantung atau untuk meningkatkan regenerasi jaringan jantung.
4. Penyakit Degeneratif, MSCs memiliki potensi untuk digunakan dalam pengobatan penyakit degeneratif, seperti osteoarthritis dan penyakit neurodegeneratif.
5. Transplantasi Sel, MSCs dapat digunakan dalam prosedur transplantasi untuk mendukung pemulihan jaringan dan organ.

Meskipun MSCs menunjukkan potensi yang besar, ada beberapa tantangan yang perlu diatasi dalam penelitian dan aplikasi klinis, termasuk: Standarisasi: Proses isolasi dan karakterisasi MSCs perlu distandarisasi untuk memastikan konsistensi dan keamanan. Regulasi: Penggunaan MSCs dalam terapi memerlukan regulasi yang ketat untuk memastikan keamanan dan efektivitas. Pemahaman Mekanisme: Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami mekanisme kerja MSCs dan bagaimana mereka berinteraksi dengan sistem imun dan jaringan lainnya.

Aplikasi Terapi Sel Punca Hematopoietik

HSCs memiliki banyak aplikasi dalam bidang kedokteran, terutama dalam terapi dan pengobatan penyakit darah. Beberapa aplikasi tersebut meliputi:

1. **Transplantasi Sel Punca**, Transplantasi HSCs digunakan untuk mengobati berbagai kondisi, termasuk leukemia, limfoma, dan gangguan darah lainnya. Prosedur ini melibatkan penggantian sel-sel darah yang rusak atau tidak berfungsi dengan HSCs yang sehat.
2. **Pengobatan Penyakit Genetik**, HSCs dapat digunakan dalam terapi gen untuk mengobati penyakit genetik yang mempengaruhi produksi sel darah, seperti anemia sel sabit dan thalassemia.
3. **Terapi Kanker**, HSCs dapat digunakan dalam kombinasi dengan kemoterapi untuk memulihkan sistem hematopoietik setelah pengobatan kanker.
4. **Penelitian dan Pengembangan Obat**, HSCs digunakan dalam penelitian untuk memahami mekanisme penyakit dan untuk mengembangkan terapi baru.

Meskipun HSCs memiliki potensi besar, ada beberapa tantangan yang perlu diatasi: yaitu Sumber HSCs terbatas, dan pengambilan dari sumsum tulang dapat menjadi prosedur yang invasif. Transplantasi HSCs dapat menyebabkan reaksi penolakan jika donor dan penerima tidak

cocok. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami sepenuhnya mekanisme regulasi hematopoiesis dan bagaimana HSCs berinteraksi dengan lingkungan mikro mereka.

Aplikasi Terapi Sel Punca Endotelial

EPCs memiliki potensi besar dalam terapi regeneratif dan pengobatan berbagai kondisi medis, termasuk:

1. Penyakit Kardiovaskular, EPCs dapat digunakan untuk meningkatkan angiogenesis dan memperbaiki aliran darah pada pasien dengan penyakit jantung koroner, infark miokard, atau penyakit arteri perifer.
2. Penyembuhan Luka, EPCs dapat digunakan dalam terapi untuk mempercepat penyembuhan luka, terutama pada luka yang sulit sembuh, seperti luka diabetik.
3. Terapi Iskemia, EPCs dapat digunakan untuk mengobati kondisi iskemik, di mana aliran darah ke jaringan berkurang, seperti pada stroke atau serangan jantung.
4. Rekayasa Jaringan, EPCs dapat digunakan dalam rekayasa jaringan untuk membangun pembuluh darah yang berfungsi dalam jaringan buatan.

Meskipun EPCs menunjukkan potensi yang besar, ada beberapa tantangan yang perlu diatasi:

- Isolasi dan Karakterisasi: Proses isolasi dan karakterisasi EPCs perlu distandarisasi untuk memastikan konsistensi dan keamanan dalam aplikasi klinis.
- Pemahaman Mekanisme: Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami sepenuhnya mekanisme kerja EPCs dan bagaimana mereka berinteraksi dengan sel-sel lain dalam lingkungan mikro.
- Regulasi: Penggunaan EPCs dalam terapi memerlukan regulasi yang ketat untuk memastikan keamanan dan efektivitas.

BAB 9 DIFFERENSIASI SEL PUNCA DARI BAGIAN LAPISAN ENDODERM EMBRIONAL

1. Pendahuluan

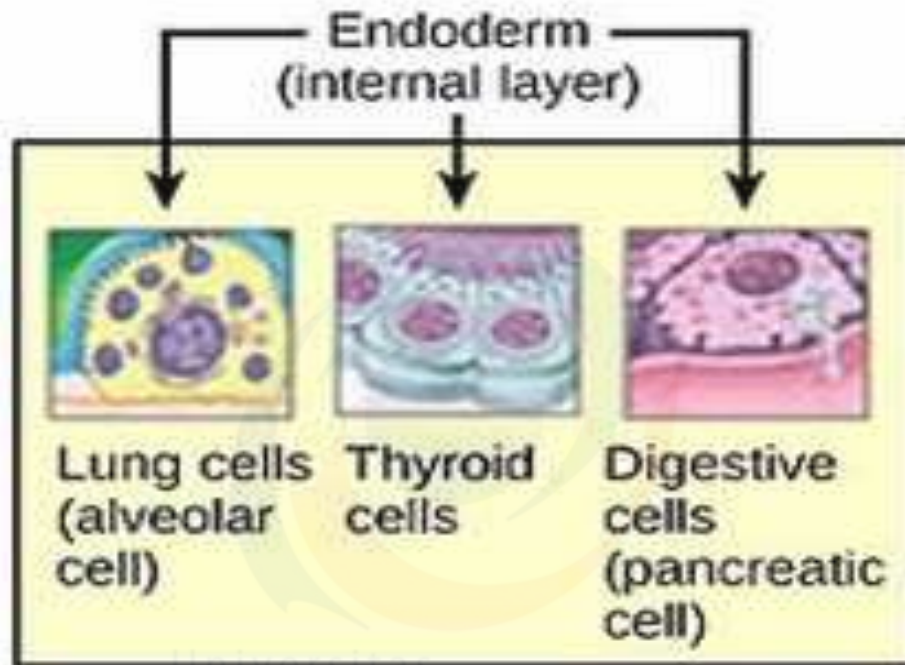
Lapisan endoderm embrional memiliki peran yang sangat penting dalam pembentukan berbagai organ dan jaringan dalam tubuh, terutama yang terkait dengan sistem pencernaan dan pernapasan. Proses diferensiasi sel dari endoderm dipengaruhi oleh berbagai faktor, dan pemahaman yang lebih baik tentang proses ini dapat membantu dalam pengembangan terapi untuk berbagai penyakit yang mempengaruhi organ-organ tersebut

Lapisan endoderm adalah salah satu dari tiga lapisan germinal yang terbentuk selama gastrulasi dalam perkembangan embrio. Endoderm berperan penting dalam pembentukan berbagai organ dan jaringan dalam tubuh, terutama yang terkait dengan sistem pencernaan dan sistem pernapasan. Sel-sel yang berasal dari lapisan endoderm dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel dan jaringan. Berikut adalah beberapa jenis sel yang dapat dihasilkan dari endoderm:

Jenis Sel yang Berdiferensiasi dari Endoderm adalah Sel Epitel Saluran Pencernaan. Endoderm membentuk lapisan epitel yang melapisi seluruh saluran pencernaan, mulai dari esofagus hingga rektum. Sel-sel ini berfungsi dalam proses pencernaan dan penyerapan nutrisi. Sel-sel hati berasal dari endoderm dan berperan dalam metabolisme, detoksifikasi, dan produksi empedu. Hati juga berfungsi dalam penyimpanan glikogen dan berbagai vitamin.

Endoderm juga membentuk sel-sel pankreas, yang terdiri dari sel-sel eksokrin (yang memproduksi enzim pencernaan) dan sel-sel endokrin (yang memproduksi hormon seperti insulin dan glukagon). Endoderm berkontribusi pada pembentukan sistem pernapasan, termasuk sel-sel epitel yang melapisi bronkus dan alveoli di paru-paru. Sel-sel ini berfungsi dalam pertukaran gas. Sel-sel tiroid, yang memproduksi hormon tiroid, juga berasal dari endoderm. Hormon tiroid berperan penting dalam regulasi metabolisme. Sel Timus yang berperan dalam perkembangan dan pematangan sel T (sejenis sel darah putih), juga berasal dari endoderm. Endoderm membentuk epitel yang melapisi saluran

pernapasan, termasuk trakea dan bronkus, yang berfungsi dalam perlindungan dan pertukaran gas. Kelenjar saliva, yang memproduksi air liur, juga berasal dari endoderm dan berperan dalam proses pencernaan awal.

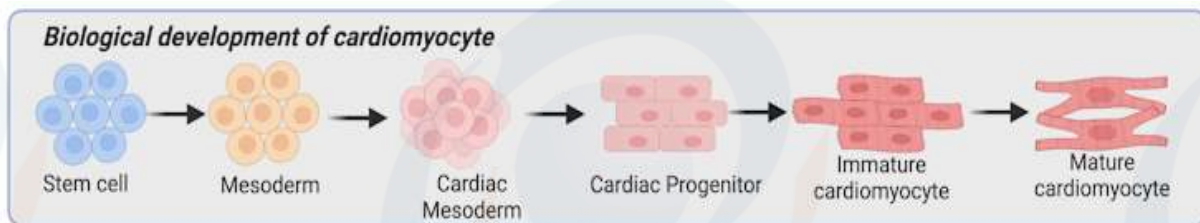


2. Proses Diferensiasi

Sel Punca Endodermal adalah sel punca yang berasal dari lapisan endoderm embrional, yang merupakan salah satu dari tiga lapisan germinal yang terbentuk selama gastrulasi. Sel-sel ini memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel yang membentuk organ-organ dan jaringan-jaringan dalam tubuh, terutama yang terkait dengan sistem pencernaan dan sistem pernapasan.

Proses diferensiasi sel dari endoderm dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk:

- Sinyal Molekuler: Faktor pertumbuhan dan sitokin yang dihasilkan oleh sel-sel di sekitar endoderm dapat mempengaruhi diferensiasi sel. Misalnya, faktor pertumbuhan hepatosit (HGF) berperan dalam diferensiasi sel hati.
- Lingkungan Mikro: Lingkungan di sekitar sel endoderm, termasuk interaksi dengan sel-sel mesoderm dan ektoderm, juga mempengaruhi proses diferensiasi.
- Regulasi Genetik: Ekspresi gen tertentu yang diatur oleh faktor transkripsi juga memainkan peran penting dalam menentukan jenis sel yang akan terbentuk dari endoderm.



3. Karakteristik Sel Punca Endodermal

Sel punca endodermal memiliki peran penting dalam pembentukan berbagai organ dan jaringan dalam tubuh, terutama yang terkait dengan sistem pencernaan dan pernapasan. Dengan potensi terapeutik yang besar, penelitian yang berkelanjutan di bidang ini diharapkan dapat mengarah pada pengembangan terapi yang lebih efektif dan aman untuk berbagai kondisi medis.

Sel Punca Embrional (Embryonic Stem Cells - ESCs) adalah sel punca yang berasal dari embrio pada tahap awal perkembangan, khususnya dari blastosista, yang merupakan tahap perkembangan embrio yang terjadi sekitar 5-7 hari setelah fertilisasi. Sel-sel ini memiliki kemampuan unik yang membuatnya sangat berharga dalam penelitian dan terapi regeneratif. Berikut adalah penjelasan lebih lanjut tentang sel punca embrional:

Sel punca endodermal dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, Membentuk lapisan epitel yang melapisi seluruh saluran pencernaan, membentuk Sel

hati (hepatosit): Berperan dalam metabolisme dan detoksifikasi. Menghasilkan enzim pencernaan dan hormon seperti insulin pada Sel pancreas. Membentuk Sel paru-paru: Termasuk sel-sel alveolar yang terlibat dalam pertukaran gas. Memproduksi hormon tiroid yang mengatur metabolisme pada sel tiroid dan Berperan dalam perkembangan sistem kekebalan tubuh pada sel timus

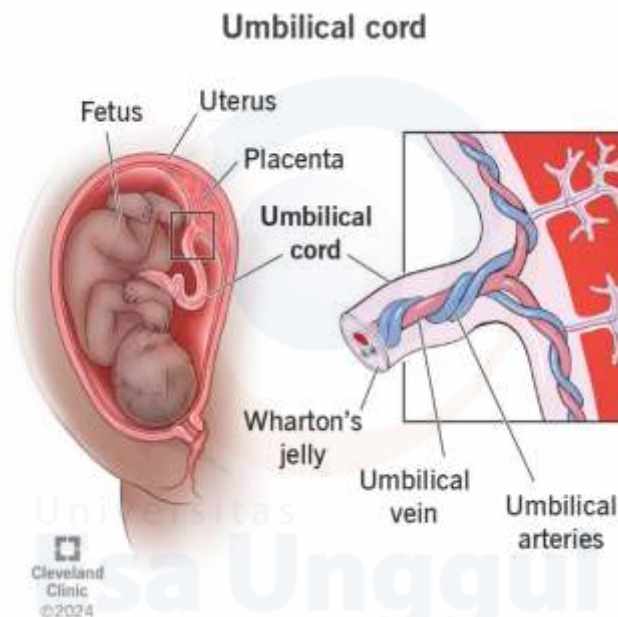
Sel punca endodermal dapat diisolasi dari berbagai sumber, termasuk: Embrio: Sel punca endodermal dihasilkan selama perkembangan embrio dari lapisan endoderm. Kandungan Umbilikal: Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sel-sel dari tali pusat juga dapat memiliki sifat endodermal. Diferensiasi sel punca endodermal diatur oleh berbagai faktor pertumbuhan dan sinyal molekuler, termasuk: Faktor Pertumbuhan: Seperti faktor pertumbuhan hepatosit (HGF) dan faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF), yang mempengaruhi diferensiasi dan proliferasi sel.

ESCs memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi hampir semua jenis sel dalam tubuh, termasuk sel-sel dari ketiga lapisan germinal: ektoderm, mesoderm, dan endoderm. Ini menjadikan mereka pluripotent, yang berarti mereka dapat membentuk hampir semua jenis sel yang diperlukan untuk membangun seluruh organisme. ESCs dapat membelah diri secara tidak terbatas dalam kultur sel tanpa kehilangan potensi diferensiasi mereka. Ini memungkinkan mereka untuk diperbanyak dalam jumlah besar untuk penelitian dan aplikasi terapeutik. Sel punca embrional biasanya diisolasi dari blastosista yang dihasilkan melalui fertilisasi in vitro (IVF). Proses ini melibatkan pengambilan sel-sel dari bagian dalam blastosista, yang dikenal sebagai inner cell mass (ICM).

Sel punca embrional adalah sumber yang sangat berharga dalam penelitian biomedis dan terapi regeneratif. Dengan kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi hampir semua jenis sel dalam tubuh, ESCs menawarkan potensi besar untuk mengobati berbagai penyakit dan cedera. Namun, tantangan etis dan ilmiah yang terkait dengan penggunaannya memerlukan perhatian dan penelitian lebih lanjut untuk memastikan bahwa manfaatnya dapat direalisasikan dengan cara yang aman dan etis.

Sel punca dari tali pusat, atau sel punca darah tali pusat, adalah sel-sel yang diambil dari darah yang terdapat dalam tali pusat bayi setelah kelahiran. Sel-sel ini memiliki potensi untuk digunakan dalam terapi regeneratif dan dapat membantu dalam

pengobatan berbagai penyakit, termasuk gangguan darah dan beberapa jenis kanker. Sel punca dari tali pusat memiliki kemampuan untuk berkembang menjadi berbagai jenis sel dalam tubuh, meskipun tidak sefleksibel sel punca embrional. Pengambilan sel punca dari tali pusat dilakukan segera setelah kelahiran, sehingga tidak melibatkan prosedur invasif yang berisiko bagi ibu atau bayi. Sel punca dari tali pusat dianggap lebih aman dibandingkan dengan sel punca embrional karena tidak melibatkan penghancuran embrio.



4. Aplikasi Terapi Sel Punca Endodermal

Sel punca embrional memiliki banyak aplikasi potensial dalam bidang kedokteran dan penelitian, termasuk. ESCs dapat digunakan untuk memperbaiki atau mengganti jaringan dan organ yang rusak akibat cedera atau penyakit. Misalnya, mereka dapat digunakan untuk menghasilkan sel-sel jantung, neuron, atau sel pankreas yang dapat digunakan dalam pengobatan penyakit jantung, penyakit neurodegeneratif, dan diabetes.

ESCs digunakan dalam penelitian untuk memahami mekanisme penyakit dan untuk mengembangkan model penyakit. Ini memungkinkan peneliti untuk mempelajari

perkembangan penyakit dan menguji obat-obatan baru. Sel punca embrional dapat digunakan untuk menguji efek obat pada berbagai jenis sel, yang membantu dalam pengembangan terapi baru dan pengujian keamanan obat. ESCs dapat digunakan dalam rekayasa jaringan untuk membangun jaringan atau organ buatan yang dapat digunakan untuk transplantasi.

Sel punca endodermal memiliki potensi besar dalam terapi regeneratif dan pengobatan berbagai kondisi medis, termasuk:

- a. **Penyakit Hati:** Sel punca endodermal dapat digunakan untuk mengobati penyakit hati, seperti sirosis atau hepatitis, dengan menggantikan sel-sel hati yang rusak.
- b. **Diabetes:** Sel punca endodermal dapat digunakan untuk menghasilkan sel-sel beta pankreas yang memproduksi insulin, yang dapat membantu dalam pengobatan diabetes tipe 1.
- c. **Penyakit Paru-paru:** Sel punca endodermal dapat digunakan dalam terapi untuk memperbaiki kerusakan paru-paru akibat penyakit seperti fibrosis paru atau penyakit paru obstruktif kronis (PPOK).
- d. **Rekayasa Jaringan:** Sel punca endodermal dapat digunakan dalam rekayasa jaringan untuk membangun organ buatan atau jaringan yang berfungsi.

Terapi Sel Punca

Apa itu Terapi Sel Punca?

Sel punca atau *stem cell* adalah sel induk yang menjadi jejak utama DNA. Terapi sel punca ini merupakan metode pengobatan baru untuk berbagai penyakit, seperti kanker dan penyakit degeneratif.

Pengambilan Sel Punca

- Sumsum tulang
- Darah periferi
- Darah di tali pusat
- Lemak
- Donor

Beberapa Penyakit yang Dapat Distas

- Kanker
- Demensia
- Stroke
- Parkinson
- Gagal jantung
- Diabetes
- Glaukoma

Tahapan Terapi



Metode

• Autolog

Menggunakan sel-sel punca yang berasal dari tubuh pasien yang diambil dan dibekukan serta disimpan sebelum pasien memulai terapi.

• Allogenik

Tipe ini menggunakan sel punca pendonor, biasanya dari relawan atau kerabat. Transplantasi ini digunakan jika transplantasi *autolog* tidak berhasil.

Risiko

- Perkembangan sel punca embrionik dapat menjadi tidak teratur.
- *Graft-versus-host disease*, yaitu sistem kekebalan tubuh pasien menganggap sel punca dari donor sebagai benda asing sehingga menolak sel tersebut.
- Infeksi.
- Kegagalan transplantasi sel punca.

Sumber: Dok.mi/Mayoclinic/NRC/ Grafik: SEND

5. Aplikasi Sel Punca dari Tali Pusat

Sel punca dari tali pusat merupakan sumber yang berharga untuk terapi regeneratif dan pengobatan berbagai penyakit. Dengan proses pengambilan yang relatif aman dan potensi aplikasinya yang luas, sel punca dari tali pusat menjadi pilihan yang menarik untuk penyimpanan dan penggunaan di masa depan. Darah tali pusat mengandung banyak sel punca atau *stem cells* yang berperan dalam perkembangan berbagai jaringan, organ, dan sistem tubuh. Sel punca yang terdapat pada setiap bagian tubuh ini dapat berubah dan bertumbuh menjadi tipe sel lain.

Melalui proses transplantasi sel punca, sel-sel tubuh yang sudah rusak karena penyakit dapat digantikan dengan sel punca agar terjadi regenerasi sel tubuh. Inilah alasan mengapa darah tali pusat bayi disebut-sebut bisa digunakan untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Meski lebih dulu dikenal sebagai bagian dari terapi estetika *antiaging*, manfaat sel punca hingga kini terus diteliti dan dikembangkan sebagai solusi untuk mengatasi berbagai gangguan kesehatan, seperti penyakit jantung, penyakit Alzheimer, diabetes, radang sendi, cedera otak, stroke, hingga kanker.

a. Terapi Penyakit Darah:

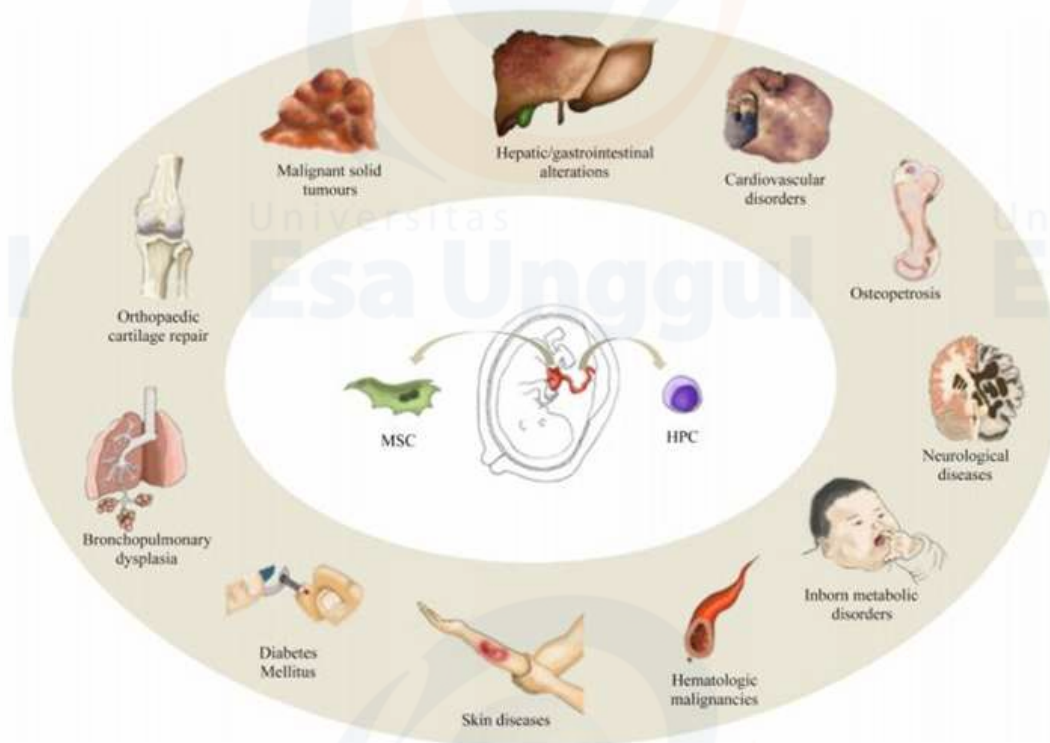
- Sel punca dari tali pusat sering digunakan untuk mengobati penyakit darah seperti leukemia dan anemia aplastik.

b. Transplantasi Sel Punca:

- Sel-sel ini dapat digunakan dalam transplantasi untuk menggantikan sel-sel yang rusak atau hilang akibat penyakit.

c. Penelitian dan Pengembangan:

- Sel punca dari tali pusat juga digunakan dalam penelitian untuk memahami perkembangan penyakit dan mengembangkan terapi baru.



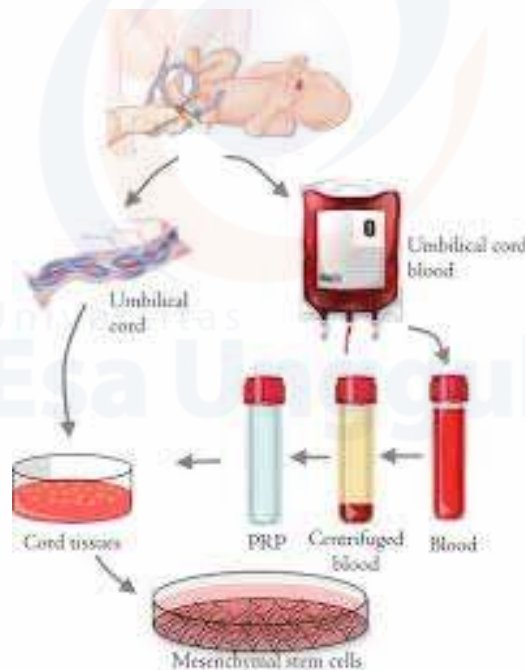
6. Proses Pengambilan dan Penyimpanan

Untuk bisa dimanfaatkan di kemudian hari, ada aturan yang perlu diperhatikan dalam pengambilan darah tali pusat. Dokter akan mengambil darah tali pusat sekitar 30–60 detik setelah bayi lahir. Cara pengambilannya adalah dengan menjepit dan memotong tali pusat, kemudian memasukkan jarum ke pembuluh darah vena umbilikal tali pusat yang masih menempel pada plasenta. Setelah itu, darah yang mengalir akan dikumpulkan. Umumnya, darah yang terkumpul mencapai 1–5 ons. Proses pengambilan darah ini akan berlangsung selama kurang lebih 10 menit. Setelah proses pengambilan darah selesai, darah akan disimpan di dalam kantong tertutup dan segera dikirim ke laboratorium atau bank darah tali pusat untuk diperiksa dan disimpan.

Proses pengambilan darah tali pusat dapat dilakukan pada ibu yang melahirkan secara normal maupun secara operasi caesar. Di Indonesia, prosedur penyimpanan darah tali pusat bayi mungkin belum terlalu umum untuk didengar. Akan tetapi, beberapa rumah sakit dan laboratorium besar sudah menyediakan pelayanan ini. Hanya saja sebagian layanan masih bersifat riset yang membutuhkan beberapa tahapan sebelum prosedur dapat dimulai. Pelayanan sel punca juga telah diatur oleh PERMENKES nomor

32, tahun 2018. Peraturan ini menyebutkan bahwa pelayanan terapi sel punca harus bersifat pelayanan berbasis bukti (*evidence-based medicine*) dan telah memiliki standar pelayanan.

Proses pengambilan darah tali pusat dilakukan segera setelah bayi lahir dengan menjepit dan memotong tali pusat, kemudian mengumpulkan darah dari vena umbilikal. Setelah diambil, darah tali pusat disimpan dalam kantong tertutup dan dikirim ke laboratorium untuk diperiksa dan disimpan di bank darah tali. Sel punca dari tali pusat memiliki batasan waktu penyimpanan, dan efektivitasnya dapat menurun setelah periode tertentu. Meskipun semakin banyak rumah sakit yang menawarkan layanan penyimpanan darah tali pusat, tidak semua orang tua menyadari manfaatnya atau memiliki akses ke layanan ini.



7. Tantangan dan Penelitian Masa Depan

Meskipun sel punca endodermal menunjukkan potensi yang besar, ada beberapa tantangan yang perlu diatasi. Proses isolasi dan karakterisasi sel punca endodermal perlu

distandarisasi untuk memastikan konsistensi dan keamanan dalam aplikasi klinis. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami sepenuhnya mekanisme diferensiasi dan interaksi sel punca endodermal dengan lingkungan mikro mereka. Penggunaan sel punca endodermal dalam terapi memerlukan regulasi yang ketat untuk memastikan keamanan dan efektivitas.

Pengambilan sel punca embrional melibatkan penghancuran embrio, yang menimbulkan pertanyaan etis tentang status moral embrio. Ini menjadi isu kontroversial dalam banyak masyarakat. Sel punca embrional memiliki potensi untuk membentuk tumor jika tidak dikendalikan dengan baik setelah transplantasi. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami dan mengurangi risiko ini. Penggunaan ESCs dalam penelitian dan terapi memerlukan regulasi yang ketat untuk memastikan keamanan dan efektivitas.



Gambar 9. 5 Beberapa waktu terakhir, dunia media mengalami banyak kemajuan revolusioner, salah satunya adalah perkembangan terapi stem cell. Di bidang ortopedi, terapi ini membuka pintu baru bagi penyembuhan cedera dan penyakit degeneratif yang sebelumnya hanya bisa ditangani dengan operasi invasif. Stem cell, atau sel punca,

menawarkan potensi besar untuk meregenerasi jaringan yang rusak, sehingga mempercepat proses penyembuhan.

ggul

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Un

ggul

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Un

ggul

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Un

BAB 10 MANFAAT STEM CELL PADA TERAPI PENYAKIT DIABETES

1. Pendahuluan

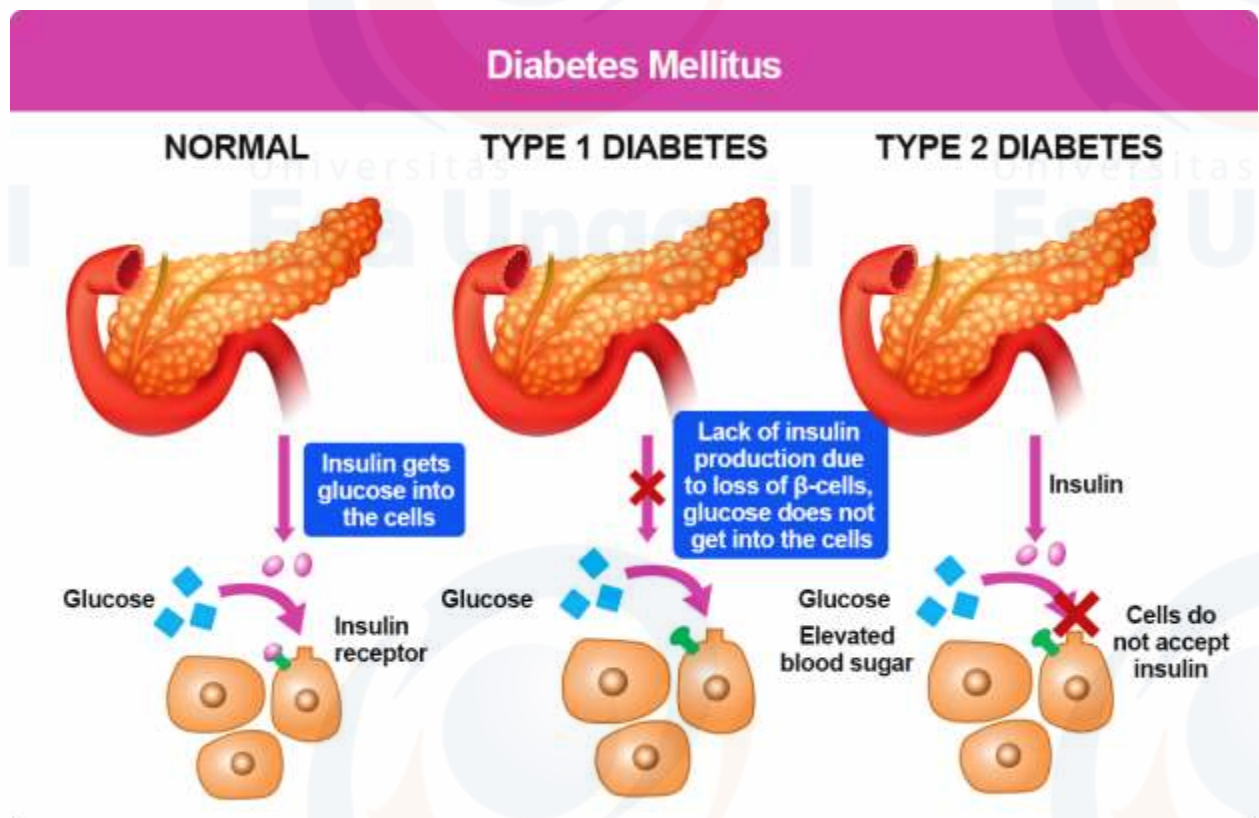
Terapi sel punca untuk diabetes merupakan bidang baru yang menjanjikan, khususnya untuk diabetes tipe 1. Penelitian terkini menunjukkan bahwa sel punca berpotensi meregenerasi sel penghasil insulin, sehingga memberikan harapan untuk pengelolaan yang lebih baik atau bahkan pembalikan penyakit. Tinjauan Umum Terapi Sel Punca untuk Diabetes

Jenis-jenis Diabetes adalah Diabetes Tipe 1 yaitu Gangguan autoimun yang menyebabkan tubuh tidak dapat memproduksi insulin dan diabetes Tipe 2, sering dikaitkan dengan faktor genetik dan gaya hidup, yang ditandai dengan resistensi insulin. Terapi sel punca pada penderita diabetes dapat membantu meregenerasi sel beta penghasil insulin di pankreas. Beberapa pasien telah mengalami peningkatan yang signifikan, termasuk berkurangnya ketergantungan insulin dan kadar gula darah yang stabil.

Jenis-jenis Sel Punca yang Digunakan yaitu Sel Punca Hematopoietik (HSC) dan Sel Punca Mesenkim (MSC): Sel HSC ditemukan di sumsum tulang, sel-sel ini dapat berdiferensiasi menjadi berbagai sel darah dan dapat membantu dalam mengelola komplikasi terkait diabetes. Sel Punca Mesenkim (MSC), sel-sel ini dapat bermigrasi ke lokasi cedera dan peradangan, yang berpotensi membantu perbaikan jaringan dan modulasi imun.

... Pertimbangan Keamanan dan Kemanjuran adalah status regulasi. Meskipun terapi sel punca menunjukkan hasil yang menjanjikan, terapi tersebut masih dalam tahap penyelidikan, dan tidak semua metode disetujui FDA untuk pengobatan diabetes. Perawatan yang Berpusat pada Pasien, klinik yang menawarkan terapi sel punca menekankan keamanan, menggunakan tenaga profesional terakreditasi, dan protokol yang ditetapkan untuk memastikan kesejahteraan pasien.

Terapi sel punca merupakan jalan yang menjanjikan untuk pengobatan diabetes, khususnya untuk diabetes Tipe 1. Penelitian dan uji klinis yang sedang berlangsung terus mengeksplorasi potensinya, yang bertujuan untuk meningkatkan kualitas hidup pasien dan mungkin menawarkan jalan menuju kemandirian insulin.



2. Sel Punca Mesenkimal (Mesenchymal Stem Cells - MSCs)

Sel punca mesenkimal memiliki potensi besar dalam terapi diabetes, baik dalam regenerasi sel beta pankreas, modulasi sistem imun, perbaikan jaringan, dan pengelolaan komplikasi. Meskipun penelitian masih berlangsung, MSCs menawarkan harapan baru untuk pengobatan diabetes, terutama bagi pasien yang tidak merespons terapi konvensional. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami mekanisme kerja MSCs dan untuk mengoptimalkan penggunaannya dalam praktik klinis. Memiliki potensi yang menjanjikan dalam terapi diabetes, terutama dalam pengobatan diabetes tipe 1 dan pengelolaan komplikasi yang terkait dengan diabetes.

MSCs dapat berdiferensiasi menjadi sel-sel yang mirip dengan sel beta pankreas, yang bertanggung jawab untuk memproduksi insulin. Ini dapat membantu meningkatkan produksi insulin pada pasien diabetes tipe 1, di mana sel beta pankreas telah dihancurkan oleh sistem kekebalan tubuh. MSCs dapat digunakan dalam transplantasi untuk

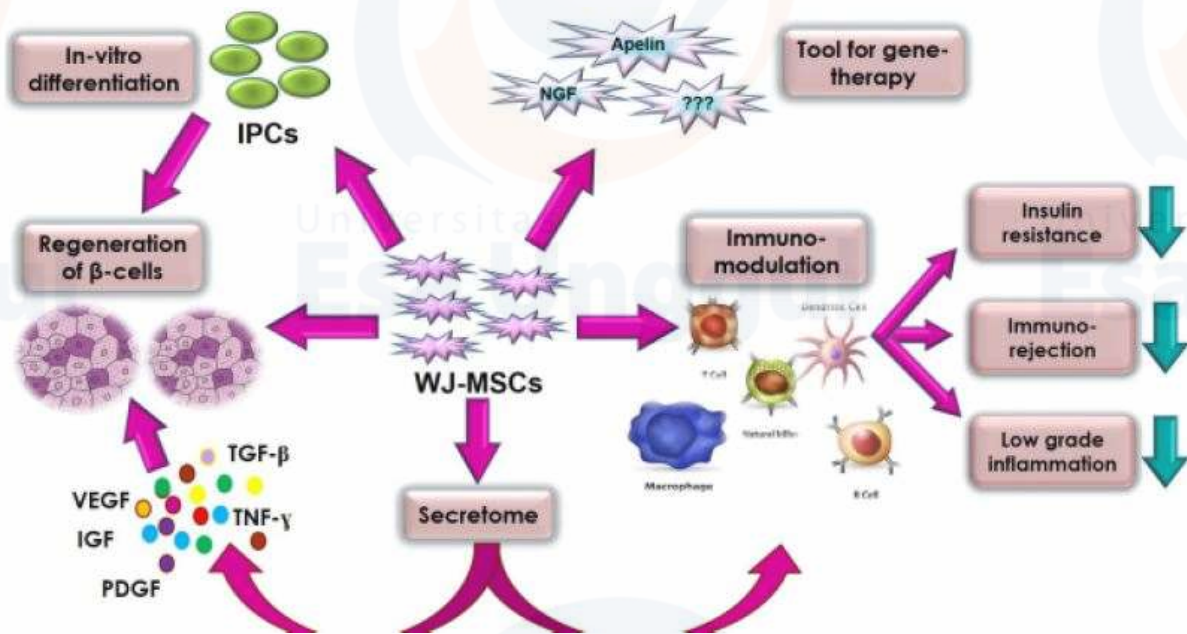
menggantikan sel beta yang hilang atau rusak, memberikan harapan untuk pemulihan fungsi pankreas.

MSCs memiliki kemampuan untuk memodulasi respons imun. Ini sangat penting dalam diabetes tipe 1, di mana sistem kekebalan tubuh menyerang sel beta pankreas. MSCs dapat membantu mengurangi peradangan dan mengatur aktivitas sel-sel imun, sehingga melindungi sel beta yang tersisa. Dengan mengurangi reaksi autoimun, MSCs dapat membantu memperlambat atau menghentikan perkembangan diabetes tipe 1.

MSCs dapat membantu memperbaiki jaringan yang rusak akibat komplikasi diabetes, seperti neuropati diabetik dan ulkus kaki diabetik. Mereka dapat merangsang regenerasi jaringan dan meningkatkan aliran darah ke area yang terkena. MSCs dapat meningkatkan proses penyembuhan luka dengan merangsang pertumbuhan sel dan pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis).

MSCs dapat berkontribusi pada perbaikan jaringan jantung dan pembuluh darah yang rusak akibat diabetes, membantu mengurangi risiko penyakit kardiovaskular. MSCs juga menunjukkan potensi dalam mengobati komplikasi ginjal yang terkait dengan diabetes, seperti nefropati diabetik, dengan merangsang perbaikan jaringan ginjal.

MSCs dapat membantu meningkatkan sensitivitas insulin dan mengatur metabolisme glukosa, yang bermanfaat bagi pasien diabetes tipe 2. Ini dapat membantu mengurangi resistensi insulin dan meningkatkan kontrol glukosa darah. MSCs dapat digunakan dalam kombinasi dengan terapi lain, seperti terapi gen atau pengobatan berbasis insulin, untuk meningkatkan efektivitas pengobatan diabetes secara keseluruhan. MSCs dapat membantu dalam perbaikan jaringan pankreas dengan merangsang regenerasi dan mengurangi peradangan. Mereka juga dapat berkontribusi pada modulasi sistem imun. Dapat diambil dari berbagai sumber, termasuk sumsum tulang, jaringan adiposa, dan tali pusat. MSCs memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, termasuk sel beta pankreas.



3. Sel Punca Hematopoietik (Hematopoietic Stem Cells - HSCs)

Sel punca hematopoietik memiliki potensi yang menjanjikan dalam terapi diabetes, terutama dalam konteks modulasi sistem imun, regenerasi sel beta pankreas, dan pengelolaan komplikasi. Meskipun penelitian masih berlangsung, HSCs menawarkan harapan baru untuk pengobatan diabetes, terutama bagi pasien yang tidak merespons terapi konvensional. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami mekanisme kerja HSCs dan untuk mengoptimalkan penggunaannya dalam praktik klinis.

Regenerasi jaringan pankreas, terutama untuk mengatasi masalah seperti diabetes tipe 1 dan tipe 2, adalah area penelitian yang aktif dan menjanjikan. Berbagai teknik dan pendekatan sedang dieksplorasi untuk merangsang regenerasi sel beta pankreas, yang bertanggung jawab untuk produksi insulin. Berikut adalah beberapa teknik regenerasi jaringan yang sedang diteliti dan dikembangkan:

Merupakan sel punca yang memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel darah, termasuk sel darah merah, sel darah putih, dan trombosit. Meskipun HSCs lebih dikenal dalam konteks pengobatan penyakit darah dan kanker, penelitian terbaru menunjukkan bahwa HSCs juga memiliki potensi dalam terapi diabetes, terutama dalam pengelolaan komplikasi dan perbaikan jaringan. Berikut adalah beberapa peran HSCs dalam terapi diabetes:

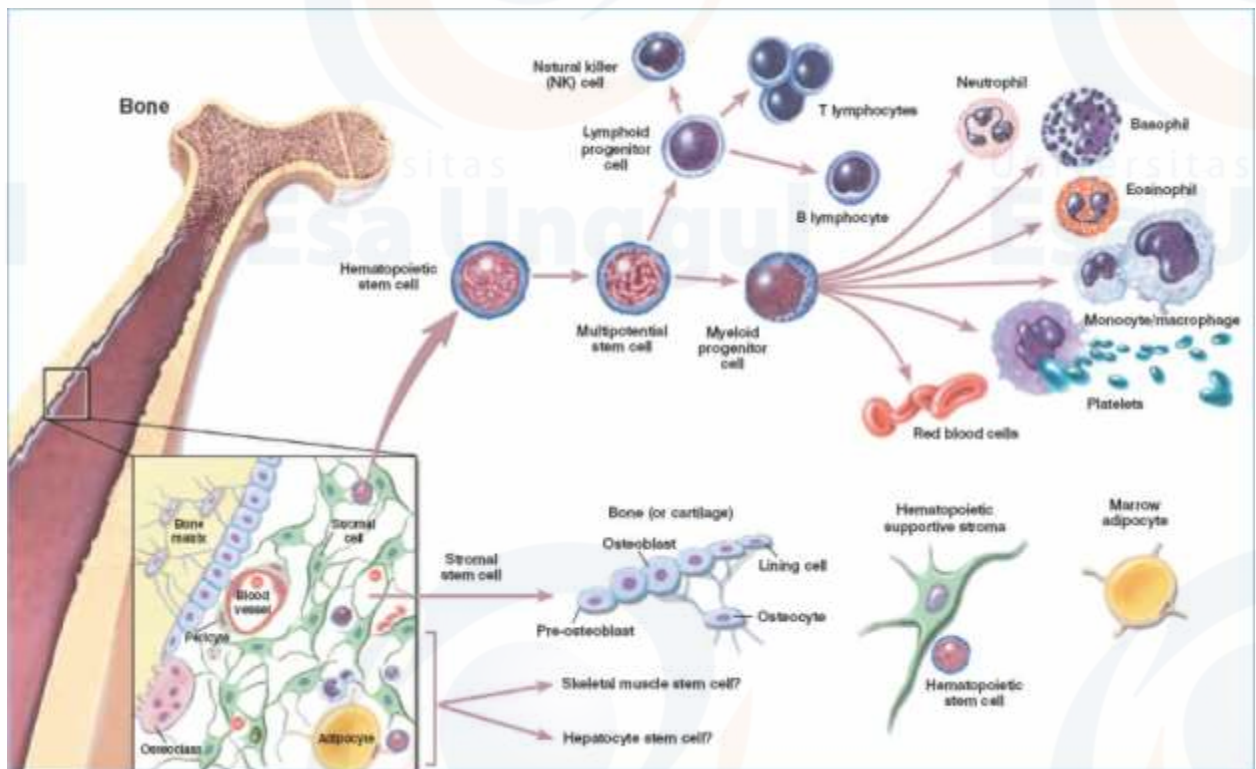
Pada diabetes tipe 1, sistem kekebalan tubuh menyerang sel beta pankreas yang memproduksi insulin. HSCs dapat berkontribusi pada modulasi sistem imun, membantu mengurangi reaksi autoimun yang merusak sel beta. HSCs dapat menghasilkan sel-sel imun yang berfungsi untuk mengatur dan menyeimbangkan respons imun, yang dapat membantu melindungi sel beta pankreas yang tersisa.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa HSCs dapat berdiferensiasi menjadi sel-sel yang mirip dengan sel beta pankreas. Ini dapat membantu meningkatkan produksi insulin pada pasien diabetes tipe 1. HSCs dapat digunakan dalam transplantasi untuk menggantikan sel beta yang hilang atau rusak, memberikan harapan untuk pemulihan fungsi pankreas.

HSCs dapat berkontribusi pada perbaikan jaringan yang rusak akibat komplikasi diabetes, seperti neuropati diabetik dan ulkus kaki diabetik. Mereka dapat merangsang regenerasi jaringan dan meningkatkan aliran darah ke area yang terkena. HSCs dapat meningkatkan proses penyembuhan luka dengan merangsang pertumbuhan sel dan pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis).

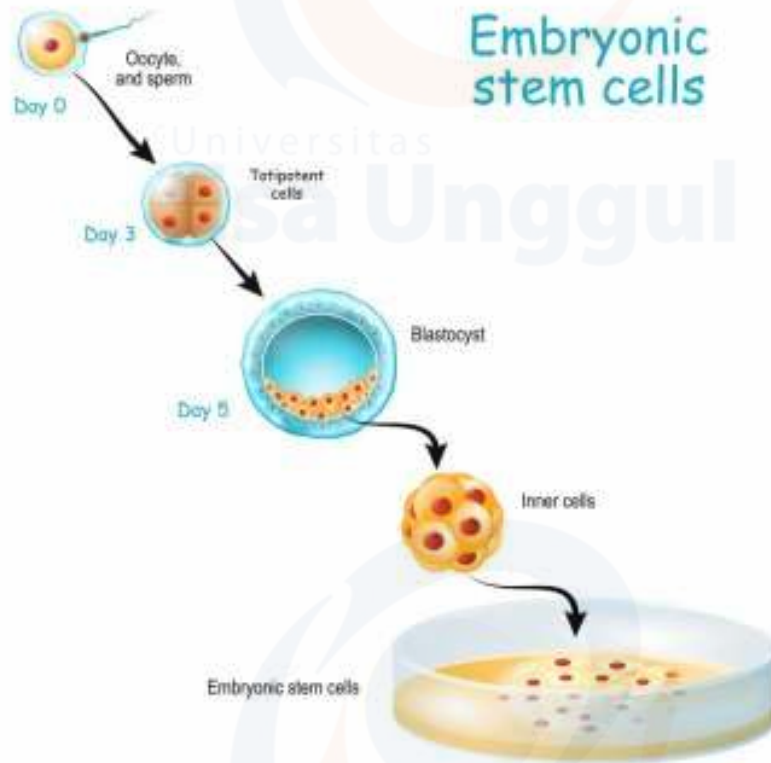
HSCs dapat berkontribusi pada perbaikan jaringan jantung dan pembuluh darah yang rusak akibat diabetes, membantu mengurangi risiko penyakit kardiovaskular. HSCs juga menunjukkan potensi dalam mengobati komplikasi ginjal yang terkait dengan diabetes, seperti nefropati diabetik, dengan merangsang perbaikan jaringan ginjal.

HSCs dapat digunakan dalam kombinasi dengan terapi lain, seperti terapi gen atau pengobatan berbasis insulin, untuk meningkatkan efektivitas pengobatan diabetes secara keseluruhan. HSCs dapat membantu meningkatkan sensitivitas insulin dan mengatur metabolisme glukosa, yang bermanfaat bagi pasien diabetes tipe 2. Ini dapat membantu mengurangi resistensi insulin dan meningkatkan kontrol glukosa darah. HSCs dapat berperan dalam regenerasi pankreas dengan memodulasi sistem imun dan berpotensi berdiferensiasi menjadi sel-sel yang mirip dengan sel beta.



4. Terapi Sel Punca Embrional (ESCs)

Sel punca embrional memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi hampir semua jenis sel, termasuk sel beta pankreas. Penelitian sedang dilakukan untuk mengarahkan diferensiasi ESCs menjadi sel beta yang berfungsi. Memiliki potensi tinggi untuk berdiferensiasi menjadi sel beta pankreas. ESCs dapat diinduksi untuk membentuk sel-sel yang mirip dengan sel beta melalui manipulasi lingkungan kultur.



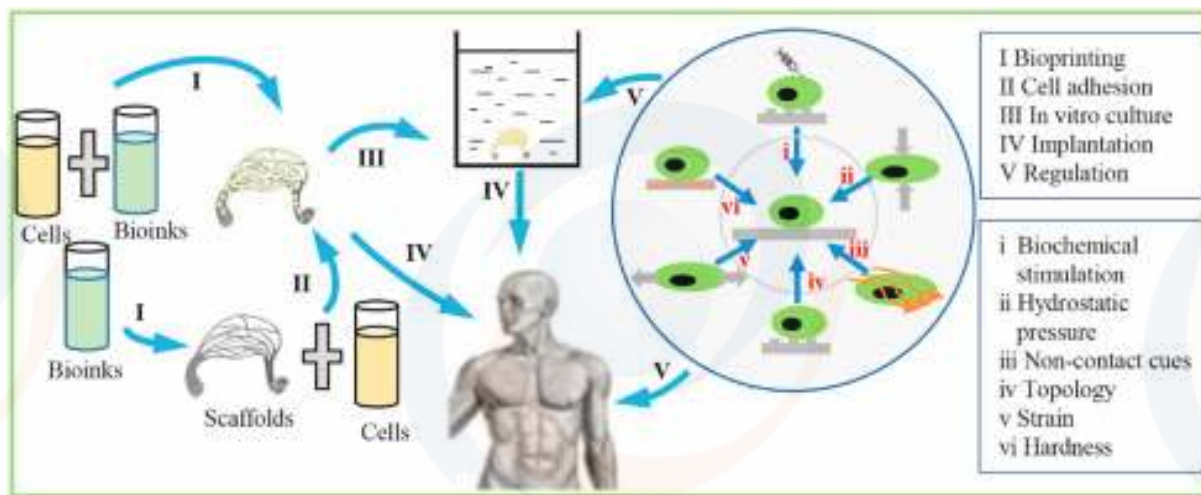
5. Terapi lainnya pada Diabetes

a. Rekayasa Jaringan

Teknik regenerasi jaringan pada sel pankreas menawarkan harapan baru untuk pengobatan diabetes dan gangguan pankreas lainnya. Meskipun banyak dari teknik ini masih dalam tahap penelitian, kemajuan yang dicapai menunjukkan potensi untuk mengembangkan terapi yang efektif dan aman untuk meningkatkan fungsi pankreas dan mengatasi masalah yang terkait dengan diabetes. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengoptimalkan teknik-teknik ini dan memastikan keberhasilannya dalam praktik klinis. Induksi sel beta pankreas dari sel punca merupakan penekatan yang menjanjikan dalam terapi diabetes. Penelitian menunjukkan bahwa sel punca, seperti sel punca mesenkimal dan sel punca embrional, dapat diinduksi untuk berdiferensiasi menjadi sel beta

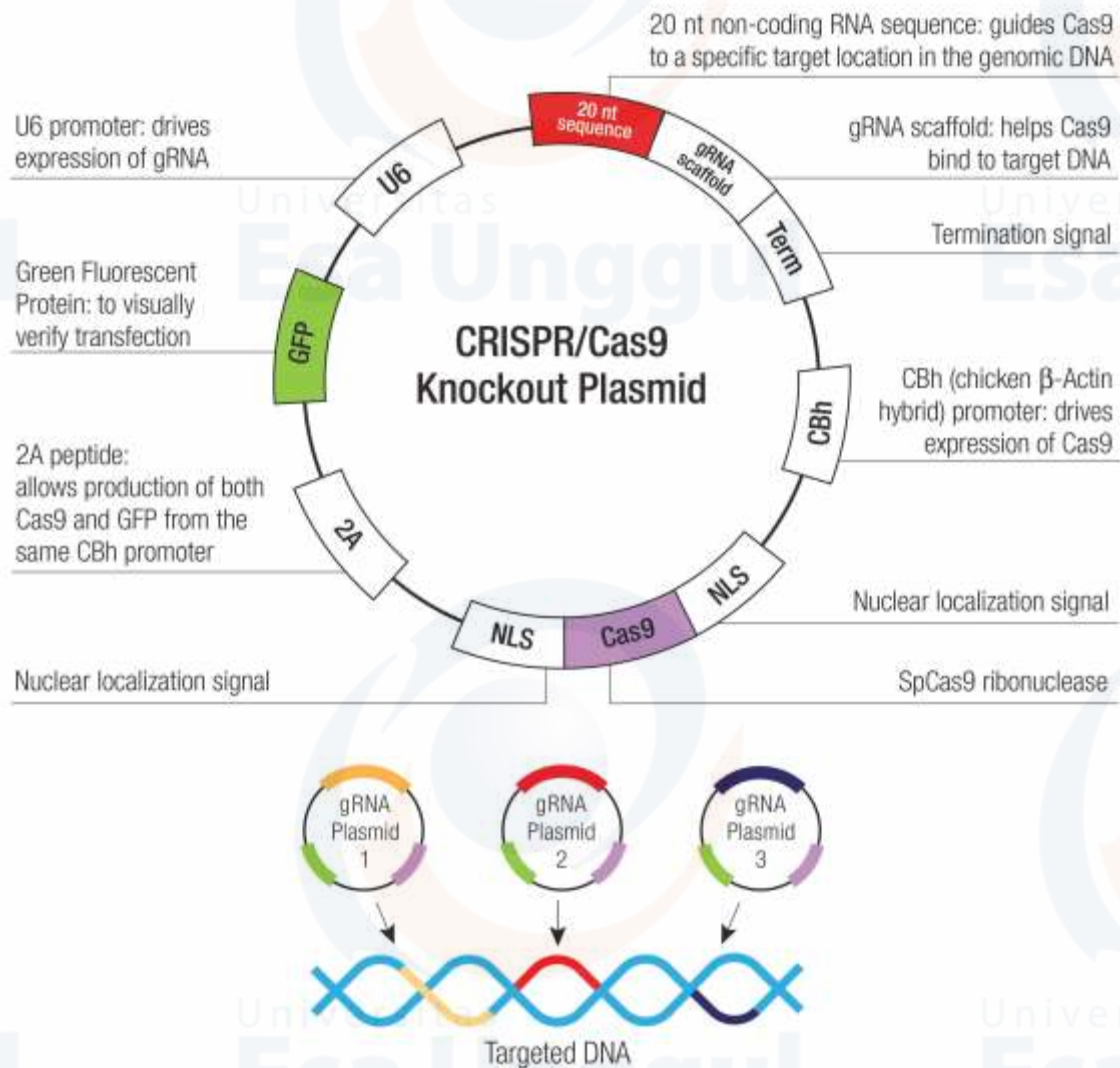
pankreas, yang berfungsi memproduksi insulin dan membantu mengatasi kerusakan akibat diabetes.

Teknik ini melibatkan penggunaan scaffold (kerangka) yang dapat mendukung pertumbuhan sel pankreas. Sel-sel pankreas dapat ditanamkan pada scaffold yang dirancang untuk meniru lingkungan alami pankreas, memungkinkan sel-sel tersebut untuk berkembang dan berfungsi dengan baik. Biomaterial yang biokompatibel dapat digunakan untuk mendukung pertumbuhan sel pankreas dan meningkatkan regenerasi jaringan.



b. Terapi Gen

Teknik seperti CRISPR-Cas9 dapat digunakan untuk mengedit gen yang terlibat dalam produksi insulin atau untuk memperbaiki mutasi genetik yang menyebabkan diabetes. Ini dapat membantu meningkatkan fungsi sel beta pankreas. Transfer genb dilakukan dengan menggunakan vektor virus untuk mengantarkan gen yang diperlukan untuk meningkatkan produksi insulin atau untuk merangsang diferensiasi sel punca menjadi sel beta.

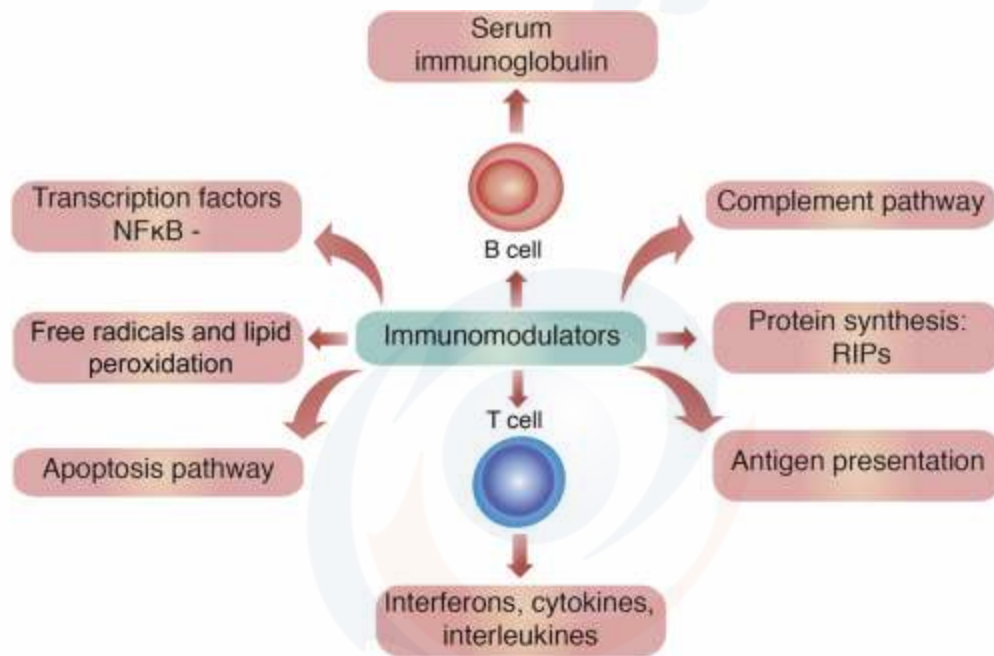


c. Faktor Pertumbuhan dan Sitokin

Faktor pertumbuhan seperti faktor pertumbuhan hepatosit (HGF), faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF), dan insulin-like growth factor (IGF) dapat digunakan untuk merangsang regenerasi sel beta pankreas. Sitokin tertentu dapat digunakan untuk mengatur respons imun dan merangsang regenerasi jaringan pankreas.

d. Terapi Immunomodulasi

Memodulasi sistem imun dengan menggunakan agen imunomodulator untuk mengurangi peradangan dan autoimunitas yang merusak sel beta pankreas, terutama pada diabetes tipe 1. Ini dapat membantu melindungi sel beta yang tersisa dan mendukung regenerasi.



e. Penggunaan Sel Beta yang Diperoleh dari Sumber Lain

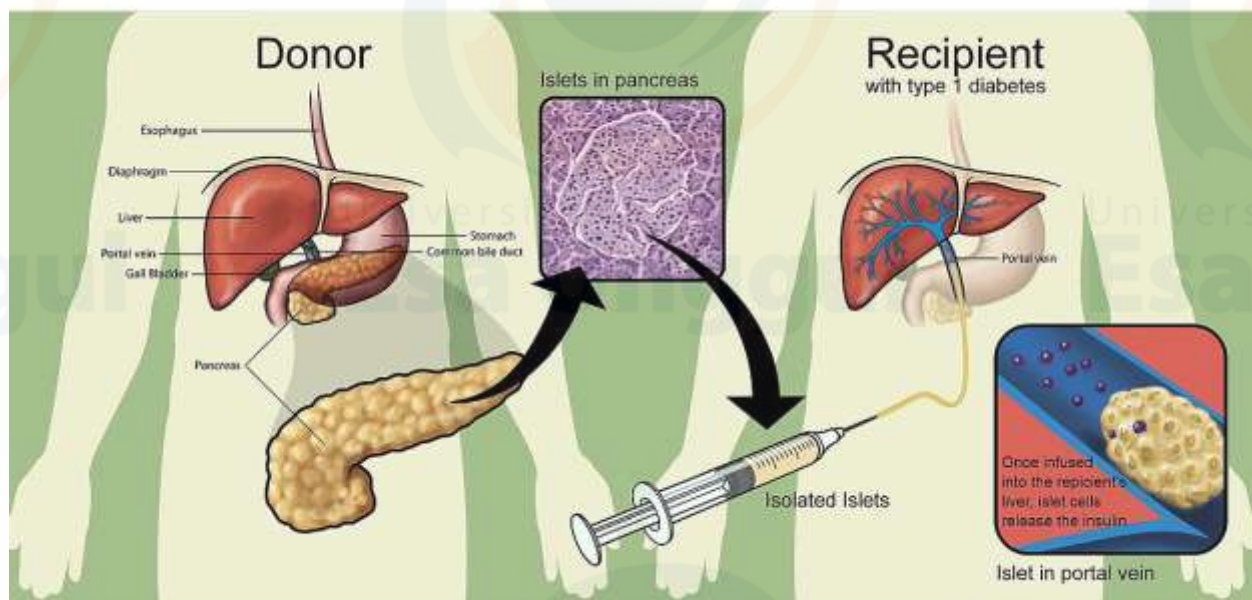
Transplantasi Sel Beta: Sel beta pankreas dapat diperoleh dari donor atau dari sumber lain, seperti sel punca, dan ditransplantasikan ke dalam tubuh pasien untuk menggantikan sel yang hilang atau rusak. **Sel Beta yang Diperoleh dari Sel Induk:** Penelitian sedang dilakukan untuk mengubah sel-sel lain (seperti sel-sel kulit) menjadi sel beta pankreas melalui proses reprogramming.

Proses Induksi Sel Beta Pankreas menggunakan Penggunaan media kultur yang mengandung faktor pertumbuhan dan sitokin tertentu untuk merangsang diferensiasi sel punca menjadi sel beta pankreas. **Penggunaan Molekul Induktif:** Molekul seperti retinoid, faktor pertumbuhan, dan hormon dapat digunakan untuk mengarahkan diferensiasi sel punca ke arah sel beta.

Mekanisme Kerja Sel punca yang diinduksi akan mengalami proses diferensiasi, di mana mereka mengubah karakteristiknya menjadi sel beta pankreas yang berfungsi. Sel beta yang dihasilkan diharapkan dapat memproduksi insulin secara efektif, sehingga dapat membantu mengatur kadar glukosa darah pada individu dengan diabetes.

Penelitian menunjukkan bahwa transplantasi sel beta yang diinduksi dari sel punca ke dalam model hewan diabetes dapat meningkatkan kadar insulin dan memperbaiki kontrol glukosa. Meskipun ada kemajuan, tantangan seperti pengendalian diferensiasi yang tepat, integrasi sel ke dalam jaringan pankreas, dan penghindaran respons imun masih perlu diatasi.

Induksi sel beta pankreas dari sel punca menawarkan potensi besar untuk terapi diabetes. Dengan penelitian yang terus berlanjut, diharapkan metode ini dapat dikembangkan menjadi terapi yang efektif dan aman untuk pasien diabetes, memberikan harapan baru bagi mereka yang menderita penyakit ini.



BAB 11. PERANAN STEM CELL TERAPI PENYAKIT JANTUNG

1. Pendahuluan

Stem cell memiliki peranan penting dalam terapi penyakit jantung dengan kemampuan untuk memperbaiki jaringan yang rusak dan meningkatkan fungsi jantung. Terapi ini menjanjikan dalam mengatasi masalah seperti gagal jantung dan kerusakan akibat serangan jantung, meskipun masih memerlukan penelitian lebih lanjut untuk optimalisasi.

Berbagai jenis sel punca memiliki potensi untuk digunakan dalam terapi penyakit jantung, masing-masing dengan karakteristik dan mekanisme kerja yang berbeda. Penelitian yang terus berlanjut di bidang ini diharapkan dapat mengarah pada pengembangan terapi yang lebih efektif dan aman untuk pasien dengan penyakit jantung. Meskipun masih ada tantangan yang perlu diatasi, seperti pengendalian diferensiasi dan integrasi sel ke dalam jaringan jantung, kemajuan yang dicapai menunjukkan harapan baru dalam pengobatan penyakit jantung.

Mekanisme Kerja Stem Cell dalam Terapi Penyakit Jantung. Stem cell dapat berdiferensiasi menjadi sel jantung yang sehat, menggantikan sel-sel yang rusak akibat penyakit jantung. Proses ini membantu memperbaiki jaringan otot jantung dan meningkatkan fungsi jantung secara keseluruhan. Stem cell memiliki sifat anti-inflamasi yang dapat mengurangi peradangan di area jantung yang terkena. Ini berkontribusi pada pemulihan lebih cepat dan mengurangi kerusakan lebih lanjut.

Jenis Stem Cell yang Digunakan adalah Sel Punca Embrional (ESCs) dan sel punca dewasa (ASCs). Sel punca embrional Memiliki potensi tinggi untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, termasuk sel jantung. Sel Punca Dewasa (ASCs). Diambil dari jaringan tubuh seperti sumsum tulang atau jaringan adiposa, dan dapat digunakan untuk terapi jantung.

2. Penelitian dan Uji Klinis

Beberapa negara telah melakukan uji klinis untuk mengevaluasi efektivitas terapi stem cell dalam mengobati penyakit jantung. Hasil awal menunjukkan perbaikan

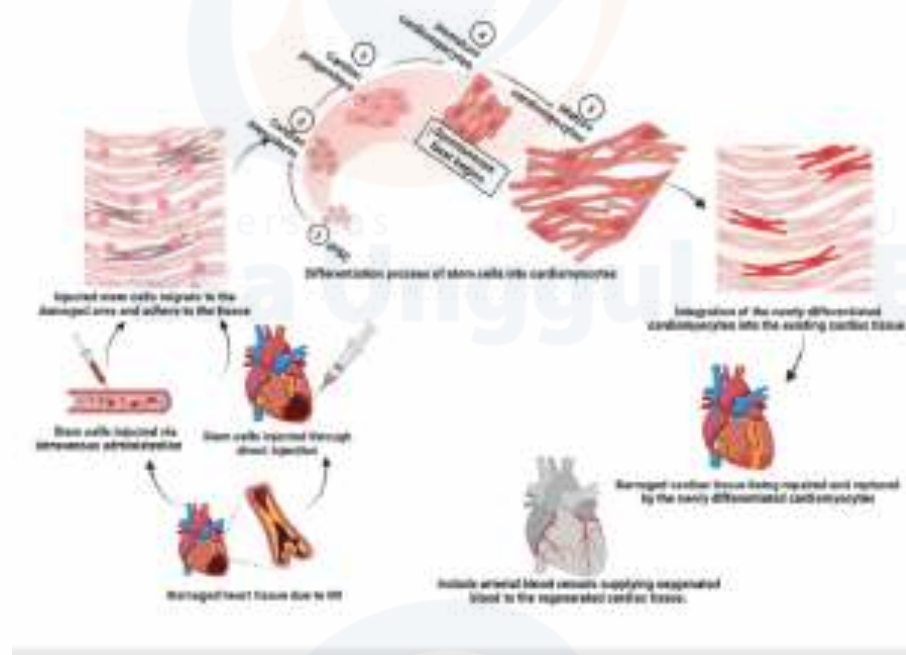
signifikan dalam fungsi jantung dan kualitas hidup pasien. Di Indonesia, terapi stem cell untuk penyakit jantung telah dilakukan dengan hasil yang menjanjikan, menunjukkan potensi metode ini dalam pengobatan.

Masih ada tantangan dalam hal pengendalian diferensiasi sel, integrasi sel ke dalam jaringan jantung, dan penghindaran respons imun. Dengan penelitian yang terus berlanjut, diharapkan terapi stem cell dapat menjadi pilihan utama dalam pengobatan penyakit jantung, memberikan harapan baru bagi pasien yang menderita kondisi ini. Terapi penyakit jantung menggunakan sel punca (stem cell) merupakan area penelitian yang menjanjikan, dengan berbagai jenis sel punca yang sedang dieksplorasi untuk memperbaiki kerusakan jantung dan meningkatkan fungsi jantung.

3. Terapi dengan Sel Punca Embrional (Embryonic Stem Cells - ESCs)

Sel ESCs memiliki potensi pluripotent, yang berarti mereka dapat berdiferensiasi menjadi hampir semua jenis sel dalam tubuh, termasuk sel jantung. Sel ESCs dapat digunakan untuk menghasilkan sel jantung yang sehat dalam kultur, yang kemudian dapat ditransplantasikan ke dalam jantung yang rusak.

Sel punca embrionik (ESCs) menunjukkan potensi besar dalam terapi jantung, terutama dalam regenerasi jaringan dan perbaikan kerusakan jantung. Meskipun ada tantangan terkait keamanan dan etika, penelitian terus berlanjut untuk mengeksplorasi aplikasi klinis ESCs dalam pengobatan penyakit jantung.



Gambar 11.1 Terapi jantung dari sel punca embrio

4. Terpai dengan Sel Punca Dewasa (Adult Stem Cells)

Sel punca dewasa terdiri dari sel punca hematopoietik dan sel mesenkimal. Sel punca hematopoietik (HSCs) berperan penting dalam terapi penyakit jantung dengan kemampuan untuk merangsang regenerasi jaringan jantung dan memperbaiki kerusakan akibat serangan jantung. HSCs dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, termasuk sel-sel yang mendukung perbaikan dan pembentukan pembuluh darah baru, sehingga meningkatkan fungsi jantung. Karakteristik Sel Punca Hematopoietik (HSCs)

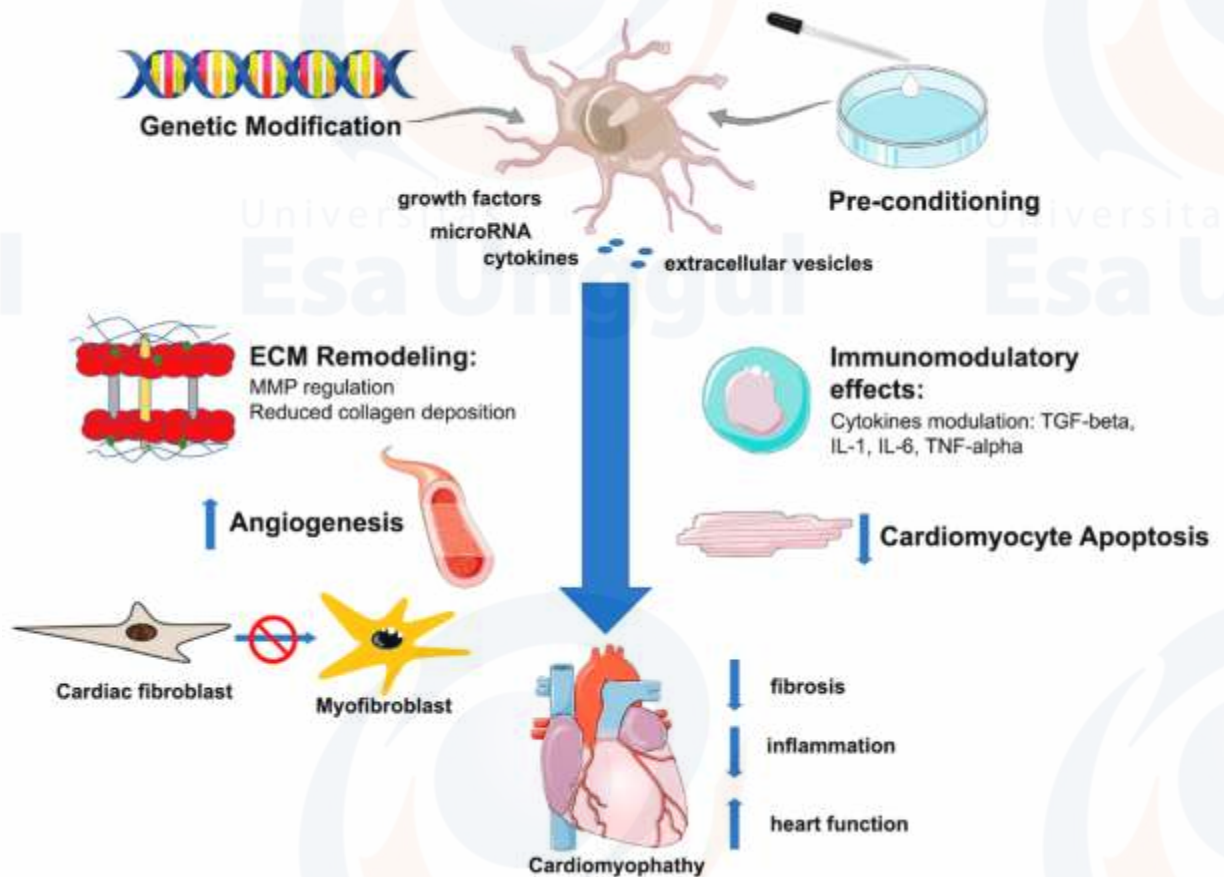
Sel punca hematopoietik memiliki potensi besar dalam terapi penyakit jantung, dengan kemampuan untuk mendukung regenerasi dan perbaikan jaringan. Dengan penelitian yang terus berlanjut, diharapkan HSCs dapat menjadi bagian integral dari strategi pengobatan untuk pasien dengan kondisi jantung yang serius.

Sel Punca Mesenkimal (Mesenchymal Stem Cells - MSCs) adalah jenis sel punca yang memiliki potensi untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, termasuk sel-sel yang membentuk jaringan ikat, tulang, dan lemak. MSCs telah menarik perhatian dalam terapi jantung karena kemampuan mereka untuk memperbaiki jaringan yang rusak dan merangsang regenerasi. Berikut adalah penjelasan lebih lanjut tentang peran MSCs dalam terapi jantung:

Sumber MSCs dapat diisolasi dari berbagai sumber, termasuk: Sumsum Tulang: Sumber tradisional MSCs, Jaringan Adiposa: Dikenal sebagai sel punca adipose, dan Tali Pusat: MSCs dari darah tali pusat memiliki potensi tinggi dan lebih mudah diakses. MSCs dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, termasuk sel otot jantung, sel tulang, dan sel lemak, serta memiliki kemampuan untuk mengeluarkan faktor pertumbuhan dan sitokin yang mendukung perbaikan jaringan.

Mekanisme Kerja MSCs dalam Terapi Jantung. Regenerasi Jaringan MSCs dapat membantu memperbaiki jaringan jantung yang rusak akibat serangan jantung atau gagal jantung dengan berdiferensiasi menjadi sel-sel jantung yang berfungsi. MSCs memiliki sifat imunomodulator yang dapat mengurangi peradangan di area yang terkena, membantu mengurangi kerusakan lebih lanjut dan mendukung proses penyembuhan.

MSCs dapat merangsang pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis), meningkatkan aliran darah ke jaringan jantung yang terpengaruh dan mendukung regenerasi. MSCs dapat mengeluarkan berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin yang mendukung perbaikan jaringan, mengurangi peradangan, dan merangsang regenerasi sel.



Gambar 11.2 terapi jantung dengan MSC sel

5. Aplikasi Klinis MSCs dalam Terapi Jantung

MSCs dapat ditransplantasikan ke dalam jantung pasien untuk memperbaiki jaringan yang rusak. Prosedur ini dapat dilakukan melalui injeksi intrakardial atau infus intravena. Beberapa uji klinis telah dilakukan untuk mengevaluasi efektivitas MSCs dalam pengobatan penyakit jantung, dengan hasil yang menunjukkan perbaikan dalam fungsi jantung dan kualitas hidup pasien.

Tantangan dan Masa Depan terapi dengan menggunakan stem cell adalah Risiko dan Keamanan, meskipun MSCs dianggap relatif aman, masih ada tantangan terkait potensi efek samping dan respons imun. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memastikan keamanan dan efektivitas terapi ini. Penting untuk dilakukan optimasi protokol untuk isolasi, kultur, dan transplantasi MSCs perlu dioptimalkan untuk meningkatkan hasil klinis.

Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami mekanisme kerja MSCs secara mendalam dan untuk mengidentifikasi pasien yang paling mungkin mendapatkan

manfaat dari terapi ini. Sel punca mesenkimal memiliki potensi besar dalam terapi jantung, dengan kemampuan untuk mendukung regenerasi jaringan, mengurangi peradangan, dan merangsang pembentukan pembuluh darah baru. Dengan penelitian yang terus berlanjut, MSCs dapat menjadi bagian integral dari strategi pengobatan untuk pasien dengan penyakit jantung, memberikan harapan baru bagi mereka yang menderita kondisi ini.

Sumber terapi jantung adalah sel punca hematopoietik, mesenkimal, Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs) dan cardiac progenitor. Sel Punca Hematopoietik (Hematopoietic Stem Cells - HSCs), ditemukan di sumsum tulang dan darah perifer. HSCs dapat membantu dalam regenerasi jaringan jantung dan memperbaiki kerusakan akibat serangan jantung. Sel Punca Mesenkimal (Mesenchymal Stem Cells - MSCs) dapat diisolasi dari sumsum tulang, jaringan adiposa, dan jaringan ikat. MSCs memiliki sifat anti-inflamasi dan dapat berdiferensiasi menjadi sel-sel jantung. Mereka juga dapat merangsang perbaikan jaringan dan mengurangi peradangan di area yang terkena. Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs) adalah sel somatik yang telah direprogram untuk kembali ke keadaan pluripotent, mirip dengan sel punca embrional. iPSCs dapat dihasilkan dari sel-sel pasien sendiri, mengurangi risiko penolakan imun. Mereka dapat digunakan untuk menghasilkan sel jantung yang dapat ditransplantasikan ke dalam jantung yang rusak. Cardiac Progenitor Cells, ditemukan di jantung dewasa, meskipun dalam jumlah yang sangat kecil. Sel progenitor jantung memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi sel jantung dan dapat digunakan untuk merangsang regenerasi jaringan jantung.

6. Sel Punca dari Tali Pusat (Umbilical Cord Stem Cells)

Karakteristik sel punca yang diambil dari darah tali pusat, yang kaya akan sel punca hematopoietik dan mesenkimal. Sel-sel ini dapat digunakan untuk terapi regeneratif, termasuk dalam pengobatan penyakit jantung. Sumber HSCs ditemukan di sumsum tulang dan darah perifer, yang membuatnya mudah diakses untuk pengambilan.

Potensi Diferensiasi, HSCs memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel darah, termasuk sel-sel yang dapat berkontribusi pada perbaikan jaringan jantung. Mekanisme Kerja HSCs dalam Terapi Jantung antara lain HSCs dapat

membantu dalam regenerasi jaringan jantung yang rusak dengan memproduksi sel-sel yang diperlukan untuk memperbaiki kerusakan. HSCs berperan dalam angiogenesis, yaitu proses pembentukan pembuluh darah baru, yang sangat penting untuk meningkatkan aliran darah ke jaringan jantung yang terpengaruh.

Aplikasi Klinis HSCs antara lain untuk Transplantasi Sel, HSCs dapat digunakan dalam prosedur transplantasi sel untuk menggantikan sel-sel yang hilang atau rusak akibat penyakit jantung. HSCs dapat dikombinasikan dengan terapi lain, seperti penggunaan sel punca mesenkimal, untuk meningkatkan hasil terapi dan mempercepat proses penyembuhan.

Tantangan dan Prospek antara lain risiko penolakan, meskipun HSCs dapat diambil dari pasien sendiri untuk mengurangi risiko penolakan, masih ada tantangan dalam memastikan bahwa sel-sel ini berfungsi dengan baik setelah transplantasi. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami mekanisme kerja HSCs secara mendalam dan untuk mengoptimalkan penggunaannya dalam terapi jantung. Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs) memiliki potensi besar dalam terapi jantung karena kemampuan mereka untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel jantung dan memperbaiki jaringan yang rusak. iPSCs dapat digunakan untuk regenerasi jaringan, pengobatan penyakit jantung, dan pengembangan model penyakit untuk penelitian lebih lanjut.

Karakteristik Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs) antara lain dihasilkan dari sel-sel somatik yang direprogram, sehingga tidak memerlukan sumber sel embrionik. Proses reprogramming memungkinkan sel-sel ini untuk kembali ke keadaan pluripotent, mirip dengan sel embrionik. iPSCs dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, termasuk sel otot jantung (cardiomyocytes), yang sangat penting untuk terapi jantung.

Mekanisme Kerja iPSCs dalam Terapi Jantung yaitu Regenerasi Jaringan, iPSC-derived cardiomyocytes dapat menggantikan sel-sel jantung yang rusak akibat serangan jantung atau gagal jantung, membantu memperbaiki fungsi jantung. iPSCs dapat digunakan untuk membuat model penyakit jantung yang lebih akurat, memungkinkan penelitian lebih lanjut tentang patogenesis dan pengembangan terapi baru. Sel-sel ini dapat digunakan untuk menguji respons terhadap berbagai obat, membantu dalam pengembangan terapi yang lebih efektif dan personalisasi pengobatan.

Aplikasi Klinis iPSCs dalam Terapi Jantung antara lain untuk Transplantasi Sel; iPSC-derived cardiomyocytes dapat ditransplantasikan ke dalam jantung pasien untuk memperbaiki jaringan yang rusak, dengan harapan meningkatkan fungsi jantung. Penelitian terus dilakukan untuk mengembangkan terapi berbasis iPSCs yang aman dan efektif untuk pasien dengan penyakit jantung, Tantangan dan Masa Depan antara lain Meskipun iPSCs menjanjikan, tantangan terkait keamanan, seperti risiko tumorigenesis, perlu ditangani melalui penelitian lebih lanjut. Protokol untuk diferensiasi dan transplantasi iPSCs perlu dioptimalkan untuk meningkatkan hasil klinis dan mengurangi risiko. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami sepenuhnya mekanisme kerja iPSCs dan untuk mengidentifikasi pasien yang paling mungkin mendapatkan manfaat dari terapi ini.

Kesimpulan

Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs) menawarkan harapan baru dalam terapi jantung dengan kemampuan untuk mendukung regenerasi jaringan, menciptakan model penyakit, dan menguji respons obat. Dengan penelitian yang terus berlanjut, iPSCs dapat menjadi bagian penting dari strategi pengobatan untuk pasien dengan penyakit jantung, memberikan peluang untuk perbaikan yang signifikan dalam hasil klinis.

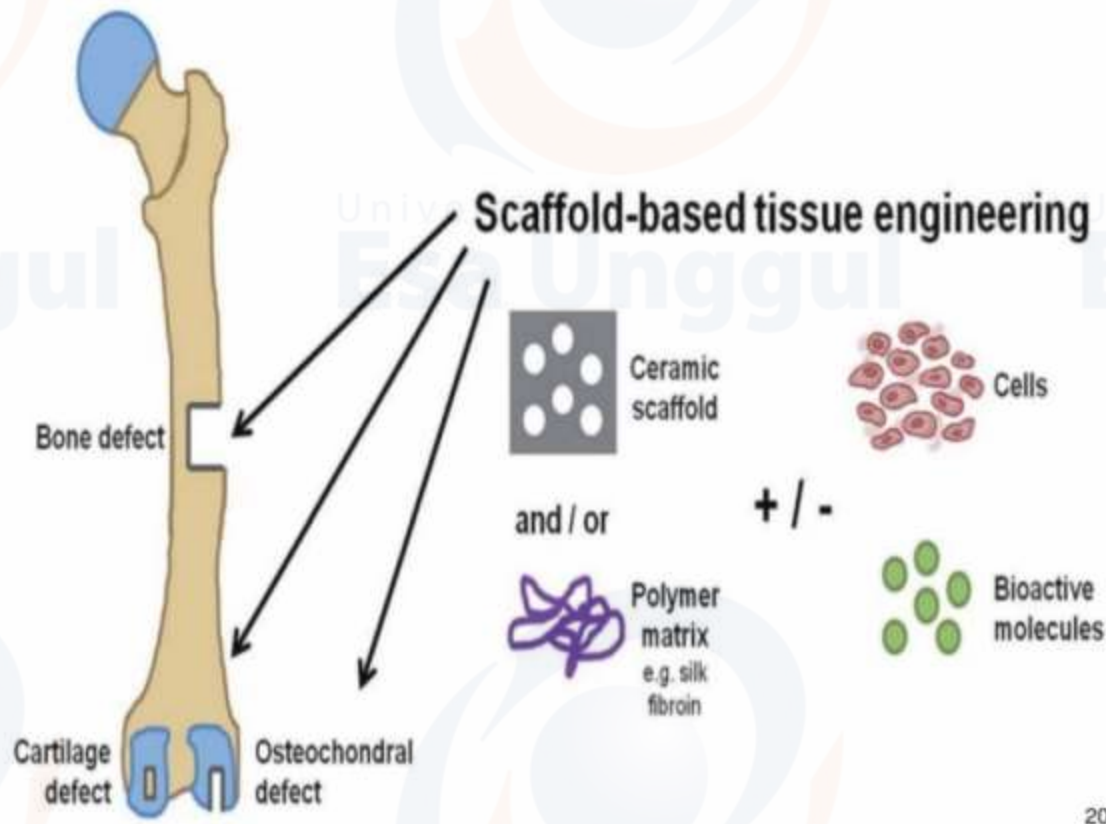
BAB 12. PERANAN STEM CELL TERAPI PENYAKIT TULANG

1. Pendahuluan

Terapi menggunakan sel punca untuk penyakit tulang merupakan area penelitian yang menjanjikan, terutama dalam pengobatan kondisi seperti osteoporosis, patah tulang yang tidak sembuh, dan penyakit degeneratif lainnya. Sel punca memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel yang membentuk jaringan tulang, sehingga dapat digunakan untuk memperbaiki atau mengganti jaringan tulang yang rusak. Berikut adalah beberapa jenis sel punca yang digunakan dalam terapi penyakit tulang:

Aplikasi Terapi Sel Punca untuk Penyakit Tulang, antara lain untuk

1. Regenerasi Tulang, Sel punca dapat digunakan untuk memperbaiki tulang yang rusak akibat patah tulang, osteoporosis, atau penyakit degeneratif lainnya. MSCs dapat ditransplantasikan ke area yang membutuhkan perbaikan.
2. Rekayasa Jaringan Tulang, menggunakan scaffold (kerangka) yang mendukung pertumbuhan sel punca untuk membentuk jaringan tulang baru. Sel punca dapat ditanamkan pada scaffold yang dirancang untuk meniru struktur tulang.
3. Pengobatan Osteoporosis, MSCs dapat digunakan untuk meningkatkan kepadatan tulang dan memperbaiki kualitas tulang pada pasien dengan osteoporosis.
4. Model Penyakit, Sel punca, terutama iPSCs, dapat digunakan untuk membuat model penyakit tulang yang lebih akurat, memungkinkan penelitian lebih lanjut tentang patogenesis dan pengembangan terapi baru.



Gambar 12.1 Stem cell untuk terapi tulang

Tantangan dan Masa Depan

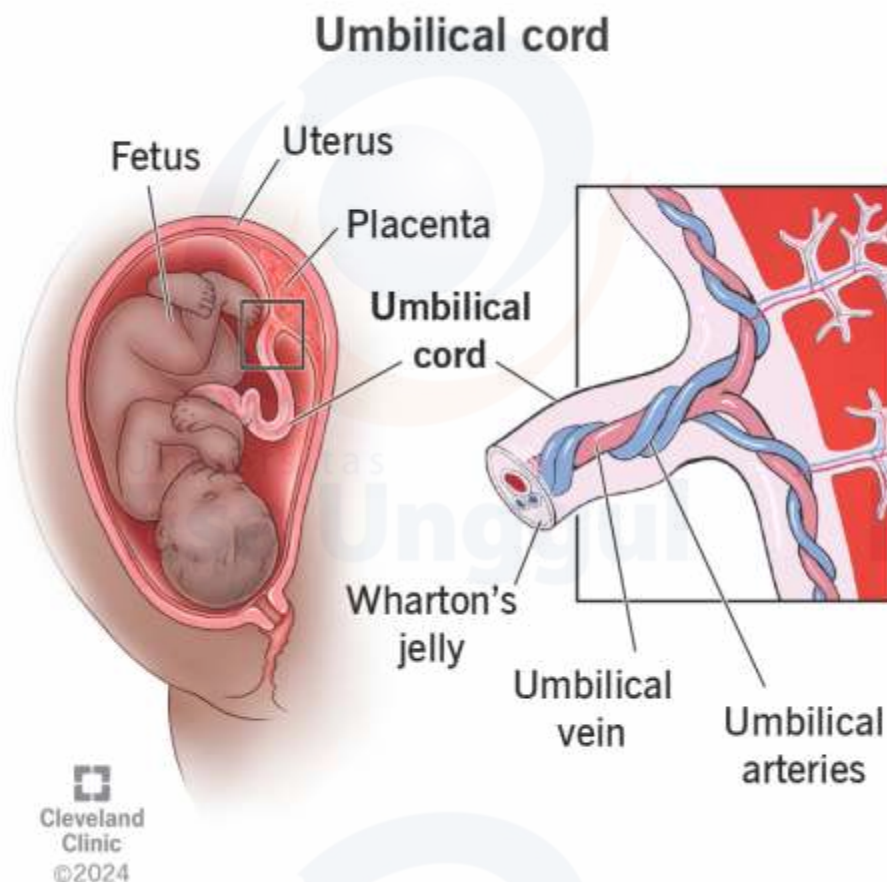
Meskipun terapi sel punca menjanjikan, tantangan terkait keamanan, seperti risiko tumorigenesis dan respons imun, perlu ditangani melalui penelitian lebih lanjut. Protokol untuk isolasi, kultur, dan transplantasi sel punca perlu dioptimalkan untuk meningkatkan hasil klinis. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami mekanisme kerja sel punca dalam regenerasi tulang dan untuk mengidentifikasi pasien yang paling mungkin mendapatkan manfaat dari terapi ini.

Sel punca memiliki potensi besar dalam terapi penyakit tulang, dengan kemampuan untuk mendukung regenerasi jaringan tulang dan memperbaiki kerusakan. Dengan penelitian yang terus berlanjut, diharapkan terapi berbasis sel punca dapat menjadi pilihan utama dalam pengobatan berbagai kondisi tulang, memberikan harapan baru bagi pasien yang menderita penyakit tulang.

1. Sel Punca Mesenkimal (Mesenchymal Stem Cells - MSCs)

MSCs dapat diisolasi dari berbagai sumber, termasuk:, yaitu Sumsum Tulang: Sumber utama MSCs yang telah banyak diteliti., Jaringan Adiposa: Dikenal sebagai sel punca adiposa, yang juga memiliki potensi untuk berdiferensiasi menjadi sel tulang, dan Tali Pusat: MSCs dari darah tali pusat memiliki potensi tinggi dan lebih mudah diakses.

MSCs dapat berdiferensiasi menjadi osteoblas (sel pembentuk tulang), chondrocytes (sel pembentuk tulang rawan), dan adipocytes (sel lemak), yang penting untuk regenerasi jaringan tulang.



Gambar 12.1 Umbilical cord yang memiliki banyak sel punca

2. Sel Punca Hematopoietik (Hematopoietic Stem Cells - HSCs)

Sel Punca Hematopoietik ditemukan di sumsum tulang dan darah perifer. Meskipun HSCs lebih dikenal dalam konteks penyakit darah, mereka juga berkontribusi pada lingkungan mikro sumsum tulang dan dapat berperan dalam proses regenerasi tulang.

Sel Punca Hematopoietik (Hematopoietic Stem Cells - HSCs) adalah sel punca yang memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel darah, termasuk sel darah merah, sel darah putih, dan trombosit. Meskipun HSCs lebih dikenal dalam konteks pengobatan penyakit darah dan kanker, penelitian terbaru menunjukkan bahwa HSCs juga memiliki potensi dalam terapi tulang. Berikut adalah penjelasan lebih lanjut tentang peran HSCs dalam terapi tulang:

Karakteristik Sel Punca Hematopoietik (HSCs)

HSCs ditemukan di sumsum tulang, darah perifer, dan darah tali pusat. Mereka adalah komponen penting dari sistem hematopoietik dan berperan dalam pembentukan sel-sel darah. HSCs dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel darah, tetapi mereka juga berkontribusi pada lingkungan mikro sumsum tulang yang mendukung regenerasi tulang.

Mekanisme Kerja HSCs dalam Terapi Tulang

HSCs dapat berkontribusi pada perbaikan jaringan tulang dengan memproduksi sel-sel yang mendukung pembentukan tulang dan memperbaiki kerusakan akibat patah tulang atau penyakit degeneratif. HSCs dapat berinteraksi dengan MSCs di sumsum tulang, yang merupakan sel punca utama untuk regenerasi tulang. Interaksi ini dapat merangsang diferensiasi MSCs menjadi osteoblas (sel pembentuk tulang) dan mendukung proses regenerasi tulang. HSCs dapat mengeluarkan faktor pertumbuhan dan sitokin yang mendukung perbaikan jaringan tulang, merangsang angiogenesis (pembentukan pembuluh darah baru), dan mengurangi peradangan.

Aplikasi Klinis HSCs dalam Terapi Tulang, antara lain untuk Transplantasi Sel: HSCs dapat digunakan dalam prosedur transplantasi untuk menggantikan sel-sel yang hilang atau rusak akibat penyakit tulang. Misalnya, transplantasi HSCs dari sumsum tulang dapat membantu memperbaiki jaringan tulang pada pasien dengan kondisi seperti osteoporosis atau patah tulang yang tidak sembuh. HSCs dapat berkontribusi pada

pengobatan penyakit tulang degeneratif dengan merangsang regenerasi jaringan tulang dan meningkatkan kualitas tulang.

Tantangan dan Masa Depan

Meskipun HSCs dianggap relatif aman, tantangan terkait potensi efek samping dan respons imun perlu ditangani melalui penelitian lebih lanjut. Protokol untuk isolasi, kultur, dan transplantasi HSCs perlu dioptimalkan untuk meningkatkan hasil klinis. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami mekanisme kerja HSCs dalam regenerasi tulang dan untuk mengidentifikasi pasien yang paling mungkin mendapatkan manfaat dari terapi ini.

Sel punca hematopoietik memiliki potensi dalam terapi tulang, terutama dalam konteks regenerasi jaringan dan interaksi dengan sel punca mesenkimal. Dengan penelitian yang terus berlanjut, diharapkan HSCs dapat menjadi bagian integral dari strategi pengobatan untuk pasien dengan penyakit tulang, memberikan harapan baru bagi mereka yang menderita kondisi ini.

3. Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs)

Induced Pluripotent Cells (iPSCs) adalah sel somatik yang telah direprogram untuk kembali ke keadaan pluripotent, mirip dengan sel punca embrional. iPSCs dapat digunakan untuk menghasilkan sel-sel osteogenik yang dapat membantu dalam regenerasi tulang.

Sel IPCs memiliki potensi besar dalam terapi penyakit tulang karena kemampuan mereka untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, termasuk sel tulang. IPCs dapat digunakan untuk memperbaiki jaringan tulang yang rusak dan mendukung regenerasi tulang melalui mekanisme seperti pelepasan faktor pertumbuhan dan rekayasa jaringan.

4. Sel Punca Embrional (Embryonic Stem Cells - ESCs)

ESCs memiliki potensi tinggi untuk berdiferensiasi menjadi hampir semua jenis sel, termasuk sel tulang. Meskipun penggunaan ESCs dalam terapi tulang masih dalam

tahap penelitian dan menghadapi tantangan etika, mereka menunjukkan potensi untuk regenerasi tulang.

Sel Punca Embrional (Embryonic Stem Cells - ESCs) memiliki potensi yang sangat besar dalam terapi penyakit tulang karena kemampuan mereka untuk berdiferensiasi menjadi hampir semua jenis sel dalam tubuh, termasuk sel-sel yang membentuk jaringan tulang. Berikut adalah penjelasan lebih lanjut tentang peran ESCs dalam terapi penyakit tulang:

Karakteristik Sel Punca Embrional (ESCs)

ESCs diambil dari blastokista, yaitu tahap awal perkembangan embrio. Mereka memiliki potensi pluripotent, yang berarti dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, termasuk osteoblas (sel pembentuk tulang), chondrocytes (sel pembentuk tulang rawan), dan sel-sel lainnya. ESCs dapat diinduksi untuk berdiferensiasi menjadi sel tulang melalui manipulasi kultur dan penggunaan faktor pertumbuhan tertentu. Ini memungkinkan mereka untuk berkontribusi pada pembentukan jaringan tulang baru.

Mekanisme Kerja ESCs dalam Terapi Penyakit Tulang

ESCs dapat digunakan untuk memperbaiki atau menggantikan jaringan tulang yang rusak akibat patah tulang, osteoporosis, atau penyakit degeneratif lainnya. Dengan diferensiasi menjadi osteoblas, ESCs dapat membantu membangun kembali jaringan tulang. ESCs dapat mengeluarkan berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin yang mendukung perbaikan jaringan, merangsang angiogenesis (pembentukan pembuluh darah baru), dan mengurangi peradangan.

ESCs dapat digunakan dalam kombinasi dengan scaffold (kerangka) yang dirancang untuk mendukung pertumbuhan sel tulang. Sel-sel ini dapat ditanamkan pada scaffold yang meniru struktur tulang, memungkinkan pembentukan jaringan tulang baru. ESCs dapat digunakan untuk mempercepat penyembuhan patah tulang, terutama pada kasus di mana tulang tidak sembuh dengan baik (non-union) atau patah tulang yang kompleks. ESCs dapat membantu meningkatkan kepadatan tulang dan memperbaiki kualitas tulang pada pasien dengan osteoporosis, mengurangi risiko patah tulang. ESCs dapat digunakan untuk membuat model penyakit tulang yang lebih akurat, memungkinkan penelitian lebih lanjut tentang patogenesis dan pengembangan terapi baru.

Tantangan dan Masa Depan

Penggunaan ESCs menghadapi tantangan etika karena mereka diambil dari embrio. Ini telah memicu perdebatan tentang hak-hak embrio dan penggunaan sel punca dalam penelitian. Meskipun ESCs menjanjikan, tantangan terkait keamanan, seperti risiko tumorigenesis, perlu ditangani melalui penelitian lebih lanjut. Protokol untuk diferensiasi dan transplantasi ESCs perlu dioptimalkan untuk meningkatkan hasil klinis dan mengurangi risiko.

Kesimpulan

Sel punca embrional memiliki potensi besar dalam terapi penyakit tulang, dengan kemampuan untuk mendukung regenerasi jaringan tulang dan memperbaiki kerusakan. Meskipun ada tantangan etika dan keamanan yang perlu diatasi, penelitian yang terus berlanjut di bidang ini dapat membuka jalan untuk pengembangan terapi yang efektif dan aman untuk berbagai kondisi tulang, memberikan harapan baru bagi pasien yang menderita penyakit tulang.

BAB 13 PERAN STEM CELL DALAM TERAPI KANKER

1. PENDAHULUAN

Penggunaan sel punca dalam terapi kanker adalah area penelitian yang menjanjikan dan kompleks. Sel punca dapat berperan dalam berbagai aspek pengobatan kanker, termasuk pengobatan, pemulihan, dan penelitian. Sel punca memiliki potensi besar dalam terapi kanker, baik melalui transplantasi sel punca hematopoietik, penggunaan sel punca mesenkimal, maupun pendekatan inovatif lainnya. Dengan penelitian yang terus berlanjut, diharapkan terapi berbasis sel punca dapat menjadi bagian integral dari strategi pengobatan kanker, memberikan harapan baru bagi pasien yang menderita penyakit ini.

Meskipun terapi sel punca menjanjikan, tantangan terkait keamanan, seperti risiko tumorigenesis dan respons imun, perlu ditangani melalui penelitian lebih lanjut. **Optimasi** Protokol untuk isolasi, kultur, dan transplantasi sel punca perlu dioptimalkan untuk meningkatkan hasil klinis. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami mekanisme kerja sel punca dalam konteks kanker dan untuk mengidentifikasi pasien yang paling mungkin mendapatkan manfaat dari terapi ini.

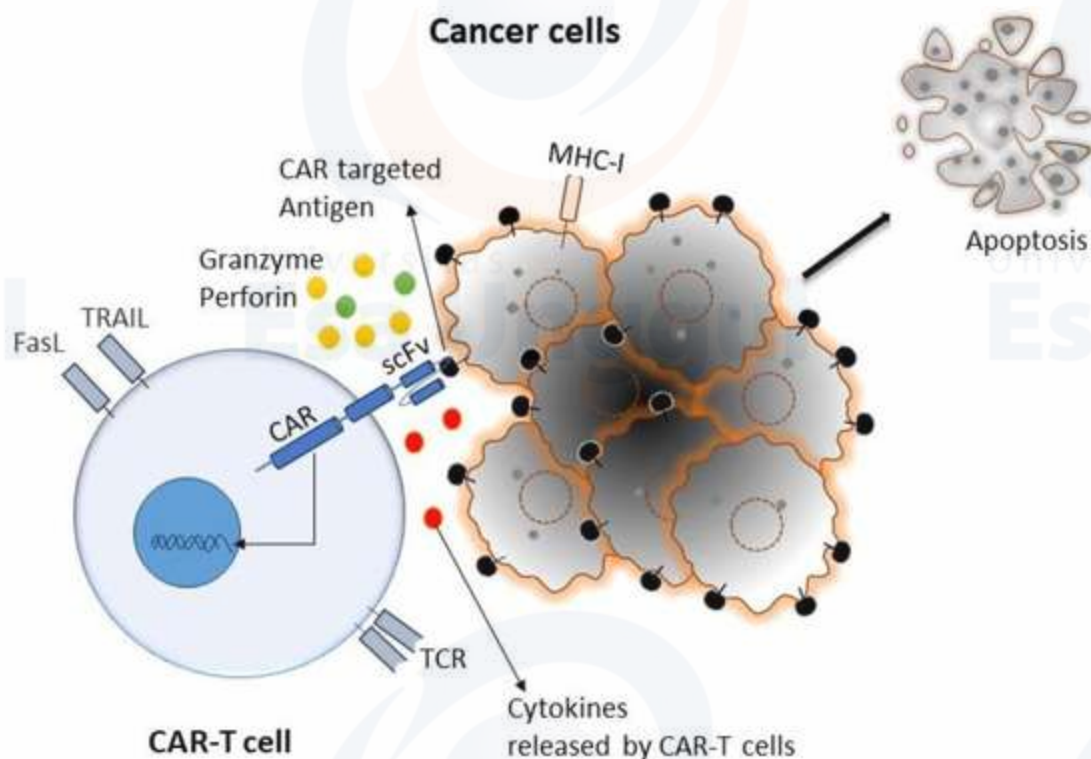
2. TRANSPLANTASI SEL PUNCA HEMATOPOIETIK (HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION - HSCT)

Transplantasi sel punca hematopoietik adalah prosedur di mana sel punca hematopoietik (HSCs) diambil dari sumsum tulang, darah perifer, atau darah tali pusat dan ditransplantasikan ke pasien. Sel tersebut sering digunakan untuk mengobati kanker darah, seperti leukemia dan limfoma, serta beberapa jenis kanker solid. Prosedur ini membantu memulihkan sistem hematopoietik pasien setelah kemoterapi atau radiasi yang intensif. Setelah kemoterapi untuk membunuh sel kanker, sel punca yang sehat ditransplantasikan untuk menggantikan sel-sel yang hilang dan memulihkan produksi sel darah. HSCT merupakan terapi yang efektif untuk banyak jenis kanker darah dan beberapa kondisi genetik. Meskipun prosedur ini memiliki risiko dan tantangan, kemajuan dalam teknik dan pemahaman tentang HSCT terus meningkatkan hasil bagi pasien.

Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengoptimalkan prosedur dan mengurangi risiko komplikasi.

Proses HSCT melalui Pengambilan Sel Punca: Sel punca hematopoietik dapat diambil dari beberapa sumber, antara lain Sumsum Tulang, diambil melalui prosedur yang dilakukan di bawah anestesi umum, di mana jarum panjang dimasukkan ke dalam pinggul untuk mengekstrak sel. Darah Perifer: Melalui proses apheresis, di mana donor menerima obat untuk meningkatkan jumlah sel punca dalam darah, kemudian darah diambil dan sel punca dipisahkan. Darah Tali Pusat: Sel punca diambil dari darah yang tersisa di tali pusat setelah kelahiran bayi.

Penyakit kanker yang dapat diobati menggunakan HSCT antara lain kanker darah Leukemia, termasuk leukemia limfoblastik akut dan leukemia mieloid akut. Limfoma: Seperti limfoma Hodgkin dan non-Hodgkin. Penyakit Genetik: Beberapa kondisi genetik yang mempengaruhi sistem kekebalan tubuh juga dapat diobati dengan HSCT.



Gambar 13.1 Terapi kanker dengan HSCT

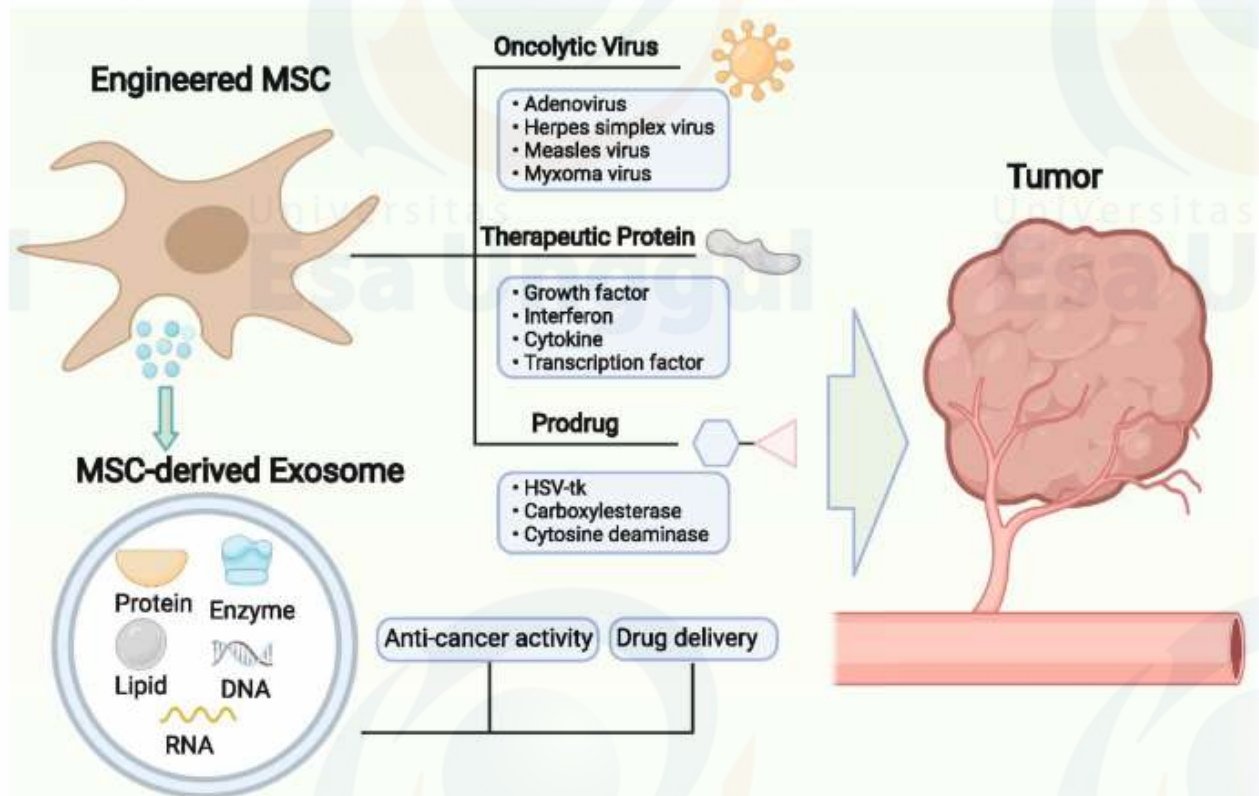
Prosedur Transplantasi HSCT meliputi persiapan, sebelum transplantasi, pasien menjalani regimen conditioning, yang meliputi kemoterapi dan/atau radiasi untuk menghancurkan sel-sel kanker dan mempersiapkan sumsum tulang untuk menerima sel punca baru. Sel punca yang telah diambil dari donor kemudian diinfuskan ke dalam tubuh pasien melalui jalur intravena, mirip dengan transfusi darah. Setelah transplantasi, pasien akan dirawat di rumah sakit selama beberapa minggu untuk memantau tanda-tanda engraftment (penyambungan sel punca) dan mengelola risiko infeksi. Pasien mungkin memerlukan obat imun supresif untuk mencegah reaksi penolakan terhadap sel donor.

Komplikasi Potensial setelah transplantasi adalah Graft-versus-Host Disease (GVHD) adalah suatu kondisi di mana sel-sel donor menyerang jaringan tubuh penerima, yang dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan. Pasien berisiko tinggi terhadap infeksi selama periode pemulihan karena sistem kekebalan tubuh yang lemah.

3. SEL PUNCA MESENKIMAL (MESENCHYMAL STEM CELLS - MSCS)

MSCs memiliki sifat imunomodulator dan dapat mengurangi peradangan, yang dapat bermanfaat dalam konteks kanker. MSCs sedang diteliti untuk digunakan dalam terapi kombinasi dengan kemoterapi atau radiasi untuk meningkatkan efektivitas pengobatan dan mengurangi efek samping. MSCs juga dapat digunakan untuk mengantarkan obat secara langsung ke tumor, meningkatkan akurasi pengobatan dan mengurangi kerusakan pada jaringan sehat.

Sel Punca Mesenkimal (Mesenchymal Stem Cells - MSCs) adalah jenis sel punca yang memiliki potensi untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, termasuk sel tulang, tulang rawan, dan lemak. MSCs telah menarik perhatian dalam terapi kanker karena sifat-sifat uniknya, termasuk kemampuan untuk memodulasi respons imun, merangsang regenerasi jaringan, dan mengantarkan terapi secara langsung ke sel kanker.



Sel Punca Mesenkimal (MSCs) dapat diisolasi dari berbagai sumber, antara lain Sumsum Tulang: Sumber utama MSCs yang telah banyak diteliti., jaringan adiposa: Dikenal sebagai sel punca adipose, dan Tali Pusat: MSCs dari darah tali pusat memiliki potensi tinggi dan lebih mudah diakses. MSCs dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, termasuk osteoblas (sel pembentuk tulang), chondrocytes (sel pembentuk tulang rawan), dan adipocytes (sel lemak). MSCs memiliki kemampuan untuk memodulasi respons imun, yang dapat membantu mengurangi peradangan dan meningkatkan toleransi terhadap sel kanker.

MSCs dapat digunakan sebagai vektor untuk mengantarkan obat kemoterapi atau agen terapeutik lainnya secara langsung ke sel kanker. Ini meningkatkan akurasi pengobatan dan mengurangi efek samping pada jaringan sehat. MSCs dapat mempengaruhi mikro lingkungan tumor dengan mengeluarkan sitokin dan faktor pertumbuhan yang dapat mengubah respons imun terhadap sel kanker. Ini dapat membantu mengurangi pertumbuhan tumor dan meningkatkan efektivitas terapi. MSCs dapat membantu memperbaiki jaringan yang rusak akibat kanker atau pengobatan

kanker, seperti kemoterapi dan radiasi, dengan merangsang regenerasi sel dan mengurangi peradangan.

Aplikasi Klinis MSCs dalam Terapi Kanker antara lain MSCs dapat digunakan dalam kombinasi dengan kemoterapi atau imunoterapi untuk meningkatkan efektivitas pengobatan dan mengurangi efek samping. Penelitian menunjukkan bahwa MSCs dapat meningkatkan respons terhadap terapi kanker tertentu. MSCs sedang diteliti untuk digunakan dalam pengobatan kanker solid, di mana mereka dapat membantu mengantarkan terapi secara langsung ke tumor dan meningkatkan hasil pengobatan. MSCs juga digunakan dalam penelitian untuk memahami interaksi antara sel kanker dan sel-sel dalam mikro lingkungan tumor, yang dapat membantu dalam pengembangan terapi baru.

Meskipun MSCs menjanjikan, tantangan terkait keamanan, seperti risiko tumorigenesis dan respons imun, perlu ditangani melalui penelitian lebih lanjut. Protokol untuk isolasi, kultur, dan penggunaan MSCs dalam terapi kanker perlu dioptimalkan untuk meningkatkan hasil klinis. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami mekanisme kerja MSCs dalam konteks kanker dan untuk mengidentifikasi pasien yang paling mungkin mendapatkan manfaat dari terapi ini.

Sel punca mesenkimal memiliki potensi besar dalam terapi kanker, baik sebagai agen pengantaran obat, modulasi respons imun, maupun dalam terapi kombinasi. Dengan penelitian yang terus berlanjut, diharapkan MSCs dapat menjadi bagian integral dari strategi pengobatan kanker, memberikan harapan baru bagi pasien yang menderita penyakit ini.

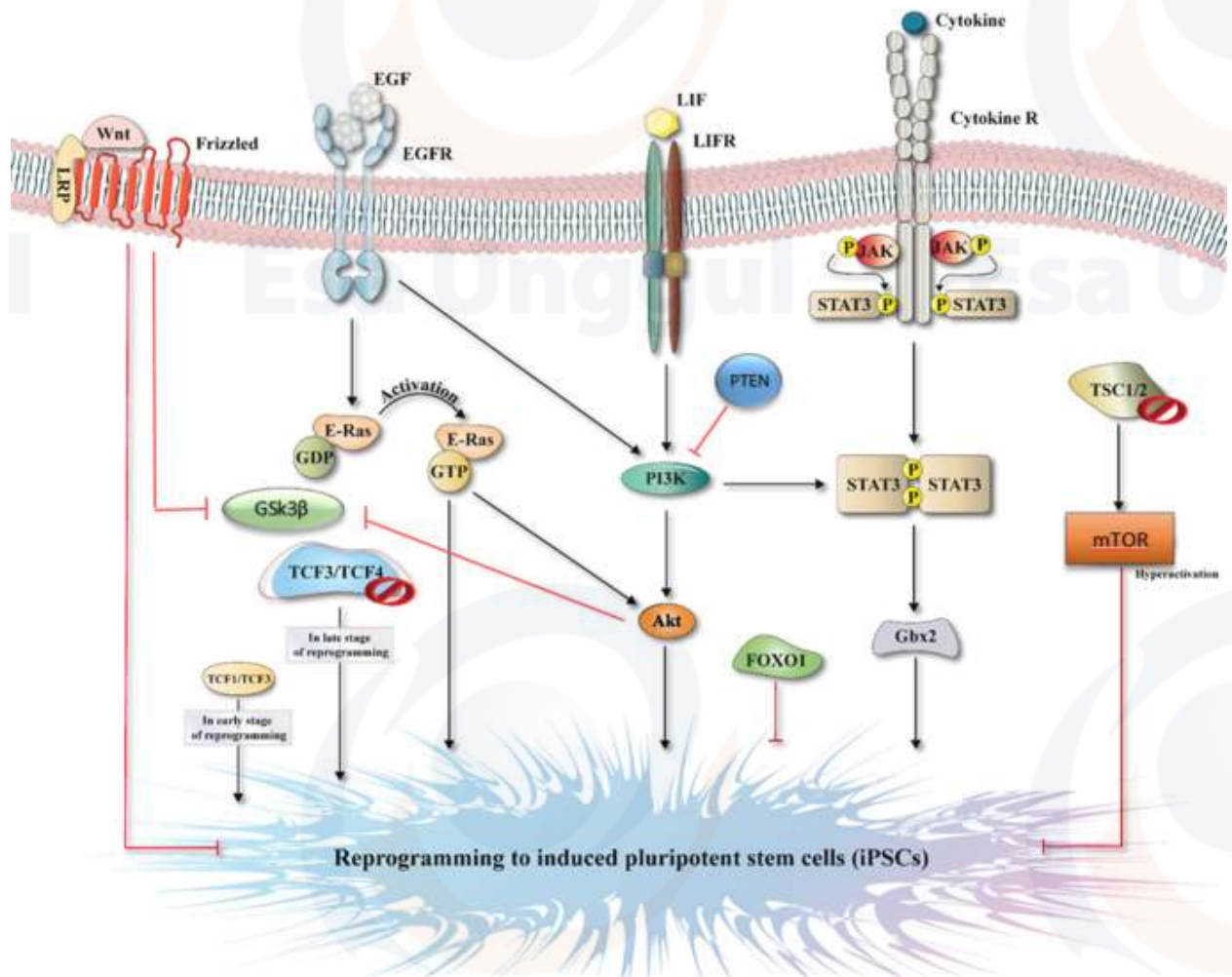
3. Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs)

iPSCs adalah sel somatik yang telah direprogram untuk kembali ke keadaan pluripotent, mirip dengan sel punca embrional. iPSCs dapat digunakan untuk menghasilkan sel-sel yang dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, termasuk sel-sel yang dapat digunakan untuk terapi kanker. iPSCs juga digunakan untuk membuat model kanker yang lebih akurat, memungkinkan penelitian lebih lanjut tentang patogenesis kanker dan pengembangan terapi baru.

Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs) memiliki potensi besar dalam terapi kanker, terutama dalam pengembangan model penyakit dan pengujian obat. iPSCs dapat dihasilkan dari sel kanker pasien, memungkinkan penelitian yang lebih mendalam tentang mekanisme penyakit dan pengembangan terapi yang lebih personal.

Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs) dapat dihasilkan dari berbagai jenis sel, termasuk sel kanker, yang memungkinkan untuk mempelajari karakteristik spesifik dari tumor individu. Pluripotensi, iPSCs memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, yang memungkinkan untuk menciptakan model sel yang relevan untuk penelitian kanker. Proses reprogramming menggunakan faktor-faktor tertentu (seperti OSKM) untuk mengubah sel somatik menjadi iPSCs, yang dapat dilakukan pada sel kanker.

Mekanisme Kerja iPSCs dalam Terapi Kanker iPSCs dapat digunakan untuk membuat model kanker yang lebih akurat, memungkinkan peneliti untuk memahami perkembangan kanker dan mengidentifikasi target terapeutik baru. iPSCs memungkinkan pengujian obat yang lebih efisien dan personal, karena sel-sel ini dapat mencerminkan respons pasien terhadap terapi tertentu. iPSCs dapat dimodifikasi secara genetik untuk menghilangkan sifat tumorigenik atau untuk memperkenalkan gen terapeutik yang dapat membantu melawan kanker.



Gambar 16.2 Aplikasi iPCS untuk terapi kanker

Aplikasi Klinis iPSCs dalam Terapi Kanker yaitu iPSCs dapat digunakan untuk mengembangkan dan menguji terapi baru, termasuk imunoterapi dan terapi berbasis gen. iPSCs dapat berpotensi digunakan untuk memperbaiki jaringan yang rusak akibat kanker atau pengobatan kanker, seperti kemoterapi. Dengan menggunakan iPSCs yang dihasilkan dari sel kanker pasien, terapi dapat disesuaikan dengan karakteristik genetik dan respons sel kanker individu.

Penggunaan iPSCs dalam terapi kanker harus mempertimbangkan risiko pembentukan tumor, sehingga penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memastikan keamanan. Tantangan dalam mencapai reprogramming yang lengkap dapat menghasilkan sel dengan karakteristik yang tidak diinginkan, yang dapat mempengaruhi

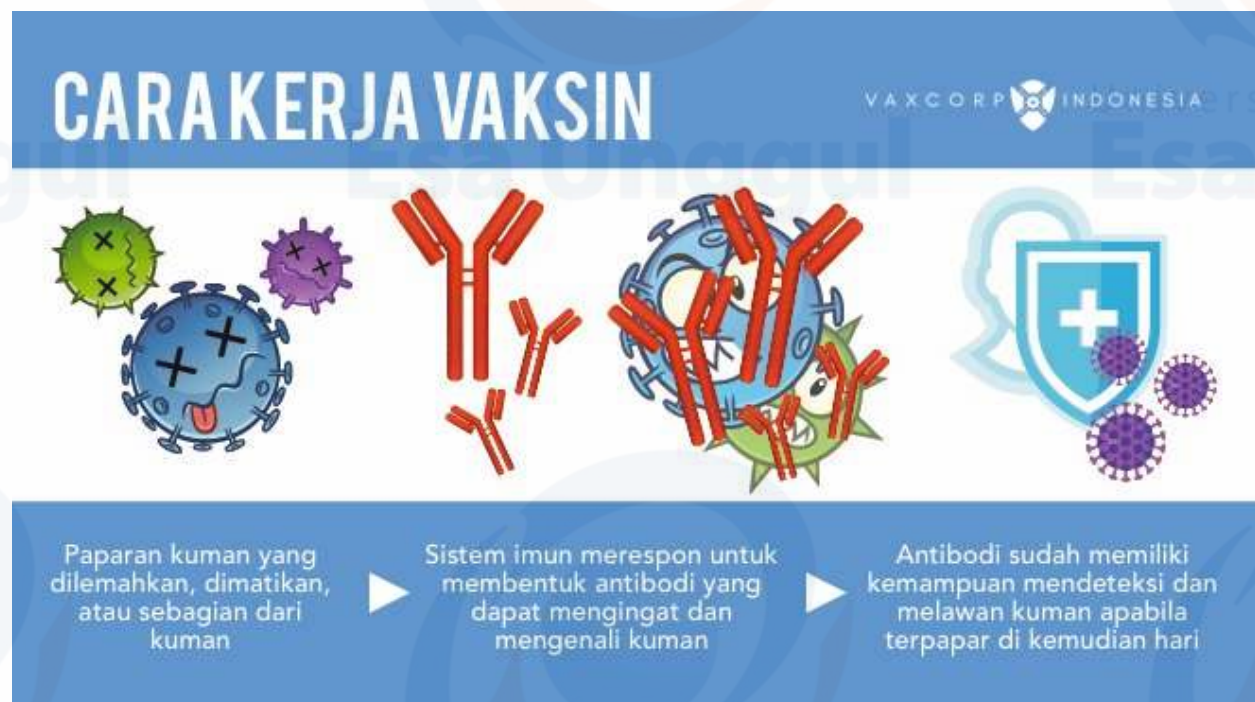
efektivitas terapi. Penggunaan iPSCs dalam terapi kanker memerlukan regulasi yang ketat dan pertimbangan etis, terutama terkait dengan sumber sel dan potensi risiko.

Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs) menawarkan peluang yang menjanjikan dalam terapi kanker, baik sebagai alat untuk penelitian dan pengembangan terapi baru maupun sebagai sumber sel untuk aplikasi klinis. Dengan penelitian yang terus berlanjut, diharapkan iPSCs dapat berkontribusi secara signifikan dalam meningkatkan hasil pengobatan kanker dan memberikan pendekatan yang lebih personal bagi pasien

4. Terapi Diferensiasi

Terapi ini bertujuan untuk mengubah sel kanker menjadi sel yang lebih mirip dengan sel normal, sehingga mengurangi kemampuan mereka untuk tumbuh dan menyebar. Menggunakan faktor pertumbuhan atau agen diferensiasi untuk memicu sel kanker agar kembali ke jalur diferensiasi yang lebih normal.

Sel punca dapat digunakan untuk mengembangkan vaksin kanker yang lebih efektif dengan meningkatkan respons imun terhadap sel kanker. Vaksin ini dapat membantu sistem kekebalan tubuh mengenali dan menyerang sel kanker.



Gambar 16.3 cara kerja vaksin untuk kanker

BAB 14. PERANAN STEM CELL PADA TISSUE ENGINEERING

1. PENDAHULUAN

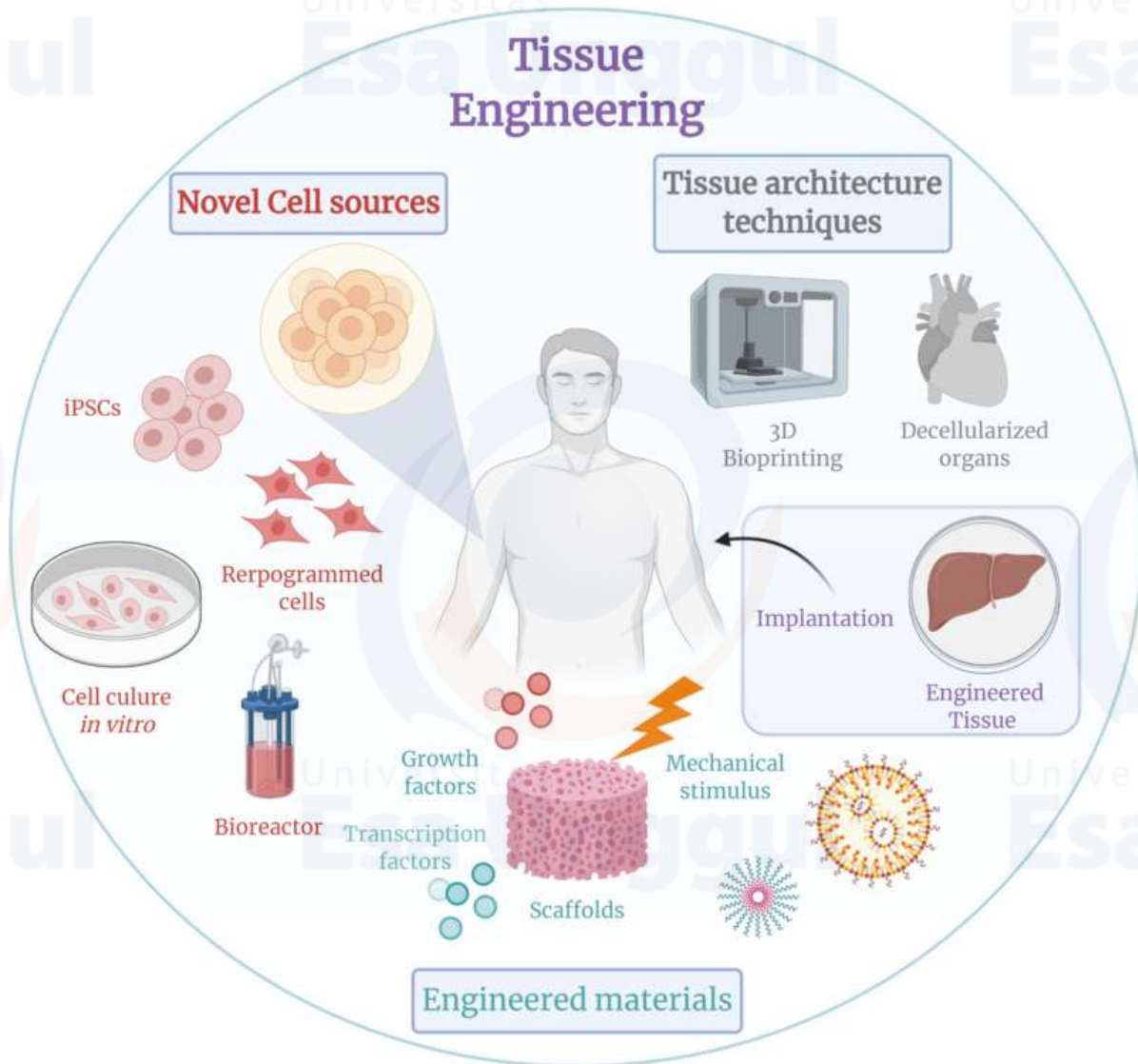
Rekayasa jaringan menggabungkan komponen biologis, seperti sel punca, dengan prinsip rekayasa untuk menciptakan jaringan fungsional. Sel punca memainkan peran penting dalam bidang ini dengan menyediakan kemampuan untuk meregenerasi jaringan dan organ yang rusak, sehingga menawarkan aplikasi yang menjanjikan dalam pengobatan regeneratif.

Sel punca, seperti sel punca mesenkimal (MSCs) dan sel punca embrionik (ESCs), digunakan untuk menghasilkan berbagai jenis sel yang diperlukan dalam rekayasa jaringan. Sel punca memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, seperti sel otot, tulang, dan jaringan saraf, yang sangat penting untuk membangun jaringan fungsional. Tissue engineering dan sel punca memiliki potensi besar untuk merevolusi pengobatan regeneratif. Dengan kemajuan teknologi dan penelitian yang berkelanjutan, diharapkan dapat mengatasi tantangan yang ada dan meningkatkan hasil pengobatan untuk pasien dengan berbagai kondisi medis.

Rekayasa jaringan (dalam bahasa Inggris: *Tissue Engineering*) merupakan penerapan gabungan teknik seluler, rekayasa, serta material, yang dipadukan dengan pemanfaatan faktor biokimia dan fisiokimia, dengan tujuan untuk meningkatkan atau menggantikan fungsi biologis. Meskipun definisinya mencakup berbagai aplikasi secara luas, dalam praktiknya rekayasa jaringan umumnya berfokus pada perbaikan atau penggantian sebagian maupun seluruh jaringan tubuh, seperti jaringan tulang atau kandung kemih. Selain itu, rekayasa jaringan juga mencakup pengembangan fungsi biokimia tertentu melalui penggunaan sel dalam organ buatan — contohnya, pembuatan pankreas buatan.

Teknologi ini memanfaatkan sel hidup sebagai komponen dasar penyusunnya. Misalnya, penggunaan *fibroblast* untuk memperbaiki jaringan kulit, atau *kondrosit* untuk regenerasi tulang rawan (*kartilago*). Penggunaan sel sebagai bahan konstruksi menjadi memungkinkan setelah para peneliti menemukan cara memperpanjang *telomer* — bagian sel yang menentukan umur replikatifnya — dengan bantuan enzim yang berasal

dari sel tumor. Sebelumnya, kemampuan sel untuk membelah terbatas, yaitu sekitar 50 kali saja.



Gambar 14.1 Material yang dapat digunakan dalam tissue engineering

2. Peran Sel Punca dalam Tissue Engineering

Sel punca dapat membantu dalam proses regenerasi dengan menggantikan sel-sel yang hilang atau rusak, sehingga meningkatkan kemampuan penyembuhan jaringan.

Teknik dalam Tissue Engineering Struktur pendukung yang digunakan untuk menumbuhkan sel punca dan membentuk jaringan baru. Scaffolds dapat terbuat dari bahan alami atau sintetis yang biodegradable.

Teknologi yang memungkinkan pencetakan sel dan scaffolds dalam pola yang tepat untuk membentuk jaringan yang kompleks. Ini memungkinkan penempatan sel yang spesifik dan pengembangan struktur. Penggunaan faktor pertumbuhan untuk merangsang proliferasi dan diferensiasi sel punca, meningkatkan efektivitas rekayasa jaringan.

Tissue engineering dapat digunakan untuk merekonstruksi jaringan yang hilang akibat cedera, penyakit, atau operasi, seperti kulit, tulang, dan kartilago. Sel punca yang direkayasa dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit degeneratif, termasuk penyakit jantung dan diabetes, dengan menggantikan sel yang rusak. Tissue engineering memungkinkan pembuatan model jaringan untuk penelitian penyakit, yang dapat digunakan untuk menguji terapi baru dan memahami mekanisme penyakit. Ketersediaan sel punca yang cukup dan berkualitas tinggi untuk aplikasi klinis masih menjadi tantangan.

Menciptakan jaringan yang terintegrasi dengan baik dengan jaringan tubuh yang ada, termasuk pembuluh darah dan sistem saraf, merupakan tantangan besar. Penggunaan sel punca, terutama yang berasal dari embrio, menimbulkan pertanyaan etis dan memerlukan regulasi yang ketat. Teknik scaffold dalam rekayasa jaringan (tissue engineering) adalah metode yang digunakan untuk menciptakan struktur pendukung yang memungkinkan pertumbuhan dan diferensiasi sel. Scaffold berfungsi sebagai kerangka untuk menumbuhkan sel-sel, membentuk jaringan baru, dan mendukung integrasi dengan jaringan tubuh yang ada.

Berikut adalah penjelasan lebih lanjut tentang teknik scaffold: Scaffold dapat terbuat dari berbagai bahan alami, seperti kolagen, gelatin, dan chitosan, yang memiliki biokompatibilitas tinggi dan mendukung pertumbuhan sel, serta bahan sintetis, seperti polimer biodegradable (misalnya, polylactic acid - PLA, polyglycolic acid - PGA) yang dapat disesuaikan untuk memenuhi kebutuhan spesifik aplikasi.

Scaffold dirancang dengan struktur yang mendukung pertumbuhan sel, termasuk porositas, kekuatan mekanik, dan kemampuan untuk mendukung aliran nutrisi dan

oksigen. Scaffold harus memiliki pori-pori yang cukup besar untuk memungkinkan sel-sel tumbuh dan berinteraksi, serta untuk memfasilitasi difusi nutrisi dan limbah.

Scaffold harus dapat terurai seiring waktu, sehingga sel-sel yang tumbuh di atasnya dapat menggantikan scaffold dengan jaringan baru. Teknik pembuatan scaffold yaitu pencetakan 3D (3D Bioprinting), yaitu teknologi yang memungkinkan pencetakan scaffold dengan pola yang tepat dan kompleks, memungkinkan penempatan sel yang spesifik dan pengembangan struktur multi-lapisan. Electrospinning, yaitu metode yang digunakan untuk menghasilkan serat halus dari polimer dengan menggunakan medan listrik. Serat-serat ini dapat membentuk scaffold dengan struktur mirip jaringan. Freeze-drying (Lyophilization), yaitu proses di mana larutan polimer dibekukan dan kemudian airnya dihilangkan melalui sublimasi, menghasilkan scaffold berpori dengan struktur yang diinginkan. Teknik Molding, yaitu metode di mana bahan scaffold dicetak dalam cetakan untuk membentuk bentuk dan ukuran yang diinginkan.

Aplikasi Scaffold dalam Rekayasa Jaringan, Rekonstruksi Jaringan, yaitu Scaffold digunakan untuk merekonstruksi berbagai jenis jaringan, termasuk tulang, tulang rawan, kulit, dan jaringan otot. Pengobatan Penyakit, yaitu Scaffold dapat digunakan untuk mengantarkan sel punca atau faktor pertumbuhan ke area yang membutuhkan regenerasi, seperti dalam pengobatan luka atau penyakit degeneratif. Model Penelitian, yaitu Scaffold dapat digunakan untuk membuat model jaringan untuk penelitian penyakit, memungkinkan pengujian terapi baru dan pemahaman mekanisme penyakit.

Tantangan dalam Penggunaan Scaffold melalui Integrasi dengan Jaringan, yaitu Menciptakan scaffold yang dapat terintegrasi dengan baik dengan jaringan tubuh yang ada, termasuk pembuluh darah dan sistem saraf, merupakan tantangan besar. Memastikan bahwa sel-sel yang tumbuh di atas scaffold berdiferensiasi menjadi jenis sel yang diinginkan dan berfungsi dengan baik dalam jaringan baru. Regulasi dan Standarisasi, yaitu pengembangan scaffold untuk aplikasi klinis memerlukan regulasi yang ketat dan standarisasi untuk memastikan keamanan dan efektivitas.

Teknik scaffold merupakan komponen penting dalam rekayasa jaringan, memungkinkan pertumbuhan dan regenerasi jaringan baru. Dengan kemajuan teknologi dan penelitian yang berkelanjutan, diharapkan scaffold dapat dioptimalkan untuk

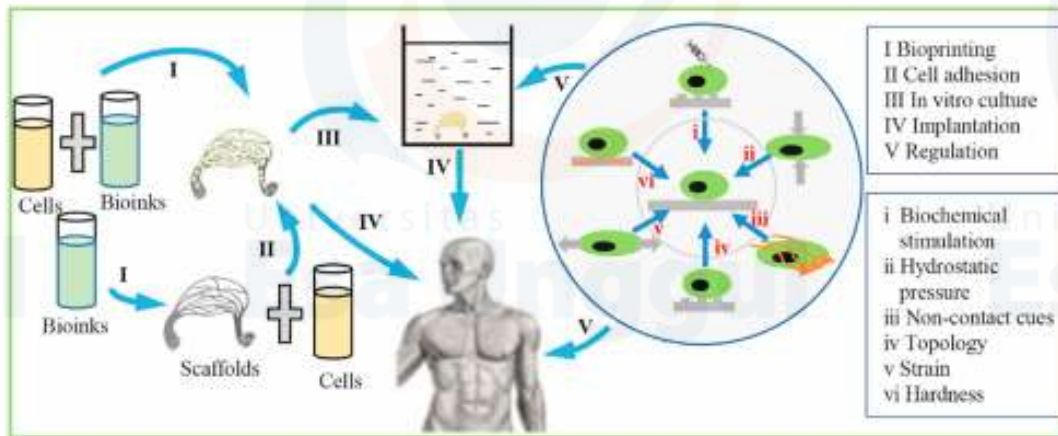
berbagai aplikasi medis, memberikan solusi inovatif untuk pengobatan berbagai kondisi dan penyakit.

Penciptaan jaringan yang berfungsi memerlukan kultur yang ekstensif dengan memperhatikan aneka faktor seperti oksigen, keasaman, kelembapan, suhu, nutrisi dan osmosis. Selain itu, kultur jaringan buatan ini menciptakan masalah baru. Umumnya, dalam kultur sel biasa, pemberian nutrisi cukup melalui difusi. Namun karena jaringan bertambah besar dan kompleks, cara yang digunakan pun bertambah rumit. Selain itu, diperlukan faktor atau rangsangan untuk menciptakan fungsionalitas. Hormon, faktor pertumbuhan, metabolit dan nutrisi, rangsangan kimia dan fisik juga perlu. Misalnya kondrosit memerlukan kondisi rendah oksigen dalam pembentukan rangkanya. Misalnya untuk menolong orang diabetes, dilakukan implantasi jaringan yang memiliki sel islet, yang mampu menghasilkan insulin, amilin dan glukagon.

Untuk menghindari reaksi penolakan, sel islet dikapsulkan. Dengan sel islet terkapsul, dapat terbentuk lapisan sel islet yang mampu menjadi pankreas buatan. Terdiri dari:

- serat untuk menguatkan lembaran islet.
- sel islet terkapsul untuk menghindari reaksi penolakan
- lapisan semipermeabel agar difusi dapat terjadi.
- lapisan protektif untuk menghindari reaksi penolakan dari tubuh agar jaringan dapat berfungsi tetap sebagaimana mestinya.

Selain itu, kantung kemih buatan juga pernah dibuat untuk membantu orang yang mengalami kecacatan pada organ tersebut. Ilmuwan menumbuhkan kantung kemih baru dari sel pasien itu, untuk kemudian ditransplantasikan kembali ke tubuh pasien. Caranya, sel otot dan kantung kemih diambil dari kantung kemih pasien. Sel-sel itu ditumbuhkan di cawan Petri lalu dijadikan lapisan pada suatu struktur berbentuk seperti kantung kemih. Setelah itu, sel membentuk kantung kemih baru, yang ditanamkan ke tubuh pasien.



Gambar 14.2 Teknologi Scaffold

Teknologi 3D bioprinting adalah teknik inovatif yang menggabungkan sel punca dan biomaterial untuk menciptakan struktur biologis yang kompleks. Metode ini memungkinkan pembuatan jaringan dan organ yang dapat digunakan dalam penelitian, pengobatan regeneratif, dan pengembangan terapi baru. #### Konsep Dasar Bioprinting 3D. Bioprinting 3D adalah proses pencetakan tiga dimensi yang menggunakan sel hidup dan biomaterial untuk membangun struktur biologis yang menyerupai jaringan alami.

Aplikasi Bioprinting 3D

1. Rekayasa Jaringan:

Pembuatan jaringan seperti kulit, tulang, dan jaringan otot untuk pengobatan luka dan rekonstruksi. Pengembangan model jaringan untuk penelitian penyakit dan pengujian obat.

2. Penggantian Organ:

Bioprinting 3D menawarkan potensi untuk mencetak organ yang dapat digunakan untuk transplantasi, mengurangi ketergantungan pada donor organ.

3. Pengobatan Penyakit:

Penggunaan sel punca dalam bioprinting untuk mengobati penyakit degeneratif dengan menciptakan jaringan yang rusak.

3. Teknologi dan Metode Tissue Engineering

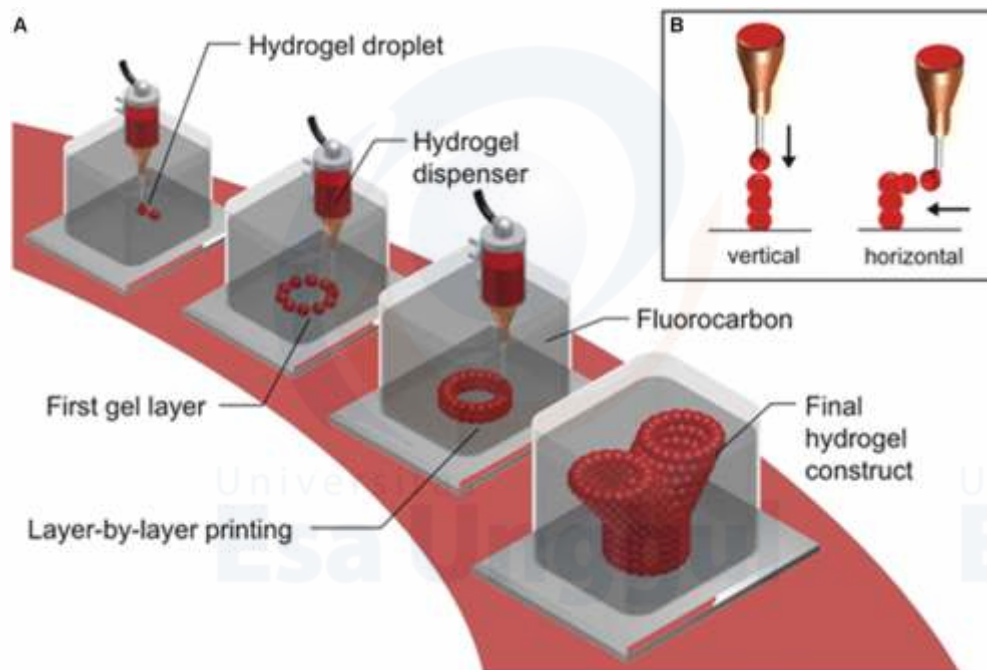
Teknologi dan metode tissue engineering antara lain dengan metode pencetakan berbasis ekstruksi, berbasis cahaya dan microfluids. Pencetakan berbasis ekstrusi

dengan Menggunakan nozzle untuk mengeluarkan bioink yang mengandung sel punca dan biomaterial, membentuk lapisan demi lapisan. Pencetakan berbasis cahaya: Menggunakan teknik fotopolimerisasi untuk mengeraskan bioink dengan cahaya, memungkinkan pencetakan struktur yang lebih halus dan kompleks. Microfluidics dengan mengintegrasikan sistem mikro untuk mengontrol aliran sel dan biomaterial, meningkatkan presisi dalam penempatan sel.

Tantangan dalam Bioprinting 3D

1. Vaskularisasi:

Menciptakan jaringan yang memiliki sistem pembuluh darah yang memadai untuk mendukung sel di dalam struktur yang lebih tebal.



Gambar 14.3 Hasil teknologi tissue engineering

2. Fungsi Jaringan:

Memastikan bahwa jaringan yang dicetak dapat berfungsi dengan baik dan berinteraksi dengan jaringan tubuh yang ada.

3. Regulasi dan Etika:

Mematuhi regulasi yang ketat dan mempertimbangkan aspek etika dalam penggunaan sel punca dan bioprinting untuk aplikasi medis.

Bioprinting 3D dan sel punca merupakan bidang yang menjanjikan dalam rekayasa jaringan dan pengobatan regeneratif. Dengan kemajuan teknologi dan penelitian yang terus berlanjut, diharapkan dapat mengatasi tantangan yang ada dan membuka jalan untuk aplikasi medis yang lebih luas.

BAB 15 KESIMPULAN

Stem cell atau sel punca adalah jenis sel yang memiliki kemampuan unik untuk berkembang menjadi berbagai jenis sel dalam tubuh dan untuk memperbanyak diri melalui proses pembelahan. Sel ini memainkan peran penting dalam proses regenerasi dan perbaikan jaringan. Berdasarkan potensinya, stem cell dapat dikategorikan menjadi beberapa tipe, seperti totipoten, pluripoten, dan multipoten.

Sel punca (*stem cell*) merupakan jenis sel dengan kemampuan unik untuk memperbanyak diri secara tak terbatas dan berdiferensiasi menjadi berbagai tipe sel yang membentuk jaringan dan organ tubuh. Potensi biologis ini menjadikan stem cell sebagai salah satu pilar utama dalam pengembangan terapi regeneratif dan rekayasa jaringan. Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa stem cell dapat dimanfaatkan untuk memperbaiki jaringan yang rusak, mengatasi penyakit degeneratif, serta sebagai model untuk pengujian obat dan pemahaman mekanisme penyakit.

Dalam dunia medis, stem cell memberikan harapan besar untuk terapi regeneratif, pengobatan berbagai penyakit degeneratif, perbaikan jaringan yang rusak, dan bahkan rekayasa organ. Penelitian terus berkembang untuk mengeksplorasi potensi penggunaan stem cell dalam pengobatan kanker, diabetes, penyakit jantung, cedera tulang dan saraf, serta gangguan autoimun. Namun, penerapan terapi berbasis stem cell juga menghadirkan tantangan, baik dari segi teknologi, etika, maupun regulasi. Oleh karena itu, pengembangan aplikasi klinis stem cell harus dilakukan dengan pendekatan yang hati-hati, berdasarkan bukti ilmiah yang kuat dan pengawasan yang ketat.

Secara keseluruhan, stem cell merupakan bidang yang menjanjikan dalam dunia biomedis dan diharapkan akan terus berkontribusi bagi peningkatan kualitas hidup manusia di masa depan. Meskipun demikian, penerapan klinis terapi berbasis stem cell masih menghadapi tantangan signifikan, baik dari aspek ilmiah, etika, maupun regulasi. Oleh karena itu, pengembangan teknologi ini memerlukan pendekatan yang hati-hati, kolaboratif, dan berbasis pada bukti ilmiah yang kuat. Dengan kemajuan penelitian yang terus berlangsung, diharapkan stem cell akan memberikan kontribusi nyata dalam meningkatkan kualitas pelayanan kesehatan di masa depan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fuchs E, Chen T. A matter of life and death: self-renewal in stem cells. *EMBO Rep.* 2012;14(1):39-48.
2. Schmidt R, Plath K. The roles of the reprogramming factors Oct4, Sox2 and Klf4 in resetting the somatic cell epigenome during induced pluripotent stem cell generation. *Genome Biol.* 2012;13(10):251. Published 2012 Oct 22. doi:10.1186/gb-2012-13-10-251
3. Saunders A, Faiola F, Wang J. Concise review: pursuing self-renewal and pluripotency with the stem cell factor Nanog. *Stem Cells.* 2013;31(7):1227-36.
4. Leychkis Y, Munzer SR, Richardson JL. What is stemness? *Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences.* 2009;40(3):312–320.
5. Kashyap V, Rezende NC, Scotland KB, et al. Regulation of stem cell pluripotency and differentiation involves a mutual regulatory circuit of the NANOG, OCT4, and SOX2 pluripotency transcription factors with polycomb repressive complexes and stem cell microRNAs. *Stem Cells Dev.* 2009;18(7):1093-108.
6. Shi G, Jin Y. Role of Oct4 in maintaining and regaining stem cell pluripotency. *Stem Cell Res Ther.* 2010;1(5):39.
7. Zhang S, Cui W. Sox2, a key factor in the regulation of pluripotency and neural differentiation. *World J Stem Cells.* 2014;6(3):305-11.
8. Silva J, Nichols J, Theunissen TW, et al. Nanog is the gateway to the pluripotent ground state. *Cell.* 2009;138(4):722-37.
9. Seifert BA, Dejosez M, Zwaka TP. Ronin influences the DNA damage response in pluripotent stem cells. *Stem Cell Res.* 2017;23:98-104.
10. Barros SP, Offenbacher S. Epigenetics: connecting environment and genotype to phenotype and disease. *J Dent Res.* 2009;88(5):400-8.
11. Fuchs E, Chen T. A matter of life and death: self-renewal in stem cells. *EMBO Rep.* 2012;14(1):39-48.
12. Schmidt R, Plath K. The roles of the reprogramming factors Oct4, Sox2 and Klf4 in resetting the somatic cell epigenome during induced pluripotent stem cell generation.

Genome Biol. 2012;13(10):251. Published 2012 Oct 22. doi:10.1186/gb-2012-13-10-251

13. Saunders A, Faiola F, Wang J. Concise review: pursuing self-renewal and pluripotency with the stem cell factor Nanog. *Stem Cells*. 2013;31(7):1227-36.
14. Leychkis Y, Munzer SR, Richardson JL. What is stemness? Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences. 2009;40(3):312–320.
15. Kashyap V, Rezende NC, Scotland KB, et al. Regulation of stem cell pluripotency and differentiation involves a mutual regulatory circuit of the NANOG, OCT4, and SOX2 pluripotency transcription factors with polycomb repressive complexes and stem cell microRNAs. *Stem Cells Dev*. 2009;18(7):1093-108.
16. Shi G, Jin Y. Role of Oct4 in maintaining and regaining stem cell pluripotency. *Stem Cell Res Ther*. 2010;1(5):39.
17. Zhang S, Cui W. Sox2, a key factor in the regulation of pluripotency and neural differentiation. *World J Stem Cells*. 2014;6(3):305-11.
18. Silva J, Nichols J, Theunissen TW, et al. Nanog is the gateway to the pluripotent ground state. *Cell*. 2009;138(4):722-37.
19. Seifert BA, Dejosez M, Zwaka TP. Ronin influences the DNA damage response in pluripotent stem cells. *Stem Cell Res*. 2017;23:98-104.
20. Barros SP, Offenbacher S. Epigenetics: connecting environment and genotype to phenotype and disease. *J Dent Res*. 2009;88(5):400-8.