

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Stem cell menjadi salah satu terapi baru dalam regenerasi sel dan perbaikan jaringan yang tidak berhasil dengan pembedahan atau pengobatan. *Mesenchymal stem cell* (MSC) diketahui memperbaiki dengan berdiferensiasi dan mengganti sel yang rusak.¹ Efek farmakologi maksimal akan tercapai apabila dosis, jalur pemberian dan kualitas *stem cell* yang digunakan telah memenuhi syarat.² Sampai saat ini belum ada metode isolasi dan kultur MSC yang dinilai efektif dan efisien.³ Faktor yang umum sebagai pemicu pembelahan sel dalam proses kultur adalah faktor pertumbuhan. *Conditional medium* (CM) yang diperoleh dari modifikasi kultur hipoksia MSC mengandung sitokin dan faktor pertumbuhan yang cukup tinggi.⁴ Sitokin dan faktor pertumbuhan yang terdapat pada *mesenchymal stem cell-hypoxia conditional medium* (MSC-HCM) seperti *epidermal growth factor* (EGF), *transforming growth factor α* (TGF- α), *hepatocyte growth factor* (HGF), *platelet derived growth factor* (PDGF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *fibroblast growth factor* (FGF), menjadi salah satu faktor pemicu *self-renewal* MSC dan tidak mempengaruhi kemampuan dari *stem cell*. *Stem cell* memiliki kemampuan multipotensi apabila mengekspresikan CD73, CD90, dan CD105.^{3,5} Keuntungan biologis kondisi hipoksia pada *stem cell* menjadi subjek yang menarik untuk dipelajari, dengan harapan dapat memberikan pemahaman yang lebih baik, serta meningkatkan peran dan

efektifitas penggunaan *stem cell*. Penelitian terkait dengan efek pemberian *mesenchymal stem cell – normoxia coditional medium* (MSC-NCM) terhadap *self-renewal* MSC serta multipotensinya masih sangat terbatas dan perlu dikembangkan.

Perkembangan teknologi di bidang kedokteran memungkinkan upaya penyembuhan penyakit melalui transplantasi jaringan dan sel diatur dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 52 tahun 2013.⁶ Food and Drug Administration (FDA) di beberapa negara telah menyetujui penggunaan MSC sebagai pengobatan beberapa jenis penyakit yang telah selesai uji klinis.⁷ *Stem cell* dilaporkan telah diaplikasikan secara klinis untuk lebih dari 70 penyakit. Di dunia, lebih dari 560 uji klinis telah dilakukan di belahan dunia seperti Amerika Timur (111/560), Eropa (126/560) dan Asia Timur (176/560).⁷ Di Indonesia, terapi *stem cell* telah berhasil diterapkan terhadap 214 pasien di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo.⁸ Melihat perkembangan kebutuhan *stem cell* dalam skala besar, belum ada cara yang mudah dan efisien untuk isolasi dan kultur MSC.³ Kultur *haematopoietic stem cell* (HSC) membutuhkan waktu selama 5 minggu sampai pemanenan.⁹ Begitu pula MSC yang berasal dari jaringan tali pusat membutuhkan waktu kultur antara 3 sampai 4 minggu.³ Panjang waktu isolasi dan kultur disebabkan lamanya siklus sel dalam proliferasi.

Efek langsung keadaan hipoksia 2% pada MSC yang berasal dari tali pusat adalah naiknya jumlah proliferasi, sedangkan apoptosis meningkat pada ekspresi 1,5%.¹⁰ Penelitian berikutnya mengenai *conditional*

mediumhypoxia(HCM) dari *bone marrow-mesenchymal stem cell* (BM-MCS) yang dikultur dengan kadar oksigen 2%, menghasilkan ekspresi *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *interleukin-6* (IL-6) dan *interleukin-8* cukup tinggi, serta menunjukkan perbaikan luka tercepat pada tikus dibandingkan dengan kontrol.¹¹ Dilaporkan juga paparan hipoksia 5% menimbulkan respon proliferasi sel arteri pulmonalis manusia dengan aktivasi faktor mitogen diantaranya *platelet derived growth factor* (PDGF), *fibroblast growth factor -2* (FGF-2), dan *epidermal growth factor* (EGF) dibandingkan dengan normoksia.¹² Ekspresi oksigen terbaek untuk meningkatkan efek parakrin VEGF dan angiogenesis adalah 5%. Berbagai penelitian tentang efek *mesenchymal stem cell – normoxia conditioned medium* (MSC-NCM) terhadap proliferasi beberapa jenis sel menunjukkan hasil memuaskan. Namun, pengujian efek faktor pertumbuhan yang disekresi oleh *stem cell* yang dikultur pada lingkungan hipoksia 5% terhadap *stem cell* masih belum banyak penjelasan.

Melihat gambaran proses diatas, maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian MSC-HCM terhadap *self-renewal* MSC yang ditandai ekspresi CD73, CD90 dan CD105.

1.2. Rumusan Masalah

Adakah pengaruh pemberian *mesenchymal stem cell-hipoxia conditioned medium* (MSC-HCM) pada MSC terhadap *self-renewal* yang ditandai ekspresi CD73, CD90 dan CD105?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

- Untuk membandingkan pengaruh pemberian MSC-HCM pada MSC terhadap *self-renewal* dan ekspresi CD73, CD90, dan CD105.

1.3.2. Tujuan Khusus

- Untuk membandingkan antar kelompok pengaruh MSC-HCM dengan modifikasi ekspresi 25%, 50%, 75% pada MSC terhadap *self-renewal*, dibandingkan dengan kontrol.
- Untuk membandingkan antar kelompok pengaruh MSC-HCM dengan modifikasi ekspresi 25%, 50%, 75% pada MSC terhadap ekspresi CD73, CD90, CD105 dibandingkan dengan kontrol.

1.4. Orisinalitas Penelitian

Beberapa penelitian yang sudah dilakukan tentang efek pemberian MSC-HCM terhadap proliferasi, tetapi belum ada yang menjelaskan secara langsung jika MSC-HCM diberikan pada MSC. Pengukuran ekspresi *stemness* dari *stem cell* hanya dilakukan berdasarkan perbedaan pada sumber isolasi. Sedangkan, pada penelitian yang akan dilakukan menggunakan MSC-HCM sebagai medium kultur MSC, untuk melihat *self-renewal* serta ekspresi CD73, CD90, CD105 sebagai penanda kemampuan multipotensinya.

NO	Penulis, tahun	Judul	Hasil Penelitian
1	Wahyu Widowati, Laura Wijaya, <i>et al.</i> 2015	Conditioned Medium from normoxia (WJMSCs-norCM) and hypoxia-treated WJMSCs-hypoCM in inhibiting cancer cell proliferation	Ekspresi marker CD73, CD90, CD105 WJMSCs-norCM dan WJMSCs-hypoCM mencapai lebih dari 95%, sedangkan ekspresi CD14, CD19, CD34, CD45, HDLA-II kurang dari 2%. WJMSCs-norCM dan WJMSCs-hypoCM menghambat proliferasi beberapa jenis sel kangker. Keduanya tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada ekspresi marker diferensiasi pada permukaan MSC. ¹³
2	Chang Youn Lee <i>et al.</i> 2016	Hypoxic conditioned medium from mesechymal stem cells promotes lymphangiogenesis by regulation of mitochondrial-related proteins	MSC mengekspresika faktor yang berperan dalam limphangiogenesis diantaranya EGF, FGF2, HGF, IGF1 dan VEGF-A dan -C. <i>human Lymphatic Endothelial Cells</i> (hLEC) dimanipulasi dengan kedua medium. Proliferasi, migrasi hLEC meningkat dibawah <i>hypoxia conditioned medium</i> (HCM) dibandingkan dengan <i>normoxia conditioned medium</i> (NCM). ¹⁴
3	Lei chen, <i>et al.</i> 2014	Cenditioned medium from hypoxic bone marrow-derived mesenchymal stem cells enhances wound healing in mice	Ekspresi <i>fibroblast growth factor</i> (FGF), <i>vascular endothelial growth factor</i> (VEGF), interleukin 6 (IL-6) dan interleukin 8 (IL-8), meningkat secara signifikan pada kultur hipoksia in vivo. Sedangkan pada tikus Balb/c perbaikan kulit lebih cepat ketika diberikan MSC-HCM. ¹¹
4	Chika Koike, Kaixuan zhou, Yuji Takeda, Moustafa Fanthy, Motonori Okabe, Toshiko Yoshida, Yukiko Nakamura, Yukio Kato, and Thosio Nikaido. 2014	Characterization of Amniotic Stem Cells	Hasil pengamatan flowsitometri epitel amnion mengekspresikan CD133, CD271, SC271, dan TRA-1-60. Sedangkan pada <i>amniotic stem cell</i> mengekspresikan CD44, CD73, CD 90 dan CD 105. ¹⁵

5	Hamad Ali, Majda K, Al-Yatama, Mohammed Abu-Farhan, Kazem Behbehani, Ashraf Al Madhoun. 2015	Multi-Lineage Differentiation of Human Umbilical Cord Whartons's Jelly Mesenchymal Stromal Cells Mediates Changes in the Expression Profile of Stemness Markers	Hasil kultur dari WJ-MSC ternyata mampu berdiferensiasi menjadi beberapa tipe sel. Dibuktikan dengan pengukuran marker stemness WJ-MSC dengan <i>Flow-Cytometry</i> , <i>Immunofluorescence</i> , dan <i>qRT-PCR analysis</i> menunjukkan CD29, CD44, CD73, CD90, CD90, CD105 dan CD166 yang merupakan penanda sel hematopoietik, endothelial, dan kondrogenik. Hal ini menjelaskan kemampuan WJ-MSC untuk berdiferensiasi menjadi berbagai macam sel sesuai penanda <i>stemness</i> . ¹⁶
6	Masound Maleki, Farideh Ghanbarvand, Mohammad Reza Behvarz, Mehri Ejtemaei, Elham Ghardirxhom. 2014	Camparison of Mesenchimal Stem Cell Markers in Multiple Human Adult Stem Cells	Dari seluruh tipe sel MSC dari biopsi testis, ovarium, folikel rambut, dan tali pusat diamati dengan <i>flow cytometry</i> menunjukkan ekspresi penanda <i>surface antigen</i> , dengan karakteristik masing-masing. Hal ini mendasari penggunaan tujuan terapi <i>stem sell</i> dengan sumber MSC yang digunakan. ¹⁷
7	Theresa L.Ramos, Luis Ignacio Sanches-Abarca, <i>et.al.</i> 2016	MSC surface markers (CD44, CD73, dan CD105) can identify human MSC-derived extracellular vesicles by conventional flow cytometry	EV dikeluarkan oleh BM-MSC, ekspresi CD dari EV dapat diidentifikasi dengan metode konvensional <i>flow cytometry</i> ternyata positif untuk H-MSC (CD44, CD90, CD73), dan tidak terdapat <i>Hematopoietic Marker</i> (CD34, dan CD45). ¹⁸
8	Kelly Scultz, <i>et al.</i> 2006.	Hypoxia and hypoxia-inducible factor-1 α promote growth factor-induced of human vascular smooth muscle cells	Ekspresi HIF-1 α menghambat <i>growth factor</i> -meningkatkan ekspresi <i>cyclin-A</i> . HIF-1 α meningkatkan respon proliferasi vascular smooth muscle cell (VSMC) melalui sinyal FGF-2, PDGF dan EGF. HIF tidak secara langsung mempengaruhi proliferasi melainkan dengan aktivasi jalur <i>cyclin A</i> . ¹²
9	Antonina Lavrentieva, Ingrida Majore, Cornelia casper,	Effect of hypoxic culture condition on umbilical cord-	HIF-1 α memiliki ekspresi tertinggi pada ekspresi oksigen 2,5%, dan paling rendah pada ekspresi 21%. Proliferasi yang sama pada ekspresi 2,5% dan 21%.

and Ralf Hass. 2010	derived human mesenchymal stem cell. 2010	Apoptosis dan nekrosis meningkat pada ekspresi 1,5% oksigen. Sedangkan metabolisme glukosa, menggunakan metoda PR-PCT analysis peningkatan signifikan GLUT-1, LDHA dan PDK-1 pada ekspresi oksigen 1,5%, 2,5%, dan 5%. ¹⁰
------------------------	---	--

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Manfaat Teoritis

- Memberikan sumbangan ilmu pengetahuan tentang pengaruh pemberian MSC-HCM pada MSC terhadap *self-renewal* MSC, yang ditandai ekspresi CD73, CD90, dan CD105.

1.5.2. Manfaat Praktis

- Memberikan sumber informasi pada masyarakat mengenai pengaruh pemberian MSC-HCM pada MSC terhadap *self-renewal* MSC, yang ditandai ekspresi CD73, CD90, dan CD105.