



# STEM CELL

MESENCHYMAL, HEMATOPOETIK,  
DAN MODEL APLIKASI

Edisi Kedua

Oleh:

Fedik A. Rantam  
Ferdiansyah  
Purwati



DR. SOETOMO

# *STEM CELL*

*MESENCHYMAL, HEMATOPOETIK,  
DAN MODEL APLIKASI*

**Edisi Kedua**

Oleh:

Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh.  
Dr. Ferdiansyah, dr., SpOT(K)  
Dr. Purwati, dr., SpPD., FINASIM



Airlangga University Press

# DAFTAR ISI

ix

Kontributor Penulis Buku .....	v
Prakata .....	vii
Daftar Gambar .....	xvii
Daftar Tabel .....	xxvii
<b>Bab 1</b>	
<b>EKSPLORASI <i>STEM CELL</i> DAN PERTUMBUHAN SEL SECARA UMUM</b> .....	1
Eksplorasi <i>Stem Cell</i> .....	1
Pertumbuhan Sel .....	3
Kultur Sel .....	4
Jumlah Sel ( <i>Cell Quantification</i> ) .....	4
Viabilitas Sel .....	5
Pengukuran Tidak Langsung ( <i>Indirect Measurements</i> ) Masa Produk Sel .....	6
Kinetik Pertumbuhan Sel .....	6
1. Medium dan Nutrien .....	8
2. pH .....	9
Lingkungan Mikro Kultur Sel .....	10
Pentingnya Serum dalam Kultur Sel .....	11
Faktor Pertumbuhan ( <i>Growth Factors</i> ) .....	11
Hormon .....	13
Faktor Perlekatan dan Penyebaran Sel .....	13
1. Substrat .....	13
2. Pengaruh Substrat pada Sel .....	14
Protein Pengikat .....	14
<i>Lipid</i> .....	14
Mineral .....	14
<i>Ficoll</i> .....	15
Kulture <i>Stem Cell</i> dari <i>Bone Marrow</i> .....	16
Persiapan Peralatan .....	16
Persiapan Bahan .....	17
Koleksi Sampel .....	17
Bahan .....	18
Isolasi Sel Mononukleat .....	18
Diferensiasi Sel dan Persiapan Aplikasi .....	19
Bibliografi .....	21

## x Bab 2

**BIOLOGI, TEKNIS, DAN KULTUR BONE MARROW**

<b>MESENCHYMAL STEM CELL (MSCs)</b> .....	23
Pendahuluan.....	23
Biologi <i>Stem Cell</i> .....	25
<i>Stem Cell Embryonal</i> .....	26
<i>Stem Cell Dewasa (Adult Stem Cell)</i> .....	28
Mioblas Skeletal.....	32
MSCs.....	33
Potensi Diferensiasi dan Kontrol MSCs.....	34
Preparasi dan Kultur.....	35
Isolasi <i>Stem Cell</i> dari Sumsum Tulang Manusia.....	35
Prosedur Isolasi.....	36
Kultur MSCs dari Sumsum Tulang Manusia.....	38
Peralatan Kultur Jaringan Berbahan Plastik.....	38
Persiapan Aplikasi.....	40
Simpulan.....	41
Daftar Pustaka.....	41

## Bab 3

<b>HOMING MESENCHYMAL STEM CELLS (MSCs)</b> .....	45
Pendahuluan.....	45
Sifat <i>Stem Cell</i> .....	46
Mobilisasi dan Homing dari MSCs.....	47
Faktor Terjadinya Migrasi MSCs.....	49
<i>Homing Stem Cell</i> .....	50
Bibliografi.....	53

## Bab 4

<b>KARAKTERISASI FENOTIPE DAN GENOTIPE STEM CELL</b> .....	57
Pendahuluan.....	57
<i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i> .....	62
<i>Isolasi Ribonucleic Acid (RNA)</i> .....	62
Bekerja dengan RNA.....	63
Persiapan Alat-alat.....	63
<i>RNAse Inhibitor</i> .....	64
<i>Dithyopirocarbonat (DEPC)</i> .....	64
RNAsin/RNAGuard.....	64
Larutan.....	64
Persiapan Sampel.....	64

Isolasi RNA dari Mamalia .....	65
Isolasi Total RNA.....	65
Material.....	65
Isolasi RNA dari kultur Sel.....	66
Isolasi RNA dari Jaringan.....	66
Isolasi snRNA dan RNA di Sitoplasma .....	67
Material.....	67
Persiapan Sampel.....	68
Isolasi RNA Sitoplasma.....	68
Isolasi RNA.....	68
Isolasi RNA Glikoprotein dan Oligosakarida Jaringan.....	69
Prosedur Isolasi.....	69
Prinsip Dasar PCR.....	70
Proses Pelipatgandaan .....	70
Tahapan Denaturasi.....	71
Tahapan Annealing.....	71
Tahap Ekstensi.....	71
Skema Amplifikasi.....	71
Bahan Dasar.....	71
PCR-Mixture.....	72
Kondisi PCR.....	72
One Step PCR (untuk Praktikum Khusus CD4).....	72
Susunan Primer.....	73
Mendesain Primer.....	73
Optimasi Kondisi Primer .....	73
Penilaian Produk PCR.....	74
Protokol Ekstraksi dan PCR.....	74
Bibliografi .....	77

## Bab 5

### PROTOKOL ISOLASI DAN KULTUR STEM CELL

HEMATOPOETIK.....	79
Pendahuluan.....	79
Isolasi dan Kultur Stem Cell Hematopoetik dari Bone Marrow Stem Cell.....	79
Alat dan Bahan.....	80
Metode.....	81
Identifikasi Maturasi limfosit .....	83
a. Imunofluoresense indirek .....	84
b. Polymerase Chain Reaction (PCR).....	85

Isolasi dan Kultur <i>Stem Cell</i> Hematopoetik dari PBMCs.....	87
Persiapan PBMC.....	87
Isolasi PBMC Manusia.....	88
Prosedur Kultur PBMC.....	89
Simpulan.....	90
Bibliografi.....	90
<b>Bab 6</b>	
<b><i>BONE MARROW STEM CELL: SUMBER &amp; POTENSIAL</i></b>	
<b>APLIKASI KLINIS.....</b>	<b>93</b>
Pendahuluan.....	93
<i>Stem Cell</i> .....	93
Potensi Aplikasi Klinis <i>Stem Cell</i> .....	97
Aspirasi <i>Bone Marrow</i> .....	100
Persiapan.....	100
Teknik Aspirasi.....	100
Teknik Pertama.....	100
Teknik ke dua ( <i>Parallel Technique</i> ).....	101
Aspirasi <i>Bone Marrow</i> pada Kelinci.....	101
Persiapan.....	101
Teknik Aspirasi.....	102
Bibliografi.....	102
<b>Bab 7</b>	
<b>TERAPI <i>STEM CELL</i> PADA PENYAKIT REUMATIK.....</b>	<b>103</b>
Pendahuluan.....	103
MSCs.....	104
Biologi MSCs.....	105
Potensi dan Pengendalian Diferensiasi MSCs.....	106
Sifat Imunoregulator dari MSCs.....	108
MSCs Pada Penyakit Reumatik.....	111
MSCs dan <i>Osteoarthritis</i> .....	112
MSCs dan <i>Arthritis Reumatoid (RA)</i> .....	114
Simpulan.....	115
Daftar Pustaka.....	116

<b>Bab 8</b>	
<b>MESENCHYMAL STEM CELL (MSCs) DAN APLIKASINYA PADA REKAYASA JARINGAN TENDON</b> .....	121
Pendahuluan .....	121
<i>Freeze dried Allograft Tendon</i> sebagai <i>Scaffold</i> .....	125
Komposit <i>Freeze dried Tendon Allograft</i> dan MSCs.....	127
Efikasi Penggunaan Komposit <i>Freeze Dried Tendon Allograft</i> dan MSCs dalam Rekonstruksi Defek Tendon Fleksor pada Hewan Coba.....	130
Bibliografi .....	134
<b>Bab 9</b>	
<b>STEM CELL DAN REGENERASI OTAK</b> .....	139
Pendahuluan .....	139
Neurogenesis.....	139
Aplikasi <i>Stem Cell</i> pada Neurogenesis.....	141
Pendekatan Eksogen.....	142
Pendekatan Endogen.....	142
Simpulan.....	143
Bibliografi .....	143
<b>Bab 10</b>	
<b>TRANSPLANTASI STEM CELL SUMSUM TULANG UNTUK PERBAIKAN FOLIKULOGENESIS PADA MENCIT MODEL KEGAGALAN OVARIUM DENGAN PEMBERIAN KEMOTERAPI</b> .....	145
Pendahuluan .....	145
Materi Dan Metode.....	146
Membuat Mencit Model Kegagalan Ovarium .....	147
Isolasi <i>Stem Cell</i> Sumsum Tulang .....	147
Transplantasi <i>Stem Cell</i> Sumsum Tulang (SPST).....	147
Hasil Penelitian dan Diskusi .....	148
Ekspresi SCF.....	148
Ekspresi GDF-9.....	150
Hitung Folikel Ovarium.....	152
Daftar Pustaka.....	153



## xiv Bab 11

<b>BONE MARROW MESENCHYMAL STEM CELL (MSCs) UNTUK REGENERASI OTOT JANTUNG (HEARTH INFARCTION)</b> .....	157
Pendahuluan .....	157
Pengembangan MSCs dan Karakterisasi Fenotif .....	158
Isolasi Mononukleat Sel .....	158
Pengembangan MSCs .....	158
a. Karakterisasi MSCs .....	159
Fisiologi Otot Jantung .....	162
Uji Coba Model Infark Jantung pada Hewan .....	162
Rute Transfer Sel dan Homing MSC di Bagian Infark .....	163
Perspektif Aplikasi MSCs .....	164
MSCs Menginduksi Angiogenesis .....	166
Analisis Immunologi MSC .....	167
Daftar Pustaka .....	169

## Bab 12

<b>POTENSIAL APLIKASI STEM CELL PADA PASIEN PERIPHERAL ARTERIAL DISEASE</b> .....	173
Pendahuluan .....	173
Pengobatan Tungkai Iskemik pada POAD/PAPO dengan Menggunakan <i>Stem Cell</i> .....	175
Aplikasi Klinis Praktis untuk Pengobatan PAPO .....	176
Usulan/Pemikiran Pelaksanaan Kemungkinan Terapi <i>Stem Cell</i> pada PAPO Diabetik dan PAPO Arteriosklerotik .....	178
Pelaksanaan Teknis di FK-UNAIR/RSUD Dr. Soetomo .....	178
Perbandingan Hasil dan Monitoring Keberhasilan .....	179
Kesimpulan .....	179
Bibliografi .....	180

## Bab 13

<b>PERSPEKTIF STEM CELL DALAM KEDOKTERAN GIGI</b> .....	181
Pendahuluan .....	181
Potensi <i>Stem Cell</i> .....	182
Sumber <i>Stem Cell</i> pada Gigi .....	182
Permasalahan pada Bidang Kesehatan Gigi .....	183
Isolasi <i>Stem Cell</i> dari Gigi .....	190
Simpulan .....	190
Bibliografi .....	191



<b>Bab 14</b>	
<b>POTENSI REGULASI HOMEOSTASIS SEL PUNCA FOLIKEL RAMBUT PADA APLIKASI KLINIS DI BIDANG DERMATOLOGI.....</b>	<b>193</b>
Pendahuluan .....	193
Sel Punca Folikel Rambut dan Siklus Pertumbuhan Rambut.....	194
Niche Sel Punca Folikel Rambut .....	198
Regulasi Intra dan Ekstra Folikel pada Sel Punca Folikel Rambut.....	200
Potensi Sel Punca Folikel Rambut pada Aplikasi Klinis .....	201
Penyembuhan Luka.....	202
Neogenesis pada <i>Androgenetic Alopecia</i> .....	203
Daftar Pustaka.....	205
<b>Bab 15</b>	
<b>ALLOTRANSPLANTASI MESENCHYMAL STEM CELL (MSCs) PADA FIBROSIS GINJAL .....</b>	<b>209</b>
Pendahuluan .....	209
Fibrosis Ginjal.....	210
Fase 1: Aktivasi Seluler dan Jejas .....	210
Fase 2: Signal Fibrogenik.....	211
Fase 3: Fase Fibrogenik .....	212
Fase 4: Destruksi.....	213
Peran <i>Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF-β1)</i> pada Fibrosis Ginjal.....	213
Allotransplantasi MSCs Menghambat <i>Transforming Growth Factor Beta 1</i> pada Fibrosis Ginjal .....	215
Simpulan.....	218
Daftar Pustaka.....	218
<b>Bab 16</b>	
<b>REKAYASA TULANG RAWAN SENDI (CARTILAGE TISSUE ENGINEERING) .....</b>	<b>223</b>
Pendahuluan .....	223
Teknik Rekayasa Jaringan ( <i>Cartilage Engineering</i> ) .....	225
<i>Bone Marrow MSCs – Scaffold Freeze Dried Bovine Cartilage Powder – Platelet Rich Plasma Composit (SMPC)</i> .....	227
Kesimpulan .....	230
Bibliografi .....	230

**RISET TRANSLASI STEM CELL SEBAGAI AKSELERASI  
PENINGKATAN DAYA SAING PERGURUAN TINGGI  
KELAS DUNIA**

Pendahuluan.....	233
Regenerasi dan <i>Repair</i> .....	233
Biologi dan Potensi <i>Stem Cell</i> .....	234
Biologi <i>Stem Cell</i> .....	235
Karakteristik <i>Stem Cell</i> .....	235
Homing <i>Stem Cell</i> .....	237
Niche <i>Stem Cell</i> .....	238
Siklus dan Regulasi Replikasi <i>Stem Cell</i> .....	238
Mekanisme dan Potensi Regenerasi .....	239
Mekanisme <i>Signaling</i> .....	240
Plastisitas <i>Stem Cell</i> dan Regeneratif .....	240
<i>Self Renewal</i> dan Potensi <i>Stem Cell</i> .....	241
Riset Translasi <i>Stem Cell</i> di Dunia dan Unair.....	242
Riset <i>Stem Cell</i> di Dunia .....	244
Riset <i>Stem Cell</i> di Unair .....	244
Riset <i>Stem Cell</i> di Unair .....	245
Model Riset Translasi .....	247
Akselerasi Peningkatan Daya Saing Perguruan Tinggi .....	249
Manfaat Pengembangan <i>Stem Cell</i> di Perguruan Tinggi .....	249
Strategi Pengembangan ( <i>Technology Stem Cell</i> ).....	250
<i>Stem Cell</i> dan Daya Saing Perguruan Tinggi.....	252
Simpulan.....	256
Daftar Pustaka.....	258
Indeks.....	258
	261

## TERAPI *STEM CELL* PADA PENYAKIT REUMATIK

<sup>1,2</sup> Ferdiansyah, <sup>1,3</sup> Purwati, <sup>1</sup> Fedik A. Rantam

<sup>1</sup> *Stem cell* Laboratory, Institute of Tropical Disease,

<sup>2</sup> Tissue Engineering and Biomaterial,

<sup>3</sup> Divisi Tropik, Departemen Penyakit Dalam, RSUD Dr. Soetomo dan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya

---

### PENDAHULUAN

---

*Stem cell*, yang didefinisikan sebagai suatu sel yang mempunyai kemampuan ganda untuk memperbaharui diri dan memproduksi progenitor dan jenis-jenis berbeda dari sel terspesialisasi dalam organisme. Sebagai contoh, dalam awal kehidupan manusia, satu sel telur yang dibuahi zigot menjadi dua, dan dua menjadi empat. Dalam tahap-tahap awal ini, setiap sel masih mungkin menjadi totipoten yang artinya, satu organisme utuh dapat diturunkan dari setiap sel ini. Dalam 5 hingga 7 hari, sekitar 40 sel terbentuk yang menyusun massa sel dalam, dikelilingi oleh suatu lapisan sel luar yang selanjutnya membentuk plasenta. Pada tahap ini, setiap sel pada massa sel dalam mempunyai potensi untuk membentuk semua jenis jaringan dan organ termasuk sel germinal yang artinya, sel ini bersifat pluripoten. Sel-sel yang membentuk massa sel dalam akan membentuk sekitar 10<sup>13</sup> sel yang menyusun suatu tubuh manusia, tersusun dalam 200 jenis sel yang terdiferensiasi. Banyak sel somatik, sel spesifik jaringan atau *stem cell* dewasa diproduksi selama perkembangan janin. *Stem cell* semacam ini mempunyai kemampuan yang lebih terbatas dari pada *stem cell embryonal* pluripoten dan sel ini bersifat multipoten yang artinya, mereka mempunyai kemampuan untuk membentuk beberapa macam sel. *Stem cell* dewasa ini menetap pada organ tertentu dalam tingkat yang bervariasi selama kehidupan seseorang (Mimeault dan Batra 2008).

*Stem cell* dewasa (ASC, *adult stem cells*) telah diketahui mempunyai kemampuan untuk meregenerasi jaringan tertentu yang dari mana sel tersebut diambil. *Stem cell* hematopoietik, sebagai contoh, secara terus-menerus meregenerasi sel darah sirkulasi dan sel sistem imun selama kehidupan organisme. Berdasarkan model binatang, banyak studi yang belakangan ini mengklaim



bahwa ASC mempunyai potensi perkembangan yang hampir setara seperti ESC (*embryonal stem cells*) (McSweeney dan Stobe, 1999). Namun, laporan yang lebih terkini mengubah interpretasi dari hasil sebelumnya, menyebut "potensi plastisitas" atau "trans diferensiasi" dari ASC. Maka, ASC mempunyai kemampuan untuk meregenerasi jaringan yang dari mana sel tersebut diambil selama jangka waktu kehidupan individu (Dominici *et al.*, 2006 Pettenger *et al.*, 1999).

Osteoarthritis (OA) adalah kondisi arthritis paling umum dan, seperti arthritis reumatoid (RA, *rheumatoid arthritis*), memberikan suatu lingkungan inflamasi dengan pelibatan imunologis dan hal ini telah menjadi rintangan berat yang dapat membatasi penggunaan teknologi jaringan tulang rawan. Kemajuan terkini pemahaman kita mengenai fungsi MSCs menunjukkan bahwa MSCs juga mempunyai efek immunosupresi dan anti-inflamasi poten. Di samping itu, melalui sekresi berbagai faktor terlarut, MSCs dapat memengaruhi lingkungan jaringan lokal dan memberikan efek protektif dengan suatu hasil akhir berupa stimulasi efektif untuk regenerasi *in situ*. Fungsi MSCs ini dapat dieksploitasi untuk aplikasi terapeutiknya pada penyakit sendi degeneratif seperti RA dan OA. Ulasan ini mensurvei kemajuan yang dibuat dalam dekade terakhir yang telah mengarahkan kita kepada pemahaman terkini dari biologi *stem cell* yang relevan terhadap penyakit sendi. Potensi keterlibatan MSCs dalam patofisiologi dari penyakit sendi degeneratif juga akan didiskusikan. Secara spesifik, untuk mengetahui lebih dalam potensi terapi sel berbasis MSCs untuk OA dan RA dalam artian penggantian fungsional dari tulang rawan yang rusak melalui teknologi jaringan serta aktivitas anti-inflamasi dan immunosupresifnya.

## MSCs

*Stem cell* mesenkimal (MSCs, *mesenchymal stem cells*), juga dikenal di laboratorium sebagai *stem cell* sumsum tulang, *stem cell* skeletal, dan sel stromal mesenkimal multipoten, adalah sel progenitor nonhematopoietik yang diisolasi dari jaringan dewasa, dan ditandai *in vitro* oleh kemampuan proliferasi ekstensif dalam suatu keadaan yang tidak terikat sembari mempertahankan potensinya untuk berdiferensiasi sepanjang lini yang berasal dari mesenkimal, termasuk lini kondrosit, osteoblas, dan adiposit, sebagai respons terhadap stimulus yang sesuai. Semenjak studi pertama oleh Friedenstein dan kolega lebih dari 40 tahun yang lalu, area penelitian MSCs telah memperoleh perhatian dan popularitas yang lebih, terutama dalam dekade terakhir (Friedenstein *et al.*, 1966).

Studi-studi ini mengarah pada realisasi bahwa MSCs dapat dengan mudah diisolasi dari berbagai jaringan sumber, siap diekspansi dalam kultur,

dan berdiferensiasi dengan baik di bawah stimulasi yang cocok. Karakteristik ini menjadikan MSCs sebagai suatu jenis sel kandidat untuk upaya teknologi jaringan yang bertujuan meregenerasi jaringan pengganti untuk struktur yang rusak (Rantam *et al.*, 2009). Studi lebih mendalam menemukan bahwa efek regeneratif dari MSCs tidak hanya bergantung kepada kemampuan mereka berkontribusi secara struktural terhadap perbaikan jaringan. MSCs mempunyai efek imunomodulator dan anti-inflamasi poten, dan melalui interaksi sel-sel direk atau sekresi berbagai faktor.

MSCs dapat memberikan suatu efek menakjubkan pada perbaikan jaringan lokal melalui modulasi lingkungan lokal dan aktivasi sel progenitor endogen. Sifat ini menjadikan terapi sel berbasis MSCs suatu subjek yang sedang hangat-hangatnya diteliti dalam kedokteran regeneratif. Meliputi antara lain (a) mengidentifikasi sumber yang tersedia dan merancang teknik yang sesuai untuk isolasi dan ekspansi kultur MSCs yang mempunyai kemampuan diferensiasi kondrogenik yang baik, (b) menemukan faktor pertumbuhan yang sesuai (seperti TGF- $\beta$ , IGF-1, BMP, dan FGF-2) yang mempromosikan diferensiasi kondrogenik MSCs, (c) mengidentifikasi atau membuat tangga matriks biologis atau artifisial sebagai pembawa untuk MSCs dan faktor pertumbuhan untuk transpantasinya dan mengisi defek. Selain itu, mewakili perspektif baru untuk perbaikan tulang rawan adalah demonstrasi sukses dari terapi gen dengan faktor pertumbuhan kondrogenik atau penyakit inflamasi (baik individual maupun kombinasi), baik langsung ke jaringan tulang rawan atau dimediasi melalui transduksi dan cangkok hasil kultur kondrosit, MSCs atau sel mesenkimal lain. Namun, di samping kemajuan pre-klinik yang cepat ini dan beberapa keberhasilan dalam teknologi jaringan menyerupai tulang rawan dan dalam memperbaiki tulang rawan artikuler dan cakram pertumbuhan, masih terdapat tantangan dalam mentranslasikannya ke klinik. Untuk meraih efektivitas, keamanan, dan praktikalitas klinik dari penggunaan MSCs untuk perbaikan tulang rawan, satu penelitian yang penting adalah untuk mengetahui kombinasi optimal dari sumber MSCs, campuran faktor pertumbuhan, dan matriks pembawa yang mendukung. Sesuai dengan semakin banyak diketahuinya faktor kritikal yang mengatur migrasi, proliferasi dan diferensiasi MSCs baik *ex-vivo* maupun *in vivo* (Chen *et al.*, 2006, Jones dan McGonagle, 2008).

## BIOLOGI MSCs

*Mesenchymal Stem Cell* dan sel serupa MSCs telah diidentifikasi ada dan dapat diisolasi dari sejumlah besar jaringan dewasa, yang dipostulatkan bahwa sel

tersebut membawa fungsi untuk menggantikan dan meregenerasi sel lokal yang hilang karena pergantian, kerusakan, atau penuaan jaringan normal. Jaringan ini meliputi adiposa, periosteum, membran sinovial, cairan sinovial (SF, *synovial fluid*), otot, dermis, gigi desidua, perisit, tulang trabekular, lapisan lemak infrapatellar, dan tulang rawan artikuler. Namun, di samping penelitian intensif mengenai MSCs, belum disetujui secara umum mengenai petanda fenotip atau permukaan untuk isolasi prospektif MSCs. Malahan, MSCs didefinisikan secara retrospektif oleh suatu konstelasi karakteristik *in vitro*, termasuk kombinasi petanda fenotip dan sifat fungsional diferensiasi multipoten.

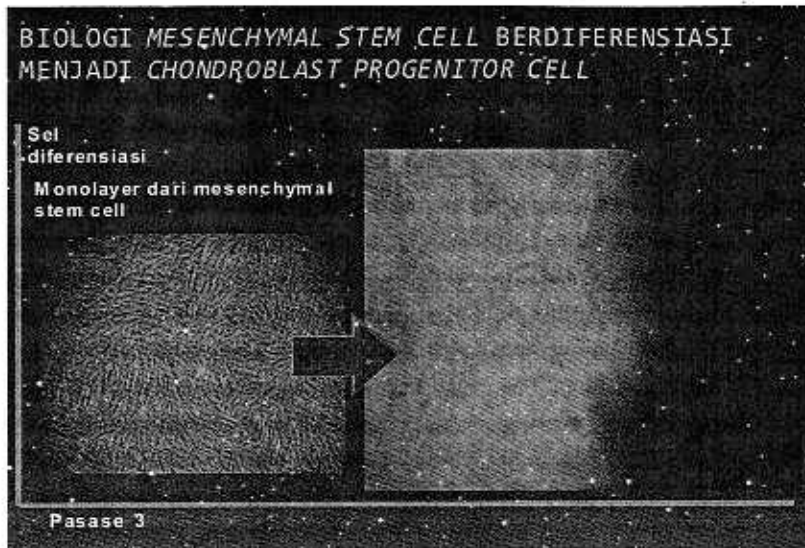
Kebutuhan minimum untuk suatu populasi sel dikualifikasikan sebagai MSCs, sebagaimana disarankan oleh *International Society of Cytotherapy*, ada tiga: (a) sel tersebut harus mendukung plastisitas dalam kondisi kultur standar, (b) sel tersebut harus mengekspresikan CD105, CD73, dan CD90 dan kurang mengekspresikan CD45, CD34, CD14 atau CD11b, CD79a atau CD19, dan molekul permukaan HLA-DR, dan (c) sel tersebut harus mempunyai kapabilitas diferensiasi mesodermal tripoten menjadi osteoblas, kondrosit, dan adiposit. Belakangan, Buhring dan kolega mendeskripsikan suatu panel petanda permukaan, meliputi CD140b (reseptor-D PDGF), CD3340 (HER-2/erbB2), dan CD349 (frizzled-9) bersama dengan CD217, yang dapat digunakan untuk pengayaan MSCs. Namun, fraksi sel yang diperkaya masih heterogen, dan mayoritas sel yang diisolasi tidak bersifat klonogenik (Mimeault dan Batra, 2008). Meskipun MSCs yang diisolasi dari jaringan yang berbeda menunjukkan karakteristik fenotip serupa, tidak jelas apakah merupakan MSCs yang sama, dan menunjukkan kecenderungan yang berbeda dalam potensi proliferasi dan diferensiasi sebagai respons terhadap stimulasi dengan berbagai faktor pertumbuhan. Suatu studi yang membandingkan MSCs manusia yang didapat dari sumsum tulang, periosteum, sinovium, otot rangka, dan jaringan adiposa menunjukkan bahwa MSCs dari sinovium mempunyai kapasitas tertinggi untuk kondrogenesis, diikuti oleh MSCs dari sumsum tulang dan periosteum (Bartok dan Ferestein, 2010, Tuan, 2004, Sotiropoulou *et al.*, 2006).

### POTENSI DAN PENGENDALIAN DIFERENSIASI MSCs

*Mesenchymal Stem cell* ditandai oleh kapasitas memperbaharui diri intrinsik yang direfleksikan dalam sifat klonogenik dan potensi diferensiasi multilini. Dalam kondisi yang sudah ditentukan, MSCs dapat berdiferensiasi menjadi kondrosit, osteoblas, dan adiposit, dan juga dapat menjadi sel stroma yang mendukung hematopoiesis (Jang *et al.*, 2002).

Model eksperimental standar terdiri atas suatu kultur tiga-dimensi (3-D) MSC, suatu pelet sel densitas tinggi atau kultur mikromassa atau dalam kerangka





**Gambar 7.1** BM-Mesenchymal stem cell didiferensiasi menjadi sel chondroblast.

3-D, di bawah stimulasi dari faktor kondrogenik yang sesuai. Elemen termasuk aktivasi berbagai jalur sinyal intraseluler (protein kinase yang diaktivasi oleh mitogen dan Smads) dan faktor transkripsi (sox9, L-sox5, dan L-sox6), produksi dan interaksi dengan protein matriks ekstraseluler (kolagen tipe II, *aggrecan*, dan protein matriks oligomerik tulang rawan), aktivitas faktor bioaktif terlarut seperti faktor pertumbuhan, sitokin, kemokin, dan hormon, dan efek faktor lingkungan seperti beban mekanik dan tekanan oksigen semua memengaruhi diferensiasi kondrogenik MSCs. Salah satu dari molekul penting instrinsik terhadap asumsi fenotip tulang rawan adalah faktor transkripsi sox9. Dalam MSCs dari sumsum tulang, ekspresi sox9 eksogen memicu deposisi proteoglikan yang meningkat (Sethe *et al.*, 2006, Tsuchiya *et al.*, 2003).

Faktor pertumbuhan yang mempunyai efek regulator pada MSCs meliputi anggota superfamili TGF- $\beta$ , IGF, FGF, PDGF, dan Wnts. Dari semua faktor pertumbuhan ini, TGF- $\beta$ , meliputi TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, dan TGF- $\beta$ 3, sebagaimana protein morfogenik tulang (BMP, *bone morphogenic proteins*) merupakan penginduksi poten untuk mempromosikan kondrogenesis MSCs. Untuk MSCs manusia, TGF- $\beta$ 2 dan TGF- $\beta$ 3 lebih aktif daripada TGF- $\beta$ 1 dalam mempromosikan kondrogenesis, meskipun kandungan seluler serupa setelah kultur, lebih banyak proteoglikan dan kolagen tipe II dapat diproduksi (Tsuchiya *et al.*, 2003; Zhou *et al.*, 2004).

*Bone Morphogenic Proteins* dikenal akan keterlibatannya dalam pembentukan tulang rawan, berperan sendiri atau bersama dengan faktor pertumbuhan lain



untuk menginduksi atau mempermudah diferensiasi kondrogenik MSCs. Sebagai contoh, BMP-2, BMP-4, BMP-6, dikombinasikan dengan TGF- $\beta$ 3, menginduksi fenotip kondrogenik dalam pelet MSCs dari sumsum tulang manusia, dengan BMP-2 tampak paling efektif. Untuk MSCs dari jaringan adiposa, disebabkan oleh kurangnya ekspresi reseptor TGF  $\beta$  tipe I dan berkurangnya ekspresi BMP-2, BMP-4, dan BMP-6 dibandingkan dengan MSCs sumsum tulang, suplementasi dengan BMP-6 dan TGF- $\beta$  tampak optimal untuk diferensiasi kondrogeniknya, dengan BMP-6 menstimulasi diferensiasi kondrogenik yang lebih kuat dibandingkan dengan TGF- $\beta$  (Mello *et al.*, 2006, Valcourt *et al.*, 2002, Taipelcenmaki *et al.*, 2008). Polimorfisme protein jalur sinyal Wnt dan ekspresi gen yang berubah dikaitkan dengan RA dan OA. Sinyal Wnt bersama dengan sinyal TGF- $\beta$  dan BMP mempermudah diferensiasi MSCs. Selain itu, Wnt yang kanonikal dan nonkanonikal telah menunjukkan *cross-talk* satu sama lain dalam meregulasi proliferasi dan diferensiasi osteogenik *stem cell* (Kreuger *et al.*, 2010, Mogasheri *et al.*, 2009, Tuli *et al.*, 2003, Sen, 2005, Sekiya *et al.*, 2005; Hennig *et al.*, 2007).

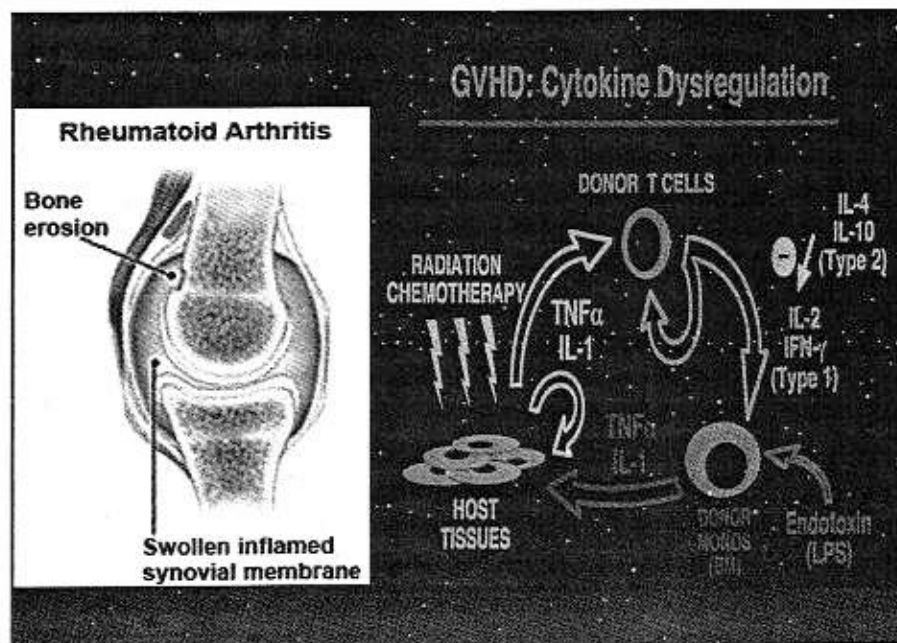
#### SIFAT IMUNOREGULATOR DARI MSCs

Satu sifat penting dari MSCs, khususnya dalam penggunaannya pada penyakit reumatik, adalah fungsi immunosupresif dan anti-inflamasi potennya yang telah ditunjukkan baik *in vitro* maupun *in vivo*. Dikarenakan oleh sedikitnya MSCs, khususnya penurunan dalam kuantitas dan kualitas sejalan dengan usia dan penyakit, serta fakta bahwa MSCs dari pasien mempunyai defek genetik yang sama dengan pasien, terkadang lebih disukai untuk mempertimbangkan penggunaan MSCs allogenik untuk terapi. Secara tradisional, terapi sel allogenik memerlukan terapi immunosupresi pendamping. Namun, dalam kasus MSCs, hal tersebut mungkin tidak terlalu diperlukan mengingat bahwa MSCs dapat digunakan untuk memodulasi sistem imun hospes dan memberi fungsi supresi imun. Namun, peringatan harus ditingkatkan karena lapangan penelitian ini masih mendewasa dan hasil yang bertentangan didapat pada sistem yang berbeda dari laboratorium yang berbeda (Uccelli *et al.*, 2007).

Pertama, MSCs bersifat hipoinmunogenik dan dapat lolos dari eliminasi imun pejamu. MSCs mengekspresikan molekul MHC kelas I yang rendah (fetal) hingga menengah (dewasa) dan tidak mengekspresikan molekul MHC kelas II pada permukaan selnya. Meskipun suatu kumpulan molekul MHC kelas II intraseluler dapat distimulasi untuk diekspresikan pada permukaan sel oleh interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ). Namun, karena MSCs tidak mengekspresikan molekul kostimulator apapun, termasuk B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), atau CD40, MSCs tidak mengaktivasi

sel T alloreatif. Setelah diferensiasi menjadi adiposit, osteoblas dan kondrosit, MSC terus mengekspresikan molekul MHC kelas I tapi tidak MHC kelas II pada permukaan selnya, bahkan di bawah stimulasi, dan terus bersifat nonimunogenik. Sifat ini menunjukkan bahwa MSCs dapat dicangkokkan pada pejamu allojenik tanpa penolakan imun dan bahwa terapi sel MSCs *in vivo* dan pembuatan tulang rawan berteknologi jaringan menggunakan MSCs allojenik yang dicangkokkan *in vivo* dalam kerangka biomaterial hipoimmunogenik seharusnya tidak merangsang respons imun hospes. Namun, sifat ini pada MSCs tampaknya terbatas. Beberapa studi pada sistem tikus telah melaporkan bahwa, *in vivo*, MSC mismatch allojenik ditolak oleh pejamu dan dapat membentuk tulang ektopik, sedangkan resipien singenik memungkinkan pembentukan tulang ektopik, di samping fakta bahwa, *in vitro*, MSCs menunjukkan aktivitas immunosupresif (LeBlanc dan Ringden, 2007; Eliopoulos *et al.*, 2005).

*Mesenchymal stem cell* tidak hanya menghindari deteksi dan eliminasi oleh sistem imun, tapi juga mampu memodulasi dan mensupresi alloreaktivitas melalui modulasi aktivitas sel imun mayor. *in vitro*, MSCs menghambat proliferasi dan aktivasi sel T sebagai respons terhadap stimulasi mitogenik atau antigenik yang bergantung besarnya dosis. Banyak studi telah menunjukkan bahwa MSCs, sebagaimana progeni yang telah berdiferensiasi dari adiposit, osteoblas, atau



**Gambar 7.2** Disregulasi sitokin pada kasus *arthritis reumathoid* setelah dilakukan terapi dengan BM-mesenchymal stem cell (Spanggiari *et al.*, 2008).

kondrosit, menghambat proliferasi limfosit allogenik. Baik sel T naif maupun memori sebagaimana juga sel T CD4+ dan CD8+ dalam kultur limfosit campuran mengalami supresi. Lebih jauh lagi, MSCs mensupresi lisis yang dimediasi sel T CD8+. Sel T diketahui anergik dan berhenti pada fase G0-G1 dari siklus sel (Zappia *et al.*, 2005, Beyth *et al.*, 2005). Selain sel T, MSCs juga mempunyai efek penghambat pada sel B, sel NK, dan sel dendritik. Di samping efek pada proliferasi, MSCs dapat memengaruhi diferensiasi dan maturasi dan fungsi seluler sel imun. MSCs menghambat maturasi dan menurunkan ekspresi molekul presentasi dan kostimulator dari sel yang mempresentasikan antigen. MSCs juga menghambat produksi antibodi sel-B. Pada kasus sel NK, MSCs dapat mensupresi proliferasi, sekresi sitokin, dan sitotoksitasnya (Spaggiari *et al.*, 2008).

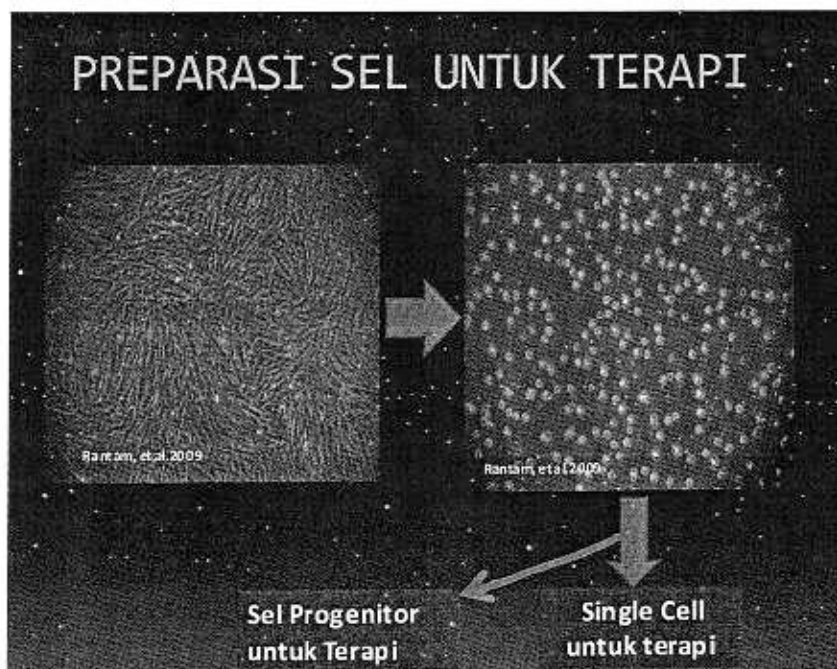
*Mesenchymal stem cell* tidak hanya mempunyai efek hambatan langsung pada sel T tapi juga mempengaruhi tahap kritis pertama dari respons imun di mana MSCs dapat menghambat diferensiasi dan maturasi sel yang mempresentasikan antigen dan menyebabkan sel dendritik untuk mengubah profil sekresi sitokin untuk menurunkan sekresi sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , dan IL-12 dan, yang penting, meningkatkan produksi IL-10 yang supresif dan tolerogenik dan merupakan penginduksi poten dari sel T regulator (Treg). Di samping itu, telah dilaporkan bahwa MSCs manusia menyebabkan suatu peningkatan dalam proporsi Treg. Secara keseluruhan, efek MSCs terhadap sel imun adalah menggeser respons imun menuju fenotip yang toleran dan anti-inflamasi.

Efek imunomodulatif ini tampaknya tidak terbatas pada MSCs, tapi juga dimiliki oleh sel mesenkimal lain. Progeni dari diferensiasi MSCs sebagaimana juga berbagai sel stroma dari jaringan yang berbeda, termasuk kondrosit dan fibroblas, juga menunjukkan efek immunosupresif dalam kondisi tertentu (Spaggiari *et al.*, 2008; Bartholomew *et al.*, 2002).

Mekanisme efek imunomodulator dari MSCs belum dipahami sepenuhnya, meskipun efek langsung maupun tidak langsung telah ditunjukkan melalui interaksi sel ke sel atau faktor terlarut yang menciptakan lingkungan immunosupresif lokal. MSCs mengubah profil sekresi sitokin dari sel dendritik, sel T naif dan efektor, dan sel NK untuk menginduksi fenotip yang lebih anti-inflamasi dan toleran. Sekresi sitokin proinflamasi, TNF- $\alpha$  dan IFN- $\gamma$ , menurun sedangkan IL-4 dan IL-10 yang lebih supresif distimulasi. Faktor lain yang terlibat meliputi faktor pertumbuhan hepatosit, TGF- $\beta$ 1, IL-10, IL-6, prostaglandin E2, nitrit oksida, dan kemungkinan indoleamin 2,3-dioksigenase. Meskipun mekanisme pasti belum terklarifikasi, beberapa bukti menunjukkan bahwa MSCs bersifat immunosupresif dan anti-inflamasi dan dapat dicangkokkan antara individu yang tidak kompatibel MHC (Aggarwal dan Pittenger, 2005; Bartholomew *et al.*, 2002; Tuli *et al.*, 2005).

Kemudahan isolasi dan ekspansi dan kapasitas diferensiasi multipoten, khususnya sifat diferensiasi kondrogenik MSCs, menjadikan MSCs pilihan untuk teknologi jaringan tulang rawan artikuler yang bertujuan untuk menggantikan dan meregenerasi struktur yang rusak pada penyakit sendi. Selain itu, fungsi imunomodulator dan anti-inflamasi membuat MSCs menjadi kandidat ideal untuk terapi sel pada penyakit dengan karakter inflamasi seperti yang dijumpai pada OA dan RA, meskipun penelitian di bidang ini baru saja mulai meraih momentumnya. Oleh karena itu, MSCs dipertimbangkan sebagai sel kandidat untuk pengobatan penyakit sendi arthritic baik sebagai substitusi struktural dan sebagai terapi sel tunggal atau sebagai kombinasi (Xian *et al.*, 2006).

Metode isolasi, permukaan kultur, medium, dan densitas pembibitan serta perawatan dengan berbagai faktor pertumbuhan mempengaruhi ekspansi dan diferensiasi dan sifat imunogenik MSCs. Usia donor dan tahapan penyakit dapat juga mempengaruhi hasil, laju proliferasi, dan potensi diferensiasi MSCs. Relevan terhadap penyakit reumatik, beberapa studi menunjukkan bahwa usia, *arthritis reumatoid* (RA), dan *osteoarthritis* (OA) tahap lanjut memengaruhi MSCs dari



**Gambar 7.3** Bone marrow - mesenchymal stem cell yang tumbuh konfluen setelah dilakukan validasi maka siap untuk diaplikasikan atau didiferensiasi menjadi sel progenitor yang sifatnya lebih spesifik.

sumsum tulang pasien, penurunan signifikan kapasitas proliferasi dan aktivitas kondrogenik dibandingkan dengan yang berasal dari donor muda sehat, meskipun temuan ini diperdebatkan (Szodoray *et al.*, 2010).

Pada satu studi, MSCs sumsum tulang yang berasal dari pasien RA dan OA menunjukkan potensi kondrogenik serupa dengan MSCs yang diisolasi dari donor sehat. Dalam studi lainnya, dibandingkan dengan MSCs dari donor sehat, MSCs dari individu dengan RA menunjukkan frekuensi, potensi diferensiasi, kemampuan bertahan hidup, dan karakter imunofenotip yang serupa. Tapi MSCs pasien RA menunjukkan gangguan pada potensi klonogenik dan proliferaatif dengan hilangnya panjang telomer secara prematur. Namun, tanpa mempedulikan usia atau etiologi penyakit OA, ditemukan bahwa sejumlah MSCs dengan potensi diferensiasi kondrogenik yang adekuat dapat diisolasi. Oleh karena itu, suatu aplikasi terapeutik dari MSCs untuk regenerasi tulang rawan dari lesi RA dan OA tampak memungkinkan (Mauck *et al.*, 2006; Mwale *et al.*, 2006).

### **MESENCHYMAL STEM CELL DAN OSTEOARTHRITIS**

*Osteoarthritis* adalah tipe *arthritis* yang paling sering dijumpai. Diperkirakan bahwa 26,9 juta penduduk Amerika berusia 25 tahun atau lebih mempunyai OA klinis pada beberapa sendi, dengan persentase gangguan yang lebih tinggi pada populasi yang lebih tua. Manifestasi klinisnya meliputi nyeri sendi dan gangguan gerakan, dan jaringan sekitarnya seringkali mengalami inflamasi lokal. Etiologi OA belum sepenuhnya dipahami; namun, jejas, usia, dan genetik dipertimbangkan di antara faktor risiko lainnya. OA adalah penyakit yang melemahkan dan progresif yang kebanyakan mengenai tulang rawan, dengan perubahan yang terkait pada tulang. Tulang rawan mempunyai kapasitas penyembuhan dan regenerasi intrinsik yang terbatas. Terapi farmakologi terkini untuk OA awal tampaknya memberikan keberhasilan yang terbatas, dan berbagai prosedur bedah, termasuk *debridement*, *drilling*, cangkok osteokondral, *graft* perikondral dan periosteal autologus, dan implantasi kondrosit autologus, mampu mengurangi nyeri sementara tapi seringkali gagal. Disebabkan oleh peningkatan insiden OA dan populasi yang menua serta pilihan terapi yang inefisien, strategi perbaikan tulang rawan baru sangat diperlukan (Dudies *et al.*, 2008; Mubasheri *et al.*, 2009).

Ketersediaan MSCs dalam kuantitas besar dan potensinya untuk diferensiasi kondrogenik yang siap setelah ekspansi *in vitro* yang diperlama telah menjadikan MSCs kandidat sumber sel progenitor paling diharapkan untuk teknologi jaringan tulang rawan. MSCs yang dimasukkan pada kerangka 3-D di bawah petunjuk diferensiasi yang sesuai dapat mengalami diferensiasi kondrogenik, dan hasilnya



dapat digunakan sebagai jaringan pengganti untuk perbaikan tulang rawan. Teknologi jaringan tulang rawan *in vitro* telah menarik perhatian dan upaya peneliti dari biolog, insinyur, dan klinisi dalam 10 tahun terakhir. Regulasi dan pengendalian proses ini telah dibahas mendalam di atas dan pembaca diberikan referensi untuk informasi tambahan. Selain digunakan untuk penggantian strukturan sebagai tujuan teknologi jaringan tulang rawan pada perbaikan tulang rawan, MSCs telah digunakan secara langsung dalam sel terapi untuk perbaikan tulang rawan OA *in-situ*. OA diasosiasikan dengan inflamasi progresif dan seringkali berat. Untuk teknologi jaringan atau terapi sel menjadi sukses, pengukuran harus dilakukan untuk mengendalikan lingkungan inflamasi. Karena MSCs mempunyai fungsi anti-inflamasi, sel tersebut juga merupakan tipe sel yang sesuai untuk tujuan ini. Beberapa karakteristik dari MSCs menjadikannya menarik perhatian dalam kasus ini. Pertama, MSCs mampu bermigrasi dan menempel pada berbagai jaringan muskuloskeletal, khususnya pada situs jejas, dan mengalami diferensiasi yang spesifik situs. Lebih penting lagi, di tempat tersebut, MSCs dapat memberikan efek signifikan pada lingkungan lokal dan sel progenitor jaringan endogen residen melalui interaksi langsung atau tidak langsung dan faktor terlarut. Sebagai tambahan, MSCs mempunyai aktivitas anti-inflamasi dan immunosupresif poten. Digabungkan bersama, sifat-sifat tersebut menjadikan MSCs sebagai kandidat menjanjikan untuk terapi sel pada penyakit yang seringkali melibatkan sistem imun, seperti OA dan RA (Chen *et al.*, 2006; Kafienah *et al.*, 2007).

Kapasitas memperbaiki diri dari defek kondral yang kurang baik menyebabkan pengembangan suatu variasi luas dari pendekatan terapi meliputi *Autologous Chondrocyte Transplantation* (ACT), metode mikrofraktur dan mosaikplasti. Pada ACT, suatu biopsi tulang rawan diambil dari pasien dan kondrosit artikuler diisolasi. Sel tersebut kemudian diekspansi setelah beberapa tahap *in vitro* dan digunakan untuk mengisi defek tulang rawan. Semenjak diperkenalkan, ACT telah diaplikasikan secara luas dengan hasil dari baik hingga sangat baik.

Belakangan ini, ACT klasik telah dikombinasikan dengan teknologi jaringan dan kerangka yang dapat ditanam untuk hasil yang lebih baik. Namun, masih ada problem mayor terkait dengan teknik ACT yang berhubungan terutama dengan dediferensiasi kondrosit selama fase ekspansi pada kultur lapisan tunggal dan integrasi implan yang jelek pada jaringan tulang rawan sekitar. Pendekatan baru menggunakan *stem cell* mesenkimal sebagai suatu sumber sel alternatif untuk kondrosit dari pasien masih dalam taraf percobaan. MSCs telah menunjukkan potensi signifikan untuk kondrogenesis pada model binatang. Artikel ulasan ini mendiskusikan postensi MSCs dalam teknologi jaringan dan kedokteran regeneratif dan menekankan pada potensinya untuk perbaikan tulang rawan

dan terapi berbasis sel untuk osteoarthritis dan gangguan osteoartikuler terkait lainnya (Szodoray *et al.*, 2010).

### **MESENCHYMAL STEM CELL DAN ARTHRITIS REUMATOID (RA)**

*Reumatoid Arthritis* adalah suatu penyakit autoimun multisistem yang ditandai oleh destruksi tulang rawan dan tulang yang berkaitan dengan produksi lokal dari mediator inflamasi, seperti TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ . Etiologi RA belum sepenuhnya dipahami, dan beberapa sel diyakini berkontribusi pada proses patogenesis, dengan sel T dan *fibroblast-like synoviocytes* (FLS) memainkan peran sentral dalam perjalanan inflamasi dan kerusakan jaringan. Meskipun masih diperdebatkan, RA diyakini merupakan penyakit sinovitis inflamasi yang dikendalikan sel T di mana sel T dan sinoviosit berpartisipasi dalam suatu jaringan kompleks dari peristiwa yang dikendalikan sel dan mediator yang berakhir pada destruksi sendi. Sel T helper 1 (Th1) CD4+ dan CD8+ yang diaktivasi antigen dilaporkan terlibat dalam patogenesis RA. Setelah dipicu dan diaktifkan, sel T menstimulasi monosit, makrofag, dan FLS untuk memproduksi mediator inflamasi, termasuk IL-1, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , dan IL-6, dan mensekresi MMP, menyebabkan inflamasi sistemik yang seringkali berakibat pada kerusakan sendi.

Intervensi farmakologis yang bertujuan untuk mengurangi inflamasi, meliputi methotrexate dan obat anti-TNF- $\alpha$  (infliximab, adalimumab, dan etanercept), telah digunakan untuk mengobati gejala RA. Belakangan, untuk pasien yang tidak berespons terhadap pengobatan konvensional, terapi cangkok *stem cell* hematopoietik autologus setelah ablasi imun dapat menjadi pilihan. Namun, hal ini mempunyai risiko efek samping yang besar, termasuk kematian. Destruksi sendi pada RA dan sifat anti-inflamasi dan immunosupresif MSC menunjukkan bahwa RA dapat menjadi penyakit kandidat untuk perbaikan tulang rawan dan tulang menggunakan terapi MSCs (Faye dan Tuan, 2009; Beyth *et al.*, 2005; Zappia *et al.*, 2005; Spaggiari *et al.*, 2008; Szodoray *et al.*, 2010; Sakaguchi *et al.*, 2005; Prigozhina *et al.*, 2008; Tse *et al.*, 2003).

*Mesenchymal stem cell* telah diidentifikasi pada sinovium dan SF yang mempunyai karakteristik seperti MSCs sumsum tulang, dengan potensi klonogenik dan diferensiasi multipoten. Asal dari MSCs-SF belum jelas. Dari profil *array gen*, diamati bahwa MSCs-SF lebih serupa dengan MSCs sinovial daripada MSCs sumsum tulang. Temuan ini menunjukkan bahwa MSCs-SF berasal dari sinovium, bukan dari sumsum tulang, atau hasil perubahan fenotip akibat lingkungan lokalnya. Lebih jauh lagi, hubungan antara FLS dan MSCs belum sepenuhnya dapat dijelaskan. Telah dilaporkan bahwa suatu fraksi dari populasi FLS RA menunjukkan sifat yang berkaitan dengan MSC di mana dapat



berdiferensiasi menjadi kondrosit, osteoblas, adiposit, dan sel otot di samping kondisi patologis. Dengan menggunakan model tikus untuk cangkok sumsum tulang di mana sel sumsum tulang dari tikus donor transgenik-protein fluoresens hijau dicangkokkan pada tikus resipien yang tidak diradiasi secara lethal, tampak bahwa FLS normal mengandung suatu fraksi minor (1.2%) dari sel mesenkimal dari sumsum tulang. Pada awitan CIA pada model tikus RA, sebelum inflamasi, sel stroma sumsum tulang primitif bermigrasi dari sumsum tulang menuju rongga sendi yang terkena dan berkontribusi pada proliferasi sinovial, dan proses ini bergantung kepada sitokin proinflamasi TNF- $\alpha$  (Spaggiari *et al.*, 2008; Murphy *et al.*, 2002).

Selama perkembangan CIA, FLS arthritik mengandung suatu protein substansial (33,7%) dari sel yang berasal dari sumsum tulang. Sel ini dapat berdiferensiasi *in vitro* menjadi berbagai tipe sel mesenkimal, tetapi sitokin inflamasi seperti IL-1 $\beta$  mencegah diferensiasi multilini. Faktor transkripsi NF- $\kappa$ B), yang dapat diaktifkan oleh sitokin proinflamasi, memainkan suatu peran kunci dalam represi diferensiasi osteogenik dan adipogenik dari FLS arthritik. Lebih jauh lagi, aktivasi spesifik dari NF- $\kappa$ B mempermudah proliferasi FLS, motilitas, dan sekresi MMP-13 yang mendegradasi matriks. Oleh karena itu, diusulkan bahwa FLS arthritik adalah, dalam kenyataannya, MSCs yang tertahan pada tahap awal diferensiasi oleh aktivasi inflamasi dari NF- $\kappa$ B. Dalam studi lainnya, MSC dari RA dan donor sehat dibandingkan. MSC RA menunjukkan frekuensi, potensi diferensiasi, kemampuan bertahan hidup, dan karakteristik imunofenotip yang serupa dengan MSC normal, tapi ada gangguan potensi klonogenik dan proliferasif dengan kehilangan panjang telomer prematur (Barry *et al.*, 2001).

Akhirnya, isolat *stem cell* mesenkimal dari plasenta mengindikasikan sumber daya yang baik sebagai terapi RA dan OA tapi memerlukan penggantian lutut ganda sebelum penanaman *stem cell*. Namun sekarang pasien pada dosis rendah dari medikasi ortodoks, dan kesehatan meningkat dan dia dapat menjadi satu dari tiga Suster pionir untuk suatu monaster baru dekat Rio Grande City, Texas. Dia kini tidak lagi merasa nyeri dan mampu untuk menjadi kehidupan sehat yang utuh. Deformitas yang umum dari RA tidak dijumpai. Setelah duapuluh dua tahun terancam, kini dia mengetahui bahwa terapi *stem cell* plasenta menyelamatkannya dari lembah kegelapan. *Stem cell* sebagai suatu bentuk baru dari pengobatan regeneratif, membawa harapan yang sebelumnya tiada.

## SIMPULAN

Penggunaan potensial MSCs sebagai bahan bangunan untuk penggantian jaringan sendi melalui teknologi jaringan dan potensi barunya untuk terapi sel langsung

116 dengan memanfaatkan trofiknya dan sifat anti-inflamasi dan immunosupresif telah menciptakan entusiasme pada komunitas ortopedi dan reumatologi. Sejumlah besar penelitian telah memberikan data yang menarik, memberikan harapan untuk aplikasi potensialnya. Namun, kontroversi masih ada, dan kerja keras masih diperlukan sebelum MSCs dapat diterima sebagai aplikasi terapeutik klinis.

Untuk teknologi jaringan tulang rawan, tantangan utama adalah menemukan petunjuk optimal dan paling efektif untuk pembentukan tulang *in vitro*, apakah faktor pertumbuhan yang disusun khusus untuk MSCs, kerangka bioaktif, atau faktor lingkungan yang mempermudah, dengan tujuan untuk menciptakan jaringan tulang rawan artikuler pengganti yang stabil yang mempunyai sifat mekanis yang sesuai dan dapat berintegrasi dengan jaringan pejamu dengan fungsi jangka panjang yang stabil dan baik. Penelitian pada sisa-sisa peninggalan MSCs *in vivo* dan regulasi dari lingkungan mikro ini akan membuktikan pentingnya untuk menentukan bagaimana sebaiknya penggunaan MSCs untuk memodulasi lingkungan lokal dan sel progenitor endogen untuk tujuan perbaikan dan regenerasi. Telah jelas bahwa penelitian yang berkembang cepat mengenai efek imunomodulator dan anti-inflamasi MSCs akan memperbaiki pengetahuan kita tentang mekanisme dan regulasi dari fenomena ini.

Analisis ekspresi gen dari gen petanda kondrosit tipikal dan gen yang mengkode enzim pemodifikasi matriks menunjukkan bahwa SF dari donor OA dan RA mempengaruhi awitan dari kondrogenesis yang dimediasi TGF- $\beta$ 3 (kumpulan dari 20 mikromassa), tapi tidak mempunyai efek pada profil ekspresi gen setelah kultur diperlama dalam mikromassa. Hasil ini menunjukkan bahwa SF dari pasien RA dapat mengganggu perkembangan kondrogenik dari progenitor mesenkimal dalam mikrofraktur, sedangkan SF tidak mempunyai efek negatif pada pembentukan matriks tulang rawan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aggarwai S, Pittenger MF, 2005. Human mesenchymal *stem cells* modulate allogeneic immune cell responses. *Blood*, 105: 1815-1822
- Baksh D and Tuan RS, 2007. Canonical and noncanonical Wnts differentially affect the development potential of primary isolate of human *bone marrow mesenchymal stem cells*. *J. Cell physiol.* 212: 817-826.
- Barry F, Boynton RE, Liu B, Murphy JM, 2001. Chondrogenic differentiation of mesenchymal *stem cells* from *bone marrow*: differentiation-dependent gene expression of matrix components. *Exp Cell Res* 268: 189-200.

- Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, Ferrer K, McIntosh K, Patil S, Hardy W, Devine S, Ucker D, Deans R, Moseley A, Hoffman R, 2002. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation *in vitro* and prolong skin graft survival *in vivo*. *Exp Hematol*. 30: 42–48.
- Bartok B, Firestein GS, 2010. Fibroblast-like synoviocytes: key effector cells in rheumatoid arthritis. *Immunol Rev*. 233(1): 233–55.
- Beyth S, Borovsky Z, Mevorach D, Liebergall M, Gazit Z, Aslan H, Galun E, Rachmilewitz J, 2005. Human mesenchymal stem cells alter antigen-presenting cell maturation and induce T-cell unresponsiveness. *Blood*, 105: 2214–2219.
- Buhring HJ, Battula VL, Treml S, Schewe B, Kanz L, Vogel W, 2007. Novel markers for the prospective isolation of human MSC. *Ann N Y Acad Sci*, 1106: 262–271.
- Chen FH, Rousche KT, Tuan RS, 2006. Technology insight: adult stem cells in cartilage regeneration and tissue engineering. *Nat Clin Pract Rheumatol*, 2: 373–382.
- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, Deans R, Keating A, Prockop D, Horwitz E. 2006. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8: 315–317.
- Dudics V, Kunstar A, Kovacs J, Lakatos T, Geher P, Gomor B, Monostori E, Uher F. 2008. Chondrogenic potential of mesenchymal stem cells from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis: measurements in a microculture system. *Cells Tissues Organs*.
- Eliopoulos N, Stagg J, Lejeune L, Pommey S, Galipeau J, 2005. Allogeneic marrow stromal cells are immune rejected by MHC class I- and class II-mismatched recipient mice. *Blood*. 106: 4057–4065.
- Faye H Chen and Rocky S Tuan, 2008. Mesenchymal stem cells in arthritic diseases *Arthritis Research & Therap* 10: 223.
- Friedenstein AJ, Piatetzky-Shapiro I, Petrakova KV, 1966. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. *J Embryol Exp Morphol*, 16: 381–390.
- Hennig T, Lorenz H, Thiel A, Goetzke K, Dickhut A, Geiger F, Richter W, 2007. Reduced chondrogenic potential of adipose tissue derived stromal cells correlates with an altered TGFbeta receptor and BMP profile and is overcome by BMP-6. *J Cell Physiol*, 211: 682–691.
- Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA, Verfaillie CM, 2002. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*, 418: 41–49.

- 118 Jones S, Horwood N, Cope A, Dazzi F, 2007. The antiproliferative effect of mesenchymal stem cells is a fundamental property shared by all stromal cells. *J Immunol*, 179: 2824–2831.
- Jones E, McGonagle D, 2008. Human bone marrow mesenchymal stem cells in vivo. *Rheumatology (Oxford)*, 47: 126–131.
- Kruger JP, Endres M, Neumann K, Häupl T, Erggelet C, Kaps C, 2010. Chondrogenic differentiation of human subchondral progenitor cells is impaired by rheumatoid arthritis synovial fluid. *J Orthop Res*. 28(6): 819–27.
- Kafienah W, Mistry S, Dickinson SC, Sims TJ, Learmonth I, Hollander AP, 2007. Three-dimensional cartilage tissue engineering using adult stem cells from osteoarthritis patients. *Arthritis Rheum*. 56: 177–187.
- Lozito T, Kolf C, Tuan RS, 2008. Microenvironmental regulation of adult mesenchymal stem cells. In *Regulatory Networks in Stem cells*. Edited by: Rajasekhar VK, Vemuri MC. New York, NY: Humana Press/Springer
- Le Blanc K, Tammik C, Rosendahl K, Zetterberg E, Ringden O, 2003. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Exp Hematol*. 31: 890–896.
- Le Blanc K, Ringden O, 2007. Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. *J Intern Med*, 262: 509–525.
- Mauck RL, Yuan X, Tuan RS, 2006. Chondrogenic differentiation and functional maturation of bovine mesenchymal stem cells in long-term agarose culture. *Osteoarthritis Cartilage*, 14: 179–189.
- Mello MA, Tuan RS, 2006. Effects of TGF-beta1 and triiodothyronine on cartilage maturation: *in vitro* analysis using long-term high-density micromass cultures of chick embryonic limb mesenchymal cells. *J Orthop Res*. 24: 2095–2105
- Mimeault M, Batra SK, 2008. Recent progress on tissue-resident adult stem cell biology and their therapeutic implications. *Stem cell Rev*, 4: 27–49.
- Mobasheri A, Csaki C, Clutterbuck AL, Rahmzadeh M, Shakibaei M, 2009. Mesenchymal stem cells in connective tissue engineering and regenerative medicine: applications in cartilage repair and osteoarthritis therapy. *Histol Histopathol*. 24(3): 347–66.
- Mwale F, Stachura D, Roughley P, Antoniou J, 2006. Limitations of using aggrecan and type X collagen as markers of chondrogenesis in mesenchymal stem cell differentiation. *J Orthop Res*. 24: 1791–1798.
- Murphy JM, Dixon K, Beck S, Fabian D, Feldman A, Barry F, 2002. Reduced chondrogenic and adipogenic activity of mesenchymal stem cells from patients with advanced osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 46: 704–713.

- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR, 1999. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 284: 143–147.
- Prigozhina TB, Khitrin S, Elkin G, Eizik O, Morecki S, Slavin S, 2008. Mesenchymal stromal cells lose their immunosuppressive potential after allotransplantation. *Exp Hematol*. PMID: 18619727.
- Rantam, FA., Ferdiansyah, Nasronudin, Purwati, 2009. *Stem cell Exploration, Isolation and Methods*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Sakaguchi Y, Sekiya I, Yagishita K, Muneta T, 2005. Comparison of human stem cells derived from various mesenchymal tissues: superiority of synovium as a cell source. *Arthritis Rheum*. 52: 2521–2529.
- Sekiya I, Larson BL, Vuoristo JT, Reger RL, Prockop DJ, 2005. Comparison of effect of BMP-2, -4, and -6 on *in vitro* cartilage formation of human adult stem cells from bone marrow stroma. *Cell Tissue Res*, 320: 269–276.
- Sen M, 2005. Wnt signalling in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 44: 708–713.
- Sethe S, Scutt A, Stolzing A, 2006. Aging of mesenchymal stem cells. *Ageing Res Rev* 5: 91–116.
- Sotiropoulou PA, Perez SA, Salagianni M, Baxevanis CN, Papamichail M, 2006. Characterization of the optimal culture conditions for clinical scale production of human mesenchymal stem cells. *Stem cells*. 24: 462–471.
- Spaggiari GM, Capobianco A, Abdelrazik H, Becchetti F, Mingari MC, Moretta L, 2008. Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2,3-dioxygenase and prostaglandin E2. *Blood*. 111: 1327–1333.
- Szodoray P, Varoczy L, Szegedi G, Zeher M, 2010. Autologous stem cell transplantation in autoimmune and rheumatic diseases: from the molecular background to clinical applications. *Scand J Rheumatol*. 39(1): 1–11.
- Taipaleenmaki H, Suomi S, Hentunen T, Laitala-Leinonen T, Saamanen AM, 2008. Impact of stromal cell composition on BMP-induced chondrogenic differentiation of mouse bone marrow derived mesenchymal cells. *Exp Cell Res*, 314: 2400–2410.
- Tse WT, Pendleton JD, Beyer WM, Egalka MC, Guinan EC, 2003. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation. *Transplantation*. 75: 389–397.
- Tsuchiya H, Kitoh H, Sugiura F, Ishiguro N, 2003. Chondrogenesis enhanced by overexpression of sox9 gene in mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 301: 338–343.

- Tuan RS, 2004. Biology of developmental and regenerative skeletogenesis. *Clin Orthop Relat Res.* 427: S105–117.
- Tuli R, Tuli S, Nandi S, Huang X, Manner PA, Hozack WJ, Danielson KG, Hall DJ, Tuan RS, 2003. Transforming growth factor- $\beta$ -mediated chondrogenesis of human mesenchymal progenitor cells involves N-cadherin and mitogen-activated protein kinase and Wnt signaling cross-talk. *J Biol Chem*, 278: 41227–41236
- Uccelli A, Pistoia V, Moretta L, 2007. Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression? *Trends Immunol*, 28: 219–226.
- Valcourt U, Gouttenoire J, Moustakas A, Herbage D, Mallein-Gerin F, 2002. Functions of transforming growth factor- $\beta$  family type I receptors and Smad proteins in the hypertrophic maturation and osteoblastic differentiation of chondrocytes. *J Biol Chem* 277: 33545–33558.
- Xian CJ, Foster BK, 2006. Repair of injured articular and growth plate cartilage using mesenchymal stem cells and chondrogenic gene therapy. *Curr Stem cell Res Ther.* 1(2): 213–29.
- Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, Benvenuto F, Bonanni I, Gerdoni E, Giunti D, Ceravolo A, Cazzanti F, Frassoni F, Mancardi G, Uccelli A, 2005. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. *Blood* 106: 1755–1761
- Zhou S, Eid K, Glowacki J, 2004. Cooperation between TGF- $\beta$  and Wnt pathways during chondrocyte and adipocyte differentiation of human marrow stromal cells. *J Bone Miner Res*, 19: 463–470.



- Tuan RS, 2004. Biology of developmental and regenerative skeletogenesis. *Clin Orthop Relat Res*, 427: S105–117.
- Tuli R, Tuli S, Nandi S, Huang X, Manner PA, Hozack WJ, Danielson KG, Hall DJ, Tuan RS, 2003. Transforming growth factor- $\beta$ -mediated chondrogenesis of human mesenchymal progenitor cells involves N-cadherin and mitogen-activated protein kinase and Wnt signaling cross-talk. *J Biol Chem*, 278: 41227–41236.
- Uccelli A, Pistoia V, Moretta L, 2007. Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression? *Trends Immunol*, 28: 219–226.
- Valcourt U, Gouttenoire J, Moustakas A, Herbage D, Mallein-Gerin F, 2002. Functions of transforming growth factor- $\beta$  family type I receptors and Smad proteins in the hypertrophic maturation and osteoblastic differentiation of chondrocytes. *J Biol Chem* 277: 33545–33558.
- Xian CJ, Foster BK, 2006. Repair of injured articular and growth plate cartilage using mesenchymal stem cells and chondrogenic gene therapy. *Curr Stem cell Res Ther*. 1(2): 213–29.
- Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, Benvenuto F, Bonanni I, Gerdoni E, Giunti D, Ceravolo A, Cazzanti F, Frassoni F, Mancardi G, Uccelli A, 2005. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. *Blood* 106: 1755–1761.
- Zhou S, Eid K, Glowacki J, 2004. Cooperation between TGF- $\beta$  and Wnt pathways during chondrocyte and adipocyte differentiation of human marrow stromal cells. *J Bone Miner Res*, 19: 463–470.