

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infark miokard (MI) adalah bentuk penyakit jantung koroner (PJK) yang menjadi salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia. Pada tahun 2017, PJK mempengaruhi 126,5 juta orang di seluruh dunia dengan 10,6 juta insiden baru, dan berkontribusi pada 8,9 juta kematian, 5,3 juta tahun hidup dengan kecacatan, serta 165 juta tahun umur yang hilang (Dai *et al.*, 2022). Penyakit kardiovaskular menyumbang 37% kematian dari 260 juta orang di Indonesia, dengan PJK sebagai penyebab kematian kedua pada tahun 2012, mewakili 9% kematian (138.400 orang) (Chow *et al.*, 2017). Kemajuan terapi dan intervensi medis dan/atau bedah yang ada saat ini dapat menurunkan angka kematian akibat MI dan meningkatkan angka penyelamatan jaringan sehat yang tersisa pada jantung, namun belum mampu meregenerasi jaringan yang rusak (Braunwald *et al.*, 2019; Thygesen *et al.*, 2019).

Miokardium, seperti organ parenkim lainnya, mengandung sel punca endogen dengan kemampuan untuk berproliferasi dan meregenerasi kardiomyosit yang mati karena apoptosis atau nekrosis, sehingga diakui sebagai organ yang memperbaharui diri (Priori, 2001). Namun, kapasitas regeneratif jantung manusia terbatas dan kurang memadai untuk mengatasi kehilangan besar-besaran kardiomyosit saat terjadi kerusakan akut atau remodeling berkepanjangan, di mana kematian kardiomyosit melebihi regenerasi kardiomyosit (Bergmann *et al.*, 2015).

Berdasarkan pemahaman terbaru tentang kapasitas regeneratif jantung dan sistem vaskular manusia, penelitian dalam strategi diagnostik dan terapeutik potensial untuk memulihkan fungsi jantung menunjukkan kemajuan yang cukup

besar dan terbukti efektif pada primate (Fernández-Avilés *et al.*, 2017). Beberapa jenis sel punca, progenitor dan stroma telah diselidiki, termasuk sel punca pluripoten, seperti sel punca embrionik (ESC), sel punca pluripoten yang diinduksi (iPSC), sel punca dewasa meliputi sel yang berasal dari jantung (*cardiac progenitor cell* [CPC] dan *cardiosphere-derived cell* [CDC]), dan sel dari sumber lain seperti *endogenous progenitor cell* (EPC), sel progenitor adventisia, sel punca mononuklear turunan sumsum tulang (BM-MNC), sel punca mesenkim turunan sumsum tulang (BM-MS), sel punca mesenkimal turunan jaringan adiposa (AD-MS) (Madonna *et al.*, 2016).

Diantara berbagai jenis sel punca, sel *dedifferentiated fat* (DFAT) telah menjadi sumber sel yang menjanjikan dalam terapi sel punca. Sel DFAT dapat diperoleh dengan mudah tanpa kendala etik melalui proses dediferensiasi adiposit dewasa menggunakan metode *ceiling culture* atau *insert culture* (Sativa *et al.*, 2021; Dharmadjati, Sargowo, Aulanniam, *et al.*, 2022). Penelitian terdahulu melaporkan bahwa DFAT mengekspresikan penanda sel punca embrionik dan memiliki potensi diferensiasi *multilineage* dengan imunogenisitas rendah atau bahkan aktivitas immunosupresif (Matsumoto *et al.*, 2008; Jumabay *et al.*, 2014; Murata *et al.*, 2016). Kemampuan sel DFAT untuk berdiferensiasi menjadi *cardiomyocyte-like cells* secara *in-vitro* dan *in-vivo*, serta memicu neovaskularisasi telah terbukti pada model tikus dengan MI (Jumabay *et al.*, 2009).

Kuantitas, kualitas, kemampuan proliferasi dan potensi diferensiasi sel yang berasal dari jaringan adiposa (AD-MS dan DFAT) dapat bervariasi tergantung pada beberapa hal yang mempengaruhi kualitas jaringan adiposa itu sendiri meliputi jenis kelamin, usia, komorbid, regio tubuh sumber donor, dan teknik

ekstraksi jaringan adiposa (Dzhoyashvili *et al.*, 2014; Iyyanki *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2017; Varghese *et al.*, 2017). Terkait usia, hasil penelitian melaporkan bahwa ekspresi penanda permukaan sel mesenkimal seperti CD34, CD45, CD90, CD 105 dan kemampuan proliferasi AD-MSC menurun sesuai dengan bertambahnya usia donor (Shi *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2017; Putra *et al.*, 2022). Hal ini dapat diartikan bahwa isolasi sel DFAT sebaiknya dilakukan pada saat donor berusia lebih muda dan sehat, kemudian dilakukan kriopreservasi agar dapat digunakan pada penelitian atau bahkan aplikasi terapi regeneratif di masa mendatang.

Kriopreservasi dan prosedur pencairan termasuk dalam tahapan utama dalam pembuatan, uji klinis dan aplikasi beragam terapi sel punca. Kriopreservasi memungkinkan penyimpanan jangka panjang yang aman dan stabil untuk isolat jaringan primer dan preparat sel punca hingga tiba waktunya untuk diterapkan ke pasien (Meneghel, Kilbride and Morris, 2020). Namun, kriopreservasi jangka panjang terhadap AD-MSC juga dapat mengakibatkan beberapa penyulit, yaitu cedera osmotik atau toksik akibat penambahan bahan krioprotektan, syok dingin terkait penurunan suhu sel, cedera pembekuan akibat formasi es intra- dan ekstra-seluler, dan *thawing injury* terkait peningkatan suhu sel ke suhu ruangan (Shaik and Devireddy, 2018). Data terdahulu melaporkan cedera tersebut dapat mengakibatkan perubahan morfologi, karakteristik (penanda permukaan sel), faktor transkripsi dan aktivitas metabolisme (kemampuan proliferasi dan potensi diferensiasi), fungsi imunomodulasi, dan kematian (apoptosis) AD-MSC (Iwatani *et al.*, 2006; Gonda *et al.*, 2008; Dariolli *et al.*, 2013; F. S. Shah *et al.*, 2016; Lee, Cho and Cha, 2016; Shaik *et al.*, 2018; Kim *et al.*, 2020).

Untuk keamanan produk sel dan kemanjuran yang optimal dalam uji klinis serta penerapan terapi sel punca di masa mendatang, sangat penting bahwa sumber sel punca harus menunjukkan fungsionalitas penuh setelah kriopreservasi jangka panjang (Tang *et al.*, 2018). Hingga saat ini, belum diketahui apakah DFAT pasca kriopreservasi memiliki karakteristik, kemampuan proliferasi dan potensi differensiasi kardiogenik yang sama dengan isolat segar DFAT. Sehingga, penting untuk melakukan komparasi antara DFAT pasca kriopreservasi dan isolat segar, serta perbedaan hasil diferensiasinya dalam medium pengarah kardiomyosit sebagai salah satu faktor penentu keberhasilan terapi sel punca yang lebih optimal, khususnya sel DFAT sebagai sumber *cardiomyocyte like cells*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat perbedaan karakteristik penanda mesenkimal antara sel DFAT isolat segar dan sel DFAT pasca kriopreservasi?
2. Apakah terdapat perbedaan potensi differensiasi kardiomiogenik antara sel DFAT isolat segar dan sel DFAT pasca kriopreservasi?
3. Apakah terdapat perbedaan laju diferensiasi kardiomiogenik antara sel DFAT isolat segar dan sel DFAT pasca kriopreservasi?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui adanya perbedaan karakteristik dan perbedaan potensi diferensiasi menjadi *cardiomyocyte-like cells* antara sel DFAT isolat segar dan sel DFAT pasca kriopreservasi.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Membuktikan adanya perbedaan ekspresi penanda mesenkimal CD34, CD45, CD90 dan CD105 antara sel DFAT isolat segar dan sel DFAT pasca kriopreservasi.
2. Membuktikan adanya perbedaan ekspresi cTnT setelah induksi diferensiasi kardiomiogenik hari ke-7, ke-14, dan ke-21 antara sel DFAT pasca kriopreservasi.
3. Membuktikan adanya perbedaan laju peningkatan ekspresi cTnT pada hari ke-7 hingga ke-14 dan hari ke-14 hingga ke-21 antara sel DFAT isolat segar dan sel DFAT pasca kriopreservasi.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat akademik

1. Mengembangkan keilmuan tentang potensi sel DFAT sebagai prekursor *cardiomyocyte-like cells* pada terapi berbasis sel punca.
2. Mengembangkan pengetahuan tentang pengaruh kriopreservasi terhadap kuantitas ekspresi penanda sel mesenkimal sel DFAT dan ekspresi cTnT *cardiomyocyte-like cells* yang dihasilkan setelah induksi diferensiasi kardiomiogenik.
3. Mengembangkan keilmuan dalam bidang terapi berbasis sel punca sehingga dapat dijadikan acuan untuk penelitian lebih lanjut.

1.4.2 Manfaat praktis

1. Memberikan pertimbangan penggunaan jaringan adiposa sebagai sumber sel punca dalam bentuk sel DFAT.

2. Memberikan pertimbangan klinis mengenai potensi sel DFAT sebagai precursor sel kardiomyosit pada terapi regeneratif berbasis sel.
3. Memberikan pertimbangan bahwa kriopreservasi menjadi faktor yang berpengaruh terhadap optimalisasi sel DFAT pada terapi regeneratif jantung.