



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
Bab 1	
EKSPLORASI <i>STEM CELL</i> DAN PERTUMBUHAN SEL SECARA UMUM	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

MESENCHYMAL STEM CELL (MSCs)	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

HOMING MESENCHYMAL STEM CELLS (MSCs)	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

KARAKTERISASI FENOTIPE DAN GENOTIPE STEM CELL	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- <i>Mixture</i>	72
Kondisi PCR.....	72
<i>One Step</i> 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 <i>Stem Cell</i> Hematopoetik dari <i>Bone Marrow Stem Cell</i>	79
Alat dan Bahan.....	80
Metode.....	81
Identifikasi Maturasi limfosit	83
a. Imunofluoresense indirek	84
b. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (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
Bab 6	
<i>BONE MARROW STEM CELL: SUMBER & POTENSIAL</i>	
APLIKASI KLINIS.....	93
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
Bab 7	
TERAPI <i>STEM CELL</i> PADA PENYAKIT REUMATIK.....	103
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

Bab 8	
MESENCHYMAL STEM CELL (MSCs) DAN APLIKASINYA PADA REKAYASA JARINGAN TENDON	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
Bab 9	
STEM CELL DAN REGENERASI OTAK	139
Pendahuluan	139
Neurogenesis.....	139
Aplikasi <i>Stem Cell</i> pada Neurogenesis.....	141
Pendekatan Eksogen.....	142
Pendekatan Endogen.....	142
Simpulan.....	143
Bibliografi	143
Bab 10	
TRANSPLANTASI STEM CELL SUMSUM TULANG UNTUK PERBAIKAN FOLIKULOGENESIS PADA MENCIT MODEL KEGAGALAN OVARIUM DENGAN PEMBERIAN KEMOTERAPI	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

BONE MARROW MESENCHYMAL STEM CELL (MSCs) UNTUK REGENERASI OTOT JANTUNG (HEARTH INFARCTION)	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 Imunologi MSC	167
Daftar Pustaka	169

Bab 12

POTENSIAL APLIKASI STEM CELL PADA PASIEN PERIPHERAL ARTERIAL DISEASE	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

PERSPEKTIF STEM CELL DALAM KEDOKTERAN GIGI	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

Bab 14	
POTENSI REGULASI HOMEOSTASIS SEL PUNCA FOLIKEL RAMBUT PADA APLIKASI KLINIS DI BIDANG DERMATOLOGI.....	193
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
Bab 15	
ALLOTRANSPLANTASI MESENCHYMAL STEM CELL (MSCs) PADA FIBROSIS GINJAL	209
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
Bab 16	
REKAYASA TULANG RAWAN SENDI (CARTILAGE TISSUE ENGINEERING)	223
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

BONE MARROW STEM CELL: SUMBER & POTENSIAL APLIKASI KLINIS

Ferdiansyah

Instalasi Pusat Biomaterial–Bank Jaringan, Departemen Orthopaedi & Traumatologi
RSU Dr. Soetomo–FK UNAIR Surabaya

PENDAHULUAN

Antusiasme dan kontroversi seputar riset *stem cell* dimulai oleh dua terobosan penting di bidang ilmu kedokteran, yaitu; keberhasilan melakukan cloning pada domba (Dolly) yang dilakukan oleh Ian Wilmut dan kawan-kawan pada tahun 1997, dan keberhasilan membuat turunan *stem cell embryo* (*Embryonic stem cell lines*) oleh James Thomson pada tahun 1998. Tanpa keraguan lagi teknologi ini membuka peluang terobosan baru untuk rekayasa jaringan (*tissue engineering*) dan transplantasi organ. Kemampuan untuk meremajakan kembali atau bahkan menggantikan organ dan jaringan tubuh manusia yang rusak telah lama menjadi impian umat manusia. *Stem cell* telah menunjukkan potensinya untuk membentuk semua jenis sel dan jaringan pada tubuh manusia. Penelitian-penelitian yang telah dilakukan dewasa ini dengan menggunakan *stem cell* dewasa maupun embrio, memberikan harapan untuk mengatasi keterbatasan yang dialami selama ini dalam menggantikan organ atau jaringan tubuh yang rusak.

STEM CELL

Semua bentuk kehidupan berawal dari *stem cell* yang didefinisikan sebagai sel yang mempunyai kemampuan membelah asimetri (*asymmetric division*), yaitu bisa memperbaharui dirinya sendiri (*self renewal*) dan menghasilkan sel awal (*progenitor*) dan berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel. *Stem cell* dapat diisolasi dari berbagai jenis organ dan jaringan tubuh dan dapat ditumbuhkan pada cawan petri, pada lingkungan ini kemampuan untuk memperbaharui dirinya sendiri (*self*

renewal), bisa dimanipulasi dan dipertahankan selama beberapa minggu, bulan bahkan tahun, menghasilkan amplikasi sel yang besar sehingga jumlah *stem cell* menjadi sangat banyak. Jumlah sel yang banyak ini akan sangat berguna untuk terapi sel dan rekayasa jaringan (*tissue engineering*). Di dalam tubuh pembelahan *stem cell* sangat jarang terjadi, tetap pada kondisi tidak aktif dan *dormant* dalam waktu yang panjang sampai mereka mendapat sinyal yang sesuai untuk mulai dan akhirnya berhenti membelah. Kontrol yang ketat pada proses *self renewal in vivo* dibutuhkan untuk memastikan *stem cell* tidak membelah tanpa kontrol, yang akan mengakibatkan pertumbuhan berlebihan dan menjadi kanker. Karena alasan tersebut *stem cell* di dalam jaringan atau organ jumlahnya sangat sedikit.

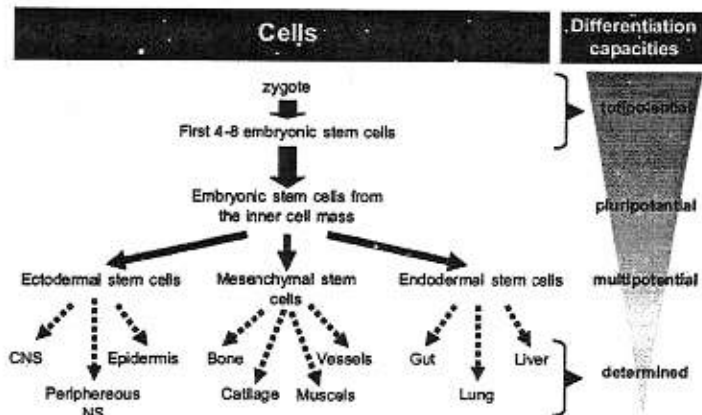
Sifat penting lain adalah potensi *stem cell*, plastisitas (diferensiasi) untuk menjadi berbagai jenis sel. Terdapat 3 sifat dasar potensi plastisitas atau diferensiasi *stem cell*.

- Totipoten, bisa membentuk semua jenis sel yang berkontribusi untuk membentuk organisme. Sifat ini hanya dimiliki oleh sel telur yang telah mengalami fertilisasi atau zigot.
- Pluripoten, bisa membentuk hampir semua jenis sel organisme termasuk sel germinal tetapi tidak dapat membentuk jaringan plasenta. Sifat ini dimiliki oleh sel embrio dan sel germinal.
- Multipoten, bisa membentuk hampir semua sel pada jaringan tertentu (mesodermal, endodermal, ektodermal). Sifat ini dimiliki oleh *stem cell* dewasa.

Potensi *stem cell* sangat dipengaruhi oleh faktor genetik dari sel, apakah mengandung gen yang sesuai atau gen yang telah teraktivasi dan diprogram untuk menjadi sel tertentu atau beberapa sel. Lingkungan tempat *stem cell* berada juga sangat berpengaruh. Sebagai contoh perubahan faktor pertumbuhan lokal, sitokin, hormon, kontak sel dengan sel, sel dengan matrik sangat penting pada *switching "on" and "off" gen* dan *gene pathway* bahkan *reprogramming gene pathway*, selanjutnya mengubah tipe sel yang terjadi. Klasifikasi potensi *stem cell* di atas tidak kaku, saat ini telah dapat dibuktikan perbedaan antara pluripoten dan multipoten menjadi tidak jelas, beberapa sel mempunyai potensi yang lebih besar daripada yang diperkirakan sebelumnya. Apoptosis atau *programmed cell death* juga merupakan bagian yang integral pada proliferasi dan diferensiasi sel.

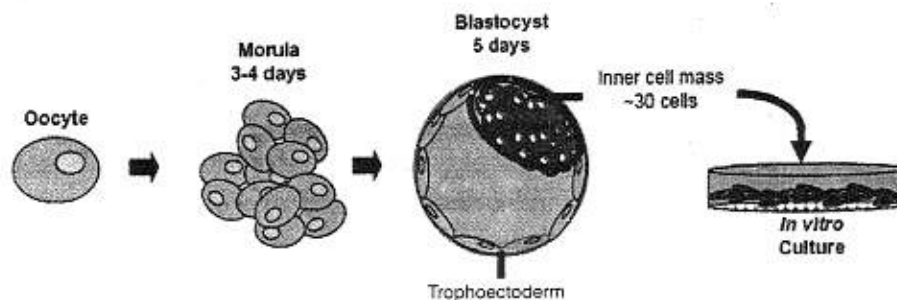
Secara umum *stem cell* dikelompokkan dalam 2 tipe, yaitu *stem cell embryo (embryonic stem cell/ESC)* dan *stem cell dewasa (adult stem cell/ASC)*.

Stem cell embryo didapat dari massa bagian dalam sel blastosit sebelum implantasi. Manipulasi pada *stem cell embryo* terbatas hanya sampai 14 hari pertama, karena setelah itu embrio memulai pertumbuhan spesifik untuk



Gambar 6.1 Kemampuan diferensiasi setiap stem cell

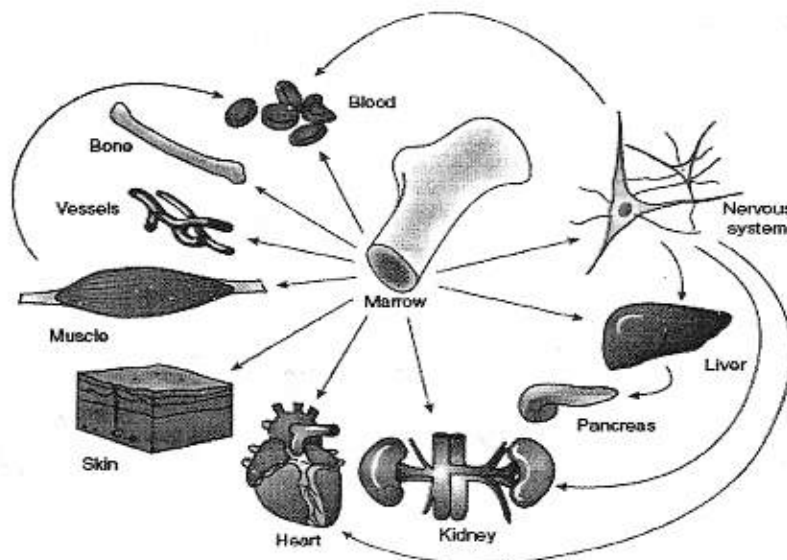
membentuk organ (*organogenesis*). *Stem cell embryo* biasanya diisolasi sebelum atau pada hari ke 5 yang secara keseluruhan embrio mengandung beberapa ratus sel. Pada penelitian *in vivo* dan *in vitro* menunjukkan *stem cell embryo* dapat membentuk semua jenis sel fetus dan sel dewasa termasuk sel germinal, tetapi tidak mempunyai kemampuan membentuk jaringan plasenta, sifat ini disebut pluripoten. Bila diimplantasikan ke mencit immunodefisiensi, *stem cell embryo* memiliki kemampuan membentuk teratoma (disebut juga *germ cell tumor*), tumor yang memiliki sel-sel endodermal, ektodermal, dan mesodermal. Kemampuan ini menimbulkan konsekuensi serius dalam aplikasi klinis *stem cell*. Di samping itu, banyak negara yang melarang penggunaan *stem cell embryo* karena alasan etika dan hukum. Pengambilan *stem cell embryo* berarti merusak blastosit, yang menurut sudut pandang agama tidak diperbolehkan karena dianggap sudah bernyawa.



Gambar 6.2 Stem cell embryo

Stem cell dewasa terdapat pada seluruh jaringan tubuh. Pada tubuh manusia fungsi utama *stem cell* adalah membelah dan berdiferensiasi untuk memenuhi kebutuhan sel-sel jaringan yang mati sebagai bagian dari proses alam (*life cycle*), atau memperbaiki kerusakan sel. Sel-sel organ dan jaringan seperti darah, kulit, hati, usus, dan tulang digantikan secara konstan sepanjang beberapa dekade kehidupan seorang manusia, hal ini menunjukkan kemampuan *stem cell* dewasa dalam proses *self renewal*. *Stem cell* dewasa mempunyai potensi lebih kecil daripada *stem cell embryo* sehingga potensinya dalam membentuk teratoma juga lebih kecil, di samping itu tidak menimbulkan kontroversi etik dan agama seperti *stem cell embryo*. Di dalam tubuh *stem cell* dewasa bisa berdiferensiasi menjadi sekelompok sel tertentu yang berhubungan dengan lokasi sel tersebut berada, sifat ini disebut multipoten. Namun, penelitian membuktikan bahwa *stem cell* dewasa juga ada yang mempunyai sifat pluripoten.

Stem cell dewasa terdapat pada seluruh jaringan tubuh, tetapi tidak semua tempat dapat diambil karena bisa menimbulkan morbiditas pada donor. *Stem cell* otak, hati, jantung, dan beberapa organ lain tidak mungkin dapat diambil tanpa menimbulkan morbiditas pada donor. Saat ini sumber *stem cell* yang paling sering digunakan adalah yang berasal dari *bone marrow*, jaringan lemak, darah umbilikus, dan yang paling akhir adalah dari plasenta. Jumlah *stem cell* di jaringan tubuh sangat sedikit, pada aspirasi *bone marrow* dengan teknik yang benar setiap 1 milimeter terdapat 40 juta sel dan hanya terdapat 2000 *stem cell*



Gambar 6.3 Potensi diferensiasi *stem cell* dewasa yang berasal dari *bone marrow*

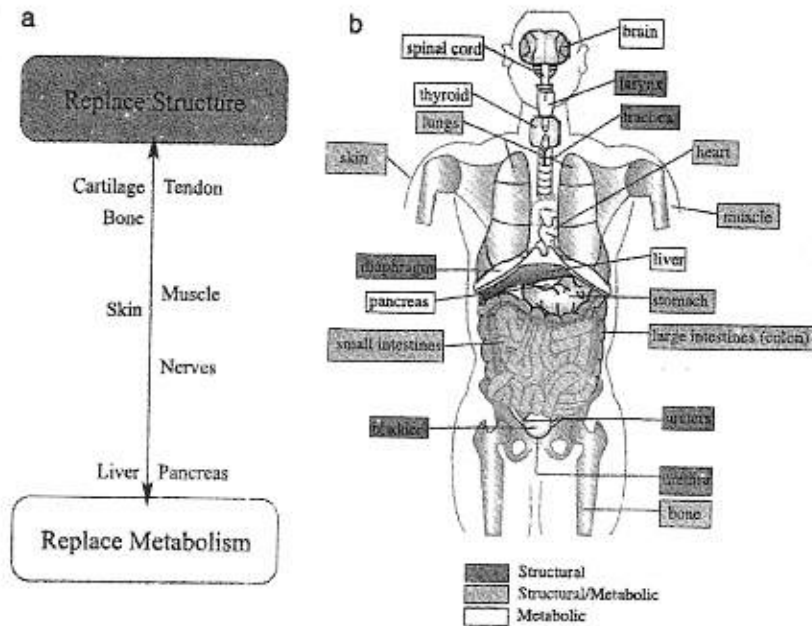
(1 *stem cell* per 20.000 sel). Pada lemak dan otot jumlah selnya jauh lebih sedikit (6 juta sel per 1 cm³ jaringan), tetapi *stem cell* yang didapatkan sedikit lebih tinggi dari pada *bone marrow*.

POTENSI APLIKASI KLINIS STEM CELL

Regenerative medicine dan *tissue engineering* (rekayasa jaringan) saat ini telah mulai diterapkan pada semua bidang spesialisasi. Per definisi terdapat sedikit perbedaan antara Amerika dan Eropa. Definisi menurut *The European Commission (Scientific Committee on Medical Products and Medical Devices; SCMPMD)*; *Tissue engineering is the regeneration on biological tissue through the use of cells, with the aid of supporting structures and/or biomolecules*, sedangkan menurut *The US National Science Foundation*; *Tissue engineering/regenerative medicine is the application of the principles and method of engineering and the life sciences towards the fundamentals understanding of structure/function relationship in normal and pathological mammalian tissues and the development of biological substitutes to restore, maintain or improve function*.

Penyembuhan pada kerusakan organ dan jaringan bisa berbentuk regenerasi atau perbaikan (*repair*). Regenerasi merupakan tujuan utama pada terapi dengan *stem cell*. Perbaikan (*repair*) biasanya berlangsung dengan cepat dan dibutuhkan untuk mempertahankan hidup (*survival*) individu tetapi fungsinya organ atau jaringan tidak harus optimal. Perbaikan (*repair*) akan menghasilkan jaringan ikat (*scar*) yang mengisi atau menggantikan bagian organ atau jaringan yang rusak. Regenerasi merupakan proses yang berlangsung lebih lambat, dengan hasil integritas organ atau jaringan serta fungsinya kembali normal. Hal ini terjadi karena sel dan jaringan yang terbentuk untuk mengisi bagian organ atau jaringan yang rusak sama seperti sel atau jaringan aslinya.

Tergantung pada jenis organ atau jaringan yang diinginkan, proses regenerasi bisa ditujukan untuk tiga tujuan. Pertama, pada organ seperti otak, kelenjar tiroid, medulla spinalis, hati, pancreas dan beberapa organ lainnya tujuan utama terapi *stem cell* adalah untuk menggantikan fungsi metabolisme dari sel-sel yang rusak. Untuk bisa menggantikan fungsi tersebut maka *stem cell* harus di diferensiasikan menjadi sel organ yang diinginkan. Kedua, mengganti fungsi metabolisme dan juga struktur. Organ dan jaringan yang mempunyai kedua fungsi ini adalah otot, jantung, kulit, tulang, paru-paru dan usus. Untuk mendapatkan keduanya selain mendiferensiasikan *stem cell* menjadi sel yang diinginkan, maka *stem cell* harus menghasilkan matriks ekstraselular sesuai dengan fungsi organ atau jaringan tersebut. Ketiga, pada laring, trakea, diafragma, ureter, uretra dan kandung kemih yang utama dibutuhkan adalah fungsi organ atau jaringan sebagai struktur.



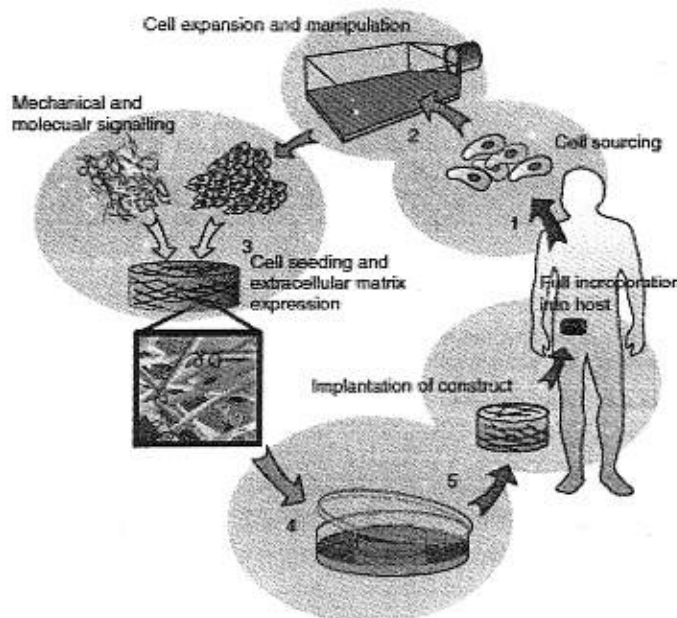
Gambar 6.4 Pendekatan pada *regenerative medicine* dan *tissue engineering* menurut organ atau jaringan yang dituju.

Sebelum digunakan *stem cell* harus dilakukan validasi terlebih dahulu. Validasi meliputi potensi (*plasticity*) yang menunjukkan kemampuan *stem cell* untuk berdiferensiasi, kemurnian (*purity*) untuk membuktikan bahwa sel tersebut adalah benar *stem cell* dan kontaminasi baik oleh jamur (paling banyak) atau mikroorganisme lain.

Terapi dengan menggunakan *stem cell* dikelompokkan menjadi dua yaitu; pertama dengan hanya menggunakan *stem cell* untuk terapi (*cell based therapy*). Cara ini terutama digunakan terutama untuk mengembalikan fungsi organ atau jaringan yang mengalami kerusakan, tanpa atau minimal mengalami kerusakan anatomi seperti pada penyakit jantung koroner, diabetes melitus, stroke, Parkinson, dan lain-lain. Pemberian *stem cell* bisa dilakukan melalui pembuluh darah atau injeksi langsung pada organ atau jaringan yang dituju. Kedua, menggunakan komposit *stem cell* dengan biomaterial/*scaffold* (*tissue engineering*). Penggunaan biomaterial untuk rekonstruksi kerusakan anatomis organ atau jaringan telah lama dilakukan dengan angka keberhasilan yang tinggi, tetapi biomaterial tidak dapat mengembalikan fungsi metabolik dari sel organ dan jaringan yang digantikannya dan dalam jangka waktu yang lama penggunaan biomaterial ini mempunyai kelemahan, yaitu keausan (*wear*) karena pada dasarnya biomaterial adalah

benda mati, tidak dapat inkorporasi sempurna dengan tubuh sehingga tidak mempunyai kemampuan memperbaiki dirinya sendiri (*homeostasis*). Rekayasa jaringan ditujukan untuk mengatasi hal ini. Pada rekayasa jaringan dilakukan penanaman (*seeding*) *stem cell* ke dalam biomaterial/*scaffold* kemudian komposit ini diimplantasikan pada organ atau jaringan yang mengalami kerusakan. Di samping dapat melakukan rekonstruksi, *stem cell* dapat berdiferensiasi untuk menggantikan sel-sel organ atau jaringan tersebut sehingga hasil akhirnya adalah regenerasi organ dan sel.

- Terdapat beberapa jenis pemrosesan *stem cell* sebelum diaplikasikan.
- Sel mononuklear, sel ini bisa diambil dari *bone marrow*, darah tepi atau dari darah umbilikus. Pada kondisi ini tentu saja jumlah *stem cell* yang ada sangat sedikit, seperti yang telah diuraikan di atas. Contoh penggunaan sel mononuklear adalah untuk terapi pada penyakit jantung koroner dan luka bakar
- Stem cell*, setelah diambil dari sumbernya, *stem cell* dengan teknik tertentu diproliferasikan sampai mendapatkan jumlah sesuai dengan yang dibutuhkan. Diharapkan setelah diaplikasikan pada organ dan jaringan yang rusak, maka *stem cell* akan berdiferensiasi *in vivo* sesuai dengan target organ atau jaringan tersebut.



Gambar 6.5 Konsep rekayasa jaringan (*tissue engineering*), dengan menggunakan komposit *stem cell* dan scaffold

- d. *Stem cell* yang telah berdiferensiasi, pada kondisi ini *stem cell* yang telah diambil, terlebih dahulu diproliferasi, kemudian dilakukan diferensiasi *in vitro* untuk mendapatkan jenis sel yang diinginkan. Teknik membutuhkan waktu relatif lama, mahal, dan kemungkinan untuk kontaminasi cukup besar.

ASPIRASI BONE MARROW

Persiapan

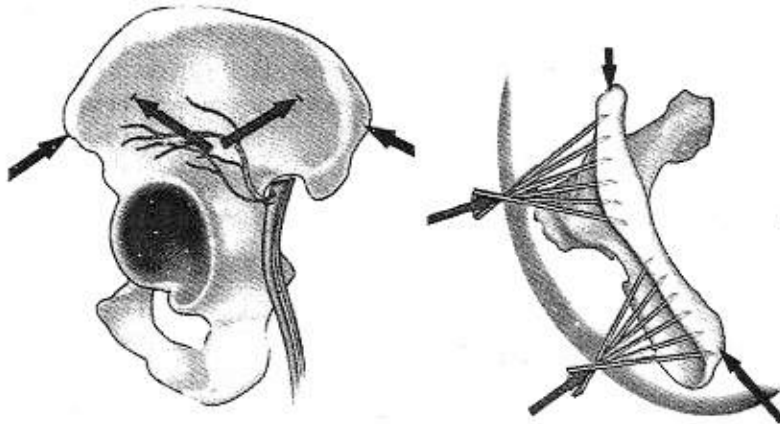
1. S spuit aspirasi
2. Kasa steril
3. Betadin
4. Lidokain 2%
5. EDTA atau heparin
6. Linen steril berlubang

Teknik Aspirasi

Bone marrow dapat diambil dengan aspirasi pada krista anterior atau posterior tulang pelvis dengan dua teknik:

Teknik pertama

1. Pasien bisa diposisikan telentang, miring, atau tengkurap, semuanya dapat memberikan akses untuk aspirasi.
2. Pada posisi miring, dengan terlebih dahulu diberikan infiltrasi anestesi lokal menggunakan lidokain, kemudian didisinfeksi dan dilakukan insisi 2 mm pada tempat yang diberi tanda panah merah pada Gambar 6.6.
3. S spuit diisi terlebih dahulu dengan heparin sebanyak 1cc, kemudian jarum aspirasi dimasukkan secara tumpul sampai permukaan tulang ilium, untuk menghindari risiko mencederai arteri dan nervus gluteus.
4. Setelah jarum menembus korteks tulang dan masuk ke dalam medulla, jarum dimasukkan lebih kurang 5 mm dan dilakukan aspirasi, tusukan jarum dapat diulang 2-3 pada arah yang berbeda pada lubang kortek tulang. Aspirasi dilakukan sampai mendapat darah sebanyak 5 cc.
5. Alternatif lain adalah aspirasi pada daerah krista iliaka anterior dan posterior, jarum aspirasi dimasukkan 6-8 mm pada daerah tulang kancellous *iliac wing*. Jarum aspirasi dapat diubah arahnya pada lubang yang sama (panah hitam).



Gambar 6.6 Teknik dan tempat pengambilan *bone marrow*

Teknik ke dua (*parallel technique*)

1. Aspirasi dapat dilakukan baik pada spina iliaka anterior maupun spina iliaka posterior.
2. Jarum aspirasi disuntikkan pada satu tempat, kemudian dilakukan aspirasi multipel pada beberapa tempat dengan memasukkan jarum aspirasi sedalam 5–10 mm di antara atau paralel dengan kortek luar dan dalam tulang (panah merah).
3. Alternatif lain adalah aspirasi pada daerah krista iliaka anterior dan posterior, jarum aspirasi dimasukkan 6–8 mm pada daerah tulang kancellous *iliac wing*. Jarum aspirasi dapat diubah arahnya pada lubang yang sama (panah hitam) (Gambar 6.6).

ASPIRASI BONE MARROW PADA KELINCI

Persiapan

1. Spuit 10 cc dengan jarum 16G
2. Betadin
3. Kasa steril
4. Linen berlubang steril
5. Ketamin
6. Xylazin
7. EDTA atau Heparin
8. Linen steril berlubang

102 Teknik Aspirasi

1. Kelinci dibius dengan ketamin (50 mg/kg) dan xylazine (6 mg/kg).
2. Dilakukan pencukuran pada daerah trokanter femur tungkai belakang
3. Tempat yang akan diambil didisinfeksi
4. Spuit diisi dengan heparin sebanyak 1 cc
5. Jarum dimasukkan ke arah medulla tulang femur melalui trokanter mayor, kemudian aspirasi *bone marrow* sebanyak 4 cc.

BIBLIOGRAFI

- Barrilleaux B, Phinney DG, Prockop DJ, *et al* (2006). Review: Ex Vivo Engineering of Living Tissues with Adult *Stem cells*. *Tissue Eng*, 12(11); 3007–3019.
- Bongso A, Hin LE, 2005. *Stem cells: Their Definition, Classification and Sources*. In *Stem cells From Bench to Bedside*. World Scientific Publishing Co. Pte.Ltd, Singapore: 1–13.
- Caplan AI, 2007. *Fundamental of Stem cells Tissue Engineering*. In *Tissue engineering* (Edited by Fisher JP, Mikos AG, Bronzino JD). CRC Press, Boca Raton: 1–1, 1–9.
- Chen FH, Song Li, Mauck RI, Li WJ, *et al* (2007). *Mesenchymal Stem cells*. In *Principles of Tissue Engineering*. 3rd Edition. (Edited by Lanza R, Langer R, Vacanti J). Elsevier Academic Press, London: 823–843
- Muschler GE, Nakamoto C, Griffith LG. 2004. Engineering Principles of Clinical Cell-Based Tissue Engineering. *J.Bone Joint Surg*; Vol. 86-A(7): 1542–1558.
- Vacanti J, Vacanti CA (2007). The History and Scope of Tissue Engineering. In *Principles of Tissue Engineering*. 3rd Edition. (Edited by Lanza R, Langer R, Vacanti J). Elsevier Academic Press, London: 3–6

STEM CELL REGENERATION, HEMATOPOIESIS, DAN MUCI APLIKASI