
PROFESOR HADYANTO LIM

**Revolusi Sel Punca
Kedokteran Kardiovaskuler**



PT. SOFMEDIA



PT. SOFMEDIA

Hak Cipta dilindungi undang-undang. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun, baik secara elektronik maupun mekanik, termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan menggunakan sistem penyimpanan lainnya, tanpa izin tertulis dari penerbit.

UNDANG-UNDANG NOMOR 19 TAHUN 2002 TENTANG HAK CIPTA

1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak menggunakan atau memperbanyak suatu ciptaan atau memberi izin untuk itu, dipidana dengan pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak Rp 5.000.000.000,00 (lima milyar rupiah).
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu ciptaan atau barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak Terkait sebagaimana dimaksud pada ayat (1), dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp 500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

SM. MD. 99.17.2010

Prof. Dr. dr. Hadyanto Lim, M.Kes, Sp.FK, FESC, FIBA
Revolusi Sel Punca Kedokteran Kardiovaskuler

Diterbitkan & dicetak oleh P.T. SOFMEDIA - Jakarta
E-mail: sofmedia@hotmail.com

Copyright: 2010 oleh PT. Sofmedia

ISBN: 978-979-18634-4-5

KATA PENGANTAR

Buku ini ditulis untuk menyampaikan perkembangan penelitian sel punca (stem cell) yang amat pesat dalam satu dasawarsa terakhir ini. Revolusi sel punca dalam kedokteran kardiovaskuler diyakini akan mengubah secara dramatis penanganan penyakit jantung, khususnya infark miokard dan gagal jantung. Buku ini ditulis dalam 2 volume. Volume I khusus menguraikan revolusi pergeseran paradigma baru yang memberikan arah dalam penelitian sel punca kedokteran kardiovaskuler, melalui pemahaman biologi sel punca. Selanjutnya volume II lebih ditekankan pada pemaparan hasil penelitian eksperimental pada hewan coba dan pada pasien yang mendapat penyakit kardiovaskuler.

Penemuan paradigma baru mengenai sel punca dihasilkan jantung (cardiac progenitor cells) pada saat terjadi injuri jantung, telah mengubah dogma (konsep yang diyakini) 83 tahun yang lalu, bahwa jantung adalah organ pasca mitotik, tidak dapat beregenerasi, menjadi sebuah magnet penelitian yang dapat mengubah pola konsep dasar biomolekuler jantung dan metode penanganannya.

Sejumlah sitokin dan kemokin dihasilkan di jantung turut berperan menarik sel-sel punca sumsum tulang ke jantung untuk mengadakan reparasi dan regenerasi, agar dapat mempertahankan suatu keseimbangan dalam jantung (homeostasis jantung), saat terjadi sumbatan total pembuluh darah koronaria yang mensuplai otot jantung. Sehingga pasien dapat bertahan hidup (survive) setelah mengalami serangan jantung.

Jika sel punca yang dikerahkan tidak memadai untuk proses reparasi dan regenerasi sel jantung, maka sel otot jantung akan rusak dalam kurun 15-20 menit akibat nekrosis dan apoptosis yang luas dan pasien tidak tertolong. Untuk itu, penyelamatan otot jantung baik melalui pengobatan farmakologik maupun tindakan reperfusi telah memberikan harapan dan kualitas hidup yang lebih baik. Namun, tindakan ini juga tidak dapat menggantikan sel otot jantung yang mati, malah meningkatkan insiden gagal jantung. Karena itu, pemberian sel punca memberikan harapan baru untuk “mengototkan“ jantung, sekaligus meningkatkan fungsi jantung, yang pada gilirannya diharapkan mengurangi angka morbiditas dan mortalitas, melalui pencegahan terjadinya gagal jantung.

Perdebatan dunia kedokteran khususnya kedokteran kardiovaskuler telah menciptakan kontroversi terapi sel punca. Penggunaan sel punca embrio menimbulkan pertentangan dari segi etika, karena mengorbankan sel yang akan mengubah jati diri sebagai seorang manusia jika dibiarkan tetap hidup di dalam rahim! Maka harapan bertumpuk pada penggunaan sel punca dewasa (adult stem cell), dan sel punca yang diinduksi menyerupai sel punca embrio, dikenal sebagai induced pluripotent stem (iPS) cells.

Pemahaman biologi sel punca, telah meletakkan dasar bagi perkembangan dunia pengobatan kardiovaskuler. Karena itu, buku ini ditujukan bagi semua insan kesehatan baik mahasiswa kedokteran, kesehatan, dokter, peneliti, maupun para ilmuwan, dan diharapkan dapat menambah khazanah keilmuan bagi seluruh komunitas ilmiah.

Hadyanto Lim

DAFTAR ISI

1. Revolusi Penelitian Sel Punca pada Penyakit Kardiovaskuler.....	1
2. Jantung Sebagai Organ Mampu Beregenerasi.....	13
3. Plastisitas Sel Punca	28
4. Mobilisasi dan Homing Sel Punca	50
5. Niche Sel Punca (Stem Cell Niche)	59
6. Mekanisme Perbaikan dan Regenerasi Jantung	71
7. Sel Progenitor Endotel dan Regenerasi Kardiovaskuler	82
8. Sel Punca Sumsum Tulang dan Regenerasi Miokard	112
9. Induced Pluripotent Stem Cell dan Penyakit Kardiovaskuler.....	122
Indeks.....	128

REVOLUSI PENELITIAN SEL PUNCA PADA PENYAKIT KARDIOVASKULER

- **PENDAHULUAN**
- **DAYA TAHAN IMPLANT SINTETIK**
- **TEROBOSAN BARU REKAYASA JARINGAN**
- **INFARK MIOKARD DAN KONSEKUENSI PENYAKIT JANTUNG KORONER**
- **BIOLOGI SEL PUNCA KARDIOVASKULER**
- **DAFTAR PUSTAKA**

PENDAHULUAN

Data statistik dari Centers for Disease Control and Prevention's National Center for Health Statistics (CDC/NCHS) yang diperbaharui tahun 2006 menunjukkan bahwa 40% kematian di Amerika Serikat disebabkan oleh penyakit kardiovaskuler, termasuk penyakit jantung koroner, stroke dan hipertensi. Diperkirakan tahun 2003 terdapat 71,3 juta penduduk di negara ini mendapat penyakit kardiovaskuler.¹ Penyakit jantung koroner merupakan kontribusi utama penyebab kematian baik di Amerika maupun di beberapa negara maju.² Di Amerika Serikat, dilaporkan bahwa terdapat kurang lebih 1(satu) juta orang mendapat infark miokard setiap tahun, dengan angka kematian berkisar 25% dalam waktu 3 (tiga)tahun. ³ Saat ini 7,1 juta pasien berhasil diselamatkan dari infark miokard dan 4,9 juta orang hidup dengan gagal jantung kronik (CHF).¹ Meskipun dengan kemajuan pengobatan dan teknologi medis dalam penanganan gagal jantung, insiden, hospitalisasi, dan angka mortalitas terus meningkat. ⁴

Kini kondisi ini juga terjadi di negara berkembang, termasuk Indonesia.⁵ Transisi epidemiologik⁶ ini tidak hanya terjadi antara kategori penyakit yang berbeda, misalnya, kematian akibat diare dan malnutrisi pada masa kanak-kanak menjadi penyakit kronik dewasa, tetapi juga pada kategori penyakit yang spesifik, misalnya, penyakit jantung rematik pada usia muda menjadi penyakit jantung koroner pada usia pertengahan atau kalsifikasi katup, degenerasi, dan gagal jantung pada usia lanjut. ⁵

Laporan WHO tahun 1999 memperkirakan bahwa antara tahun 1990 dan 2020, terjadi peningkatan angka kematian penyakit jantung iskemik (120% pada wanita dan 137% pada laki-laki di negara sedang berkembang dan prevalensi ini lebih besar daripada negara maju (masing-masing 29% dan 48%)⁷, sementara data epidemiologik gagal jantung pada negara maju semakin meningkat.⁸ Antara 1-2% populasi dewasa mendapat gagal jantung, dan 6-10% terjadi pada usia > 65 tahun.^{9,10} Risiko mendapat gagal jantung selama hidup seseorang diperkirakan sebesar 20% pada usia 40 tahun.^{11,12} Survei pada komunitas menunjukkan bahwa kematian akibat gagal jantung pada tahun pertama setelah ditegakkan diagnosis sebesar 30-40% dan 60-70% dalam 5 tahun, sebagian disebabkan semakin buruknya gagal jantung atau kematian mendadak (karena aritmia ventrikel).^{13,14}

Dalam perkembangan transisi epidemiologik penyakit yang terjadi di berbagai belahan dunia, maka saat ini Indonesia menempati tahap perkembangan kedua. Pada tahap ini, frekuensi penyakit infeksi menurun sejalan dengan perbaikan nutrisi, namun penyakit jantung koroner, penyakit jantung hipertensif, dan stroke meningkat.⁵ Status kesehatan dan pergeseran pola penyakit ini berhubungan dengan

kemajuan ekonomi dan tingkat sosial.⁵ Kondisi ini menciptakan suatu tantangan baru dalam penatalaksanaan penyakit, terutama penyakit kardiovaskuler, baik terhadap pengeluaran biaya pengobatan dan harapan hidup.⁴ Karena itu, perubahan usia harapan hidup secara global (dari 46 tahun pada tahun 1950 menjadi 66 tahun pada tahun 1998),⁵ demografi penduduk, pola hidup dan pola penyakit akan menimbulkan tantangan penanganan medis, khususnya pada abad ke 21.

DAYA TAHAN IMPLANT SINTETIK

Salah satu tujuan ilmu kedokteran adalah mengatasi gangguan organ dan hilangnya jaringan tubuh. Pemahaman fungsi organ yang lebih baik dapat menciptakan implant sintetis untuk mengobati penyakit. Kemajuan penggunaan antiseptik, antibiotik dan higiene yang lebih baik, telah berkontribusi terhadap meningkatnya usia harapan hidup manusia, dan hal ini juga menyebabkan kebutuhan akan jaringan pengganti bertambah besar.¹⁵

Penggunaan implant sintetis mempunyai pengaruh sangat besar terhadap peningkatan kualitas hidup. Kualitas hidup berjuta-juta pasien meningkat karena penggunaan prostesis sendi, stentkardiovaskuler dan katup jantung buatan. Namun, dengan meningkatnya usia harapan hidup, daya tahan implant artifisial semakin berkurang. Implant tidak lagi berintegrasi dengan jaringan pengguna karena cenderung mengalami hilangnya fungsi; daya tahan paling lama 15 (lima belas) tahun.^{15, 16} Sementara implant dari materi biologik secara mekanik dapat bertahan lama namun biokompatibilitas tidak memuaskan, terutama respon inflamasi yang mempercepat hilangnya fungsi.¹⁷ Karena itu, sejumlah inovasi dalam merancang alat kedokteran terus berkembang.¹⁸ Modifikasi untuk memperbaiki biokompatibilitas dapat mengganggu karakteristik rekayasa implant. Karena itu, meskipun implant yang diciptakan lebih kokoh, sifat mekanik menjadi suboptimal, sehingga daya tahan implant lebih singkat.¹⁵

Kegagalan implant sintetis dalam menggantikan jaringan yang rusak dan berpenyakit adalah ketidakmampuannya beradaptasi terhadap lingkungan mikro (*microenvironment*) jaringan lokal. Karena itu, langkah selanjutnya adalah mengembangkan implant klinis yang lebih biologis dengan materi bioaktif yang memberikan signal biologik yang sesuai dan dapat memberikan respon regeneratif pada bagian yang rusak secara *in vivo* atau digunakan untuk menumbuhkan jaringan secara *in vitro* pada waktu implantasi. Untuk mencapai tujuan ini, materi yang digunakan harus memiliki sifat meningkatkan adhesi sel dan mengurangi respon inflamasi. Kombinasi materi dengan sel akan mempunyai fungsi biologik

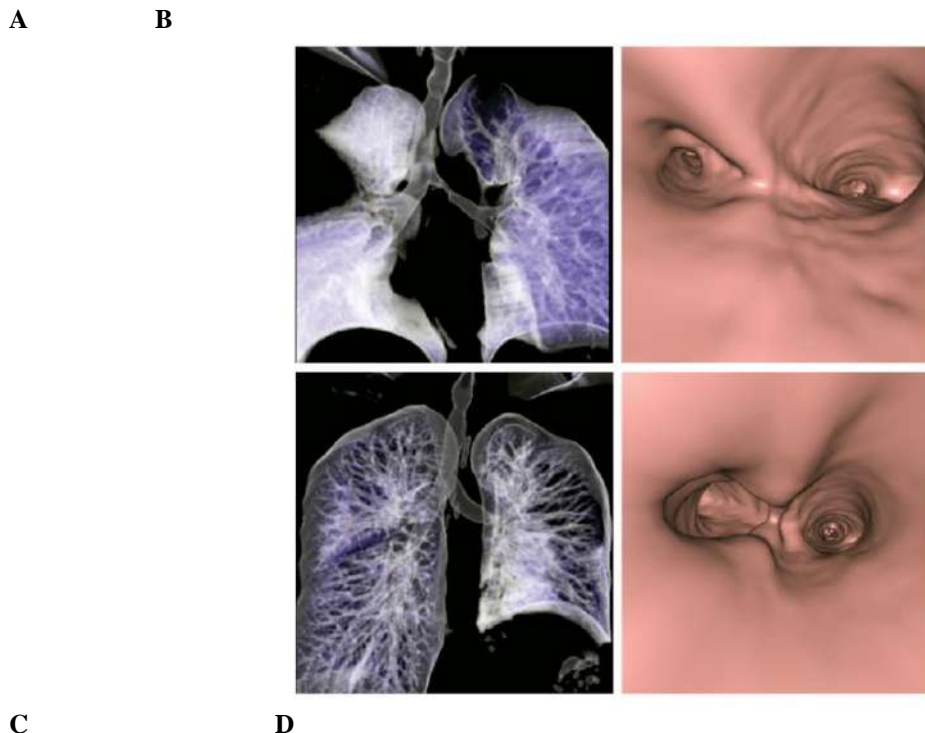
yang baik, yaitu mempunyai kemampuan respon terhadap perubahan lingkungan, dan daya tahan lebih baik. Dalam hal ini, sel punca (*stem cell*) merupakan bagian daripada materi yang diperlukan.

TEROBOSAN BARU REKAYASA JARINGAN

Hasil penelitian yang dimuat di jurnal *The Lancet*, Desember 2008, merupakan inovasi baru perpaduan penggunaan implant dengan sel punca pada seorang pasien wanita Spanyol yang menderita bronkomalacia tahap lanjut (*end-stage bronchomalacia*) pada bronkus cabang utama kiri karena trakeitis pasca tuberkulosis. *Graft* trakea donor yang telah dihilangkan selnya digantikan sel epitel dan sel punca mesenkim resipien, dan dikultur sebelum ditransplantasikan untuk menggantikan bronkus utama kiri. Hasil menunjukkan bahwa jalan nafas kembali normal setelah ditransplantasikan jalan nafas mekanik hasil rekayasa jaringan dari perpaduan sel punca autologus (pasien sendiri) dengan biomateri, dan menormalkan kembali fungsi jalan nafas tanpa risiko rejeksi (Gambar 1).¹⁹ Pasien tidak memerlukan obat immunosupresif karena tidak terbentuk MHC (*major-histocompatibility complex*) antigen. Inovasi yang spektakuler ini akan mengubah metode operasi menggunakan sel punca tanpa menimbulkan rejeksi, karena selama ini operasi yang menggunakan *allograft* (jaringan atau organ pasien lain) atau *xenograft* (dari hewan) selalu menghendaki pasien mengkonsumsi obat immunosupresan seumur hidup.

Inovasi ini tercatat sebagai yang pertama dalam sejarah transplantasi jaringan. Prosedur operasi ini akan menjadi hal yang umum dilakukan dalam 20 (dua puluh) tahun mendatang, kata Prof. Martin Birchall,²⁰ seorang ahli bedah otolaringologi, dari Universitas Bristol, UK, yang memelopori operasi ini bersama tim ahli dari Departemen Bedah Toraks, Rumah Sakit Barcelona, Spanyol. Pada akhirnya, penelitian sel punca, yang sangat menjanjikan, dari hasil penelitian di laboratorium, telah memberikan kemajuan klinis yang amat memuaskan. Saya yakin betul tidak lama lagi kemajuan ini akan merambat ke seluruh bidang ilmu kedokteran, termasuk kedokteran kardiovaskuler, yang paling banyak melakukan riset sel punca.

Penemuan di bidang ophtalmologi adalah transplantasi kornea dengan sel punca limbus. Ketika saya mengikuti the 16th International Society of Cellular Therapy, di Philadelphia, Amerika Serikat, Mei 2010, dalam salah satu topik dibicarakan mengenai rekayasa jaringan (*tissue engineering*) untuk transplantasi kornea. Pasien dengan kerusakan kornea yang menyebabkan buta total atau parsial dapat melihat kembali dengan transplantasi sel punca yang diambil dari bagian limbus kornea sendiri (*autologus*), dikultur dan ditanamkan kembali ke dalam bagian kornea. Hasil rekayasa jaringan kornea dapat menggantikan bagian jaringan kornea yang telah rusak dan tumbuh menjadi kornea baru. Pasien dapat melihat dan menikmati kembali dunia yang indah !



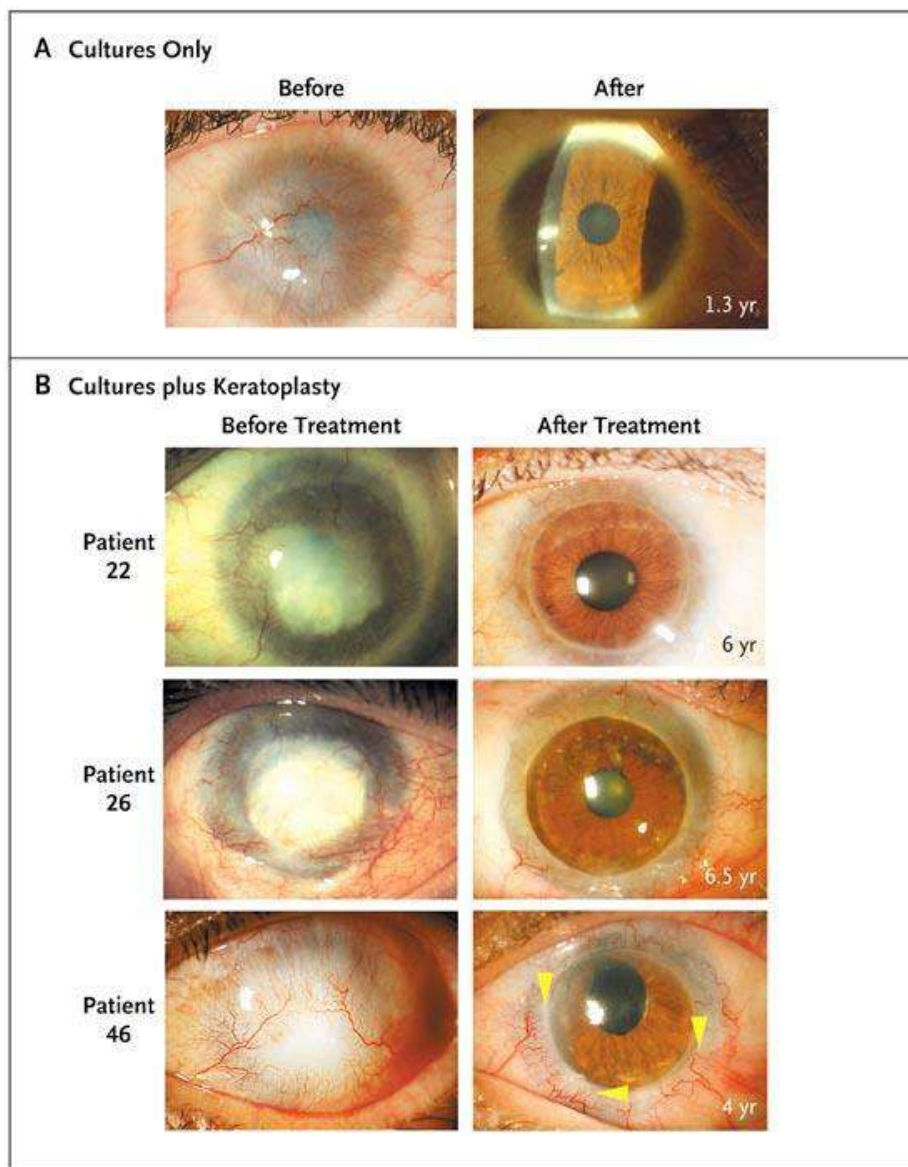
Gambar 1. CT volume-rendering CT (A and C), dan bronkoskopi (B and D) hasil rekonstruksi sebelum (A and B) dan sebulan kemudian (C and D) penyatuan sel trakea rekayasa jaringan untuk menggantikan bronkus utama.

Dikutip dari Macchiarini P. et al. *Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. Lancet* 2008; 372: 2023–30.

Rama et al., dari Unit Oftalmologi San Raffaele Scientific Institute, di Milan, Itali, baru-baru ini melaporkan di *New England Journal of Medicine*, Juli 2010, atas keberhasilan penyembuhan dengan pergantian epitel kornea secara permanen mencapai 76,6% dari 112 pasien dengan kerusakan kornea akibat luka bakar oleh zat kimiawi, dan telah gagal menjalani operasi kornea (*keratoplasty*) berulang (Gambar 2).²¹ Keberhasilan ini terjadi dengan menggunakan sumber sel dari hasil kultur sel punca limbus yang mengandung lebih dari 3(tiga)% dari jumlah total sel klonogenik yang ditransplantasikan, yaitu *p63-bright cell* (Gambar 3A).²¹ Penggunaan sel ini ternyata memberikan keberhasilan

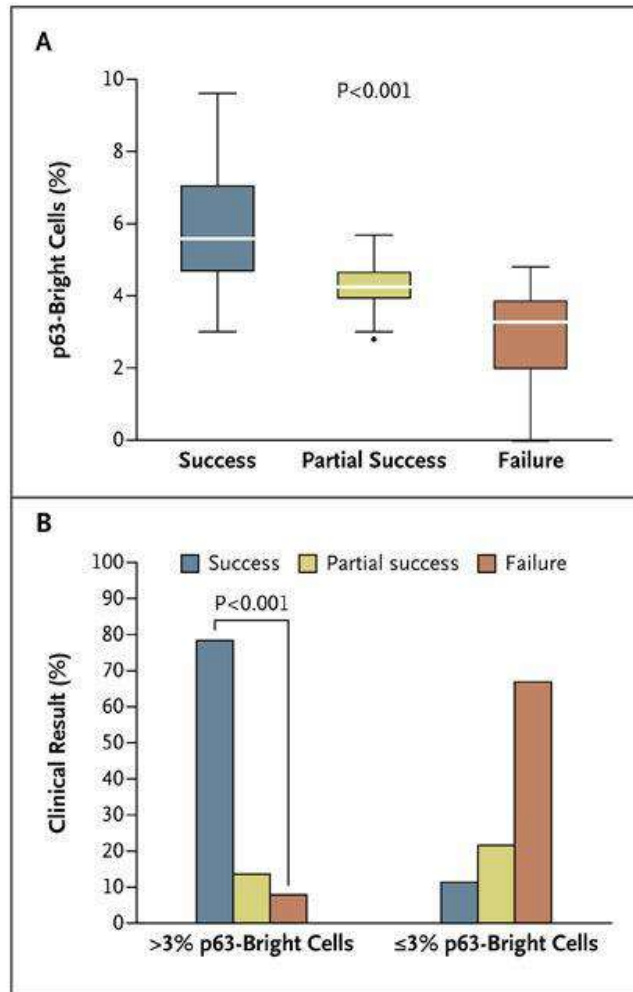
transplantasisebanyak 78% pasien (Gambar 3B).²¹ Keluhan rasa terbakar, nyeri dan fotofobia selama ini hilang pada semua pasien dengan pemulihan tajam penglihatan 0,6-1,0.

Ternyata Tuhan telah memperlengkapi organ tubuh manusia dengan sejumlah sel punca yang siap untuk menggantikan dan memperbaiki bagian organ yang telah rusak. Hanya dengan kecerdasan dan kesungguhan upaya kita yang telah diciptakanNya untuk menemukan bagian sel punca yang tersimpan, agar menjadi obat paling efektif untuk memulihkan namaNya.



Gambar 2. Regenerasi epitelium kornea dan fungsi ketajaman penglihatan pulih kembali. Panel kiri dengan kerusakan kornea pada tiga pasien sebelum transplantasi sel punca, dengan tajam penglihatan <0.1, berarti hanya dapat melihat gerakan tangan dan menghitung jari. Panel kanan, sesudah terapi dengan sel punca. Tampak kornea dengan epitel yang normal dengan tajam penglihatan mencapai 0,3-0,9. Hal ini menunjukkan penglihatan pasien telah dikoreksi setelah dilakukan transplantasi sel punca ke dalam kornea.

Dikutip dari Rama P, Matuska S, Paganoni G, Spinelli A, De Luca M, Pellegrini G. Limbal stem-cell therapy and long-term corneal regeneration. *New Engl J Med*, 2010: 363:147-155.



Gambar 3. Hubungan antara hasil klinis dengan persentase kultur p63 - bright cell di dalam sel punca limbus.

Dikutip dari Rama P, Matuska S, Paganoni G, Spinelli A, De Luca M, Pellegrini G. Limbal stem-cell therapy and long-term corneal regeneration. *New Engl J Med*, 2010; 363:147-155.

INFARK MIOKARD DAN KONSEKUENSI PENYAKIT JANTUNG KORONER

Secara alamiah, infark miokard merupakan suatu injuri terhadap otot miokard yang bersifat ireversibel.²² Konsekuensinya adalah kematian kardiomyosit (sel otot jantung) yang dapat mencapai 25% (1 miliar kardiomyosit) dari seluruh kardiomyosit (4 miliar sel) dengan berkurangnya fungsi sistolik dan metabolisme regional sehingga perfusi miokard berkurang secara mendadak, dan kondisi ini mendasari terjadinya gagal jantung sistolik.^{23, 24} Disamping itu, juga dapat terjadi gangguan relaksasi diastolik, yang menimbulkan gagal jantung diastolik.²⁵ Injuri kardiomyosit ireversibel mulai terjadi setelah oklusi arteri koronaria dalam waktu 15-20 menit.²⁶ Bagian miokardium subendotel membutuhkan metabolisme yang tinggi sehingga peka terhadap kondisi iskemia.²⁷ Luasnya infark bergantung pada durasi dan keparahan defek perfusi.²⁸ Namun, luasnya infark juga dimodulasi oleh sejumlah faktor termasuk suplai darah kolateral, pengobatan, dan *ischemic preconditioning*.²⁹ Selain gangguan kontraksi dan fibrosis pada

myocardial scar, progresivitas remodeling ventrikel dari miokardium noniskemik dapat mengurangi fungsi jantung dalam beberapa minggu sampai bulan setelah terjadi infark.³⁰

Berbagai pengobatan yang dilakukan dapat memperbaiki prognosis pasien dengan infark miokard akut.³¹ Walaupun angioplasti dan pengobatan trombolitik dapat mengurangi penyebab infark, waktu mulai terjadi oklusi sampai reperfusi menentukan derajat injuri miokard yang ireversibel.³² Tidak ada pengobatan atau tindakan medik yang menunjukkan efikasi dalam menggantikan jaringan parut miokard (*myocardial scar*) dengan jaringan kontraktile. Karena itu, diperlukan terapi baru untuk meregenerasikan kardiomyosit.³³

Upaya untuk memperbaiki infark miokard akut dengan metode memperbaiki atau menggantikan kardiomyosit telah memberikan hasil menjanjikan. Hasil yang paling menggembirakan telah diperoleh dari transplantasi dan mobilisasi sel sumsum tulang ke area infark.³³ Revolusi yang sangat luar biasa dalam

kedokteran kardiovaskuler ini telah memungkinkan proses *repair* terhadap kardiomyosit yang telah rusak melalui pemberian sel punca, yang menghasilkan sel miosit dan pembuluh darah koronaria yang baru.³⁴

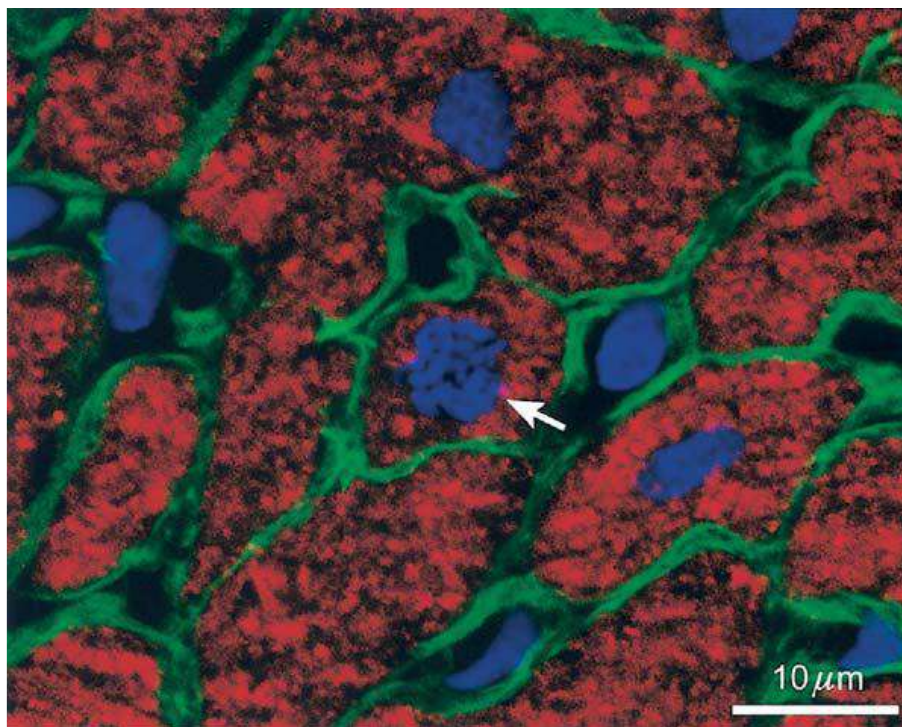
BIOLOGI SEL PUNCA KARDIOVASKULER

Dari pengamatan dan pengobatan terhadap beratus ribu korban sipil dan militer di Jepang terhadap pemaparan radiasi pada sistem hematopoetik ketika dua bom atom dijatuhkan di Hiroshima dan Nagasaki pada Agustus 1945 yang mengakibatkan berakhirnya perang dunia ke II, terdapat beberapa laporan yang mengkonfirmasi adanya pembentukan sel punca yang bertanggungjawab terhadap kontinuitas sirkulasi sel darah.³⁵ Observasi ini juga mengkonfirmasi adanya sel punca di dalam darah.

Konsep tradisional menyatakan bahwa jantung adalah sebuah organ pasca mitotik yang telah mengalami diferensiasi terminal, yaitu tidak dapat lagi mengadakan pembelahan sel sejak dilahirkan,³⁶ yang juga berarti bahwa jumlah sel jantung tidak berubah atau berkurang hingga kematian seseorang.³⁷ Dogma ini sangat dipengaruhi oleh laporan studi yang dipublikasikan tahun 1925 oleh Karsner et al.³⁸ Hal ini sangat berbeda dengan kemampuan regenerasi yang dimiliki jaringan hati. Argumentasi yang mendukung dogma ini adalah bahwa tidak tampak

regenerasi jaringan yang signifikan ketika terjadi kerusakan jaringan jantung akibat infark miokard dan respon kerusakan jantung yang terjadi berupa hipertrofi (besar sel miosit jantung bertambah), bukan hiperplasia (jumlah sel otot jantung bertambah). Dengan menggunakan metode pencitraan (*imaging*) yang canggih (mikroskop konfokal), Anversa et al. melaporkan bahwa sel miosit mampu mengadakan regenerasi pada manusia dan hewan yang mengalami infark,^{37, 39, 40, 41, 42} muatan tekanan berlebihan,⁴³ dan gagal jantung (Gambar 4).^{38, 45, 46}

Dogma lama juga bersifat kontradiktif terhadap perkembangan penuaan dan kematian sel (apoptosis), juga perlambatan penggantian sel pada jantung.³⁷ Tanpa proses pembelahan sel miosit akibat kematian sel (apoptosis) pada proses penuaan baik pada manusia dan hewan, maka seluruh bagian organ jantung akan kehilangan fungsinya dalam beberapa dekade kehidupan saja.³⁷ Proses ini lebih meningkat lagi dalam keadaan sakit. Dengan pengecatan deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end-labeling (TUNEL),⁴⁷ terbukti bahwa apoptosis berlangsung pada gagal jantung terutama karena kardiomiopati dilatasi idiopatik dan kardiomiopati iskemik^{48, 49, 50, 51, 52} Karena itu, ketidakseimbangan antara pertumbuhan dan kematian sel merupakan penentu utama dekompensasi jantung yang mengarah pada gagal jantung kongestif dan kematian.³⁷

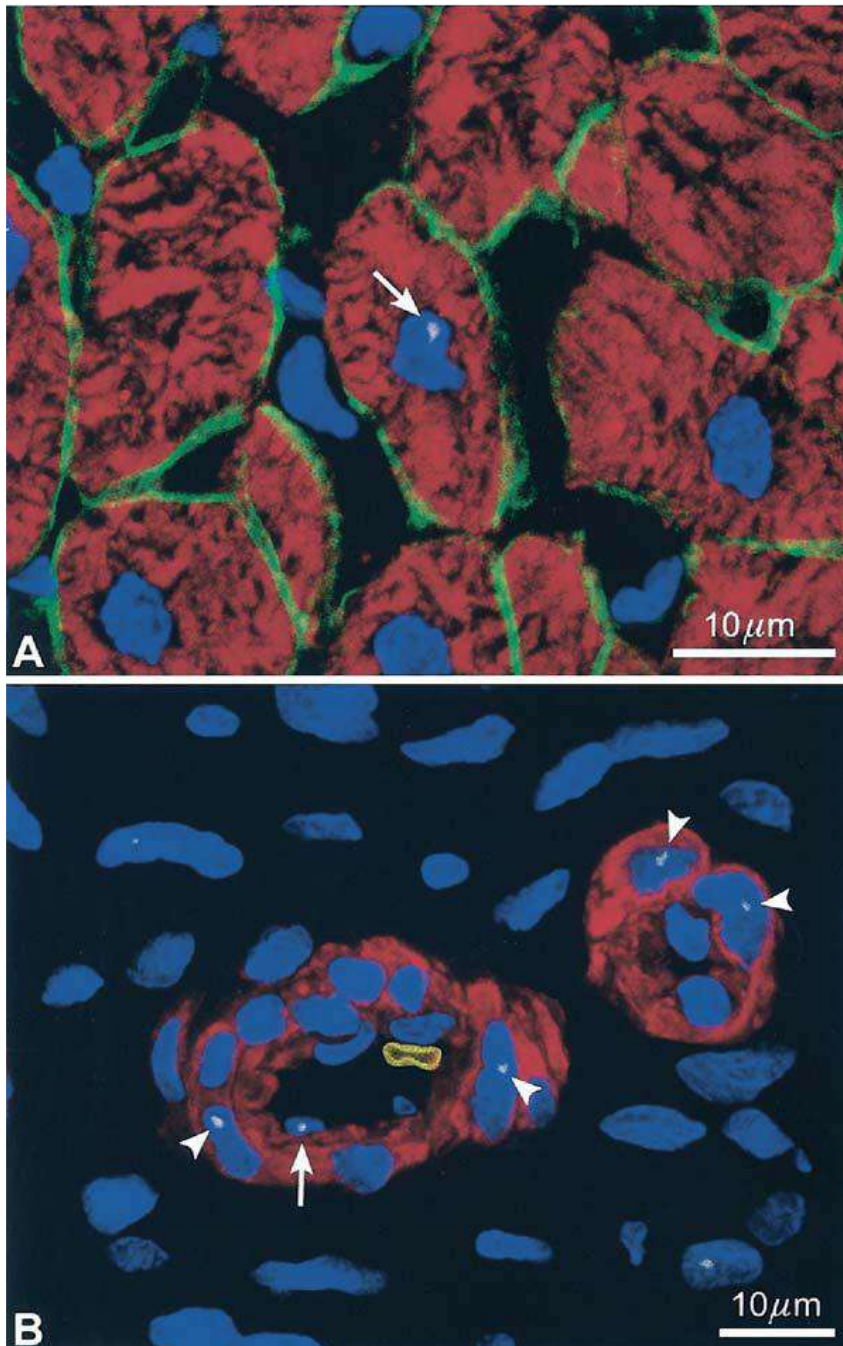


Gambar 4. Proliferasi miosit pada manusia. Miosit dalam keadaan membelah dan masih kecil (*alpha-sarcomeric actin*, merah) dengan kromosom metafase (tanda panah) terdapat pada miokardium ventrikel kiri pada seorang pasien dengan kardiomiopati iskemik kronik. Nuklei dan kromosom metafase diberi label dengan propidium iodide (biru). Batas antar sel dengan laminin (hijau).

Dikutip dari Anversa P, et al. *Cardiac regeneration. J. Am. Coll. Cardiol.* 2006;47:1769-1776.

Pengamatan yang paling rasional dan secara dramatis mengubah dogma lama mengenai jantung adalah identifikasi sel kromosom laki-laki (kromosom Y) pada jantung wanita yang ditransplantasikan pada resipien laki-laki (Gambar 5).⁴⁶ Meskipun terdapat perbedaan dalam derajat kimerisme jantung, hasil ini menunjukkan bahwa sel kromosom laki-laki dapat berkoloni di dalam jantung wanita sebagai donor, dan berdiferensiasi menjadi sel miosit dan struktur vaskuler.^{53, 54, 55, 56} Sel-sel primitif yang

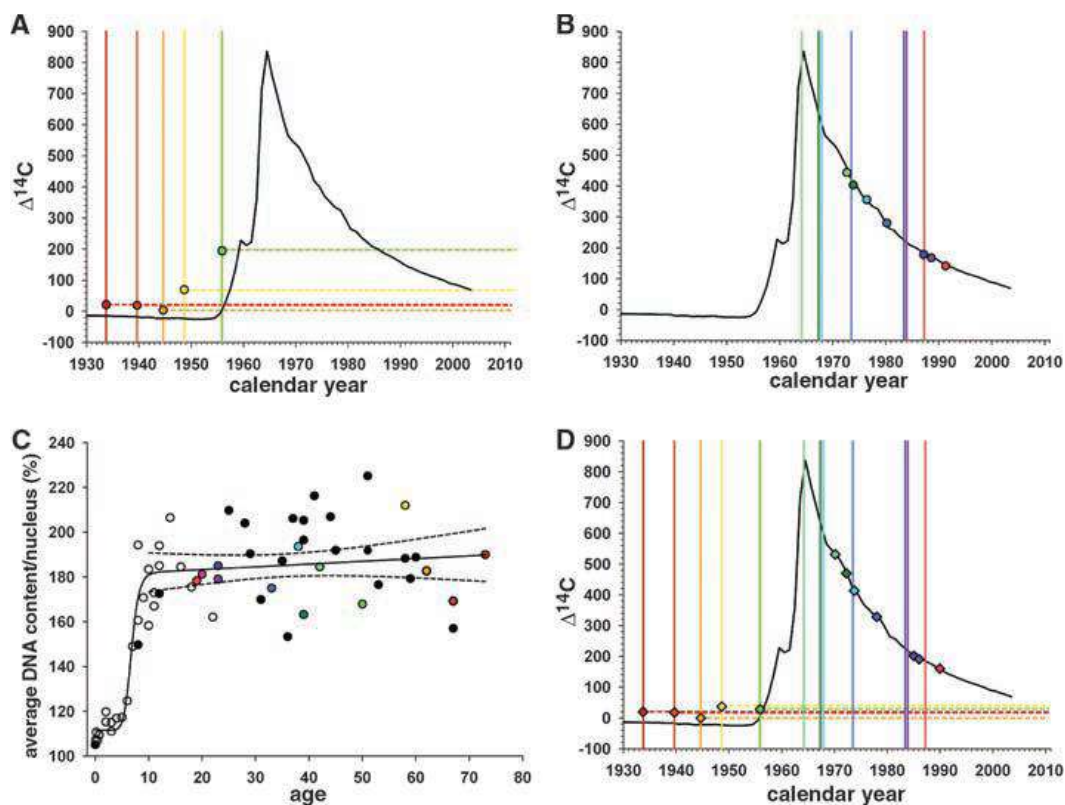
mengekspresikan c-kit, stem cell antigen-1 like ditemukan dalam jantung yang ditransplantasikan dan juga kelompok kontrol.⁴⁶ Adanya sel tidak terdiferensiasi bersamaan dengan *committed cell* menunjukkan bahwa *cardiac stem cell* merupakan modulator penting dalam mempertahankan homeostasis pada miokardium normal dan sakit. Data ini menuntun kepada identifikasi *cardiac stem cell (CSC) pool* yang bersifat residen di dalam jantung orang dewasa.⁵⁷



Gambar 5. Kimerisme pada jantung wanita yang ditransplantasikan pada resipien jantung laki-laki. Lokalisasi kromosom-Y di dalam nukleus miosit. (A; *alpha-sarcomeric actin*, merah; tanda panah), sel endotel (B, panah), dan sel otot polos (B; *alpha-smooth muscle actin*, merah; ujung panah) diilustrasikan pada ventrikel kiri jantung wanita pada resipien laki-laki. Laminin membatasi sel (A, hijau). Sel darah merah terdapat di dalam lumen arteriole koronaria (B; glikoforin; A, kuning).
 Dikutip dari Anversa P, et al. *Cardiac regeneration. J. Am. Coll. Cardiol.* 2006;47:1769-1776.

Sebagai bukti yang paling konkrit⁵⁸ bahwa sel otot jantung mampu mengadakan regenerasi adalah berdasarkan penelitian Bergmann et al,⁵⁹ yang mengukur kadar karbon-14 (¹⁴C) di dalam genomik DNA pada kardiomiosit manusia. Tingkat karbon-14 meningkat dengan tajam di atmosfer sebagai akibat uji coba nuklir dan menurun dengan cepat setelah Larangan Uji Coba Nuklir Terbatas ditandatangani tahun 1963. Sebagai akibat pengujian ini, sel yang “lahir” selama kadar karbon-14 yang tinggi dapat ditentukan dengan tepat tanggal lahirnya karena subjek yang lahir pada waktu itu terinkorporasi karbon-14 ke dalam DNA dari kardiomiosit yang baru terbentuk. Hal ini disebabkan manusia memakan tumbuh-tumbuhan dan hewan. Tumbuh-tumbuhan mengadakan fotosintesis dengan masuknya karbon 14 atmosfer yang telah bereaksi dengan oksigen dan membentuk ¹⁴CO₂. Manusia memakan hewan sedangkan hewan hidup dari tumbuh-tumbuhan. Sehingga, tingkat karbon-14 di dalam tubuh manusia akan mencerminkan kondisi di atmosfer.

Hasil penelitian Bergmann et al⁵⁹ yang dimuat di majalah *Science*, mendapatkan bahwa pada semua individu yang lahir sebelum uji coba nuklir, kadar karbon-14 di dalam genomik DNA kardiomiosit lebih tinggi daripada kadar di atmosfer. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat sintesis DNA setelah 1955 (Gambar 6A).⁵⁹ Pada semua individu yang lahir berdekatan dengan atau setelah uji coba nuklir, kadar karbon-14 di dalam DNA kardiomiosit bersesuaian dengan kadar beberapa tahun setelah kelahirannya, berarti terjadi sintesis DNA kardiomiosit setelah lahir (Gambar 6B). Ketika sel kardiomiosit mengalami hipertrofi pada masa kanak-kanak sebagai akibat meningkatnya kapasitas kontraksi, maka sebagian besar nukleus DNA berubah menjadi tetraploid, dari bentuk nuklei diploid pada hampir semua kardiomiosit sewaktu lahir (Gambar 6C). Perubahan polyploidy di dalam nukleus yang bersifat independen terhadap kadar karbon-14, terjadi bersamaan dengan waktu kelahiran setiap individu, yang menunjukkan bahwa terjadi regenerasi kardiomiosit (Gambar 6D).⁵⁹



Gambar 6. Pergantian kardiomiosit pada masa dewasa. (A) Kadar karbon-14 di dalam DNA kardiomiosit dari individu yang lahir sebelum waktu peningkatan radiokarbon di atmosfer bersesuaian dengan waktu kejadian setelah lahirnya semua individu. Garis vertikal menunjukkan tahun kelahiran, dengan titik data berwarna menunjukkan rata-rata kadar karbon 14. (B) Kadar karbon-14 di dalam DNA kardiomiosit dari individu yang lahir setelah uji bom nuklir. (C) Rata-rata isi DNA (2n=100%) per nuklei kardiomiosit dari individu (tanpa pembesaran jantung yang berat) dari berbagai usia. Ploidy diukur dengan *flow cytometry*. Data berwarna menunjukkan individu yang mendapat analisis karbon 14 (n=13). Titik berwarna hitam menunjukkan individu yang dianalisis kadar ploidy (n=23). (D). Kadar karbon 14 dikoreksi terhadap ploidy kardiomiosit selama masa kanak-kanak pada individu yang lahir sebelum dan sesudah kadar puncak karbon yang diinduksi uji coba bom, yang dihitung berdasarkan jumlah rata-rata DNA per nukleus kardiomiosit. Kadar karbon 14 tidak dipengaruhi di dalam individu ketika terjadi polyploidy sebelum meningkatnya kadar karbon 14 di atmosfer.

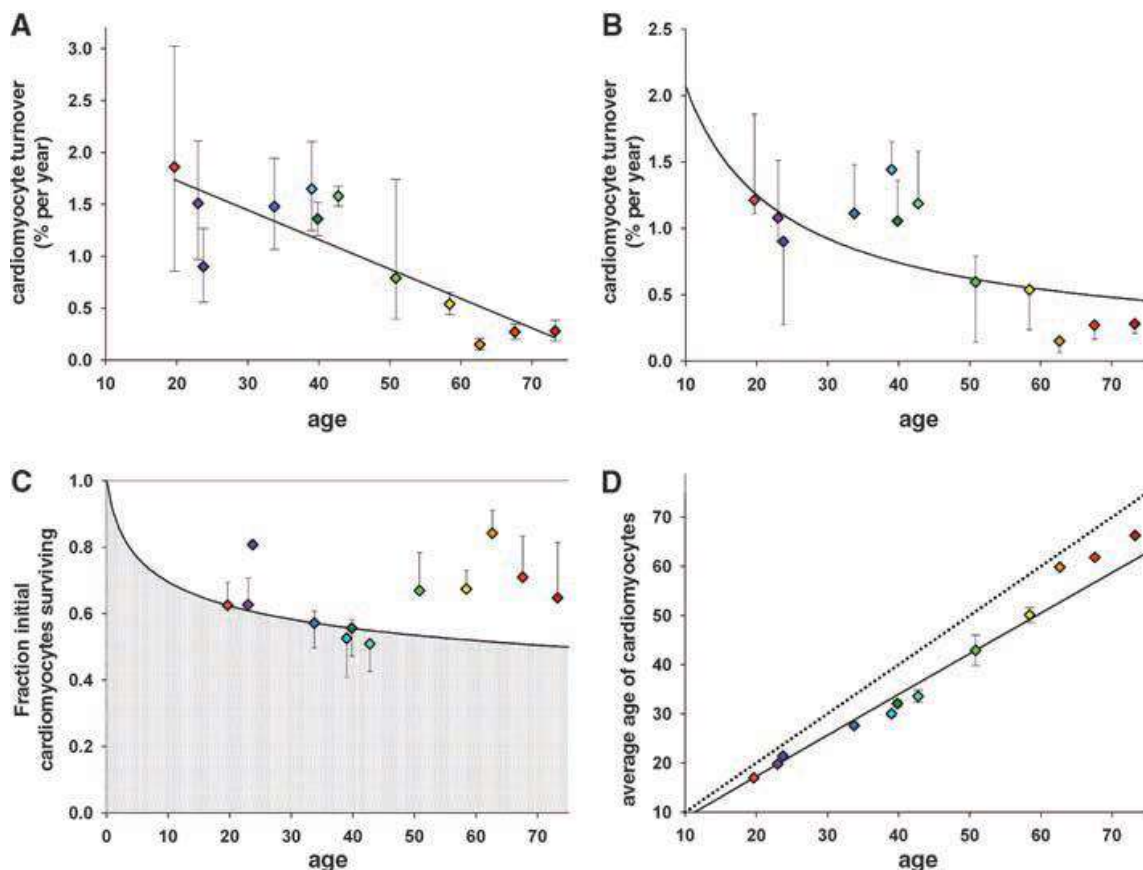
Dikutip dari Bergmann O, et al. *Science* 2009; 324:98-102.

Penelitian Bergmann et al., menunjukkan bahwa berlawanan dengan konsep tradisional, terdapat daya regenerasi kardiomyosit selama kehidupan dengan kecepatan yang sangat lambat. Rata-rata pergantian sel kardiomyosit berkisar sebesar 0.2 - 2.0% pertahun (Gambar 7A). Namun, terdapat korelasi negatif terhadap usia ($R = -.84$; $p = 0.001$), yang berarti terjadi penurunan pergantian sel (*renewal*) dengan meningkatnya usia. Pada usia 25 tahun, sekitar 1% kardiomyosit mengalami pergantian sel setiap tahunnya, dan kecepatan ini menurun menjadi 0,45% pada usia 75 tahun (Gambar 7B). Pada usia 50 tahun, tersisa 55% dari kardiomyosit sejak lahir dan 45% yang telah mengalami pergantian dengan sel baru (Gambar 7C). Usia kardiomyosit rata-rata 6 tahun lebih muda daripada usia seseorang (Gambar 7D). Data karbon-14 menunjukkan bahwa angka pergantian untuk nonkardiomyosit berkisar 18% dengan usia rata-rata 4.0 tahun.

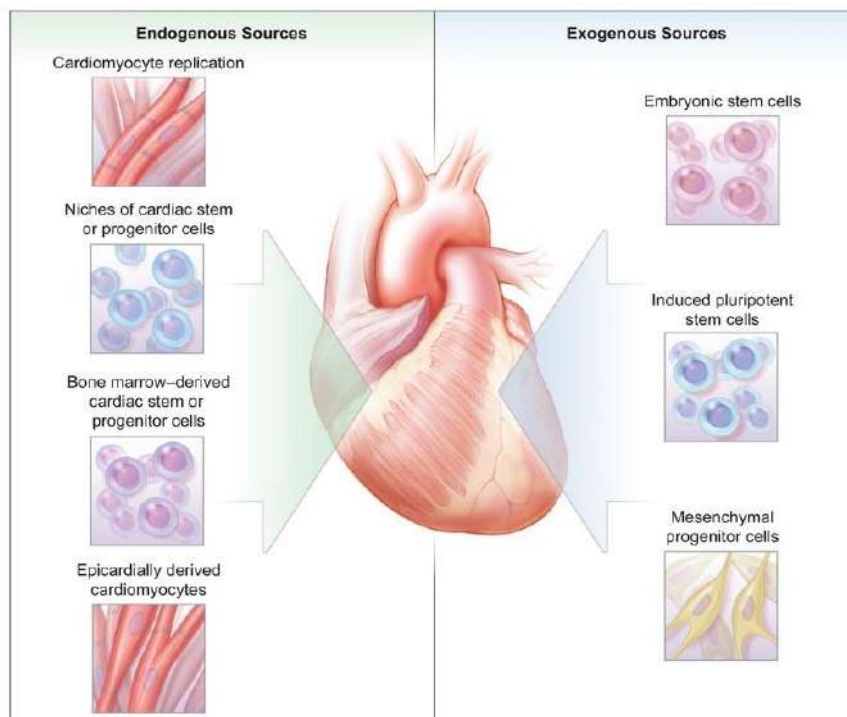
Selama kehidupan seseorang, kurang dari 50% sel kardiomyosit mengalami pergantian dengan sel

baru. Meskipun kebutuhan fungsi dan metabolit pada sel kardiomyosit amat besar, beberapa sel sanggup bertahan hidup lebih dari 50 (lima puluh) tahun. Suatu kejadian yang amat luar biasa!

Kini timbul pertanyaan, darimana sumber sel untuk proses regenerasi kardiomyosit? Paling tidak, terdapat 4 (empat) sumber sel yang akan membentuk sel baru kardiomyosit setelah lahir (Gambar 8).⁵⁸ Kardiomyosit dewasa, yang diyakini mengalami diferensiasi terminal, masuk kembali ke dalam siklus sel dan membelah. Kedua, sel punca jantung atau sel progenitor yang berasal dari sumsum tulang yang memiliki kapasitas berdiferensiasi menjadi sel menyerupai kardiomyosit secara *in vitro* dan berfungsi pada saat injuri jantung. Ketiga, studi akhir-akhir ini menunjukkan bahwa epikardium embrionik dapat berubah menjadi kardiomyosit pada hewan rodensia. Terakhir, *niches* sel punca atau sel progenitor terdapat pada jantung mencit dan manusia.⁵⁸ Untuk itu, akan dibahas masing-masing sumber sel ini secara lebih mendalam dalam bab-bab selanjutnya.



Gambar 7. Dinamika pergantian sel kardiomyosit. (A) Data individu sesuai dengan asumsi pergantian sel bersifat konstan menunjukkan bahwa pergantian sel kardiomyosit berupa garis linier yang menurun sesuai dengan meningkatnya usia ($R = -.84$, $p = 0.001$). (B) Seluruh data menunjukkan bahwa penurunan pergantian kardiomyosit bersifat dependen terhadap usia. (C) Area abu-abu menunjukkan fraksi kardiomyosit tersisa sejak dari lahir, dan area putih adalah hasil kontribusi sel baru. (D) Usia kardiomyosit dihitung dari model penyesuaian (*best global fitting*). Garis terputus-putus menunjukkan tidak ada pergantian sel, dengan usia kardiomyosit sama dengan usia seseorang. Garis hitam menunjukkan *best global fitting*. Tanda mutiara berwarna menunjukkan perhitungan titik data dari subjek yang ditentukan pertanggalan kadar karbon-14. Dikutip dari Bergmann O, et al. *Science* 2009; 324:98-102.



Gambar 8. Pendekatan terapeutik terhadap regenerasi jantung. Beberapa kardiomyosit mengalami regenerasi setelah lahir memberikan harapan dan tantangan terhadap terapi regenerasi jantung masa mendatang. Penelitian sedang berlangsung terhadap sumber sel autologus dan allogenik yang menghasilkan kardiomyosit.

Dikutip dari Parmacek MS, Epstein JA. *Cardiomyocyte renewal. N Engl J Med* 2009; 361: 86-88.

DAFTAR PUSTAKA

1. Thom T, Haase N, Rosamond W, Howard VJ, Rumsfeld J, Manolio T, Zheng ZJ, Flegal K, O'Donnell C, Kittner S, Lloyd-Jones D, Goff DC, Jr, Hong Y. Heart Disease and Stroke Statistics - 2006 Update: A Report From the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2006; 113: e85-e15.
2. Vats, Bielby RC, Nerem R, Polak JM. Stem cells. *Lancet* 2005; 366: 592-602.
3. 2004 Charbook on Cardiovascular Lung and Blood Disorders. Bethesda, Md: National Heart, Lung and Blood Institute, 2004.
4. Boyle AJ, Schulman SP, Hare JM. Is stem cell therapy ready for patients? Stem cell therapy for cardiac repair. *Circulation* 2006; 114: 339-352.
5. Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, Anand S. Global burden of cardiovascular diseases: part I: general considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. *Circulation* 2001; 104: 2746-53.
6. Omran AR. The epidemiologic transition: a theory of the epidemiology of population change. *Millbank Memorial Fund Q.* 1971; 49: 509-538.
7. The World Health Report. Making a Difference. Geneva: World Health Organization, 1999.
8. McMurray JJV, Pfeffe MA. Heart failure. *Lancet* 2005; 365: 1877-89.
9. Ho KK, Pinsky JL, Kannel WB, Levy D. The epidemiology of heart failure: the Framingham Study. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 6A-13A.
10. Redfield MM, Jacobsen SJ, Burnett JC Jr, et al. Burden of systolic and diastolic ventricular dysfunction in the community: appreciating the scope of the heart failure epidemic. *JAMA* 2003; 289: 194-202.
11. Lloyd-Jones DM, Larson MG, Leip EP, et al. Lifetime risk for developing congestive heart failure: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2002; 106: 3068-72.
12. Bleumink GS, Knetsch AM, Sturkenboom MC, et al. Quantifying the heart failure epidemic: prevalence, incidence rate, lifetime risk and prognosis of heart failure. *Eur Heart J* 2004; 25: 1614-19.
13. Roger VL, Weston SA, Redfield MM, et al. Trends in heart failure incidence and survival in a community-based population. *JAMA* 2004; 292: 344-50.
14. Cowie MR, Wood DA, Coats AJ, et al. Survival of patients with a new diagnosis of heart failure: a population based study. *Heart* 2000; 83: 505-10.
15. Vats A, Bielly RC, Tolley NS, Polak JM. Stem cells. *Lancet* 2005; 366: 592-602.
16. Spector M. Biomaterial failure. *Orthop Clin North Am* 1992; 23: 211-217.

17. Anderson JM. Inflammation and the foreign body response. *Prob Gen Surg* 1994; 11: 101-107.
18. Hutmacher DW. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials* 2000; 21: 2529-2543.
19. Macchiarini P, Jungebluth P, Go T, Asnaghi MA, Rees LE, Cogan TA, Dodson A, Martorell J, Bellini S, Parnigotto PP, Dickinson SC, Hollander AP, Mantero S, Conconi MT, Birchall MA. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *Lancet* 2008; 372: 2023-30.
20. Profile Martin Birchall: using stem cells to help make transplant history. *Lancet* 2008; 372: 2104.
21. Rama P, Matuska S, Paganoni G, Spinelli A, De Luca M, Pellegrini G. Limbal Stem-Cell Therapy and Long-Term Corneal Regeneration. *New Engl J Med*, 2010; 363:147-155.
22. Lim H. Pathophysiology of heart failure. *JKM* 2006; 3: 200-206.
23. Lim H, Zhu YZ. Role of transforming growth factor- β in the progression of heart failure. *Cell. Mol Life Sci* 2006; 63: 2584-2596 (Switzerland).
24. Lim H. Obat gagal jantung. Dalam: *Farmakologi Kardiovaskular*. 2 nd ed. PT. Sofmedia, 2009. Hal. 78 - 98.
25. Arai AE, Pantely GA, Thoma WJ, Anselone CG, Bristow JD. Energy metabolism and contractile function after 15 beats of moderate myocardial ischemia. *Circ Res.* 1992; 70: 1137-1145.
26. Heyndrickx GR, Baig H, Nellens P, Leusen I, Fishbein MC, Vatner SF. Depression of regional blood flow and wall thickening after brief coronary occlusions. *Am J Physiol.* 1978; 234: H653-H659.
27. Griggs DM Jr, Tchokoev VV, Chen CC. Transmural differences in ventricular tissue substrate levels due to coronary constriction. *Am J Physiol.* 1972; 222:705-709.
28. Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB. The wavefront phenomenon of ischemic cell death, 1: myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation.* 1977; 56: 786-794.
29. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.* 1986; 74:1124-1136.
30. Pfeffer MA. Left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Annu Rev Med.* 1995; 46: 455-466.
31. Ryan TJ, Antman EM, Brooks NH, Califf RM, Hillis LD, Hiratzka LF, Rapaport E, Riegel B, Russell RO, Smith EE III, Weaver WD, Gibbons RJ, Alpert JS, Eagle KA, Gardner TJ, Garson A Jr, Gregoratos G, Ryan TJ, Smith SC Jr. 1999 update: ACC/AHA guidelines for the management of patients with acute myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Management of Acute Myocardial Infarction). *J Am Coll Cardiol.* 1999; 34: 890-911.
32. Schwarz F, Schuler G, Katus H, Hofmann M, Manthey J, Tillmanns H, Mehmel HC, Kubler W. Intracoronary thrombolysis in acute myocardial infarction: duration of ischemia as a major determinant of late results after recanalization. *Am J Cardiol.* 1982; 50: 933-937.
33. Donald Orlic, Jonathan M. Hill and Andrew E. Arai. Stem cells for myocardial regeneration. *Circ. Res.* 2002; 91: 1092-1102
34. Dawn B, Bolli R. Cardiac progenitor cells: The revolution continues. *Circ. Res.* 2005; 97: 1080-1082.
35. Jonathan C. Howell JC, Yoder MC. Adult stem cell plasticity defined. *NeoReviews* 2003; 4:181-185.
36. Sipido KR, Janssens SP. How old is your heart? *Circ Res.* 2007; 101:323.
37. Anversa P, Leri A, and Kajstura J. Cardiac regeneration. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006; 47: 1769-1776.
38. Karsner HT, Saphir O, Todd TW. The state of the cardiac muscle in hypertrophy and atrophy. *Am J Pathol.* 1925; 1: 351-371.
39. Anversa P, Sussman MA, Bolli R. Molecular Genetic Advances in Cardiovascular Medicine: Focus on the Myocyte. *Circulation* 2004; 109: 2832-2838.
40. Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after infarction. *N Engl J Med* 2001; 344: 1750-7.
41. Urbanek K, Torella D, Sheikh F, et al. Myocardial regeneration by activation of multipotent cardiac stem cells in ischemic heart failure. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 8692-7.
42. Linke A, Muller P, Nurzynska D, et al. Cardiac stem cells in the dog heart regenerate infarcted myocardium improving cardiac performance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 8966-71.
43. Urbanek K, Quaini F, Tasca G, et al. Intense myocyte formation from cardiac stem cells in human cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 10440-5.
44. Olivetti G, Melissari M, Balbi T, et al. Myocyte nuclear and possible cellular hyperplasia contribute to ventricular remodeling in the hypertrophic senescent heart in humans. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 140-9.
45. Kajstura J, Leri A, Finato N, Di Loreto C, Beltrami CA, Anversa P. Myocyte proliferation in end-stage cardiac failure in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998; 95:8801-8805.
46. Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, et al. Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med* 2002; 346: 5-15.

47. Kang PM, Izumo S. Apoptosis and heart failure : a critical review of the literature. *Circ. Res.* 2000; 86: 1107-1113.
48. Frustaci A, Chimenti C, Setoguchi M, Guerra S, Corsello S, Crea F, Leri A, Kajstura J, Anversa P, Maseri A. Cell death in acromegalic cardiomyopathy. *Circulation.* 1999; 99: 1426 – 1434.
49. Olivetti G, Abbi R, Quaini F, Kajstura J, Cheng W, Nitahara JA, Quaini E, Di Loreto C, Beltrami CA, Krajewski S, et al. Apoptosis in the failing human heart. *N Engl J Med.* 1997; 336: 1131–1141.
50. Ino T, Nishimoto K, Okubo M, Akimoto K, Yabuta K, Kawai S, Okada R, Sueyoshi N. Apoptosis as a possible cause of wall thinning in end-stage hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol.* 1997; 79: 1137-1141.
51. Narula J, Haider N, Virmani R, DiSalvo TG, Kolodgie FD, Hajjar RJ, Schmidt U, Semigran MJ, Dec GW, Khaw BA. Apoptosis in myocytes in end-stage heart failure. *N Engl J Med.* 1996; 335: 1182–1189.
52. Mallat Z, Tedgui A, Fontaliran F, Frank R, Durigon M, Fontaine G. Evidence of apoptosis in arrhythmogenic right ventricular dysplasia. *N Engl J Med.* 1996; 335: 1190-1196.
53. Laflamme MA, Myerson D, Saffitz JE, et al. Evidence for cardiomyocyte repopulation by extracardiac progenitors in transplanted human hearts. *Circ Res* 2002; 90:634–40.
54. Glaser R, Lu MM, Narula N, et al. Smooth muscle cells, but not myocytes, of host origin in transplanted human hearts. *Circulation* 2002; 106: 17–9.
55. Deb A, Wang S, Skelding KA, et al. Bone marrow-derived cardiomyocytes are present in adult human heart: a study of gender-mismatched bone marrow transplanted patients. *Circulation* 2003; 107: 1247–9.
56. Thiele J, Varus E, Wickenhauser C, et al. Mixed chimerism of cardiomyocytes and vessels after allogeneic bone marrow and stem-cell transplantation in comparison with cardiac allografts. *Transplantation* 2004; 77: 1902–5.
57. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 2003; 114: 763–76.
58. Parmacek MS, Epstein JA. Cardiomyocyte renewal. *N Engl J Med* 2009; 361: 86-88.
59. Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, Zdunek S, Barnabé-Heider F, Walsh S, Zupicich J, Alkass K, Buchholz BA, Druid H, Jovinge S, Frisén J. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science* 2009; 324: 98-102.

JANTUNG SEBAGAI ORGAN MAMPU BEREGENERASI

- **PENDAHULUAN**
- **PERGESERAN PARADIGMA KE ARAH REGENERASI MIOSIT**
- **SEL PUNCA DI DALAM JANTUNG (CARDIAC STEM CELL)**
- **DAYA REGENERASI RESIDENT CARDIAC STEM CELL ATAU CARDIAC PROGENITOR CELL (CPC) MANUSIA (hCPC)**
- **DISTRIBUSI CARDIAC PROGENITOR CELL (CPC) DALAM NICHES**
- **DAFTAR PUSTAKA**

PENDAHULUAN

Dogma mengatakan bahwa jantung merupakan sebuah organ postmitotik bersifat statik, yang berarti bahwa kardiomyosit tidak dapat digantikan oleh subpopulasi sel miosit terdiferensiasi atau oleh *committed cell*, baik dalam keadaan normal atau patologis.¹ Pandangan ini berawal dari penelitian tahun 1920an, yang mengatakan bahwa hipertrofi miosit (pembesaran sel jantung) merupakan satu-satunya mekanisme kompensasi sebagai akibat peningkatan muatan tekanan dan/atau volume jantung dewasa. Kesimpulan ini diperkuat oleh kurangnya proses mitosis dalam miosit. Sehingga timbul anggapan yang kuat bahwa proses regenerasi miosit tidak terjadi pada penyakit jantung manusia. Konsep yang menyatakan bahwa kardiomyosit tidak mampu beregenerasi mendapat dukungan kuat pada akhir 1960an dari hasil autoradiografi inkorporasi timidin pada masa perkembangan pasca kelahiran dan muatan patologik,^{2,3,4,5} yang menunjukkan bahwa miosit tidak mampu masuk kembali ke dalam siklus sel untuk sintesis DNA dan mitosis pada penelitian rodensia yang mengalami hipertrofi jantung akut. Observasi ini menghasilkan dogma bahwa miosit ventrikel secara permanen keluar dari siklus sel sejak lahir dan tidak lagi mampu bereplikasi.⁶ Sintesis DNA di dalam nukleus miosit terabaikan sehingga memperkuat argumentasi bahwa hanya volume miosit yang meningkat bukan jumlahnya.⁷

Pandangan ini sangat mempengaruhi penelitian dasar dan klinis dalam bidang kardiologi dalam tiga dasawarsa terakhir.^{8,9} Dari tahun 1970an sampai 1990an perdebatan mengenai potensi regenerasi jantung terhenti, dan didominasi oleh penelitian tentang kelainan mekanik, biokimia dan aliran darah koronaria yang terjadi pada jantung hipertrofi. Bersamaan itu, penelitian dalam bidang kardiologi molekuler dan *cell signaling* menganggap bahwa gagal jantung timbul sebagai akibat dari hipertrofi miosit yang bersifat defektif karena perubahan pada *effector pathway* yang mengatur pertumbuhan miosit dan kontraktilitas, sehingga menimbulkan gangguan fungsi organ, jaringan dan sel.^{10,11}

Pemikiran ini sebenarnya telah ditantang oleh penemuan morfometrik Linbach pada pertengahan tahun 1950an, yang mengusulkan bahwa hiperplasia sel miosit (pertambahan jumlah sel) terjadi pada gagal jantung pada manusia.¹² Data terakhir mendukung hipotesis Linbach dan mengkonfirmasi bahwa jumlah miosit ventrikel hampir berlipat ganda pada jantung manusia yang mengalami dekompensasi.^{13,14,15}

Dalam dekade terakhir ini, berbagai penelitian mendukung pemikiran bahwa jantung tidak dapat dianggap lagi sebagai suatu organ pasca mitosis, yang ditandai oleh jumlah sel miosit yang telah ditentukan sejak dari lahir dan berlangsung hingga akhir hayat

seseorang, melainkan suatu organ yang bersifat dinamik, dengan miosit mampu beregenerasi untuk meningkatkan jumlah massa otot miokardium pada orang dewasa.¹ Sel parenkim yang baru terbentuk dapat menggantikan miosit yang telah rusak. Kemampuan regenerasi jantung ini pertama kali diketahui melalui pemeriksaan morfometrik klasik. Saat ini, dapat diperlihatkan sintesis DNA, mitosis dan sitokinesis pada miosit yang baru terbentuk baik pada keadaan normal maupun patologis. Miosit yang mengadakan replikasi terjadi bersamaan dengan progeni sel punca jantung yang berdiferensiasi. Data terdahulu¹³ dan terkini konsisten dengan kemungkinan ini karena kariokinesis dan sitokinesis terbukti terjadi pada miosit. Jika sel tidak mengalami diferensiasi terminal, maka sel akan berada pada keadaan siklus sel G₀, dan bila mengalami stimulasi, dapat masuk kembali ke dalam siklus sel dan mengalami kariokinesis dan sitokinesis.¹⁶ Dengan hanya melalui proses pertumbuhan ini, jumlah sel miosit meningkat dan mengalami regenerasi.⁶

PERGESERAN PARADIGMA KE ARAH REGENERASI MIOSIT

Berbagai studi dari tahun 1859-1911 menyatakan bahwa hipertrofi miokard sebagai konsekuensi dari hiperplasia dan hipertrofi miosit.¹⁷ Studi selanjutnya, dari tahun 1921-1925 mempertanyakan kapasitas miosit mengadakan proliferasi, yang berarti bahwa peningkatan massa jantung pada kondisi patologis disebabkan hanya oleh hipertrofi seluler miokard. Konsep bahwa miosit tidak mampu membelah disebabkan kesulitan dalam mengenal proses mitosis di dalam sel. Sintesis DNA di dalam nukleus mitotik tidak terdeteksi atau diabaikan, sehingga timbul dogma menyatakan bahwa jantung hanya bertahan hidup dan menjalani fungsinya hingga kematian dengan jumlah sel kurang lebih sama seperti ketika seseorang lahir. Hal ini berarti bahwa miosit ventrikel manusia merupakan sel terdiferensiasi secara terminal, dengan lamanya hidup sesuai dengan kehidupan seseorang. Jumlah miosit telah mencapai satu jumlah tertentu beberapa bulan setelah lahir¹⁸ dan berkurang dengan berlanjut usianya seseorang. Hal ini juga berarti bahwa sebagai konsekuensi dogma ini adalah bila seseorang mampu mencapai usia 100 tahun atau lebih, maka miosit memiliki fungsi dan struktur yang mampu bertahan selamanya. Asumsi ini sangat bertolak belakang dengan konsep usia seluler dan kematian sel apoptotik dan logika kematian sel sejalan dengan waktu pada jantung. Kematian miosit terjadi dengan berlanjutnya usia seseorang dan hilangnya sel secara kronik tanpa multiplikasi sel akan menyebabkan hilangnya seluruh organ dalam waktu beberapa dekade saja.

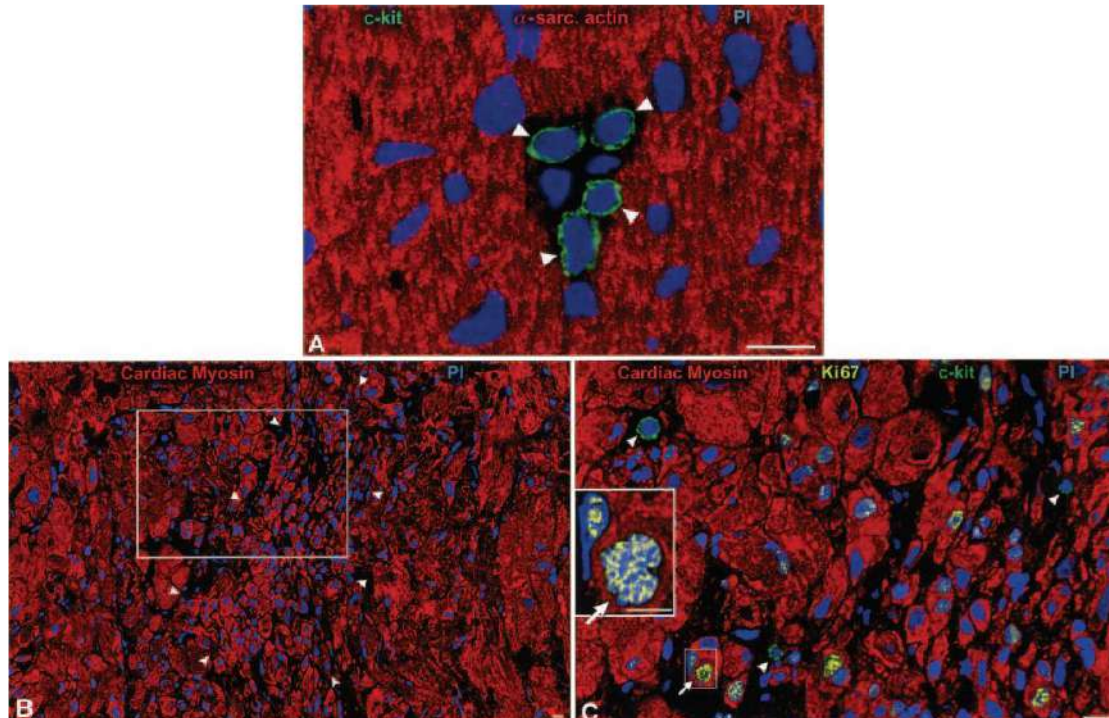
Jumlah miosit ventrikel kiri pada seseorang berusia 45 tahun kurang lebih $5,8 \times 10^9$ miosit.

Kecepatan apoptosis dan nekrosis pada gagal jantung masing-masing 0,1-0,2% dan 0,6-1,2%.^{19,20} Proses apoptosis berlangsung dalam waktu 2 jam dan nekrosis dalam waktu 48 jam. Pada gangguan jantung, proses ini menimbulkan $0,1 \times 10^9$ hilangnya miosit perhari. Gagal jantung terjadi akibat 25% miosit telah hilang, yang disebabkan infark miokard.^{21,22} Pada syok kardiogenik, 46% miosit hilang dalam waktu 26 hari.²³ Seluruh bagian ventrikel kiri akan lenyap dalam waktu 2 (dua) bulan. Karena itu, sel yang mengadakan replikasi akan menggantikan populasi sel yang mati sebagai akibat apoptosis yang menyertai progresivitas hidup untuk mengatur homeostasis jaringan.¹

Gambaran mitosis telah diidentifikasi pada jantung pasien yang mengalami kardiomiopati iskemik,²⁴ *idiopathic dilated cardiomyopathy*,²⁵ dan stenosis aorta kronik. (Gambar 1).²⁶ Protein Ki67 telah dideteksi pada sebagian besar miosit yang terletak dekat dengan zona batas infark akut dan bagian miokardium sehat lainnya. Ki67 adalah antigen nukleus yang diekspresikan pada seluruh fase siklus sel kecuali G0. Ki67 terutama terdapat pada fase S akhir dan meningkat pada G2, menetap pada profase dan metafase, menurun pada anafase dan telofase.^{27,28} Pemeriksaan Ki67 lebih baik daripada timidin, bromodeoxyuridine, dan antigen sel nukleus untuk mengetahui pembelahan sel. Mitosis miosit juga telah

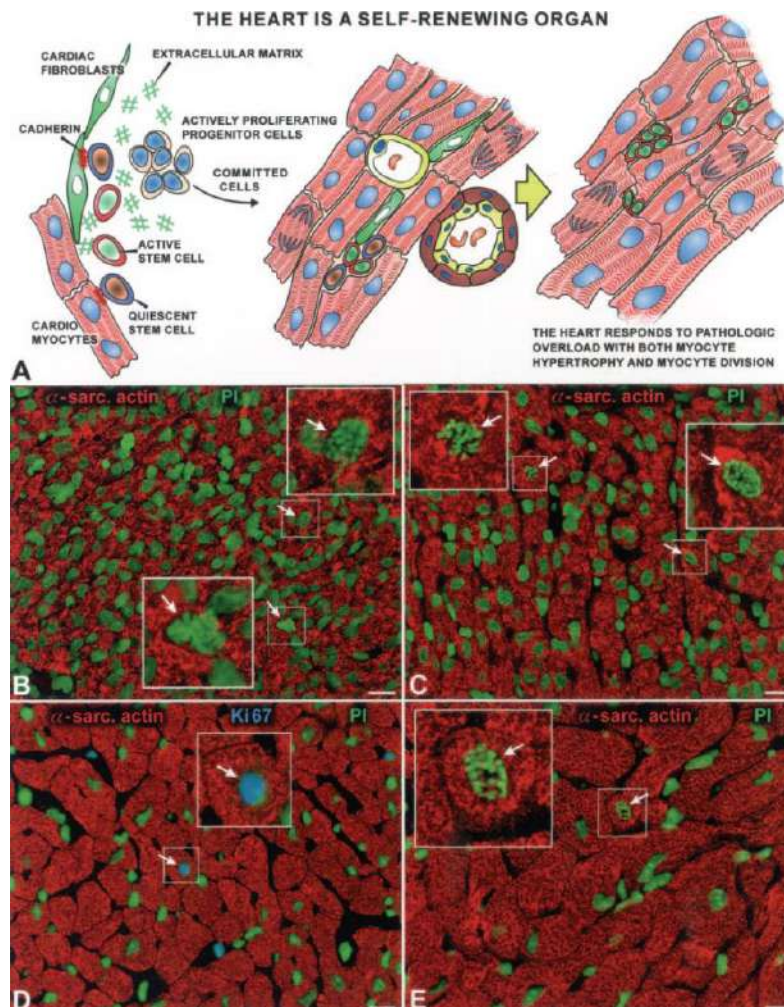
dideteksi pada miokardium jantung kontrol meskipun frekuensinya secara signifikan lebih kecil daripada jantung dekompensasi.^{24,25} Pada kondisi gagal jantung akut dan kronik atau pada usia lanjut, jumlah miosit yang mengalami pembelahan meningkat.²⁹ Pada pemeriksaan otopsi diperoleh peningkatan 10-60 kali lipat gambaran mitosis pada pasien meninggal akibat gagal jantung,³⁰ meskipun proporsi miosit yang mengalami mitosis rendah, sebesar 0,015-0,08%.

Karena itu, muncul suatu kerangka konsep jantung yang baru. Jantung sekarang dianggap sebagai organ yang mampu beregenerasi sepanjang lamanya hidup seseorang (Gambar 2).³¹ Miosit adalah sel punca jantung (*cardiac stem cell*, CSC) yang tersimpan di dalam *niches*. *Niches* mengatur penggantian sel miokard dan pertumbuhan, migrasi dan *commitment primitive cell* yang meninggalkan *niches* untuk menggantikan sel yang tua dan mati di dalam miokardium.³¹ Regenerasi berarti sel mati digantikan oleh sel baru terbentuk yang berdiferensiasi dan terorganisasi di dalam pola yang kompleks, mengembalikan struktur jaringan yang hilang. Pada orang dewasa, proses ini terjadi pada pergantian sel secara fisiologik tanpa injuri. CSC dapat menempati area jantung yang rusak untuk pembentukan sel parenkim baru dan struktur vaskuler, sehingga dapat mengembalikan performan ventrikel.^{32,33}



Gambar 1. Sel primitif dan regenerasi miokard. A. Kluster c-kit positif CSC (*cardiac stem cell*) (hijau) pada jantung manusia. B dan C, Tanda panah pada B menggambarkan miosit baru (miosin, merah), dan kotak persegi panjang adalah area yang diperbesar pada panel C. Ki67 (kuning) memberikan label miosit yang sedang berkembang, salah satu dalam proses mitosis (tanah panah). Kepala panah menunjukkan sel dengan c-kit positif. Skala bar = 10 μ m.

Dikutip dari Urbanek K, Quaini F, Tasca G, Torella D, Castaldo C, Nadal-Ginard B, Leri A, Kajstura J, Quaini E, Anversa P. *Intense myocyte formation from cardiac stem cells in human cardiac hypertrophy*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100:



Gambar 2. Paradigma baru jantung. A, *Niches* jantung yang mengandung sel punca, setelah diaktivasi, menghasilkan miosit dan struktur vaskuler. B-E. Pembelahan miosit (α -sarcomeric actin, merah) pada fetus (B), neonatus (C), dewasa (D) dan hipertrofi (E) jantung tikus. Pembelahan mitotik (tanda panah) ditunjukkan dalam kotak kecil. Biru muda menunjukkan Ki67. Bar berskala = 10 μ m.

Dikutip dari Anversa P, et al. *Life and death of cardiac stem cells: A paradigm shift in cardiac biology. Circulation. 2006; 113:1451-1463.*

Homeostasis jantung diatur oleh keseimbangan antara sel jantung yang tua, yang mengalami apoptosis/nekrosis dan pembentukan sel baru melalui *commitment CSC*, yang terkumpul di dalam atrium, apeks dan seluruh bagian ventrikel.³⁴ Eksplorasi tentang fungsi CSC baru dilakukan akhir-akhir ini, karena ketidaksepakatan bahwa miosit mampu menggantikan yang telah rusak, dan sel otot polos dan sel endotel yang “dewasa” mampu masuk kembali ke dalam siklus sel dan membelah, tidak bergantung pada asal usul sel primitifnya. Miosit, sel otot polos dan sel endotel di dalam pembuluh darah koronaria mati secara terus-menerus dan digantikan oleh sel untuk mempertahankan integritas jaringan dan fungsi jaringan. Apakah sel yang mati memicu pembentukan atau apakah regenerasi mengaktifkan kematian sel tidak diketahui, tetapi usia sel dengan hilangnya sel

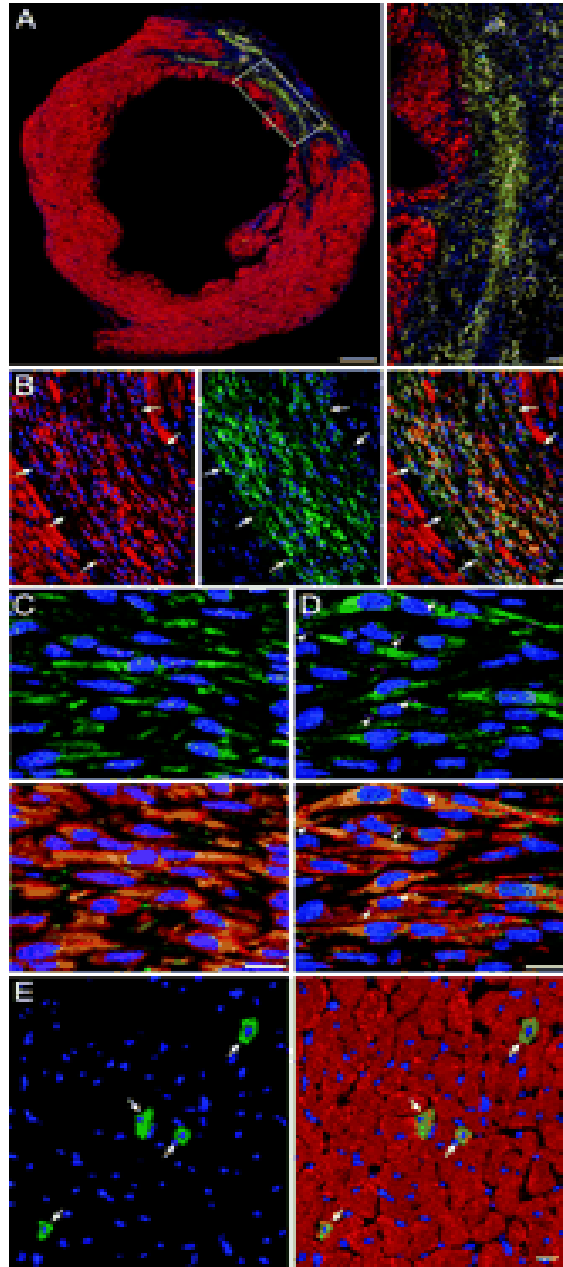
replikasi berhubungan dengan awal jalur kematian sel.^{35,36}

SEL PUNCA DI DALAM JANTUNG (*CARDIAC STEM CELL*)

Penemuan satu kelompok sel primitif yang bersifat klonogenik, *self renewing*, multipoten, mampu berdiferensiasi menjadi kardiomiosit, sel otot polos dan sel endotel secara *in vitro* dan *in vivo*^{37, 38} yang diisolasi dari jantung tikus dewasa oleh kelompok Anversa tahun 2003³⁷ memberikan harapan bagi perkembangan sel punca.³⁹ Populasi sel primitif dari *cycling myocardial cell* diidentifikasi sebagai sel Lin⁻/c kit⁺ (bersifat positif terhadap stem cell markers c-kit, namun negatif terhadap *blood lineage* (Lin)⁴⁰ mampu mempengaruhi *cardiac repair* ketika diberikan melalui intravena (Gambar 3).⁴¹ Secara *in*

in vitro, sel Lin⁻/c kit⁺ berkembang menjadi kardiomyosit imatur, sel otot polos, dan sel endotel.⁴² Selain membentuk miokardium, sel ini juga meningkatkan fungsi jantung jika disuntikkan ke dalam miokardium pada jantung tikus yang mengalami infark.³⁷ CSC (*cardiac stem cell*) juga telah ditemukan pada jantung manusia, dan menghasilkan sel miosit baru pada

pasien dengan stenosis aorta dan kardiomiopati iskemik.⁴³ CSC adalah komponen sel yang normal yang bertanggung jawab terhadap pergantian kardiomyosit dan non-kardiomyosit dalam keadaan fisiologik dan patologik, sehingga bermanfaat untuk menggantikan sel miokardium yang mati.



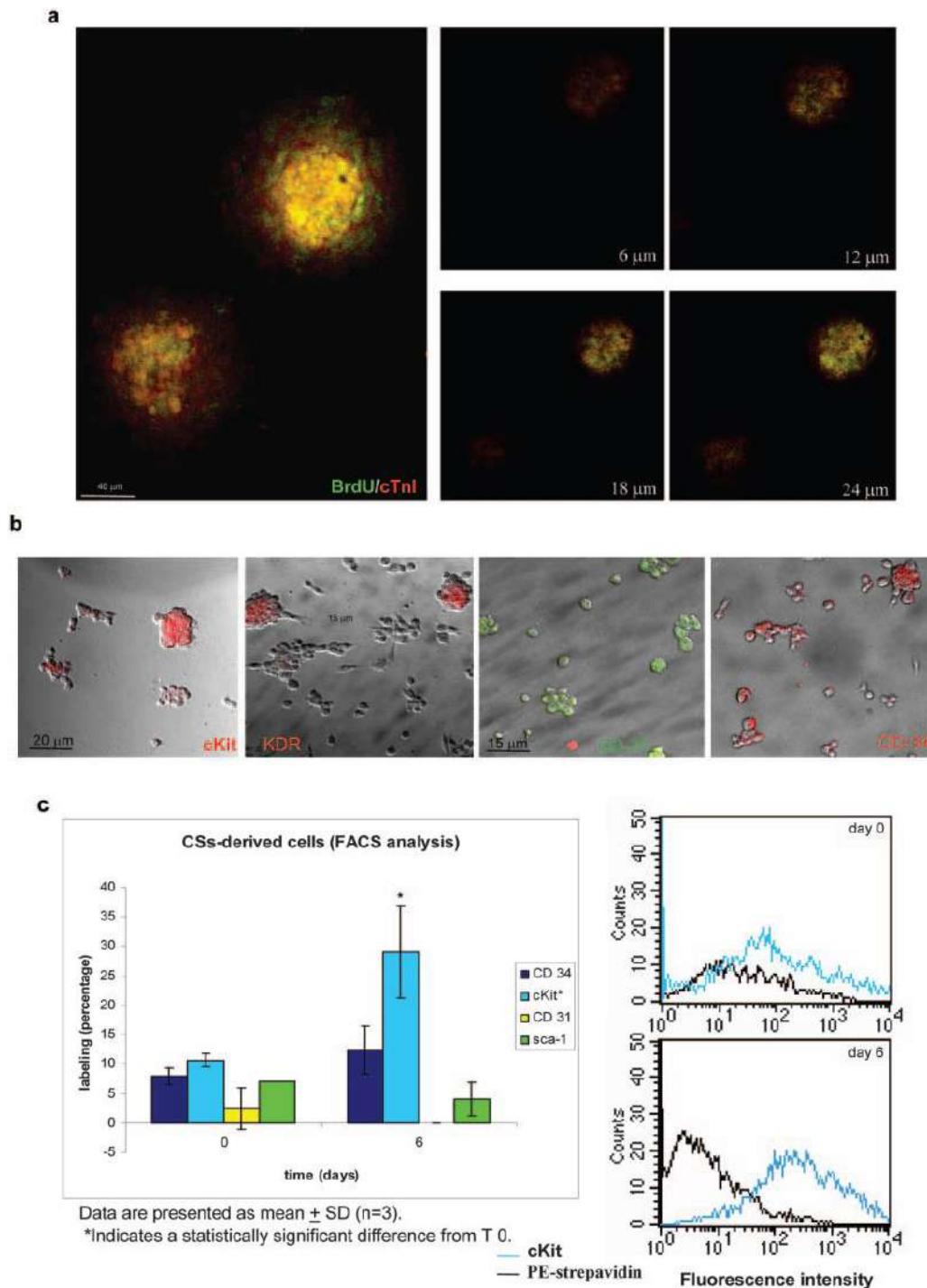
Gambar 3. Pemberian cardiac stem cell (CSC) meningkatkan regenerasi miokard. (A) Potongan transversal antara basis dan apeks ventrikel kiri, menunjukkan suatu infark yang mendapat terapi CSC pada tikus. (*Inset*) Infark miokardium mengalami regenerasi (EGFP dan α -sarcomeric actin, kuning-hijau), (Bars, 1 mm dan 100 μ m). (B) Contoh lain dari infark miokard yang mengalami regenerasi (tanda panah) ditunjukkan sebagai pewarnaan α -sarcomeric actin (merah), kemudian dengan label EGFP (hijau), lalu kombinasi EGFP dan α -sarcomeric actin (kuning-hijau). (C) EGFP^{POS} (hijau) dan α -sarcomeric actin^{POS} (merah), miosit kecil yang baru terbentuk pada regio infark yang mengekspresikan nuklei GATA-4 (putih) dan MEF2C (magenta). (D) EGFP^{POS} (hijau), *cardiacmyosinheavy chain*^{POS} (merah) dari miosit kecil yang baru terbentuk di dalam regio infark yang mengekspresikan connexin-43 membran plasma (magenta, kepala anak panah). (E) Miosit yang baru terbentuk pada miokard LV noninfark yang bertahan hidup (anak panah) diberi label EGFP (hijau), kemudian kombinasi EGFP dan α -sarcomeric actin (kuning-hijau). [Bar (B-E), 10 μ m].

Dikutip dari Dawn B, et al. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102:3766–3771.

2. Jantung Sebuah Organ Mampu Beregenerasi

Pada tahun 2003, Oh et al.,⁴⁴ mengidentifikasi satu populasi sel progenitor jantung Sca-1 yang mengekspresi CD31 bukan c-kit atau *marker progenitor hematopoietic* atau endotel. Ketika disuntikkan secara intravena pada mencit dengan infark miokard, sel ini mampu beregenerasi menjadi

kardiomyosit, dengan atau tanpa fusisel. Messina et al.,⁴⁵ melaporkan penemuan mereka tahun 2004 bahwa cardiosphere (CSC yang berbentuk sferis)⁴⁶ dari jantung mencit dan manusia yang mengekspresikan Sca-1, c-kit, KDR/flk-1 dan CD31 (Gambar 4).⁴⁵



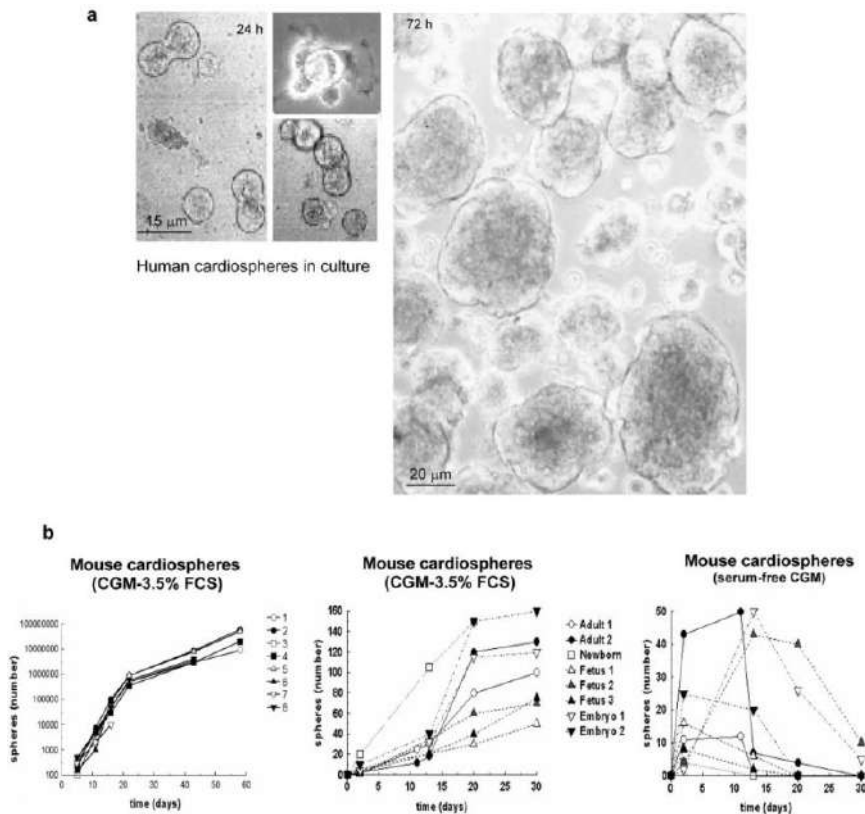
Gambar 4. Karakteristik cardiosphere (CS). A. Analisis dengan konfokal fluoresen pada hCSC dilabel dengan BrdUrd dari perifer ke pusat sferis dan gambar akhir (*image* kecil dan besar) BrdUrd (hijau) dan cTnI (merah). B, Analisis konfokal hCSC setelah kultur 12 jam: sel mengekspresikan CD-34, CD-31, KDR, c-kit pada awal pembentukan bentuk sferis. C. Analisis profil fenotipe ekspresi CD34, cKit, CD-31, and Sca-1 dengan persentasenya pada hari 0 dan 6. Presentasi data mean \pm SD. Dikutip dari Messina E., et. al. Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart. *Circ Res.* 2004; 95:911–921.

Pembelahan sel (mitosis) terjadi dari perkumpulan sel kecil, bulat dan berfase terang (disebut *cardiosphere*, CS) setelah dikultur selama 10-12 jam (Gambar 5a).⁴⁵ Dalam waktu 24 -36 jam ukuran CS bertambah besar dan setelah 48-72 jam, sebagian besar CS berukuran 20-150 µm, dan sel paling besar berisikan zona gelap dalam *inner mass* (Gambar 5a).⁴⁵ *Cardiosphere* ini bersifat klonogenik secara *in vitro* dan memperbaiki jantung mencit secara *in vivo*. Ketika ditumbuhkan pada sel endotel manusia secara *in vitro* menunjukkan positif terhadap c-kit, MDR1, connexin,⁴⁴ dan faktor transkripsi Nkx2-5.⁴⁷ Pada tahun yang sama, Martin⁴⁸ melaporkan identifikasi populasi sel yang mengekspresikan *Abcg2* dari jantung mencit embrio dan dewasa yang mampu mengadakan proliferasi dan diferensiasi menjadi fenotipe kardiomyosit. Populasi sel ini negatif terhadap CD31.⁴⁸

Pfeister et. al., tahun 2005⁴⁹ menguraikan satu populasi sel primitif jantung yang mampu mengefusikan zat warna Hoeschst 33342 (sifat yang sama dengan sel yang diidentifikasi pada organ lain dan dikenal sebagai side-population (SP) cell, karena ekspresi ATP binding cassette transporters. *Cardiac SP cell* (CSP) ini mengekspresikan *Sca-1/CD31*, mampu berdiferensiasi menjadi kardiomyositin *in vitro*,

dan memiliki sifat sel punca (*self renewal* dan klonogenik). Pada tahun yang sama, Laugwitz melaporkan satu populasi sel jantung yang mengekspresikan faktor transkripsi *isl 1* tetapi tidak mengeluarkan zat warna Hoechst 33342 dan tidak mengekspresi c-kit. Sel ini menunjukkan fenotipe kardiomyosit jika dibiakkan bersama kardiomyosit neonatus secara *in vitro* dan menunjukkan sifat elektrik dan kontraktile seperti kardiomyosit neonatus.⁵⁰

Penemuan berbagai *cardiac progenitor cell* (CPC) atau *cardiac stem cell* (CSC) dari berbagai laboratorium yang mencapai satu kesimpulan konsep yang sama merupakan suatu terobosan dalam biologi jantung, yang juga menyangkal bahwa jantung adalah organ terdiferensiasi terminal. Hal ini berarti bahwa dengan penemuan ini mendukung paradigma baru bahwa jantung adalah organ yang bersifat *self-renewal*, sangat dinamik³¹ dalam pergantian miosit secara terus menerus.³⁹ Pergantian sel miosit baru yang lambat mungkin merupakan alasan mengapa proses regenerasi ini tidak dikenal sebelumnya. Jumlah *progenitor* dan *cycling cell* di dalam jantung sangat sedikit sehingga sangat sulit mendeteksinya. Revolusi *cardiac progenitor cell* menunjukkan bahwa jantung tidak berbeda dengan organ lain, yang memiliki kemampuan untuk beregenerasi.



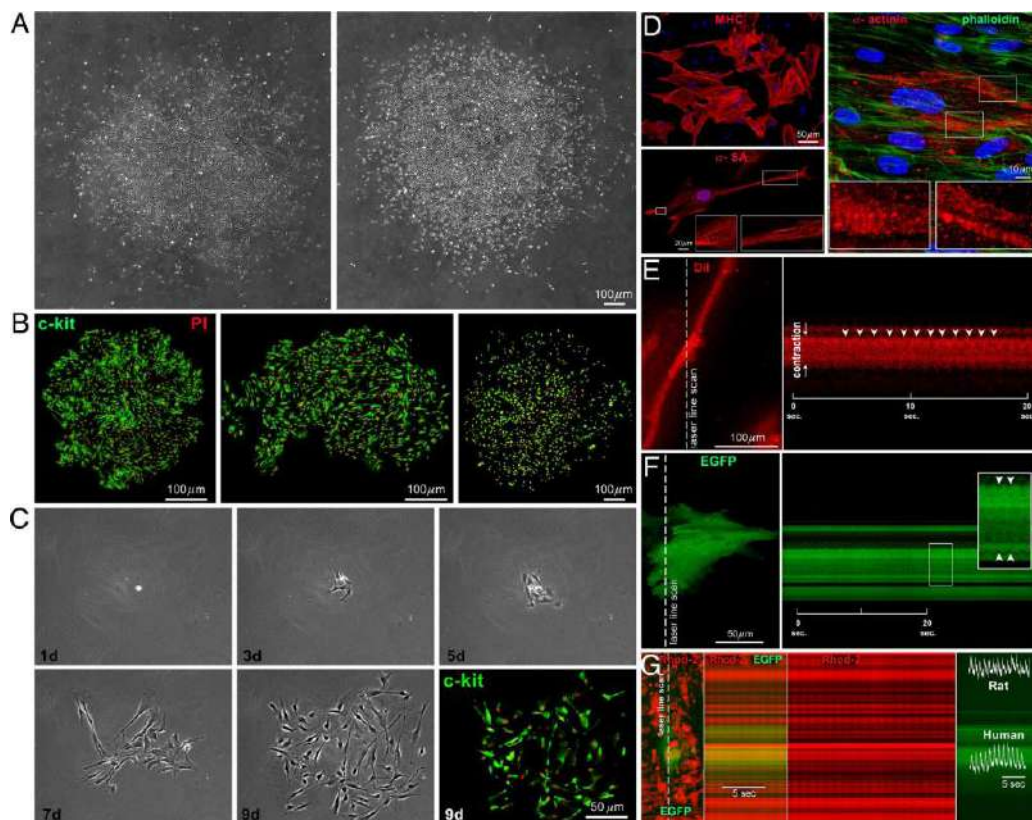
Gambar 5. Proliferasi *cardiosphere* (CS). Gambar phase micrograph CS dikultur selama 24-48 jam dari kultur primer hasil sampel biopsi atrium manusia. B, Kurva CS manusia dan mencit (kiri) dari jantung prenatal dan postnatal (tengah dan kanan), dengan (tengah) atau tanpa (kanan) serum 3,5%. Kurva menunjukkan CS yang meningkat tajam dengan serum dan menurun tanpa serum.

Dikutip dari Messina E., et. al. Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart. *Circ Res.* 2004; 95:911-921.

Dari hasil penelitian tersebut, timbul pertanyaan darimana sumber CPC? dan bagaimana kinetiknya? Dengan menggunakan *enhanced green fluorescent protein* (EGFP) pada kimerik mencit, Mouquet et. al., menunjukkan bahwa pada keadaan normal, pool CPC berada di dalam jantung tanpa kontribusi dari sel sumsum tulang. Namun, setelah infark miokard, CSP berkurang dan mencapai jumlah pada baseline melalui proliferasi residen CSP dan homing CD 45+ dari sel sumsum tulang. Setelah homing ke jantung yang mengalami infark, sel sumsum tulang mengalami perubahan fenotipe dengan hilangnya antigen CD45+. Pengamatan ini juga menunjukkan pertama kali bahwa CPC bisa berasal dari sumber di luar jantung yakni sel sumsum tulang.⁵¹

Pada tahun 2007 kelompok Anversa⁵² mengidentifikasi secara *in vitro* CPC manusia yang memiliki sifat dasar sel punca; self renewing, klonogenik, dan multipoten. Human cardiac progenitor cell (hCPC) ini terutama berdiferensiasi menjadi kardiomyosit, sel otot polos, dan sel endotel dalam jumlah lebih kecil. Jika sel ini disuntikkan ke

dalam bagian infark miokardium dari mencit dan tikus dengan immunodefisiensi, hCPC menghasilkan kimerik di dalam jantung, arteriole, dan kapiler. Secara struktural dan fungsional sel ini berintegrasi ke dalam miokardium hewan rodensia dan meningkatkan performan miokardium. Klonogenisitas hCSC terutama terjadi pada sel primitif (Gambar 6A, 6B, 6C) tanpa marker hematopoietik, KDR, faktor transkripsi dan protein sitoplasma dari sel jantung. Pada medium diferensiasi, hCSC menghasilkan miosit, SMC (Smooth Muscle Cell) dan EC (Endothelial Cell) (Gambar 6D). Miosit yang sedang berkembang mempunyai striae sarkomer (Gambar 6D) dan setelah mendapat stimulasi elektrik, menunjukkan aktivitas kontraksi (Gambar 6E).⁵² Dalam kultur bersama dengan miosit tikus neonatus, terjadi pemendekan miosit dengan EGFP (Gambar 6F). Kalsium dideteksi dengan Rhod-2 dijumpai pada miosit EGFP positif dan miosit tikus dengan EGFP negatif. Jadi, hCSC membentuk klon multiseluler dan berdiferensiasi menjadi miosit yang dapat berkontraksi.



Gambar 6. Klonogenisitas hCSC secara *in vitro*. (A-C) Dalam waktu dua sampai tiga minggu terbentuk klon multiseluler dari satu hCSC (c-kit, warna hijau), yang diisolasi dengan enzymatic digestion (A dan C) atau primary explants (B). Jumlah sel meningkat sejalan dengan waktu seperti tertera pada gambar bagian bawah (d, day), dilihat dengan mikroskop fase kontras dan mikroskop konfokal (C). (D) hCSC menghasilkan miosit positif atau cardiac myosin heavy-chain (MHC), α -SA dan α -cardiac actinin (α actinin). Tampak sarkomer (dalam kotak kecil); phalloidin, hijau (Kiri). (E) pemendekan miosit pada sel dari hCSC direkam dengan mikroskop foton dan laser line imaging (Kiri). Terlihat *line scan* (Kanan), dan kepala anak panah menunjukkan kontraksi sel. (F) Miosit berasal dari hCSC dengan EGFP positif, dikultur bersama dengan miosit neonatus. Miosit dengan EGFP positif memendek (kepala anak panah) dengan stimulasi elektrik. (G) Transien kalsium di dalam miosit EGFP positif dan EGFP negatif miosit tikus (indikator kalsium dengan Rhod-2).
 Dikutip dari Bearzi C, et al., *Human cardiac stem cells. Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007; 104:14068–14073.

Penelitian Kubo et. al.,⁵³ mendapatkan bahwa c-kit+ CPC 4 kali lebih banyak pada pasien dengan gagal jantung dibandingkan dengan jantung normal (Gambar 7).⁵³ Sel c-kit CPC yang dianalisis terutama mengandung CD45+. Kapasitas daya regenerasi c-kit CPC diuji dengan kultur sel yang mengekspresikan Green Fluorescent Protein (GFP) bersama dengan kultur NRVM (Neonatal Rat Ventricular Myocytes). Terdapat fraksi sel GFP yang mengandung Ki67, berarti adanya aktivitas siklus sel (Gambar 7A) dan (Gambar 7B). Perwarnaan terhadap Nkx2.5 pada sel GFP menunjukkan komitmen sel kardiomyosit, walaupun sel ini relatif tidak berdiferensiasi (Gambar 7C) (Gambar 7D).⁵³

Pada jantung normal Hsieh et. al., mendapatkan bahwa *stem cell marker* c-kit sangat rendah jumlahnya (0,004% dalam sel kardiomyosit). Namun pada keadaan infark miokard atau peningkatan muatan tekanan, terjadi peningkatan pergantian kardiomyosit endogen.⁵⁴

DAYA REGENERASI RESIDENT CARDIAC STEM CELL ATAU CARDIAC PROGENITOR CELL (CPC) MANUSIA (hCPC)

Pada keadaan gagal jantung iskemik akut atau kronik, terjadi pembentukan miosit yang terbatas pada regio dinding ventrikel yang tidak mengalami infark. Regenerasi spontan terjadi pada area kecil jaringan yang mengalami infark segera setelah proses iskemik. Sel primitif mengekspresikan reseptor untuk *stem cell factor*, c-kit dapat dideteksi. Hal ini menunjukkan kemungkinan ini didapati pada jantung manusia yang normal atau patologis.

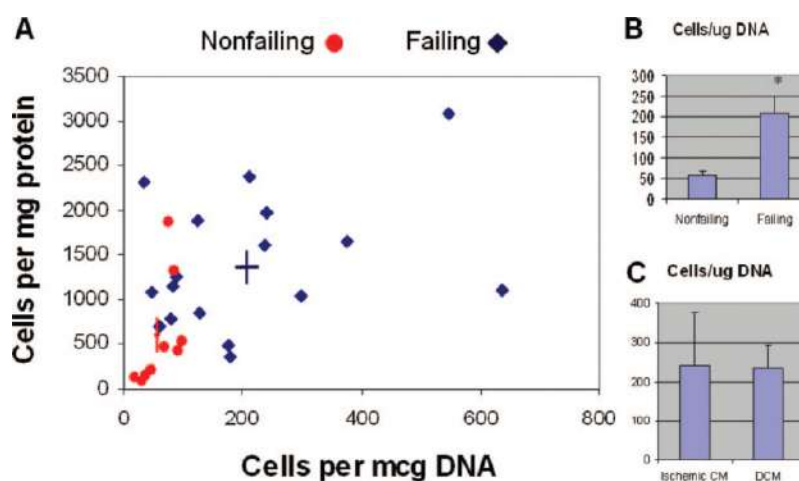
Secara *in vivo*, hCPC (human cardiac progenitor cell) dapat menghasilkan kardiomyosit dan pembuluh darah koronaria pada jantung mencit atau tikus,

membentuk organ kimerik yang berarti pula bahwa hCPC berperan dalam homeostasis dan repair organ (Gambar 8A-C).⁵² Memahami mekanisme homeostasis jantung berimplikasi terhadap potensi proses perbaikan setelah terjadi injuri.

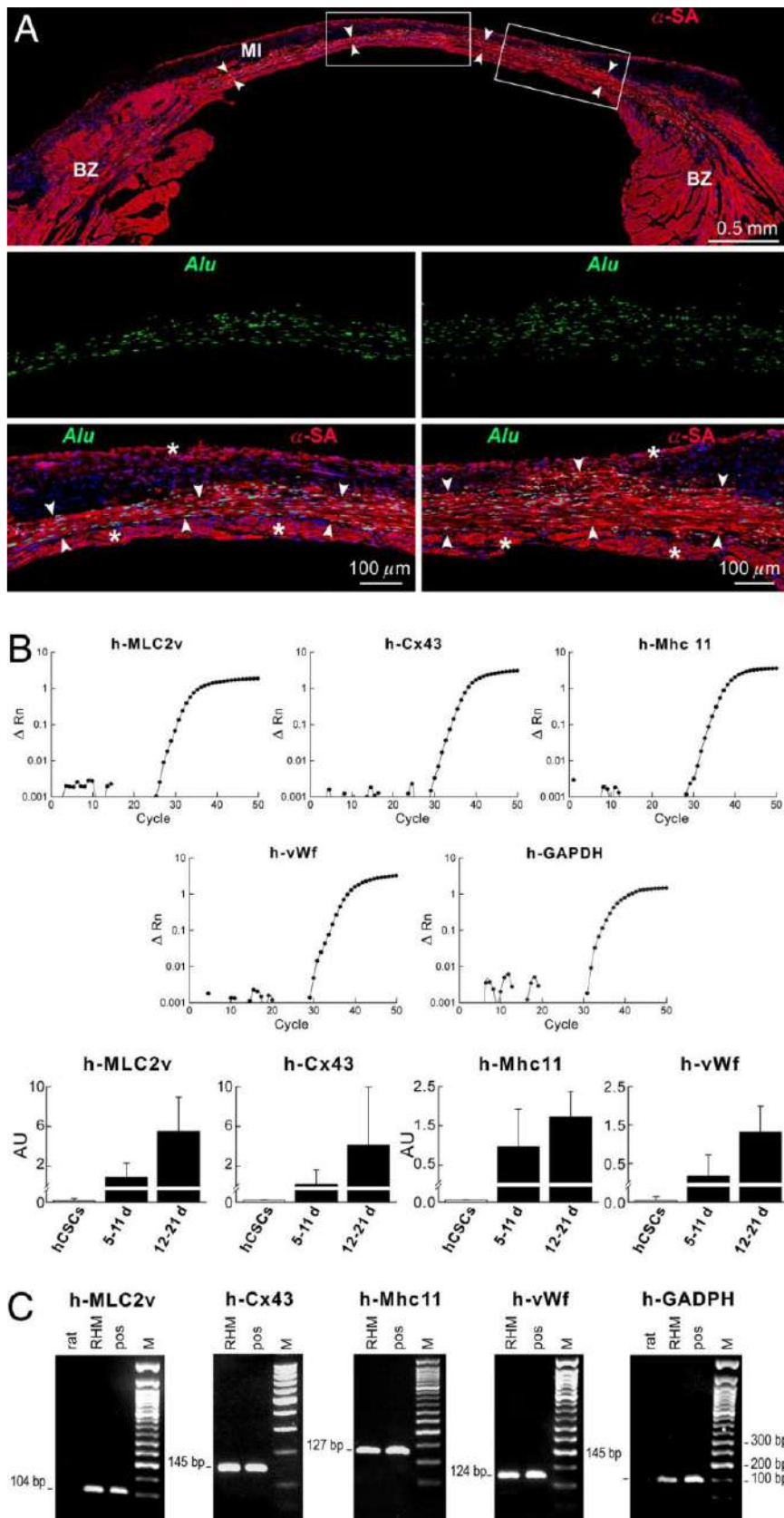
Sel-sel primitif yang positif terhadap c-kit, MDR1, atau Sca-1 reactive protein, yaitu putative cardiac stem cell. Adanya stem cell antigen dan ekspresi cardiac transcription factor GATA-4 dan myocyte transcription factor MEF2 masing-masing diidentifikasi sebagai putative cardiac dan myocyte progenitor. Cluster dari sel primitif, progenitor dan prekursor yang tidak berdiferensiasi atau berdiferensiasi dini banyak dijumpai pada pasien dengan stenosis aorta yang menyebabkan hipertrofi miokardium (Gambar 9A-C).²⁶

DISTRIBUSI CARDIAC PROGENITOR CELL (CPC) DALAM NICHES

Sel punca memiliki mekanisme pertahanan seluler yang kuat, sehingga terlindung pada satu struktur khusus, dikenal sebagai *niches*. *Niches* adalah suatu kelompok sel jaringan dan substrat ekstraseluler yang secara *in vivo* menopang eksistensi sel punca di dalam kondisi tidak terdiferensiasi. Karena itu, *stem cell niches* memberikan suatu lingkungan mikro (*microenvironment*) untuk mempertahankan potensi ketahanan hidup dan replikasi.⁵⁵ Dengan kata lain *stem cell niches* yang tersusun oleh *microenvironment cells* memberikan pertumbuhan dan memungkinkan terpelihara homeostasis jaringan, dengan mempertahankan suatu keseimbangan antara *stem cell* yang tidak aktif dan beraktivitas.⁵⁶ *Myocardial niches* banyak terdistribusi di atrium dan apeks (Gambar 10).⁵⁵ Lokasi *niches* ini secara anatomi sangat terproteksi dari muatan hemodinamik dan *wall stress*.

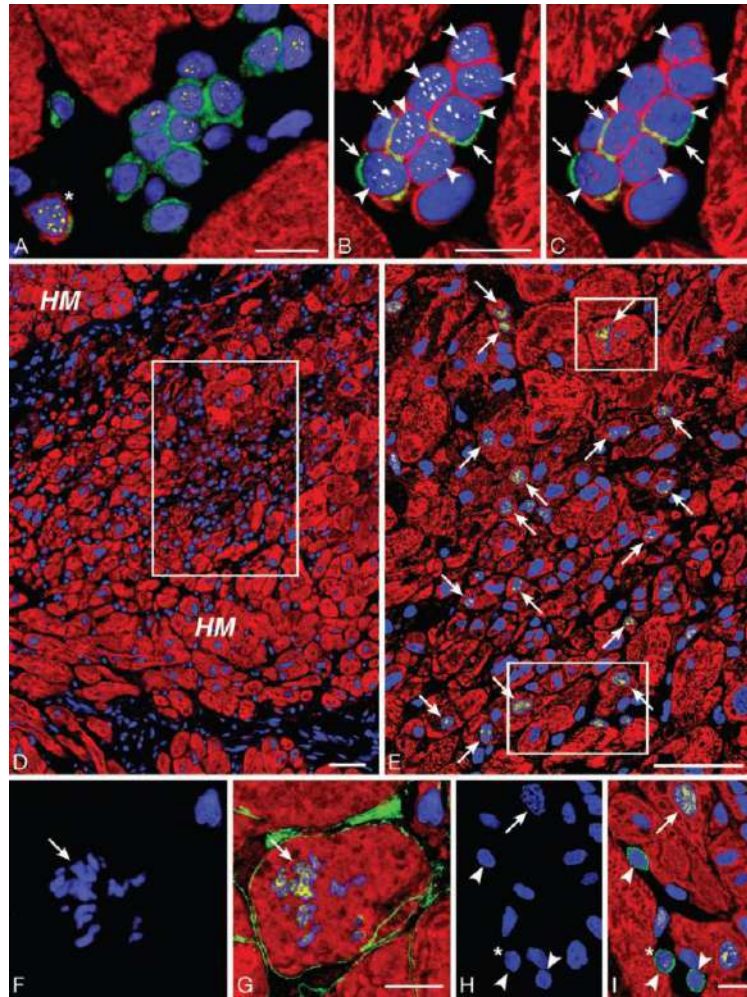


Gambar 7. Sel c-kit CPC dari miokardium manusia. A. Hasil isolasi sel dinyatakan dalam isi DNA (sumbu x) dan isi protein (sumbu y). B. Perbandingan sel c-kit pada jantung normal dan gagal jantung. C. Perbandingan jumlah c-kit pada jantung pasien dengan kardiomiopati iskemik vs *idiopathic dilated cardiomyopathy*. Data dalam mean ± SEM. P<0.005. Dikutip dari Kubo H, et. al., *Increased cardiac myocyte progenitors in failing human hearts*. *Circulation*. 2008; 118:649-657.

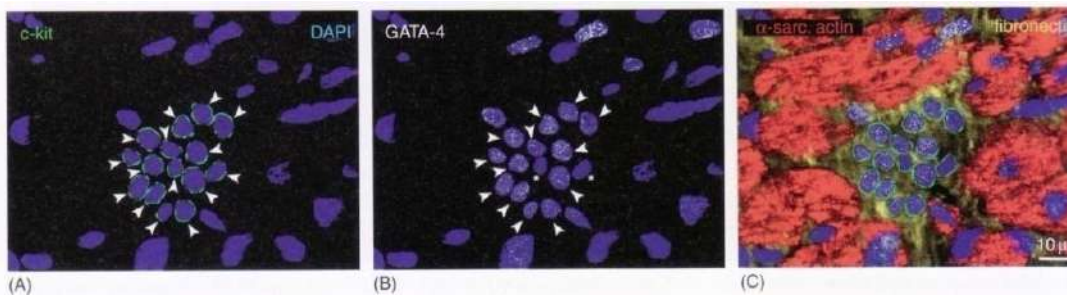


Gambar 8. hCPC melakukan regenerasi miokardium. (A) Jantung mencit 21(dua puluh satu) hari setelah infark dan injeksi hCPC manusia (kepala anak panah) terlihat di daerah infark, zona pembatas. Miosit manusia adalah α -SA (merah) dan Alu (hijau) positif. Tanda bintang menunjukkan miosit yang hidup. (B) Ekspresi gen manusia dengan RT-PCR pada tikus yang diobati pada hari 5-11 dan hari 12-21. Klonogenisitas hCSC digunakan sebagai pembandingan transkrip manusia. (C) Elektroforesis produk RT-PCR.

Dikutip dari Bearzi C, et al. *Human cardiac stem cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007;104:14068–14073.*



Gambar 9. Pertumbuhan yang intens pada jantung hipertrofi. (A) Kelompok sel c-kit positif (hijau dikelilingi miosit (merah). Beberapa nuklei mengekspresikan GATA-4 (kuning). Satu sel mempunyai satu lapis miosit sitoplasma yang tipis (miosin, merah, tanda bintang). (B dan C) Kelompok kedua dari sembilan sel kecil dengan satu cincin sitoplasma miosit (miosin, merah). Tiga dari sel ini mengekspresikan c-kit (hijau, tanda panah) dan tujuh (kepala anak panah) mengekspresikan telomere (B, putih) dan MCM5 (C, nila). (D) Cluster (Persegi panjang) dari miosit yang kurang berdiferensiasi di dalam hypertrophic myocardium (HM). Miosit dilabel dengan cardiac myosin (merah) dan nuclei propium iodide (biru). Kotak persegi panjang menunjukkan pembesaran pada E, dengan label Ki67 pada sejumlah nuklei yang besar (tanda panah). Dua kotak persegi panjang yang kecil diperbesar pada F-I. Nukleus mitotik dengan kromosom metaphase (F dan G, panah) positif untuk Ki67 (I, kuning, tanda panah). Sel positif c-kit (I, hijau, kepala anak panah) dekat dengan miosit mitotik. Salah satu menunjukkan Ki67 (I, kuning, tanda bintang). (Bar = 10µm pada A-C, dan F-I; bar = 50 µm pada D dan E).
 Dikutip dari Urbanek K, et al. *Intense myocyte formation from cardiac stem cells in human cardiac hypertrophy. Proc Natl Acad Sci USA. 2003; 100: 10440–10445.*



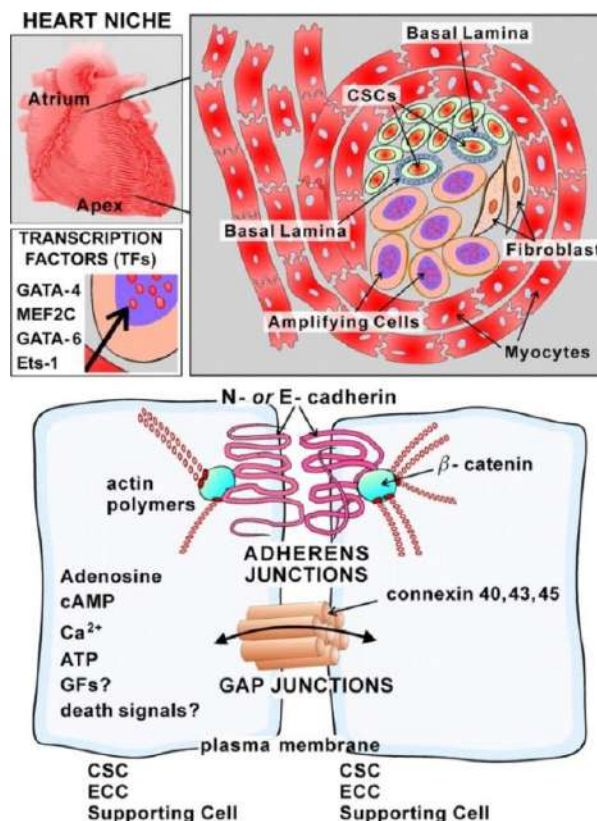
Gambar 10. Niches terdistribusi di atrium pada jantung tikus dewasa. Suatu kumpulan (cluster) CPC terdiri dari 15 c-kit positif: (A : hijau, kepala anak panah); 13 diantaranya mengekspresikan GATA-4 (B, putih). Tanda bintang menunjukkan dua sel GATA-4 negatif. Sel di dalam niches tersimpan di dalam fibronektin (C, kuning). Miosit dapat dikenal dengan α -sarcomeric actin (C).
 Dikutip dari Leri A, Anversa P, Kajstura J. *Stem cells and heart disease. In: Lanza R eds. Essential of stem cell biology. 2nd ed., 2009 Elsevier Inc. 529-542.*

CPC terkumpul berdekatan dengan miosit dan fibroblast di dalam interstisium miokardium pada jantung dewasa. CPC, miosit dan fibroblast dihubungkan oleh persambungan adheren yang mengekspresikan N- dan E-cadherin, dan *gap junction* yang mengekspresikan connexin-43 dan 45 yang dapat diidentifikasi dengan pewarnaan *intercellular calcein dye transfer*. Miosit dan fibroblast sebagai sel penunjang di dalam *niches* kardiak. *Microenvironment* yang mengelilingi populasi sel dari *niches* terdiri dari fibronektin dan α 2-laminin (Gambar 10).⁵⁵ Jadi, *niches* kardiak memberikan suatu milieu bagi tempat, daya tahan hidup dan pertumbuhan CPC.⁵⁵ Hal ini menunjukkan bahwa jantung adalah suatu organ *self-renewing* yang diatur oleh kompartemen stem cell (Gambar 11).⁵⁷

Cadherin adalah *calcium-dependent transmembrane adhesion molecules*, memiliki fungsi ganda; melekatkan sel punca di dalam *microenvironment* dan meningkatkan interaksi antara sel punca dengan sel penunjang. Pelekatan sel punca bergantung pada reseptor integrin yang mengikat sel pada lamina basal yang terdiri dari matriks ekstraseluler. Peningkatan level integrin adalah ciri khas sel punca. Integrin dan *adherent junction* memegang peranan penting di dalam

mempertahankan perlekatan dan status sel punca dan *early committed cells* di dalam organ (Gambar 11).⁵⁷ Tanpa integrin, sel meninggalkan *niche* melalui diferensiasi atau apoptosis.^{58, 59, 60, 61} Kemampuan sel dalam keadaan tidak terdiferensiasi, berproliferasi, atau berdiferensiasi bergantung pada ekspresi beberapa faktor transkripsi yang ada di dalamnya. Hal ini dapat berasal dari sumber intrinsik atau ekstrinsik, atau kombinasi kedua faktor ini (yaitu, signal positif dan negatif yang diterima dari sitokin dan reseptor lain).⁵⁷

Jumlah *niches* meningkat sesuai dengan kebutuhan antara stresor perkembangan dan lingkungan di sepanjang hidup. *Niches* mampu mengatasi kebutuhan setelah kehilangan satu jenis sel tertentu.⁶² Homeostasis *niches* kardiak dimediasi oleh pembelahan CPC secara asimetrik dan simetrik. Pembelahan asimetrik merupakan bentuk replikasi CPC yang dominan pada jantung mencit muda; sekitar 60-70% dari proliferasi CPC.⁵⁵ Hal ini menyebabkan jumlah CPC yang berada di dalam *niches* tetap konstan. Mekanisme *self-renewal* ini adalah untuk mempertahankan *stem cell pool* dalam keadaan kebutuhan fisiologik dan patologik.⁵⁵



Gambar 11. Representasi *niches* CSC. *Niches* jantung terutama didapati pada bagian atrium dan apeks, terdiri dari miosit terdiferensiasi mengelilingi kumpulan CSC dan sel yang mempunyai daya pembelahan yang tinggi. *Amplifying cell* adalah *committed cell* yang mengekspresikan faktor transkripsi jantung (GATA-4), miosit (MEF2C), sel otot polos (GATA-6), dan sel endotel (Ets1) lineages. Interaksi antara CSC, early committed cell (ECC), dan sel penunjang terjadi pada junctional protein (cadherin dan connexin).

Dikutip dari Leri A, Kajstura J, Anversa P. Cardiac stem cells and mechanisms of myocardial regeneration. *Physiol Rev.* 2005; 85:1373–1416.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kajstura J, Hosoda T, Bearzi C, Rota M, Maestroni S, Urbanek K, Leri A, Anversa P. The human heart: A self-renewing organ. *CTS* 2008; 1: 80-86.
2. Morkin E, Ashford TP. Myocardial DNA synthesis in experimental cardiac hypertrophy. *Am J Physiol.* 1968; 215: 1409-1413.
3. Grove D, Nair KG, Zak R. Biochemical correlates of cardiac hypertrophy, III: changes in DNA content: the relative contributions of polyploidy and mitotic activity. *Circ Res.* 1969; 25: 463-471.
4. Grove D, Zak R, Nair KG, Aschenbrenner V. Biochemical correlates of cardiac hypertrophy, IV: observation on the cellular organization of growth during myocardial hypertrophy in the rat. *Circ Res.* 1969; 25: 473-485.
5. Soonpaa, M. H. & Field, L. Assessment of cardiomyocyte DNA synthesis during hypertrophy in adult mice. *Am J Physiol.* 1994; 266: H1439-H1445.
6. Kajstura J, Leri A, Finato N, Di Loreto C, Beltrami CA, Anversa P. Myocyte proliferation in end-stage cardiac failure in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998; 95: 8801-8805.
7. Zak R. Development and proliferative capacity of cardiac muscle cells. *Circ Res.* 1974; 35: 17-26.
8. Leri A, Kajstura J, Anversa P. Cardiac stem cells and mechanisms of myocardial regeneration. *Physiol Rev.* 2005; 85: 1373-1416.
9. Anversa P, Kajstura J, Leri A, Bolli R. Life and death of cardiac stem cells. A paradigm shift in cardiac biology. *Circulation.* 2006; 113: 1451-1463.
10. Pasumarthi KB, Field LJ. Cardiomyocyte cell regulation. *Circ Res.* 2002; 90: 1044-1054.
11. Field L J. Modulation of the cardiomyocyte cell cycle in genetically altered animals. *Ann NY Acad Sci.* 2004; 1015: 160-170.
12. Linzbach, A. J. (1960) *Am. J. Cardiol.* 5:370-382.
13. Quaini, F., Cigola, E., Lagrasta, C., Sacconi, G., Quaini, E., Rossi, C., Olivetti, G. & Anversa, P. *Circ. Res.* 1994; 75: 1050-1063.
14. Grajek, S., Lesiak, M., Pyda, M., Zajac, M., Paradowski, S. Kaczmarek, E. (1993) *Eur. Heart J.* 14:40-47.
15. Olivetti, G., Melissari, M., Balbi, T., Quaini, F., Sonnenblick, E. H. & Anversa, P. (1994) *J. Am. Coll. Cardiol.* 24: 140-149.
16. Baserga, R. (1985) in *The Biology of Cell Reproduction* (Harvard Univ. Press, Cambridge, MA), pp. 22-59.
17. Anversa P, Leri A, and Kajstura J. Cardiac regeneration. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006; 47: 1769-1776.
18. Anversa P, Olivetti G. Cellular basis of physiologic and pathologic myocardial growth. In: Page E, Fozzard HA, Solaro RJ, editors. *Handbook of Physiology; Vol. I: The Cardiovascular System; Section 2: The Heart.* New York, NY: Oxford University Press, 2001; 75-144.
19. Olivetti G, Abbi R, Quaini F, Kajstura J, Cheng W, Nitahara JA, Quaini E, Di Loreto C, Beltrami CA, Krajewski S, Reed JC, Anversa P. Apoptosis in the failing human heart. *N Engl J Med.* 1997; 336: 1131-1141.
20. Guerra S, Leri A, Wang X, Finato N, Di Loreto C, Beltrami CA, Kajstura J, Anversa P. Myocyte death in the failing human heart is gender dependent. *Circ Res.* 1999; 85: 856-866.
21. Caulfield JB, Leinbach R, Gold H. The relationship of myocardial infarct size and prognosis. *Circulation* 1976; 53: 1141-4.
22. Murry CE, Reinecke H, Pabon LM. Regeneration gaps. Observations on stem cells and cardiac repair. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006; 47: 1777-85.
23. Page DL, Caulfield JB, Kastor JA, DeSanctis RW, Sanders CA. Myocardial changes associated with cardiogenic shock. *N Engl J Med.* 1971; 285: 133-137.
24. Kajstura J, Leri A, Finato N, Di Loreto C, Beltrami CA, Anversa P. Myocyte proliferation in end-stage cardiac failure in humans. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998; 95: 8801-8805.
25. Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, Yan SM, Finato N, Bussani R, Nadal-Ginard B, Silvestri F, Leri A, Beltrami CA, Anversa P. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2001; 344: 1750-1757.
26. Urbanek K, Quaini F, Tasca G, Torella D, Castaldo C, Nadal-Ginard B, Leri A, Kajstura J, Quaini E, Anversa P. Intense myocyte formation from cardiac stem cells in human cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100: 10440-10445.
27. Bullwinkel J, Baron-Lühr B, Lüdemann A, Wohlenberg C, Gerdes J, Scholzen T. Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells. *J Cell Physiol.* 2006; 206: 624-635.
28. Endl E, Kausch I, Baack M, Knippers R, Gerdes J, Scholzen T. The expression of Ki-67, MCM3, and p27 defines distinct subsets of proliferating, resting, and differentiated cells. *J Pathol.* 2001; 195: 457-462.
29. Kajstura J, Zhang X, Reiss K, Szoke E, Li P, Lagrasta C, Cheng W, Darzynkiewicz Z, Olivetti G, Anversa P. Myocyte cellular hyperplasia and myocyte cellular hypertrophy contribute to chronic ventricular remodeling in coronary artery narrowing-induced cardiomyopathy in rats. *Circ Res.* 1994; 74: 383-400.
30. Mathur A, Martin JF. Stem cells and repair of the heart. *Lancet* 2004; 364: 183-92.
31. Anversa P, Kajstura J, Leri A, Bolli R. Life and death of cardiac stem cells: A paradigm shift in

- cardiac biology. *Circulation*. 2006; 113: 1451-1463.
32. Urbanek K, Rota M, Cascapera S, Bearzi C, Nascimbene A, De Angelis A, Hosoda T, Chimenti S, Baker M, Limana F, Nurzynska D, Torella D, Rotatori F, Rastaldo R, Musso E, Quaini F, Leri A, Kajstura J, Anversa P. Cardiac stem cells possess growth factor-receptor systems that following activation regenerate the infarcted myocardium improving ventricular function and long-term survival. *Circ Res*. 2005; 97: 663-673.
 33. Linke A, Muller P, Nurzynska D, Casarsa C, Torella D, Nascimbene A, Castaldo C, Cascapera S, Bohm M, Quaini F, Urbanek K, Leri A, Hintze TH, Kajstura J, Anversa P. Stem cells in the dog heart are self-renewing, clonogenic, and multipotent and regenerate infarcted myocardium, improving cardiac function. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102: 8966-8971.
 34. Urbanek K, Rota M, Cascapera S, Bearzi C, Nascimbene A, De Angelis A, Hosoda T, Chimenti S, Baker M, Limana F, Nurzynska D, Torella D, Rotatori F, Rastaldo R, Musso E, Quaini F, Leri A, Kajstura J, Anversa P. Cardiac stem cells possess growth factor-receptor systems that following activation regenerate the infarcted myocardium improving ventricular function and long-term survival. *Circ Res*. 2005; 97: 663-673.
 35. Leri A, Franco S, Zacheo A, Barlucchi L, Chimenti S, Limana F, Nadal-Ginard B, Kajstura J, Anversa P, Blasco MA. Ablation of telomerase and telomere loss leads to cardiac dilatation and heart failure associated with p53 upregulation. *EMBO J*. 2003; 22: 131-139.
 36. Soti C, Sreedhar AS, Csermely P. Apoptosis, necrosis and cellular senescence: chaperone occupancy as a potential switch. *Aging Cell*. 2003; 2: 39-45.
 37. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, Baker M, Limana F, Chimenti S, Kasahara H, Rota M, Musso E, Urbanek K, Leri A, Kajstura J, Nadal-Ginard B, Anversa P. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*. 2003; 114:763-776.
 38. Schudt AJ, Rosen MR, Gaudette GR, Cohen GR. Repairing damaged myocardium: evaluating cells used for cardiac regeneration. *Curr Treat Option Cardiovasc Med* 2008; 10: 59-72.
 39. Dawn B, Bolli R. Cardiac progenitor cells: the revolution continues. *Circ. Res.*2005; 97: 1080-1082.
 40. van Laake LW, Hassink R, Doevendans PA, Mummery C. Heart repair and stem cells. *J Physiol* 2006; 577: 467-478.
 41. Dawn B, Stein AB, Urbanek K, Rota M, Whang B, Rastaldo R, Torella D, Tang XL, Rezazadeh A, Kajstura J, Leri A, Hunt G, Varma J, Prabhu SD, Anversa P, Bolli R. Cardiac stem cells delivered intravascularly traverse the vessel barrier, regenerate infarcted myocardium, and improve cardiac function. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102: 3766-3771.
 42. Limana F, Zacheo A, Mocini D, Mangoni A, Borsellino G, Diamantini A, De Mori R, Battistini L, Vigna E, Santini M, Loiaconi V, Pompilio G, Germani A, Capogrossi MC. Identification of Myocardial and Vascular Precursor Cells in Human and Mouse Epicardium *Circ. Res.*, Dec 2007; 101: 1255 - 1265.
 43. Urbanek K, Torella D, Sheikh F, De Angelis A, Nurzynska D, Silvestri F, Beltrami CA, Bussani R, Beltrami AP, Quaini F, Bolli R, Leri A, Kajstura J, Anversa P. Myocardial regeneration by activation of multipotent cardiac stem cells in ischemic heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102: 8692-8697.
 44. Oh H, Bradfute SB, Gallardo TD, Nakamura T, Gaussin V, Mishina Y, Pocius J, Michael LH, Behringer RR, Garry DJ, Entman ML, Schneider MD. Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100: 12313-12318.
 45. Messina E, De Angelis L, Frati G, Morrone S, Chimenti S, Fiordaliso F, Salio M, Battaglia M, Latronico MV, Coletta M, Vivarelli E, Frati L, Cossu G, Giacomello A. Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart. *Circ Res*. 2004; 95: 911-921.
 46. Santini MP, Poudel B, Rosenthal N. Stem cells and the regenerating heart. In Lanza R, et.al. editors: *Essentials of stem cell biology*. 2nd ed. 2009 Elsevier Inc. Canada. 259-263.
 47. Smith RR, Barile L, Cho HC, Abraham MR, Messina E, Giacomello A, Marban E. Unique phenotype of cardiospheres derived from human endomyocardial biopsies. *Circulation*.2005; 112(suppl II): II-51.
 48. Martin CM, Meeson AP, Robertson SM, Hawke TJ, Richardson JA, Bates S, Goetsch SC, Gallardo TD, Garry DJ. Persistent expression of the ATP-binding cassette transporter, *Abcg2*, identifies cardiac SP cells in the developing and adult heart. *Dev Biol*. 2004; 265: 262-275.
 49. Pfister O, Mouquet F, Jain M, Summer R, Helmes M, Fine A, Colucci WS, Liao R. CD31- but not CD31-cardiac side population cells exhibit functional cardiomyogenic differentiation. *Circ Res*. 2005; 97: 52-61.
 50. Laugwitz KL, Moretti A, Lam J, Gruber P, Chen Y, Woodard S, Lin LZ, Cai CL, Lu MM, Reth M, Platoshyn O, Yuan JX, Evans S, Chien KR. Postnatal isl1- cardioblasts enter fully differentiated cardiomyocyte lineages. *Nature*. 2005; 433: 647-653.
 51. Mouquet F, Pfister O, Jain M, Oikonomopoulos A, Ngoy S, Summer R, Fine A, Liao R. Restoration of cardiac progenitor cells following myocardial infarction by self-proliferation and selective homing of bone marrow-derived stem cells. *Circ Res*. 2005; 97: 1090-1092.
 52. Bearzi C, Rota M, Hosoda T, Tillmanns J, Nascimbene A, De Angelis A, Yasuzawa-Amano

- S, Trofimova I, Siggins RW, Lecapitaine N, Cascapera S, Beltrami AP, D'Alessandro DA, Zias E, Quaini F, Urbanek K, Michler RE, Bolli R, Kajstura J, Leri A, Anversa P. Human cardiac stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007; 104: 14068–14073.
53. Kubo H, Jaleel N, Kumarapeli A, Berretta RM, Bratinov G, Shan XJ, Wang HM, Houser SR, Margulies KB. Increased cardiac myocyte progenitors in failing human hearts. *Circulation*. 2008; 118: 649-657.
 54. Hsieh PC, Segers VF, Davis ME, Macgillivray C, Gannon J, Molkentin JD, Robbins J, Lee RT. Evidence from a genetic fate-mapping study that stem cells refresh adult mammalian cardiomyocytes after injury. *Nature Med*. 2007; 13: 970–974.
 55. Leri A, Anversa P, Kajstura J. Stem cells and heart disease. In : Lanza R eds. *Essential of stem cell biology*. 2nd ed. 2009 Elsevier Inc. 529-542.
 56. Moore KA, Lemischka IR. Stem cells and their niches. *Science* 2006; 311: 1880-1885.
 57. Leri A, Kajstura J, Anversa P. Cardiac stem cells and mechanisms of myocardial regeneration. *Physiol.Rev*. 2005; 85: 1373-1416.
 58. Preston SL, Alison MR, Forbes SJ, Direkze NC, Poulosom R, Wright RA. The new stem cell biology: something for everyone. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 2003;56:86–96.
 59. Cross MA, Enver T. The lineage commitment of haemopoietic progenitor cells. *Curr Opin Genet Dev* 1997; 7: 609–13.
 60. Jensen UB, Lowell S, Watt FM. The spatial relationship between stem cells and their progeny in the basal layer of human epidermis: a new view based on whole-mount labelling and lineage analysis. *Development* 1999; 126: 2409–18.
 61. Quesenberry PJ, Becker PS. Stem cell homing: rolling, crawling, and nesting. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 15155-7.
 62. Nishimura EK, Jordan SA, Oshima H, et al. Dominant role of the niche in melanocyte stem-cell fate determination. *Nature* 2002; 416: 854–60.

PLASTISITAS SEL PUNCA

- **PENDAHULUAN**
- **APA ITU SEL PUNCA (STEM CELL)?**
- **FENOMENA PLASTISITAS SEL PUNCA**
- **MEKANISME PLASTISITAS SEL PUNCA**
- **PERBAIKAN FUNGSI JANTUNG MELALUI MEKANISME PLASTISITAS SEL PUNCA**
- **SUMBER SEL PUNCA MEMILIKI SIFAT PLASTISITAS**
 - Sel Punca dari Sumsum Tulang (Bone Marrow-derived Stem Cell)
 - Sel Punca Hematopoetik (Hematopoietic Stem Cell)
 - Sel Punca Mesenkim (Mesenchymal Stem Cells)
 - Sel Punca Jantung (Resident Cardiac Stem Cells)
 - Endothelial Progenitor Cells
- **TIPE SEL PUNCA DEWASA LAIN YANG MEMILIKI POTENSI KARDIOGENIK**
- **APLIKASI KLINIS PLASTISITAS SEL PUNCA**
- **DAFTAR PUSTAKA**

PENDAHULUAN

Penemuan sel punca pluripoten hasil kultur jaringan janin manusia dan kemampuan dalam menghasilkan berbagai tipe sel terdiferensiasi pada ketiga lapisan germinal embrio, memberikan suatu terobosan baru terhadap perkembangan penelitian sel punca. Isolasi sel punca embrio pada mencit pertama kali dilaporkan berasal dari *inner cell mass* dari *blastocyst* tahun 1981 oleh dua kelompok ilmuwan.¹ Kelompok Evans dan Kaufman menggunakan *feeder layer* dari fibroblast embrio mencit,² sedangkan kelompok Martin menggunakan *embryonic carcinoma cell-conditioned medium*.³ Pada tahun 2007, Evans, Smithies dan Capecchi mendapat hadiah Nobel atas penemuan prinsip modifikasi gen khusus pada mencit dengan menggunakan sel punca embrio.⁴

Meskipun penemuan ini memberikan kemungkinan untuk melakukan rekayasa jaringan dan organ, isu etika yang mempersoalkan tentang penggunaan sel punca embrio pada manusia menimbulkan perdebatan.^{5,6} Karena itu, alternatif penggunaan difokuskan pada sel punca dewasa yang mempunyai sifat plastisitas – bahwa sel punca dewasa sebenarnya bukan terbatas pada menghasilkan sel asalnya, melainkan menghasilkan jenis sel baru pada lokasi yang baru.¹ Konsep plastisitas sel punca memberikan kemungkinan pada perbaikan kegagalan organ.^{7,8} Misalnya, transplantasi sel punca sumsum tulang autologus untuk memperbaiki organ jantung yang rusak.

Kemampuan sel punca dewasa yang bersifat multipoten dalam proses transdiferensiasi di luar dari batas pembentukan sel asal, yang disebut bersifat plastisitas, menimbulkan perdebatan yang sengit dalam artikel ilmiah.⁸ Yang mendukung sifat ini menyatakan bahwa sel punca dewasa merupakan pilihan yang menarik dalam kedokteran regeneratif karena isu etika dari sel punca embrio.⁹ Yang menentang mempertanyakan eksistensi proses transdiferensiasi, dan menyatakan bahwa fenomena sel fusi, yaitu penyatuan dua sel membentuk sel tetraploid bertanggung jawab terhadap proses plastisitas.⁸ Karena itu, pembahasan ini difokuskan pada mekanisme plastisitas, dengan evaluasi mengenai definisi sel punca dan karakteristiknya.

APA ITU SEL PUNCA (STEM CELL)?

Istilah sel punca sebenarnya diambil dari kata “stem” yang berarti sel apikal pada tumbuh-tumbuhan, yang bertanggung jawab terhadap kontinuitas pertumbuhan.¹⁰ Secara umum, sel punca didefinisikan

sebagai sel tidak terdiferensiasi, yang mampu melakukan *self-renew* dan berdiferensiasi menjadi tipe sel lain, yang masing-masing jenis sel memiliki fungsi berbeda.^{11,12} Sel punca dapat dibagi berdasarkan anatomi, fungsi, marker permukaan sel, faktor transkripsi dan protein yang diekspresikan. Apa yang membedakan berbagai populasi sel punca adalah tipe sel khusus yang dihasilkan.¹³ Yang jelas sel punca yang berasal dari embrio dikenal sebagai sel punca embrio, dan disebut sel punca dewasa, bila diperoleh dari jaringan somatik dewasa.¹³

Derajat diferensiasi sel punca bergantung pada jenis jaringan dan tipe sel punca. Fenomena ini dikenal sebagai plastisitas.¹⁰ Plastisitas dapat terbagi atas 4 kategori: totipoten, pluripoten, multipoten dan unipoten. Blastomer mamalia pada awal pembelahan embrio, sebagai hasil pembuahan oosit, dapat dianggap memiliki potensi totipoten, karena dapat menghasilkan satu organisme yang komplit.¹⁰ Sedangkan kemampuan pluripoten yaitu dapat berdiferensiasi menjadi 210 jenis jaringan lain, karena dapat berdiferensiasi menjadi 3 lapisan germinal yaitu lapisan ektoderm, mesoderm dan endoderm, namun tidak menghasilkan satu individu secara utuh. Misalnya, sel punca embrio yang membentuk *inner cell mass* dari *blastocyst* setelah fertilisasi, sekitar hari ke-5. Sel punca multipoten sanggup menghasilkan sejumlah kecil sel diferensiasi sesuai dengan lokasinya dan biasanya dijumpai pada jaringan dewasa.¹³ Pada unipoten, terbatas pada menghasilkan satu jenis tipe sel seperti sel punca epidermal dan sel spermatogonia testis.^{8,10}

Dalam perkembangan sel punca, dari sel yang tidak terdiferensiasi menjadi sel terdiferensiasi sebagai progeni terminal, terdapat sel intermediate (antara) yang dikenal sebagai transit amplifying cell (Gambar 1).⁸ *Self-renewal* ini diperlukan jika suatu organ atau jaringan dihadapkan pada kondisi injuri iskemik. Berbagai tipe sel punca yang berbeda diperlukan untuk mempertahankan hidup. Melalui pembelahan asimetrik, sel punca dewasa dapat memproduksi sejumlah sel terdiferensiasi, disamping sel progeni dengan sifat yang sama dengan sel asalnya. Jumlah sel punca dalam satu populasi dipertahankan melalui *self-renewal* sebesar 50% (Gambar 1).⁸ Dalam kondisi tidak ada stres, sel punca mengalami *cycling* yang lambat dengan hanya kurang lebih 10% dalam sumsum tulang berada dalam siklus sel untuk satu waktu tertentu. Mekanisme ini untuk melindungi sel dari kesalahan pada saat proses sintesis DNA.

FENOMENA PLASTISITAS SEL PUNCA

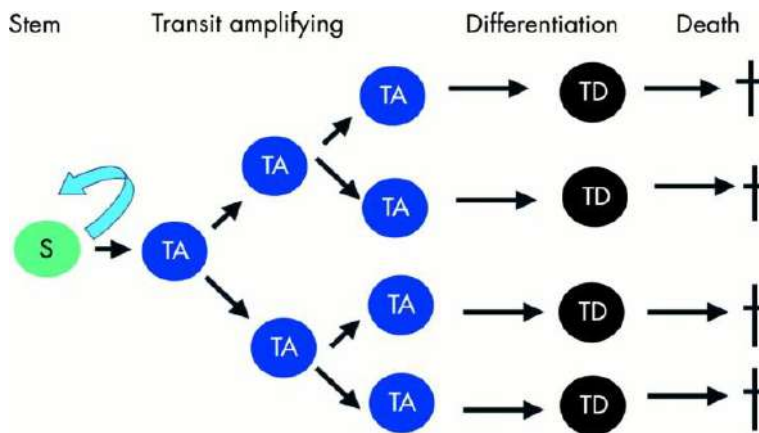
Sel punca dewasa yang bersifat multipoten dapat menyeberangi batas pembentukan sel asal (transdiferensiasi) ketika ditransplantasikan pada lokasi baru - *niche* baru. Sel punca sumsum tulang bersifat

3. Plastisitas Sel Punca

sangat fleksibel dan sangat bermanfaat untuk perbaikan terhadap kerusakan organ hati dan miokardium.⁷ Maka timbul pertanyaan: sel punca mana di dalam tubuh mempunyai kapasitas plastisitas? Bagaimana proses plastisitas berlangsung? Apa kontribusi utama plastisitas sel punca dewasa? Apakah ada bukti plastisitas melalui transdiferensiasi pada pembentukan kardiomyosit pada sel punca dewasa?

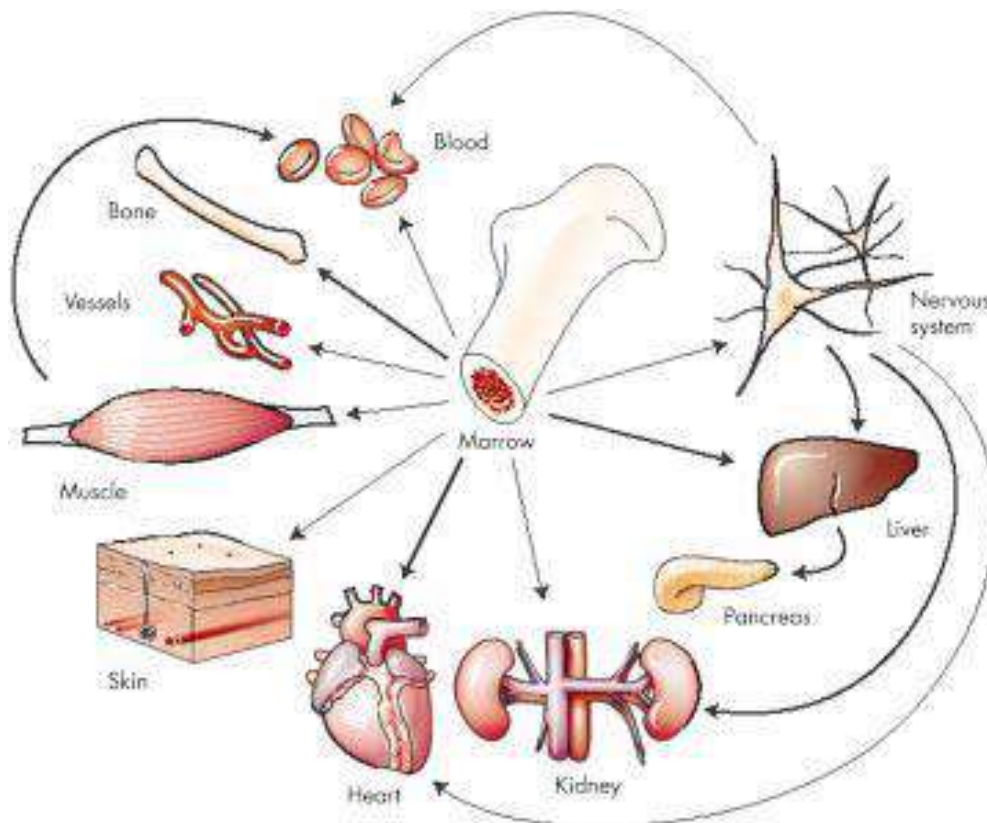
Fenomena plastisitas sel punca berasal dari hasil penelitian fungsi sel sumsum tulang dewasa.⁸ Beberapa studi menyatakan bahwa sel sumsum tulang atau sel punca hematopoetik sumsum tulang yang

ditransplantasikan memiliki kapasitas untuk berdiferensiasi menjadi jaringan otot skeletal,¹⁴ jaringan hati,¹⁵ neural,¹⁶ miokardium,¹⁷ ginjal,¹⁸ kulit,¹⁹ dan usus²⁰ (Gambar 2).²¹ Fenomena ini sangat bertentangan dengan dasar-dasar embriologi, karena asal sel tidak terbatas sebagai sumber bagi tiga lapisan embriologik, tetapi mampu memiliki sifat fenotipik sebagai sel residen, berpotensi multilineage, dan memiliki aktivitas fungsinya. Hal ini berarti, setelah sel sumsum tulang ditransplantasikan, jantung maupun organ lain seperti hati dapat dipenuhi populasi sel hasil transplantasi, dan mampu memperbaiki fungsinya.^{5, 15, 17, 22}



Gambar 1. Hirarki potensi sel punca.

Dikutip dari Preston SL et al. *The new stem cellbiology: something for everyone. J Clin Pathol: Mol Pathol* 2003; 56:86–96.



Gambar 2. Jalur diferensiasi sel punca dewasa.

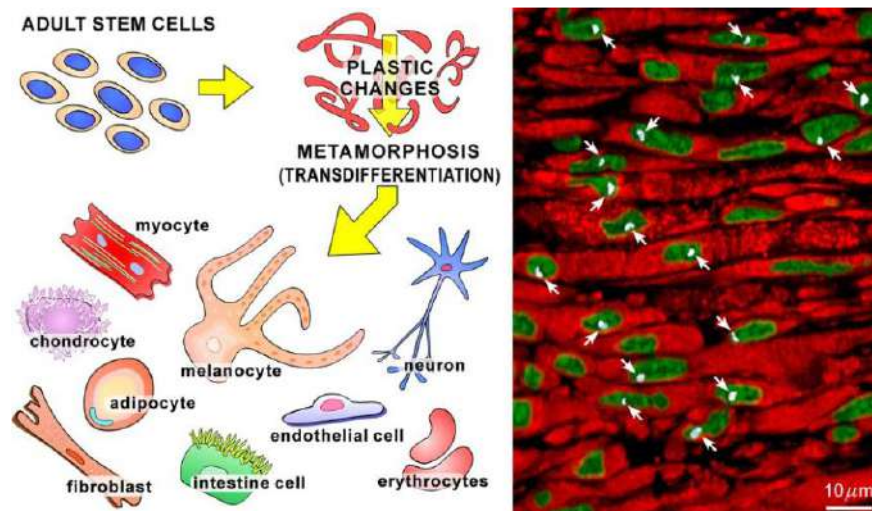
Dikutip dari Holden C, Vogel G. *Stem cell plasticity: time for a reappraisal?* *Science* 2002; 296: 2126–9.

Plastisitas sel punca adalah kemampuan sel punca dewasa (*adult stem cell*) untuk mendapatkan fenotipe matang yang berbeda dari jaringan asal.²³ Sel punca sanggup beregenerasi, mengubah menjadi sel progenitas yang dapat berdiferensiasi menjadi progenitas khusus. Hal ini berarti terjadi perubahan transdiferensiasi ke dalam tipe sel matang diluar dari sel asal akibat respon terhadap lingkungan mikro (Gambar 3).^{24, 25} Misalnya, sel punca hematopoetik, ketika ditransplantasikan ke dalam miokardium mencit, dapat mengadakan transdiferensiasi menjadi kardiomyosit dan pembuluh darah, sehingga meningkatkan fungsi jantung dan harapan hidup.²⁶

Pemahaman plastisitas sel punca dewasa berdasarkan pengamatan bahwa sel donor dijumpai pada jaringan non-hematopoetik pada resipien dari sumsum tulang yang ditransplantasikan.²⁴ Populasi sel

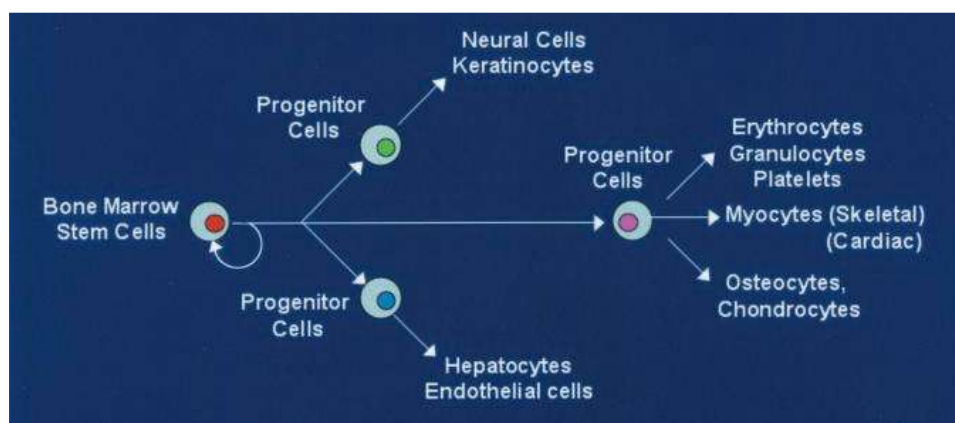
punca yang berasal dari sumsum tulang mampu menghasilkan setiap jenis jaringan. Sebagai bukti bahwa ketika sel punca hematopoetik yang diberi tanda genetik dan dicampurkan ke dalam sumsum tulang, disuntikkan ke dalam mencit yang mendapat dosis radiasi letal, didapati sel punca di dalam berbagai jaringan beberapa minggu kemudian.²⁶

Karena itu, sekarang diyakini bahwa dengan plastisitas sel dapat menghasilkan tipe sel lain pada lokasi yang baru, di samping tetap mempertahankan progenitasnya pada tempat asalnya (Gambar 4).²⁷ Konsep plastisitas juga memberikan kemungkinan bagi transplantasi untuk memperbaiki gagal organ, misalnya sel punca sumsum tulang untuk menggantikan hati, jantung, otak yang rusak (Gambar 2).²¹



Gambar 3. Plastisitas sel punca dewasa. Fenotipe sel punca berbeda dengan sel asalnya. Pencitraan dengan mikroskop konfokal memperlihatkan terjadi transdiferensiasi sel yang berasal dari sumsum tulang [Bone Marrow - derived Cells (BMC)] mencit jantan dengan c-kit positif menjadi kardiomyosit pada mencit betina. Miosin diberi label *cardiac myosin heavy chain* (merah) dan nuklei dengan *propidium iodide* (PI, hijau). Kromosom Y di dalam nuklei ditunjukkan dengan warna putih.

Dikutip dari Leri A, Kajstura J, Anversa P. *Cardiac stem cells and mechanisms of myocardial regeneration.* *Physiol Rev* 2005; 85: 1373-1416.



Gambar 4. Pola perkembangan transdiferensiasi sel punca sumsum tulang (bone marrow stem cell) ke dalam berbagai sel diferensiasi (multiple lineages). Terdapat bukti bahwa sel punca hematopoetik dari sumsum tulang, sel punca mesenkim (stromal), dan/atau sel dengan potensi hemangioblast embrio mengalami proses transdiferensiasi.

Dikutip dari Orlic D, Hill JM, Arai AE. *Stem cells for myocardial regeneration. Circ Res.* 2002;91:1092–1102.

MEKANISME PLASTISITAS SEL PUNCA

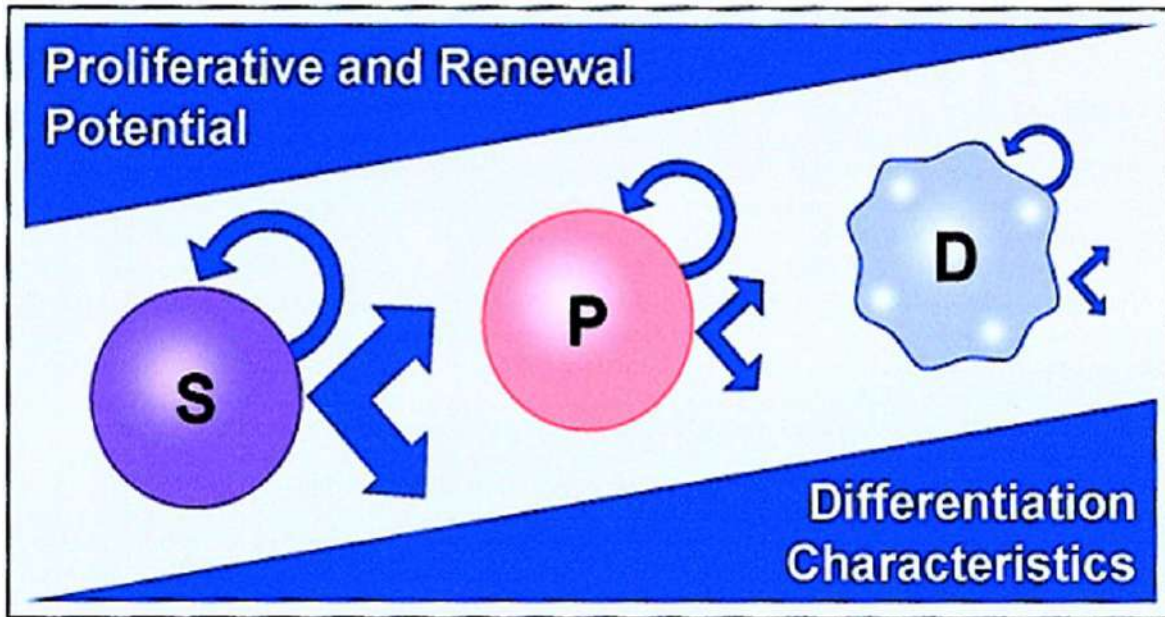
Penjelasan mengenai plastisitas sel punca dewasa didukung oleh bukti yang dapat diulangi dalam penelitian. Ada 4 mekanisme yang menjelaskan kemungkinan mekanisme yang mendasari observasi plastisitas sel punca yang dilaporkan hingga saat ini.²⁸

1. Sel punca pada berbagai jaringan khusus berada pada organ yang berbeda misalnya sel dari satu organ dapat menghasilkan satu atau lebih populasi sel punca (Tabel 1).²⁹ Secara tradisional sistem hematopoetik memiliki sifat hirarki dengan sel

punca yang multipoten pada tingkat atas, *committed progenitor cell* di bagian tengah dan sel prekursor yang menghasilkan sel terdiferensiasi di bagian bawah (Gambar 5).³⁰ Paradigma klasik diferensiasi sel punca yang terbatas pada organ khusus (*organ-specific lineage*), tidak sesuai dengan sel punca dewasa, termasuk sel punca hematopoetik, yang memiliki derajat plastisitas perkembangan yang tidak dikenal sebelumnya. Sehingga memungkinkan mengadakan diferensiasi diluar dari batas lineage (garis turunan), jaringan dan lapisan germinal (Gambar 6).²⁹

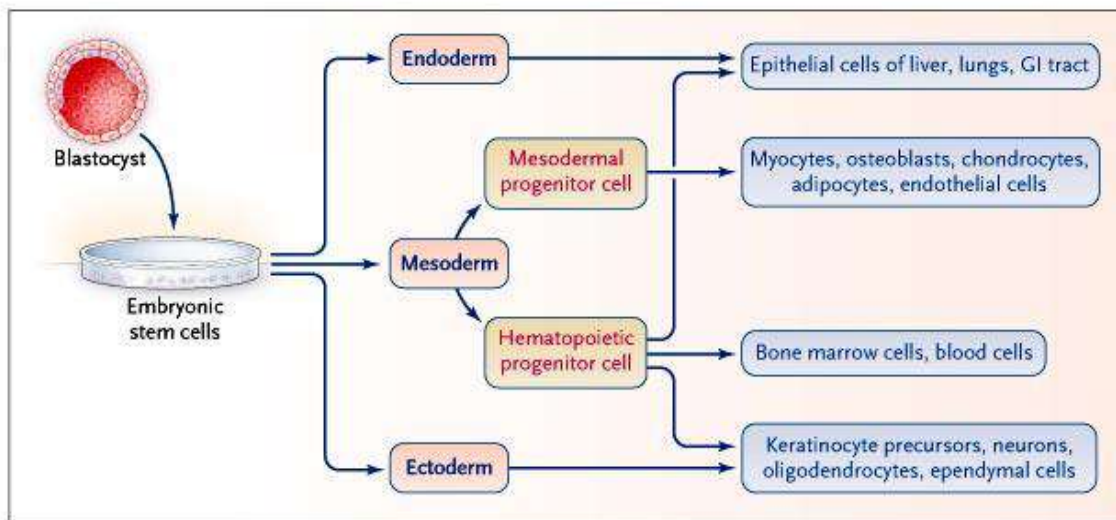
Table 1. Adult Human Stem Cells and Their Primary Direction of Differentiation.		
Cell Type	Tissue-Specific Location	Cells or Tissues Produced
Hematopoietic stem cells	Bone marrow, peripheral blood	Bone marrow and blood lymphohematopoietic cells
Mesenchymal stem cells	Bone marrow, peripheral blood	Bone, cartilage, tendon, adipose tissue, muscle, marrow stroma, neural cells
Neural stem cells	Ependymal cells, astrocytes (subventricular zone) of the central nervous system	Neurons, astrocytes, oligodendrocytes
Hepatic stem cells	In or near the terminal bile ductules (canals of Hering)	Oval cells that subsequently generate hepatocytes and ductular cells
Pancreatic stem cells	Intraislet, nestin-positive cells, oval cells, duct cells	Beta cells
Skeletal-muscle stem cells or satellite cells	Muscle fibers	Skeletal muscle fibers
Stem cells of the skin (keratinocytes)	Basal layer of the epidermis, bulge zone of the hair follicles	Epidermis, hair follicles
Epithelial stem cells of the lung	Tracheal basal and mucus-secreting cells, bronchiolar Clara cells, alveolar type II pneumocyte	Mucous and ciliated cells, type I and II pneumocytes
Stem cells of the intestinal epithelium	Epithelial cells located around the base of each crypt	Paneth's cells, brush-border enterocytes, mucus-secreting goblet cells, enteroendocrine cells of the villi

Dikutip dari Körbling M, Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair- a new therapeutic concept? *N Engl J Med* 2003; 349: 570-82..



Gambar 5. Model hirarki klasik dari hematopoiesis.

Dikutip dari Quesenberry, PJ, Colvin GA, Lambert JF. *The chiaroscuro stem cell: a unified stem cell theory.* Blood 2002; 100: 4266-4271



Gambar 6. Model diferensiasi sel punca embrio dan sel punca dewasa sepanjang garis dan di luar garis lapisan germinal. Sel punca embrio berdiferensiasi menjadi tiga jenis sel ketika dikultur dalam medium yang sesuai. Beberapa data menunjukkan bahwa sel progenitor hematopoetik yang berdiferensiasi dalam garis turunan dapat melintasi lapisan germinal sehingga menghasilkan sel jaringan endodermal atau ektodermal. GI menunjukkan gastrointestinal.

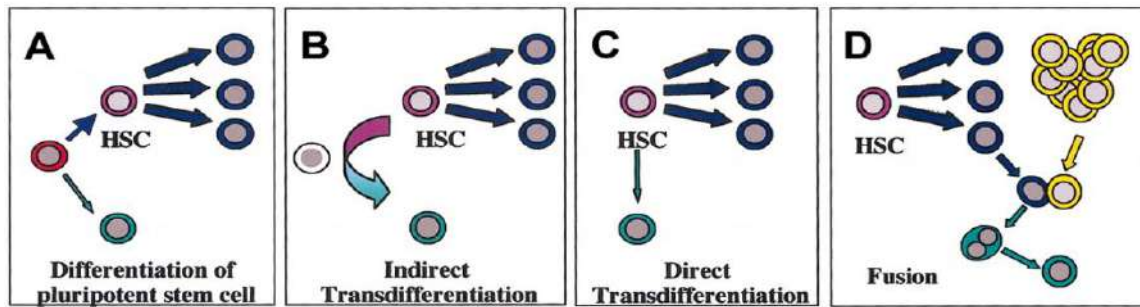
Dikutip dari Körbling M, Estrov Z. *Adult stem cells for tissue repair- anew therapeutic concept?* N Engl J Med 2003;349:570-82.

2. Transdiferensiasi seluler atau “dediferensiasi.” Teori ini menjelaskan bahwa sel punca secara langsung berdiferensiasi menjadi sel pada jenis jaringan lain (transdiferensiasi direk) atau mencapai sel matang dengan terlebih dahulu mengadakan dediferensiasi menjadi sel prekursor intermediate (transdiferensiasi indirek) (Gambar 7).³¹

Transdiferensiasi adalah kemampuan satu *committed cell type* untuk mengubah pola ekspresi gen menjadi tipe sel yang berbeda secara menyeluruh.

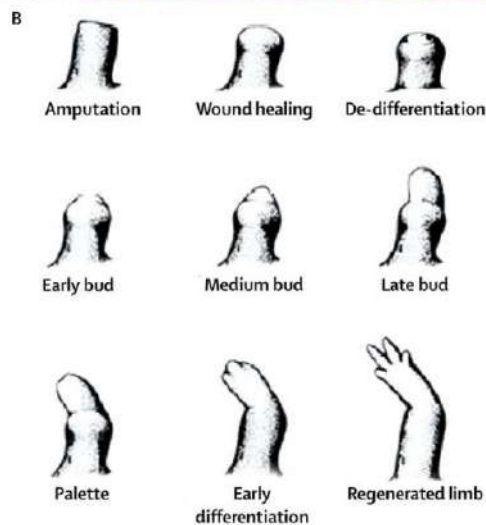
Mekanisme perubahan ini meliputi transdiferensiasi indirek (Gambar 7B), yang memerlukan dediferensiasi diikuti maturasi pada jalur alternatif, dan transdiferensiasi direk (Gambar 7C), yaitu transisi direk pada pola ekspresi gen. Perbedaan direk dan indirek mungkin tidak menggambarkan plastisitas sel yang sesungguhnya secara *in vivo*. Pada tumbuhan-tumbuhan dan hewan, transdiferensiasi terjadi secara normal.^{32,33} Misalnya, transdiferensiasi untuk regenerasi anggota gerak pada ampibi seperti urodele (kadal). (Gambar 8).¹³

Proposed mechanisms for adult cell plasticity



Gambar 7. Mekanisme diferensiasi. Mekanisme diferensiasi dari sel yang berasal dari sumsum tulang menjadi fenotipe nonhematopoetik. (A) Sel selalu berubah dari kurang berdiferensiasi menjadi lebih berdiferensiasi. Model ini menjelaskan bahwa sel pluripoten (merah) yang belum masuk ke dalam garis turunan hematopoetik mempertahankan kemampuan diferensiasi menjadi berbagai tipe sel yang berbeda. (B) Dengan transdiferensiasi tidak langsung, HSC berubah pola ekspresi gennya menjadi tipe sel lain melalui jalur dediferensiasi/rediferensiasi dan melalui tipe sel intermediate, yang ditunjukkan dengan tanda putih. (C) Pada transdiferensiasi langsung, HSC dapat berubah secara langsung melalui perubahan pola ekspresi gen menjadi tipe sel lain. (D) Jika fusi merupakan mekanisme, sel punca sumsum tulang memerlukan fenotipe nonhematopoetik, yaitu sel yang berasal dari sumsum, mungkin makrofag (biru), mengadakan fusi dengan sel nonhematopoetik (kuning), dan nukleus dari sel sumsum mengambil pola ekspresi gen dari tipe sel nonhematopoetik. Kedua nukleus tidak perlu berfusi. Model ini bukan bersifat *mutually exclusive* dan mungkin menunjukkan mekanisme *in vivo* yang terlibat di dalamnya. Model-model ini sangat sesuai untuk sel punca mesenkimal (MSC) dan multipotent adult progenitor cells (MAPCs) yang dapat mengadakan transdiferensiasi menjadi berbagai tipe sel, dediferensiasi melalui tipe sel intermediate, dan menggambarkan suatu sel punca pluripoten dengan kemampuan mengadakan diferensiasi secara langsung menjadi tipe sel multipel, atau mempunyai kemampuan mengadakan fusi dengan tipe sel lain.

Dikutip dari Herzog, E L. Et. al., *Plasticity of marrow-derived stem cells. Blood* 2003; 102: 3483-3493.



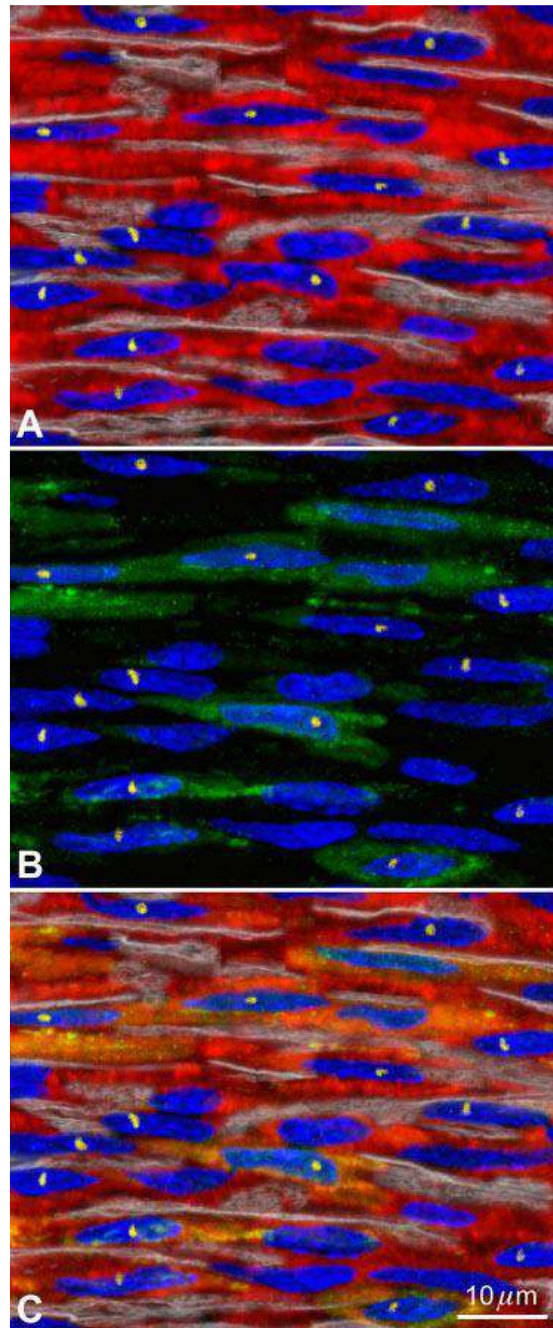
Gambar 8. Regenerasi anggota gerak urodele. (A) Kadal berbercak merah Amerika Utara, *Notophthalmus viridescens*. (B) Tahapan regenerasi kadal dewasa.

Dikutip dari Mathur A, Martin JF. *Stem cells and repair of the heart. Lancet* 2004; 364: 183-92.

3. Plastisitas Sel Punca

Mekanisme transdiferensiasi sel sumsum tulang menjadi kardiomyosit pertama kali dimuat di *Nature*, tahun 2001 oleh kelompok Orlic,³⁴ menggunakan sel punca hematopoetik dengan ekspresi c-kit disuntikkan secara langsung pada mencit dengan miokardium iskemik akut. Sembilan hari kemudian terjadi regenerasi miokardium yang menempati dua pertiga regio infark dari mencit transgenik yang

mengekspresikan marker GFP (green fluorescent protein) (Gambr 9).²⁵ Pada pemeriksaan ekokardiografi, mencit yang mendapatkan suntikan sel punca ini juga menunjukkan reduksi dilatasi ventrikel dan perbaikan terhadap *fractional shortening*. Penelitian ini meletakkan dasar perkembangan ilmu kedokteran dasar dan klinis di bidang sel punca.



Gambar 9. Regenerasi miokard dengan sel punca sumsum tulang. A: satu miosit yang baru terbentuk (troponin I; merah) hasil penyuntikkan sel punca sumsum tulang dengan c kit + yang dilabel EGFP mencit jantan ke dalam jantung mencit betina yang mengalami infark. Nuklei yang diwarnai dengan PI (biru). Pewarnaan dengan laminin memberi batas antar sel (garis putih). Fenotipe jantan dengan miosit regenerasi dengan kromosom Y di dalam nuklei (titik kuning). B. Satu miosit baru mengekspresikan EGFP secara signifikan di dalam sitoplasma (hijau). C. Penyatuan A dan B menunjukkan kolokalisasi troponin I dan EGFP (kuning hijau) pada miosit jantang.

Dikutip dari Leri A, Kajstura J, Anversa P. Cardiac stem cells and mechanisms of myocardial regeneration. *Physiol Rev* 2005; 85: 1373-1416.

Meskipun hasil penelitian ini menimbulkan kontroversi berkenaan dengan beberapa penelitian yang tidak mendapatkan transdiferensiasi sel punca hematopoetik^{36, 37} karena perbedaan metodologi, sampel dan teknologi yang digunakan³⁵ namun Orlic et. al. dengan kelompoknya Rota et. al.³⁸ kembali menegaskan terjadinya transdiferensiasi sel sumsum tulang dengan c-kit⁺ pada model infark mencit dan terbentuk regenerasi miokardium. Studi *genetic fate-mapping* menunjukkan terjadinya sejumlah pembentukan kardiomyosit baru pada jantung mencit setelah injuri.³⁹ Inkorporasi ¹⁴C (yang tidak terjadi secara alamiah sebelum uji coba nuklir) ke dalam DNA kardiomyosit manusia diperkirakan bahwa sekitar 50% kardiomyosit dewasa mengalami pergantian selama hidup seseorang. Pergantian kardiomyosit terjadi sekitar 1% setiap tahun pada usia 25 tahun dan berkurang menjadi 0.45% pada usia 75 tahun.⁴⁰ Hal ini menunjukkan terjadinya proses regenerasi miokard.⁴¹

Disamping itu, sel progenitor endotel (endothelial progenitor cell, EPC) di dalam darah yang juga berasal dari prekursor hemangioblast di dalam sumsum tulang^{42,43} dapat berdiferensiasi menjadi kardiomyosit secara *in vitro*.^{44, 45} Secara *in vivo*, sel CD34⁺ darah tepi juga didapati transdiferensiasi menjadi kardiomyosit, meskipun frekuensinya pada jantung yang tidak mengalami injuri rendah.⁴⁶ Sel CD34⁺ dari sumsum tulang dan darah tepi telah dikenal mengandung progenitor endotelial.⁴⁷ Pewarnaan ganda pada pembuluh darah dengan anti HLA dan anti VE-cadherin membuktikan adanya transdiferensiasi darah tepi CD34⁺ menjadi sel endotel vaskuler. Sel CD 34⁺ juga berdiferensiasi menjadi sel otot polos vaskuler secara *in vivo* karena juga mengandung sel progenitor ini.⁴⁶

3. Fusi

Mekanisme plastisitas dapat berupa fusi sel yang berasal dari sumsum tulang (*bone marrow-derived cell*) dengan sel nonhematopoetik membentuk suatu heterokarion⁴⁸ sehingga mengubah pola ekspresi gen dari tipe sel sumsum tulang menjadi bagian fusi (Gambar 7D).³¹ Misalnya, fusi antara fibroblast dengan mioblast secara *in vitro* terjadi akibat ekspresi muscle-specific RNA oleh nuklei fibroblast.⁴⁹

Fusi sel terjadi sebagai akibat penyatuan sel punca yang kurang berdiferensiasi dengan sel yang lebih berdiferensiasi membentuk suatu sel tetraploid.²⁸ Hal ini dapat berupa suatu fenomena alamiah atau respon abnormal akibat tekanan penyatuan terhadap sel punca sumsum tulang di dalam darah dengan berbagai epitel jaringan multipel. Jika sel yang dihasilkan memiliki fungsi, maka sel-sel ini dapat memberikan fungsi fisiologik yang amat signifikan. Yang menjadi kekhawatiran adalah pembentukan sel yang membawa transformasi maligna.³¹ Sampai

sekarang, hanya sedikit laporan yang menyangkal kemungkinan mekanisme ini. Sel fusi tidak pernah didapati pada beribu-ribu pasien yang menjalani transplantasi sumsum tulang.²⁸

Beberapa peneliti lain mendapatkan proses fusi pada sel hepatosit, neuron Purkinje dan kardiomyosit.^{50, 51, 52} Namun hasil penelitian Oh et. al.⁵³ menunjukkan bahwa sel punca jantung Sca-1⁺ yang ditransplantasikan ke dalam injuri miokard melalui fusi dan transdiferensiasi dengan sel donor. Zhang et. al.⁵⁴ mendapatkan bahwa proses transformasi sel darah tepi CD34⁺ (sel progenitor hematopoetik) adalah melalui fusi sel (73.3%) (Gambar 10)⁵⁴ dan transdiferensiasi (23.7%). Indikator fusi sel adalah ekspresi ganda dari troponin T dan HLA. Troponin T adalah *marker* kardiomyosit spesifik, HLA merupakan *marker* sel manusia. Fusi ini dimediasi oleh interaksi $\alpha 4\beta 1$ /VCAM-1, yang menyebabkan pembentukan kardiomyosit melalui fusi sehingga dapat mengadakan *re-entry* kedalam siklus sel dan terjadi proliferasi sel.⁵⁵ Proliferasi sel fusi mengakibatkan regenerasi terhadap jaringan miokard yang rusak.⁵⁵

Perbedaan transformasi sel punca ke dalam kardiomyosit dari berbagai peneliti dapat disebabkan karena perbedaan sumber sel punca yang digunakan, metode yang digunakan untuk membedakan transdiferensiasi dengan fusi dan prosedur eksperimen yang dilakukan.⁵⁵

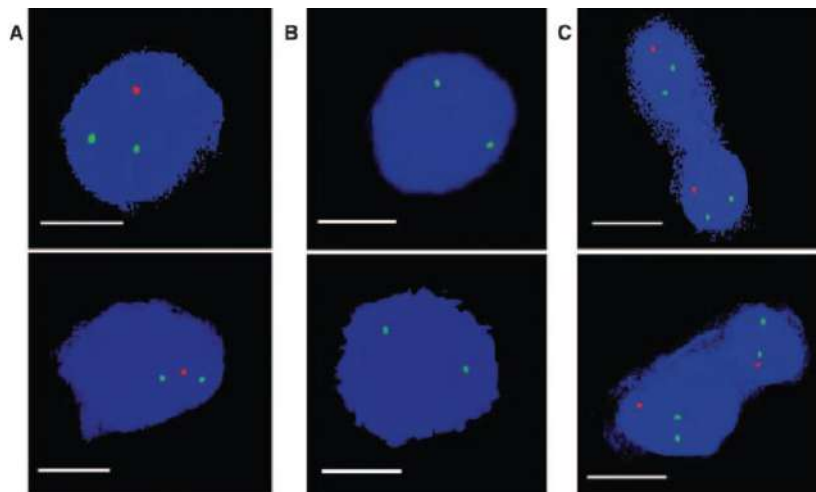
4. Efek Parakrin

Apakah sel punca mengadakan transformasi melalui mekanisme fusi atau transdiferensiasi, yang jelas bahwa dalam beberapa penelitian, jumlah kardiomyosit yang terbentuk melalui mekanisme tersebut terlalu kecil.⁵⁶ Setelah dilakukan terapi sel punca pada model hewan dengan injuri jantung, dilepaskan sejumlah *soluble factors* yang bekerja secara parakrin melindungi jantung, mengurangi remodeling ventrikel, menginduksi neovaskularisasi dan meningkatkan regenerasi.^{57, 58, 59} Berbagai protein jaringan meningkat secara signifikan, seperti Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), basic Fibroblast Growth Factor (bFGF), Hepatocyte Growth Factor (HGF), Insulin-like Growth Factor (IGF)-I, and adrenomedullin, pada jantung injuri yang diberi mesenchymal stem cell (MSC) atau sel punca sumsum tulang multipoten manusia. Bukti mekanisme parakrin dapat dilihat dari pemberian conditioned medium (CM) dari sel punca dewasa yang memberikan manfaat setelah terapi sel ini.^{60, 61}

Penelitian Gneccchi et al.,⁵⁷ mendapatkan bahwa MSC yang mengekspresikan Akt-1 yang berlebihan secara genetik memberikan proteksi terhadap kardiomyosit. Takahashi⁶² juga menemukan bahwa penyuntikan CM dari sel mononuklear sumsum tulang (*bone marrow mononuclear cell*) ke dalam jantung infark mengakibatkan peningkatan densitas kapiler,

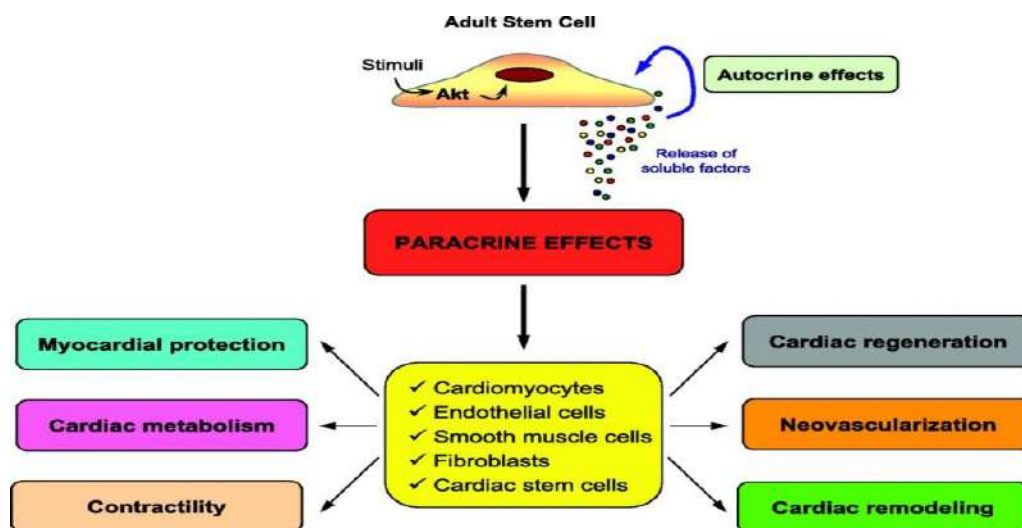
penurunan besarnya infark dan peningkatan fungsi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pemberian MSC menunjukkan peran antiinflamasi 4 minggu pasca infark miokard dengan terjadinya penurunan sitokin Tumor Necrosis Factor (TNF) alpha, interleukin (IL)-1 beta dan IL-6, sebagai faktor-faktor inflamasi yang terlibat dalam *remodeling* ventrikel kiri.^{63, 64} Selain itu, MSC juga mengurangi proliferasi fibroblast jantung dan sintesis kolagen melalui pelepasan faktor parakrin secara *in vitro*.⁶⁵

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat faktor parakrin yang berpengaruh terhadap sel di sekitar kardiomyosit yang menimbulkan berbagai efek yang bermanfaat, diantaranya proteksi miokard dan neovaskularisasi. Selain itu, proses inflamasi dan fibrogenesis pasca infark, metabolisme dan kontraktilitas jantung, dan regenerasi kardiomyosit juga mendapat efek yang bermanfaat dari mekanisme ini (Gambar 11).⁵⁶



Gambar 10. Fusi sel CD 34+ manusia dengan kardiomyosit mencit menimbulkan *reentry* siklus sel (*reentry*). A. Kromosom X manusia (merah) dan mencit (hijau) sama-sama terdapat di dalam nukleus sel dengan HLA dan troponin T+, menunjukkan fusi sel. B. Hanya kromosom X manusia (merah) yang tidak dijumpai, ditandai dengan sel HLA (-), tampak sel dengan troponin T (kardiomyosit mencit, hijau). C. Contoh nuklei dalam proses pembelahan sel. Dua pasangan kromosom X manusia dan mencit tampak dalam pembelahan nuklei. Nukei ini diamati pada mencit dalam 2 bulan setelah eksperimen infark miokard dengan infus CD 34 + yang berasal dari manusia.

Dikutip dari Zhang S, et al. *Fusion of human hematopoietic progenitor cells and murine cardiomyocytes is mediated by $\alpha 4 \beta 1$ integrin/vascular cell adhesion molecule-1 interaction.* *Circ Res.* 2007; 100: 693-702.



Gambar 11. Mekanisme parakrin/autokrin signaling dan terapi sel punca. Sel punca dewasa melepaskan zat biologik aktif sebagai respon terhadap stimuli lingkungan mikro seperti iskemia. Faktor-faktor ini dapat mempengaruhi lingkungan ini dengan menghasilkan kerja parakrin terhadap berbagai tipe sel yang berbeda, menyebabkan proteksi, repair, dan regenerasi. Faktor-faktor putatif ini juga menimbulkan kerja autokrin dalam memodulasi biologi sel punca termasuk *self renewal* dan proliferasi.

Dikutip dari Gnechchi M, Zhang ZP, Ni AG, Dzau VJ. *Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy.* *Circ. Res.* 2008; 103: 1204-1219.

PERBAIKAN FUNGSI JANTUNG MELALUI MEKANISME PLASTISITAS SEL PUNCA

Setelah suatu infark miokard, kardiomyosit mengalami nekrosis atau apoptosis akibat oklusi total pada arteri koronaria, sehingga dapat menimbulkan kardiomiopati iskemik dan gagal jantung kongestif. Kemampuan regeneratif jantung terbatas dalam mengatasi hilangnya kardiomyosit.⁶⁶ Namun, penemuan sel punca jantung (*cardiac stem cell*), bersamaan dengan sel punca sumsum tulang menempati bagian jantung dan melakukan transdiferensiasi pada kondisi injuri ini^{39, 67, 68} memberikan kemungkinan pengobatan jantung secara regeneratif dengan menggunakan sel punca dewasa atau *adult stem cell*.⁵⁶

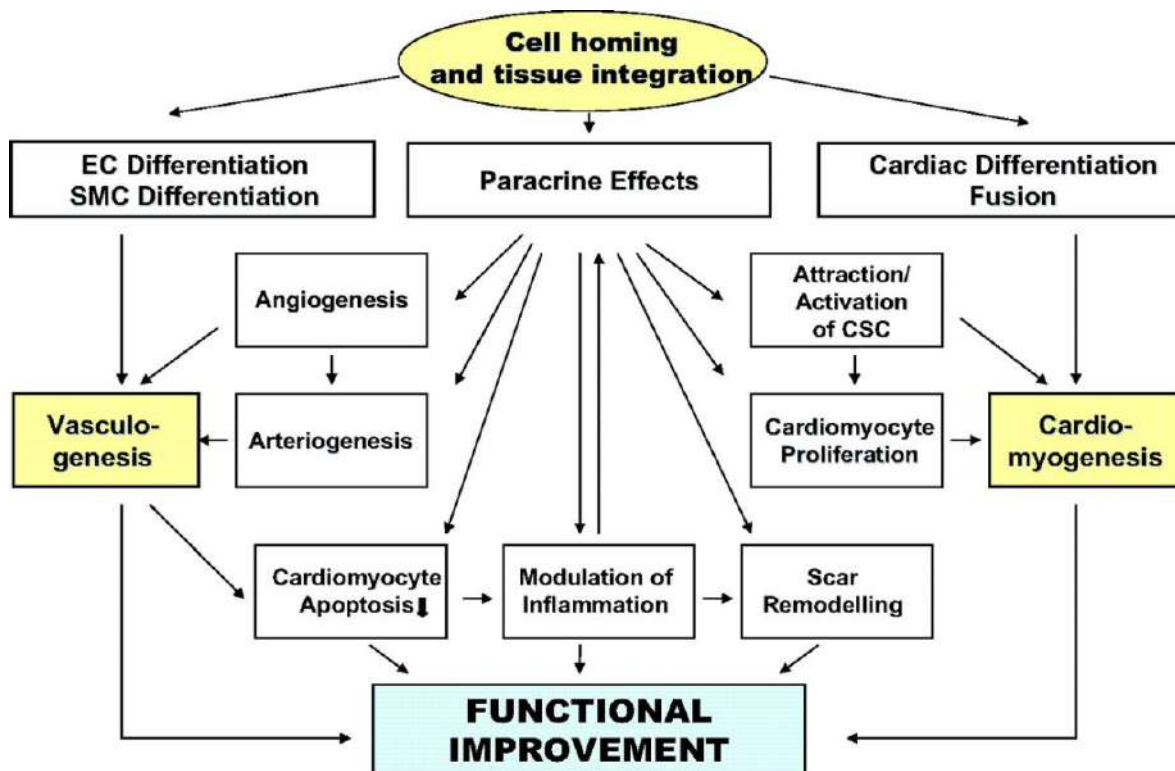
Dalam penelitian, telah digunakan beberapa jenis sel, yang telah menunjukkan perbaikan fungsi jantung setelah iskemia melalui proses pembentukan pembuluh darah baru, diferensiasi menjadi kardiomyosit dan faktor proangiogenik dan antiapoptotik dalam meningkatkan perbaikan jaringan atau dikenal dengan efek parakrin (Gambar 12).⁶⁴

Perlu dibedakan populasi target dalam pengobatan dengan sel punca, yaitu iskemia akut atau kronik, karena mekanismenya dalam meningkatkan fungsi jantung akan berbeda sehubungan dengan patofisiologi yang mendasari kedua kondisi berbeda. Pada pasien dengan infark miokard akut,

transplantasi sel progenitor bertujuan untuk mencegah atau mengurangi remodeling pasca infark miokard, sehingga mengurangi kejadian gagal jantung pasca infark. Efek ini dapat dicapai dengan meningkatkan neovaskularisasi dan mengurangi apoptosis kardiomyosit, tanpa menghiraukan apakah terjadi fusi sel punca atau transdiferensiasi dalam jangka panjang. Sebaliknya, kedua mekanisme ini sendiri mungkin mempunyai manfaat terbatas pada pasien yang telah memiliki jaringan fibrosa yang nyata, tidak ada *hibernating myocyte* dan kondisi gagal jantung tahap akhir. Dalam hal ini, pencapaian kardiomiogenesis tentu merupakan tujuan utama. Karena itu, mekanisme yang mendasari perbaikan jantung melalui terapi sel dalam memulihkan fungsi jantung akan berbeda berkaitan dengan relevansi klinis dalam berbagai keadaan gagal jantung.⁶⁴

SUMBER SEL PUNCA MEMILIKI SIFAT PLASTISITAS

Sifat plastisitas sel punca dewasa telah ditunjukkan pada penjelasan di atas, baik dari sumsum tulang, jantung sendiri (*resident cardiac stem cell* atau *cardiac progenitor cell*) atau jaringan perifer (di dalam sirkulasi dikenal sebagai *circulating endothelial progenitor cell* atau di dalam stroma). Pembahasan di bawah ini akan dibatasi pada ketiga kompartemen ini



Gambar 12. Mekanisme kerja sel punca/progenitor dalam perbaikan kardiovaskuler.

Dikutip dari Dimmeler S, Burchfield J, Zeiher AM. *Cell-based therapy of myocardial infarction*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008; 28: 208–216.

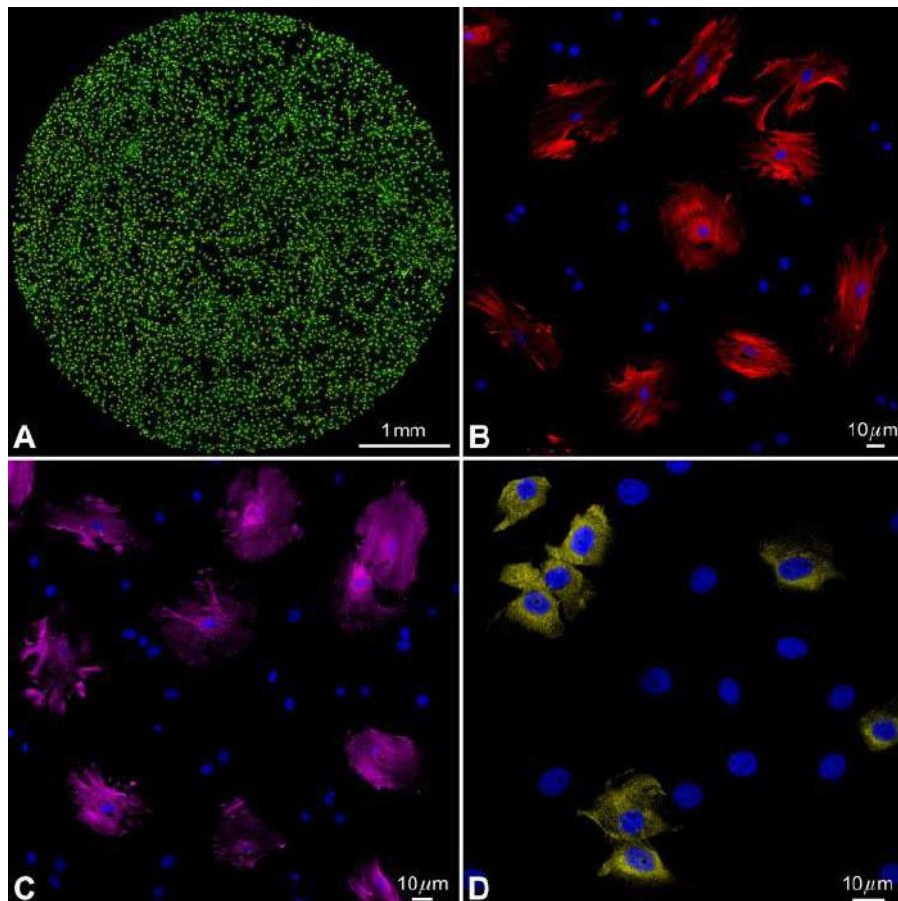
Sel Punca dari Sumsum Tulang (Bone Marrow-derived Stem Cell)

Sumsum tulang merupakan kompartemen yang paling heterogen mengandung populasi sel punca multipel dan berpotensi menghasilkan kardiomyosit (misalnya, hematopoietic stem cell (HSC),¹⁷ mesenchymal stem cell (MSC),⁶⁹, ⁷⁰*very small embryonic - like stem cells*,⁷¹ multipotent adult progenitor cell).⁷²

Sel Punca Hematopoetik (Hematopoietic Stem Cell)

Jackson et al.⁶⁸ mengisolasi satu populasi HSC (dikenal sebagai *side population* atau *SP cell*) dari sumsum tulang pada mencit transgenik yang mengekspresikan β -galactosidase (LacZ⁺). Sel donor LacZ⁺ dapat mengadakan repopulasi sumsum tulang pada mencit wild-type yang telah diradiasi, dan telah mengalami infark miokard setelah diligasi arteri koronaria. Pemeriksaan histologik mendapatkan bahwa pada tempat miokardium yang mengalami infark terjadi pembentukan kardiomyosit sebesar 0.02% (dan 3.3% dari sel endotel) menjadi LacZ⁺. Hal ini menunjukkan sel yang berasal dari donor.

Sedangkan Orlic et al.,¹⁷ menemukan adanya regenerasi setelah suntikan HSC ke dalam model mencit yang mengalami infark setelah 9 hari pasca transplantasi menimbulkan kontroversi hingga saat ini, karena mekanisme transdiferensiasi yang ditemukan kelompok ini ternyata tidak dapat direproduksi oleh Murray et al.,³⁶ yang menggunakan mencit transgenik dengan metode yang sama. Demikian juga peneliti Balsam et al.³⁷ dan Jacobsen, kelompok independen, tidak mendapatkan pembentukan kardiomyosit dari sel sumsum tulang pada kelompok mencit dengan infark.⁷³ Akhir-akhir ini Rubart et al.,⁷⁴ mendapatkan bahwa kardiomyosit dengan transien kalsium siklik yang menunjukkan fungsi kardiomyosit bukan berasal dari sel punca yang ditransplantasikan, melainkan dari mencit resipien itu sendiri. Hal ini menunjukkan bahwa *graft cell* donor tidak memberikan fungsi sebagai fenotipe jantung. Rota et al.³⁸ memperkuat argumentasi penemuan Orlic et al.¹⁷ bahwa HSC mengalami transdiferensiasi dan memiliki fungsi sebagai kardiomyosit dalam jantung resipien. Dengan demikian perdebatan mengenai transdiferensiasi masih berlanjut.⁷⁵



Gambar 13. Sel punca jantung. A. satu koloni sel dengan c kit + (Hijau) dihasilkan oleh satu sel tunggal sel jantung. B-D Sel klonogenik memerlukan fenotipe miosit dalam medium (B, α sarcomeric actin, merah), sel otot polos (C, aktin otot polos, ungu), dan sel endotel (D, faktor von Willebrand)

Dikutip dari Leri A, Kajstura J, Anversa P. *Cardiac stem cells and mechanisms of myocardial regeneration. Physiol Rev* 2005; 85: 1373-1416.

Sel Punca Mesenkim (Mesenchymal Stem Cells)

MSC adalah populasi sel yang agak heterogen, umumnya mengekspresikan *marker* termasuk Sca-1, CD29, CD44, CD81, dan CD106 pada mencit dan pada manusia mengekspresikan CD29, Cd44, CD71, CD 90, CD106, CD120a, dan CD 124. MSC berdiferensiasi menjadi fenotipe adiposit, kondrosit dan osteogenik dalam kondisi media tertentu⁷⁶ dan mempunyai sifat immunomodulasi sehingga terhindar dari rejeksi setelah allotransplantasi.⁷⁷

Shiota et al.,⁷⁸ melaporkan induksi progenitor menyerupai MSC yang diperoleh dari kultur melibatkan pembentukan *cardiosphere* dari sel sumsum tulang. *Cardiosphere* ini menunjukkan aktivitas berdenyut spontan, immunoreaktivitas untuk marker jantung Nkx2.5 dan MLC2v setelah diberikan 5-aza-deoxytidine (5-aza-dc), suatu inhibitor terhadap metilasi DNA yang meningkatkan diferensiasi pluripoten P19 sel karsinoma embrio. Mereka melaporkan terjadi peningkatan fungsi setelah transplantasi dengan pewarnaan GFP, namun derajat terjadinya remuskularisasi amat rendah, hanya 7 sel donor kardiomyosit dalam satu jantung.

Sel Punca Jantung (Resident Cardiac Stem Cells)

Identifikasi berbagai sel punca jantung (sel progenitor jantung) menunjukkan bahwa jantung tidak lagi berupa suatu organ pasca mitotik terminal, melainkan suatu organ yang diregulasi oleh kompartemen sel punca.²⁵ Hierlihy et al.,⁷⁹ pertama kali mengisolasi *side population (SP) cell* dari jaringan jantung menggunakan eksklusi pewarnaan Hoechst 33342, suatu teknik yang dikembangkan untuk meningkatkan sel progenitor residen dari sumsum tulang dan organ lain. Fenotipe SP terdiri dari kurang lebih 1% dari seluruh sel jantung mencit, tetapi kelompok peneliti ini tidak melakukan pemeriksaan potensi kardiogenik.⁷⁵ Sel punca jantung dengan ekspresi stem cell marker *c kit+* merupakan sel punca yang pertama kali diisolasi dari jantung tikus oleh Beltrami et al., pada tahun 2003.⁸⁰ Secara histologik, sel ini membentuk satu kumpulan kecil (*cluster*) di dalam interstisium ventrikel dan atrium dengan densitas paling tinggi di atrium dan apeks ventrikel pada model tikus. Sel *c-kit* jantung bersifat *self renewing*, klonogenik, dan multipoten, berdiferensiasi menjadi kardiomyosit, otot polos dan sel endotel.

Dalam waktu 20 hari setelah transplantasi sel punca jantung ke dalam zona batas infark pada tikus, maka sel *c-Kit* berlabel BrdUrd telah berkoloni di area infark dan tampak matur dengan ekspresi protein sarkomerik (*cardiac MHC*), *cross-striation* dan *connexin-43* positif pada diskus interkalatus.

Analisis morfologik mendapatkan bahwa sel yang disuntikkan menghasilkan 13×10^6 kardiomyosit baru, sama dengan 65 kali lipat peningkatan dari saat suntikan. Hal ini diikuti dengan peningkatan

densitas vaskuler dengan inkorporasi *graft cell*. Regenerasi jantung dan perbaikan fungsi dengan ekokardiografi juga dilaporkan pada penelitian lain menggunakan sel punca *c-Kit* baik pada tikus dan anjing dengan model infark.⁸¹

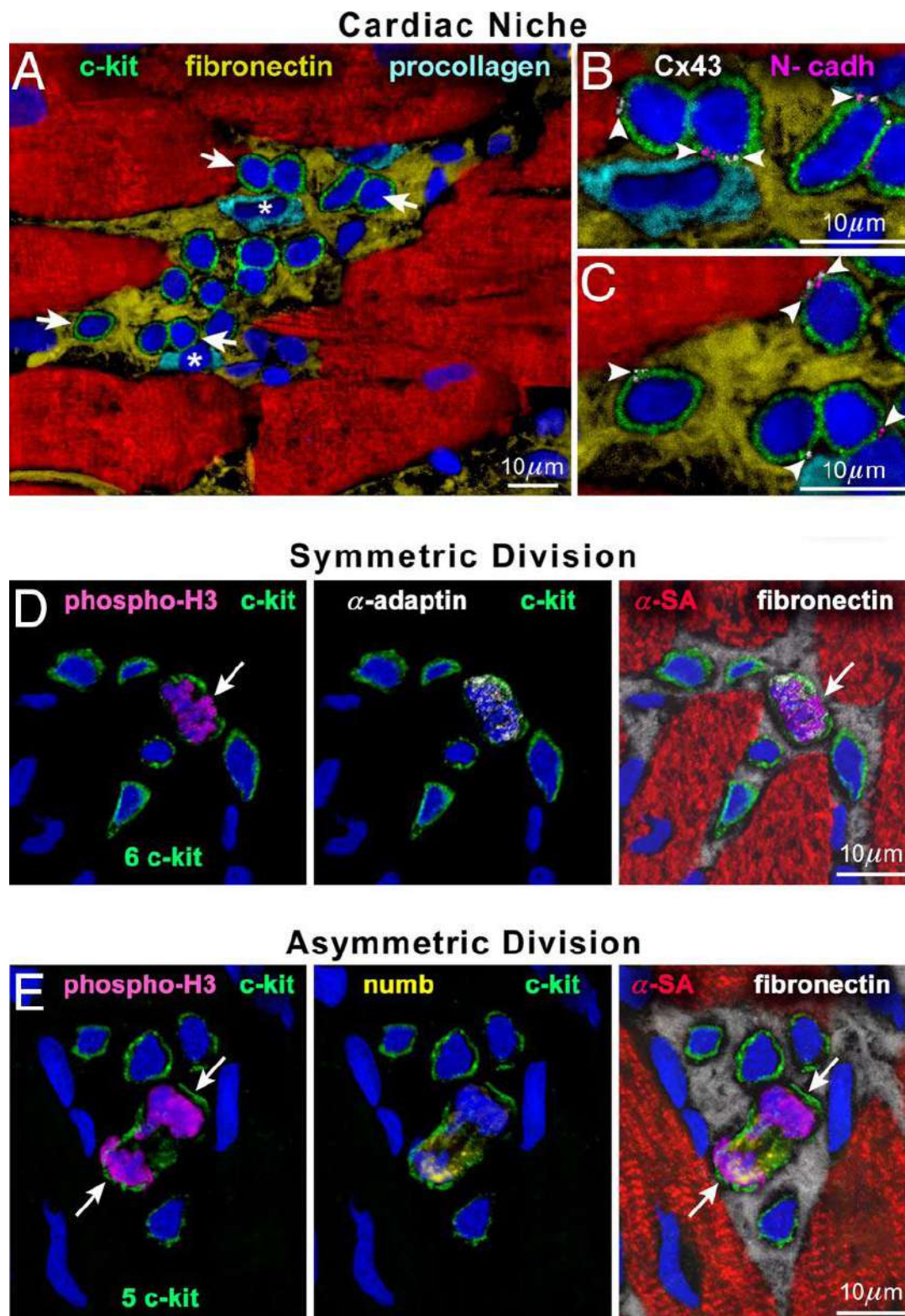
Isolasi dan ekspansi sel *c-kit* telah dilaporkan pada spesimen pasien yang menjalani pembedahan.⁸² Sel ini memiliki sifat dasar sebagai sel punca: *self renewing*, klonogenik dan multipoten (Gambar 13).²⁵ Penelitian pada manusia dengan berbagai penyebab gagal jantung mendapatkan bahwa atrium kanan merupakan sumber utama sel punca jantung (*cardiac stem cell*) yang mengekspresikan *c-kit* dan *Islet-1 hCPC* (*human cardiac progenitor cell*) (Gambar 14)⁸² dan wanita lebih banyak menghasilkan sel *c-kit+*.⁸³ Pouly et al.,⁸⁴ mendapatkan bahwa sel *c-kit* lebih banyak ditemukan pada bagian septum daripada atrium kanan pada pasien dengan transplantasi jantung. Jumlah sel *c-kit* yang diperoleh adalah berkisar 1 per 1×10^4 miosit.^{83, 84}

Selain *marker* sel *c-kit* ditemukan di dalam sel punca jantung, Oh et al.,⁵³ juga melaporkan sel progenitor jantung yang mengekspresikan stem cell antigen 1 (*Sca-1*) pada jantung mencit dewasa, dan tidak dijumpai sel *c-kit*. Messina et al.⁸⁶ melaporkan satu kumpulan sel yang dikenal sebagai *cardiosphere* bersifat *self renewing*, klonogenik dan mengekspresikan endotel (*KDR* pada manusia, *flk-1* pada mencit dan *CD 31*) dan *marker* sel punca (*CD34*, *c-kit*, *Sca-1*). Laugwitz menunjukkan satu populasi sel yang mengekspresikan faktor transkripsi *Nkx 2.5*, dan *GATA4*, dan tidak ada *Sca-1*, *CD31*, atau *c-kit*.⁸⁷

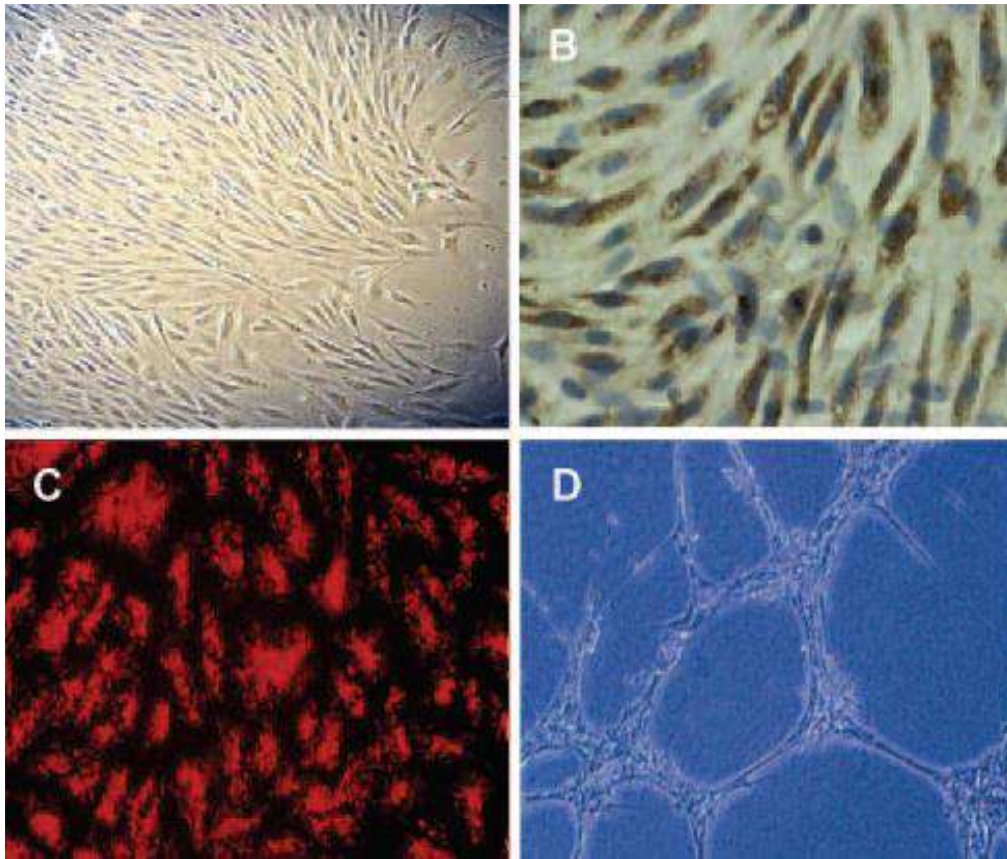
Endothelial Progenitor Cells

Endothelial Progenitor Cells (EPCs) adalah sel punca yang berada di dalam sirkulasi darah dan sumsum tulang, karena didapati pada kedua kompartemen. Fenotipe EPC pertama kali dikemukakan oleh Asahara tahun 1997, menimbulkan proliferasi dan menuju area injuri sebagai respon terhadap iskemia jaringan, baik dengan mengadakan inkorporasi atau meningkatkan neovaskularisasi.^{88, 89} EPC mengekspresikan *marker* *Flk-1* *CD34* dan *CD133* dan dapat berdiferensiasi menjadi sel endotel definitif.^{90, 91}

Untuk memperoleh EPC dari sel mononuklear darah tepi, dapat dilakukan secara kultur di dalam medium yang diperkaya dengan faktor pertumbuhan spesifik seperti *Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)*. Koloni yang terbentuk segera berproliferasi membentuk satu lapisan sel dengan morfologi khas lapisan endotel tersusun seperti batu bata. Setelah 2 (dua) minggu, sel mengekspresikan ciri seperti endotel dengan *von Willerbrand factor*, mengambil *acetylate low-density lipoprotein cholesterol*, dan dapat berbentuk vaskuler menyerupai *tube* (Gambar 15).⁹²



Gambar 14. Cardiac niches dan pembelahan human cardiac stem cell (hCSC). Bagian dari miokardium normal. (A-C) Kumpulan sel c-kit (hijau). Tanda panah A menunjukkan area pada B dan C. Persambungan gap (connexin 43: Cx43, putih, kepala anak panah) dan adherin (N adherin: N cadh, ungu; kepala anak panah) ditunjukkan dengan magnifikasi lebih tinggi. Cx43 dan N cadherin terdapat di antara sel c-kit positif dan mioosit (α SA, merah) dan fibroblast (prokolagen, biru muda); fibronectin, kuning (D dan E). Mitosis (phosphor-H3, ungu; tanda panah) sel c-kit positif; α -adaptin (D, putih) dan Numb (E, kuning) menunjukkan lokasi keseragaman (D) dan ketidakseragaman (E) pada sel c-kit positif mitotik.
 Dikutip dari Bearzi C, Rota M, Hosoda T, Tillmanns J, Nascimbene A, De Angelis A, Yasuzawa-Amano S, Trofimova I, Siggins RW, Lecapitaine N, Cascapera S, Beltrami AP, D'Alessandro DA, Zias E, Quaini F, Urbanek K, Michler RE, Bolli R, Kajstura J, Leri A, Anversa P. Human cardiac stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007; 104: 14068-14073.



Gambar 15. Imunohistokimia dari ekspansi EPC hasil kultur. A. EPC dalam cawan petri 2 minggu menunjukkan morfologi susunan batu bata yang khas seperti sel endotel (100x). B. pewarnaan EPC positif terhadap faktor VIII (Von Willebrand Factor) (200x). C. EPC mengambil acetylated LDL-C dalam media kultur (200x). D. EPC membentuk struktur vaskuler menyerupai tube.

Dikutip dari Dzau VJ, Gnechhi M, Pachori AS, Morello F, Melo LG. *Therapeutic potential of endothelial progenitor cells in cardiovascular diseases. Hypertension* 2005; 46: 7-18.

Kemampuan EPC mengadakan transdiferensiasi pertama kali dilaporkan Dimmeler et. al. tahun 2003.⁴⁵ CD34 dari EPC diperoleh dari sel mononuklear darah perifer pada orang dewasa sehat dan pasien dengan penyakit jantung koroner. EPC dilaporkan mampu bertransdiferensiasi ke dalam kardiomyosit setelah dikulturkan dengan kardiomyosit tikus neonatus berdasarkan pemeriksaan α -sarcomeric actinin immunoreactivity dengan *flowcytometry*, ekspresi *cardiac markers* dengan immunostaining atau RT-PCR dengan species-specific probes. Disamping itu, transdiferensiasi yang terjadi menyebabkan pembentukan gap junction sehingga terjadi fenotipe jantung. Namun setelah dilakukan inhibisi dengan Notch signaling < 1% EPC mengekspresikan α -sarcomeric actinin.⁹³ Asahara et. al.,⁹⁴ juga melaporkan transdiferensiasi jantung dengan tingkat rendah setelah dikulturkan bersamaan dengan H9C2 cell line pada tikus. Gruh et. al.,⁹⁵ tidak dapat mengkonfirmasi adanya diferensiasi jantung oleh EPC setelah dilakukan kultur bersama dengan miosit primer, dan menyimpulkan bahwa transdiferensiasi EPC jarang terjadi dengan pemeriksaan FACS atau mikroskop epifluorescencedan berupa artifact akibat sel yang mendasarinya dan/atau *autofluorescence*.

Satu studi mendapatkan bahwa transplantasi sel mononuklear darah perifer tidak mengadakan inkorporasi menjadi kapiler baru, namun berkontribusi membentuk pembuluh darah baru melalui sekresi parakrin. Pengamatan ini menunjukkan bahwa efek parakrin mungkin merupakan mekanisme penting terhadap peningkatan neovaskularisasi setelah transplantasi EPC.⁹⁵

TIPE SEL PUNCA DEWASA LAIN YANG MEMILIKI POTENSI KARDIOGENIK

Ada beberapa laporan mengenai tipe sel punca dewasa lain yang memiliki potensi kardiogenik, diantaranya sel punca dari adipose (Adipose Derived Stem Cell (ADSC), dan sel punca dari tali pusat (Umbilical Cord Derived Stem Cells (UCBSCs)). Planat-Benard et. al.⁹⁶ melaporkan bahwa terjadi diferensiasi spontan ADSC menjadi sel yang dapat berdenyut spontan meskipun dengan frekwensi rendah (0.02-0.07%). Namun, Yamada et. al.⁹⁷ melaporkan bahwa ADSC lemak coklat memiliki potensi diferensiasi 10 kali lipat daripada lemak putih. Setelah transplantasi pada model infark mencit, lemak coklat memiliki efek yang

baik terhadap repolarisasi jantung, tetapi mekanisme sel fusi tidak dapat disingkirkan.

Potensi UCBSC masih menimbulkan kontroversial karena ada studi yang mendapatkan diferensiasi kardiogenik UCBSC secara *in vivo*⁹⁸ dan *in vitro* setelah dilakukan perlakuan dengan 5-aza-dc⁹⁹ atau kultur bersama dengan kardiomyosit mencit fetus.¹⁰⁰ Sedangkan, studi lain menyimpulkan bahwa UCBSC dapat menempati bagian infark dari jantung rodensia setelah pemberian intravena dan memberikan efek tanpa berdiferensiasi ke dalam kardiomyosit.^{101, 102}

APLIKASI KLINIS PLASTISITAS SEL PUNCA

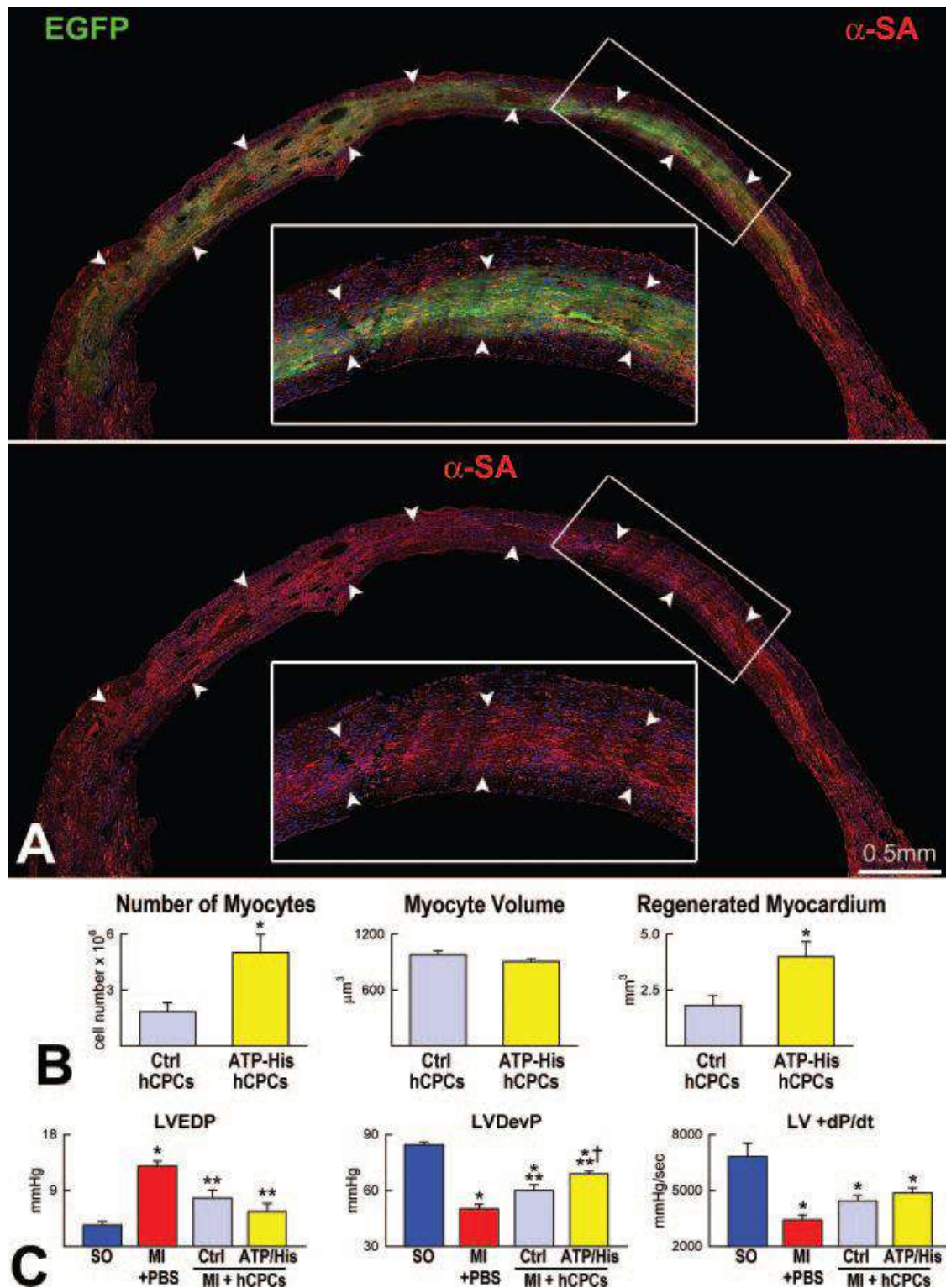
Melalui pemahaman mekanisme kerja sel punca, maka sel sumsum tulang multipoten dapat digunakan untuk injuri dan berbagai penyakit jaringan nonhematopoetik dengan melakukan 4 (empat) cara: (1). Transplantasi sel autologus normal. (2). Peningkatan atau mobilisasi sel punca sumsum tulang secara endogen. (3). Transplantasi sel sumsum tulang yang dimodifikasi secara genetik. (4). Transplantasi sel sumsum tulang alogenik.³¹

Kini prioritas utama adalah melakukan peningkatan jumlah dan fungsi sel punca baik yang berasal dari sel yang berasal dari sumsum tulang, EPC maupun *cardiac progenitor cell*.⁹² Hal ini disebabkan jumlah sel punca yang diperoleh masih relatif kecil, sehingga membatasi kemampuan sel untuk diferensiasi menjadi sel nonhematopoetik. EPC tidak menunjukkan tingkat proliferasi dan diferensiasi endotel yang signifikan, tetapi dapat menghasilkan

berbagai faktor pertumbuhan angiogenik.¹⁰³ Karena itu, ekspansi sel melalui rekayasa genetik terhadap EPC, mobilisasi dengan GSCF (Granulocyte Colony–Stimulating Factor) dan SDF (Stromal Derived Factor) untuk meningkatkan fungsi EPC. Orlic¹⁰⁴ melaporkan bahwa mobilisasi EPC dapat mengurangi mortalitas pascainfark dan pemulihan fungsi pada mencit dengan infark miokard karena peningkatan regenerasi dan angiogenesis secara signifikan pada miokardium yang mengalami infark.

Implikasi *cardiac progenitor cell* (CPC) yang terdapat di dalam *niches* jantung mamalia berpotensi untuk menghasilkan kardiomyosit dan pembuluh koronariaakan memberikan jalan untuk ekspansi bagi pemanfaatan dalam penatalaksanaan pasien dengan gagal jantung.⁸²

Kehilangan kardiomyosit melalui nekrosis dan apoptosis pada gagal jantung, terutama disebabkan penyakit jantung koroner membutuhkan regenerasi kardiomyosit yang telah hilang. Karena itu, pemanfaatan human cardiac progenitor cell (hCPC) dilakukan dengan meningkatkan proses regenerasi melalui *engraftment* dan ekspansi dengan induksi osilasi Ca²⁺ di dalam hCPC, sebelum sel ini dimasukkan ke dalam intramiokard pada jantung dengan infark. Osilasi Ca²⁺ diatur oleh pelepasan Ca²⁺ dari retikulum endoplasmic melalui aktivasi inositol 1,4,5-triphosphat receptor (IP3R) dan reuptake Ca²⁺ oleh pompa Ca²⁺ di dalam retikulum (SERCA) Osilasi Ca²⁺ di dalam hCPC diperlukan karena dapat berpasangan dengan masuknya sel ke dalam siklus sel dan inkorporasi 5-bromodeoxyuridine (Gambar 16).¹⁰⁵



Gambar 16. Regenerasi miokard dengan aktivasi hCPC. A. Jantung mencit diberikan hCPC yang distimulasi dengan histamin. Bagian tengah infark telah diganti oleh kardiomyosit dengan EGFP positif (atas, hijau) dan α -SA positif (bawah, merah). Area berbentuk segiempat ditunjukkan dengan pembesaran pada inset. B. Luasnya regenerasi dimediasi oleh hCPC tanpa aktivasi (Ctrl hCPCs) atau hCPC diekspos dengan ATP atau histamin (ATP-his hCPC). C. Fungsi ventrikel kiri pada sham-operated (SO), infark tanpa pengobatan (MI + PBS) dan infark dengan pengobatan hCPC (MI+hCPCs) pada mencit 7 hari setelah ligasi koronaria. Ctrl, ATP dan His menunjukkan masing-masing tidak terstimulasi, stimulasi dengan ATP, dan hCPC distimulasi dengan histamin. LVEDP, LV end-diastolic pressure; LVDevP, LV developed pressure. * $P < 0.05$ vs SO; ** $P < 0.05$ vs MI+PBS; † $P < 0.05$ vs MI diinjeksi dengan hCPCs tanpa aktivasi.

Dikutip dari Ferreira-Martins J, Rondon-Clavo C, Tugal D, Korn JA, Rizzi R, Padin-Iruegas ME, Ottolenghi S, De Angelis A, Urbanek K, Ide-Iwata N, D'Amario D, Hosoda T, Leri A, Kajstura J, Anversa P, Rota M Spontaneous calcium oscillations regulate human cardiac progenitor cell growth. *Circ Res.* 2009; 105: 764-774.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rossant J. Embryonic stem cells in perspective. In: Lanza R eds. *Essential of stem cell biology*. 2nd ed. 2009 Elsevier Inc. 13-15.
2. Evans MJ and Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981; 292: 154-156.
3. Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 7634-7638.
4. Watts G. Martin Evans: joint winner of 2007 Nobel Prize in medicine. *Lancet* 2007; 370: 2095.
5. Siegel AW. Temporal restrictions and the impasse on human embryonic stem-cell research. *Lancet* 2004; 364: 215-18.
6. Adashi EY, West DM. Reproductive freedom and the next President. *N Engl J Med* 2008; 359: 1867-1869.
7. Körbling, M, Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair- a new therapeutic concept? *N Engl J Med* 2003; 349: 570-82.
8. Preston SL, Alison MR, Forbes SJ, Direkze NC, Poulson R, Wright RA. The new stem cell biology: something for everyone. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 2003; 56: 86-96.
9. Weissman IL. Stem cells – scientific, medical, and political issues. *N Engl J Med*. 2002; 346: 1576-1579.
10. Bongso A, Fong CY. Human embryonic stem cell: their nature, properties, and uses. In: Baharvand H ed. *Trends in stem cell biology and technology*. Humana Press 2009, 1-17.
11. Orkin SH, Zon LI. Hematopoiesis and stem cells: plasticity versus developmental heterogeneity. *Nat Immunol* 2002; 3: 323-28.
12. Anderson DJ, Gage FH, Weissman IL. Can stem cells cross lineage boundaries? *Nat Med* 2001; 7: 393-95.
13. Mathur A, Martin JF. Stem cells and repair of the heart. *Lancet* 2004; 364: 183-92.
14. Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M, et al. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science* 1998; 279: 1528-30.
15. Alison MR, Poulson R, Jeffery R, et al. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature* 2000; 406: 257.
16. Eglitis MA, Mezey E. Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brains of adult mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 4080-5.
17. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, McKay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701-4.
18. Poulson R, Forbes SJ, Hodivala-Dilke K, et al. Bone marrow contributes to renal parenchymal turnover and regeneration. *J Pathol* 2001; 195: 229-35.
19. Oshima H, Rochat A, Kedzia C, et al. Morphogenesis and renewal of hair follicles from adult multipotent stem cell. *Cell* 2001; 104: 233-245.
20. Brittan M, Hunt T, Jeffery R, et al. Bone marrow derivation of pericyptal myofibroblasts in the mouse and human small intestine and colon. *Gut* 2002; 50: 752-7.
21. Holden C, Vogel G. Stem cells. Plasticity: time for a reappraisal? *Science* 2002; 296: 2126-9.
22. Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med* 2000; 6: 1229-34.
23. Grove JE, Bruscia EA, Krause DS. Plasticity of bone marrow-derived stem cell. *Stem Cell*. 2004; 22: 487-500.
24. Rosenthal N. Prometheus's vulture and the stem-cell promise. *N Engl J Med*. 2003; 349: 267-274.
25. Leri A, Kajstura J, Anversa P. Cardiac stem cells and mechanisms of myocardial regeneration. *Physiol Rev* 2005; 85: 1373-1416.
26. Krause DS, Theise ND, Collector MI, et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001; 105: 369-77.
27. Orlic D, Hill JM, Arai AE. Stem cells for myocardial regeneration. *Circ Res*. 2002; 91: 1092-1102.
28. Jonathan C. Howell and Mervin C. Yoder. Adult stem cell plasticity defined. *NeoReviews* 2003; 4: 181-185.
29. Körbling M, Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair- a new therapeutic concept? *N Engl J Med* 2003; 349: 570-82.
30. Quesenberry PJ, Colvin GA, Lambert JF. The chiaroscuro stem cell: a unified stem cell theory. *Blood* 2002; 100: 4266-4271.
31. Herzog EL, Chai Li, Krause DS. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood* 2003; 102: 3483-3493.
32. Demura T, Tashiro G, Horiguchi G, et al. Visualization by comprehensive microarray analysis of gene expression programs during transdifferentiation of mesophyll cells into xylem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002; 99: 15794-15799.
33. Stocum DL. Development: a tail of transdifferentiation. *Science*. 2002; 298: 1901-1903.
34. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701-5.
35. Dawn B, Bolli R. Cardiac progenitor cells: the revolution continues. *Circ. Res*. 2005; 97: 1080-1082.
36. Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, et al. Hematopoietic stem cells do

- nottransdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature* 2004; 428: 664–8.
37. Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, Kofidis T, Weissman IL, Robbins RC. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature* 2004; 428: 668–73.
 38. Rota M, Kajstura J, Hosoda T, Bearzi C, Vitale S, Esposito G, Iaffaldano G, Padin-Iruegas ME, Gonzalez A, Rizzi R, Small N, Muraski J, Alvarez R, Chen X, Urbanek K, Bolli R, Houser SR, Leri A, Sussman MA, Anversa P. Bone marrow cells adopt the cardiomyogenic fate in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007; 104: 17783–17788.
 39. Hsieh, PC, Segers, V F., Davis, M. E., MacGillivray, C., Gannon, J., Molkenstin, J. D., Robbins, J. and Lee, R. T. Evidence from a genetic fate-mapping study that stem cells refresh adult mammalian cardiomyocytes after injury. *Nat. Med.* 2007; 13, 970–974.
 40. Bergmann, O, Bhardwaj, RD, Bernard, S, Zdunek, S, Barnabé-Heider, F, Walsh, S, Zupicich, J, Alkass, K, Buchholz, BA, Druid, H. et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science* 2009; 324: 98–102.
 41. Parmacek MS, Epstein, JA. Cardiomyocyte renewal. *N Engl J Med* 2009; 361: 86–88.
 42. Masuda H, Asahara T. Post-natal endothelial progenitor cells for neovascularization and tissue regeneration. *Cardiovasc Res*. 2003; 58: 390–398.
 43. Asahara T, Masuda H, Takahashi T, Kalka C, Pastore C, Silver M, Kearne M, Magner M, Isner JM. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res*. 1999; 85: 221–228.
 44. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et. al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*. 1997; 275: 964–967.
 45. Badorff C, Brandes RP, Popp R, Urbich C, Aicher A, Fleming I, Busse R, Zeiher AM, Dimmeler S. Transdifferentiation of blood derived human adult endothelial progenitor cells into functionally active cardiomyocytes. *Circulation*. 2003; 107: 1024–1032.
 46. Yeh ETH, Zhang Sui, Wu HD, Körbling M, Willerson JT, Estrov Z. Transdifferentiation of Human peripheral blood CD34⁺-enriched cell population into cardiomyocytes, endothelial cells, and smooth muscle cells In vivo. *Circulation* 2003; 108: 2070–2073.
 47. Kawamoto A, Tkebuchava T, Yamaguchi J, et. al. Intramyocardial transplantation of autologous endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization of myocardial ischemia. *Circulation* 2003; 107: 461–468.
 48. Weimann JM, Johansson CB, Trejo A, Blau HM. Stable reprogrammed heterokaryons form spontaneously in Purkinje neurons after bone marrow transplant. *Nat Cell Biol*. 2003; 5: 959 – 966.
 49. Hardeman EC, Chiu CP, Minty A, Blau HM. The pattern of actin expression in human fibroblast X mouse muscle heterokaryons suggests that human muscle regulatory factors are produced. *Cell*. 1986; 47: 123–130.
 50. Terada N, Hamazaki T, Oka M, Hoki M, Mastalerz DM, Nakano Y, Meyer EM, Morel L, Petersen BE, Scott EW. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature*. 2002; 416: 542–545.
 51. Ying QL, Nichols J, Evans EP, Smith AG. Changing potency by spontaneous fusion. *Nature*. 2002; 416: 545–548.
 52. Alvarez-Dolado M, Pardo R, Garcia-Verdugo JM, Fike JR, Lee HO, Pfeffer K, Lois C, Morrison SJ, Alvarez-Buylla A. Fusion of bone marrow– derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature*. 2003; 425: 968 –973.
 53. Oh H, Bradfute SB, Gallardo TD, Nakamura T, Gaussin V, Mishina Y, Pocius J, Michael LH, Behringer RR, Garry DJ, Entman ML, Schneider MD. Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100: 12313–12318.
 54. Zhang S, Wang D, Estrov Z, Raj S, Willerson JT, Yeh ETH. Both Cell Fusion and Transdifferentiation account for the transformation of human peripheral blood CD34-positive cells into cardiomyocytes in vivo. *Circulation* 2004; 110: 3803–3807.
 55. Zhang S, Shpall E, Willerson JT, Yeh ETH. Fusion of human hematopoietic progenitor cells and murine cardiomyocytes is mediated by $\alpha 4 \beta 1$ integrin/vascular cell adhesion molecule-1 interaction. *Circ Res*. 2007; 100: 693–702.
 56. Gneocchi M, Zhang ZP, Ni AG, Dzau VJ. Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy. *Circ. Res*. 2008; 103: 1204–1219.
 57. Gneocchi M, He H, Liang OD, Melo LG, Morello F, Mu H, Noiseux N, Zhang L, Pratt RE, Ingwall JS, Dzau VJ. Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-modified mesenchymal stem cells. *Nat Med*. 2005; 11: 367–368.
 58. Gneocchi M, He H, Noiseux N, Liang OD, Zhang L, Morello F, Mu H, Melo LG, Pratt RE, Ingwall JS, Dzau VJ. Evidence supporting paracrine hypothesis for Akt-modified mesenchymal stem cell-mediated cardiac protection and functional improvement. *FASEB J*. 2006; 20: 661– 669.
 59. Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, Shou M, Lee CW, Barr S, Fuchs S, Epstein SE. Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms. *Circulation*. 2004; 109: 1543–1549.

60. Yoon YS, Wecker A, Heyd L, Park JS, Tkebuchava T, Kusano K, Hanley A, Scadova H, Qin G, Cha DH, Johnson KL, Aikawa R, Asahara T, Losordo DW. Clonally expanded novel multipotent stem cells from human bone marrow regenerate myocardium after myocardial infarction. *J Clin Invest*. 2005; 115: 326-338.
61. Nagaya N, Kangawa K, Itoh T, Iwase T, Murakami S, Miyahara Y, Fujii T, Uematsu M, Ohgushi H, Yamagishi M, Tokudome T, Mori H, Miyatake K, Kitamura S. Transplantation of mesenchymal stem cells improves cardiac function in a rat model of dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 2005; 112: 1128-1135.
62. Takahashi M, Li TS, Suzuki R, Kobayashi T, Ito H, Ikeda Y, Matsuzaki M, Hamano K. Cytokines produced by bone marrow cells can contribute to functional improvement of the infarcted heart by protecting cardiomyocytes from ischemic injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006; 291: H886-H893.
63. Le Blanc K. Mesenchymal stromal cells: Tissue repair and immune modulation. *Cytotherapy*. 2006; 8: 559-561.
64. Dimmeler S, Burchfield J, Zeiher AM. Cell-based therapy of myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008; 28: 208 – 216.
65. Ohnishi S, Sumiyoshi H, Kitamura S, Nagaya N. Mesenchymal stem cells attenuate cardiac fibroblast proliferation and collagen synthesis through paracrine actions. *FEBS Lett*. 2007; 581: 3961-3966.
66. Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, Finato N, Beltrami CA, Nadal-Ginard B, Kajstura J, Leri A, Anversa P. Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med*. 2002; 346: 5–15.
67. Deb A, Wang S, Skelding KA, Miller D, Simper D, Caplice NM. Bone marrow-derived cardiomyocytes are present in adult human heart: a study of gender-mismatched bone marrow transplantation patients. *Circulation* 2003; 107: 1247–1249.
68. Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, Entman ML, Michael LH, Hirschi KK, Goodell MA. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest*. 2001; 107: 1395–1402.
69. Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, Konishi F, Kodama H, Pan J, Sano M, Takahashi T, Hori S, Abe H, Hata J, Umezawa A, Ogawa S. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest*. 1999; 103: 697–705.
70. Tomita S, Li RK, Weisel RD, Mickle DA, Kim EJ, Sakai T, Jia ZQ. Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. *Circulation*. 1999; 100(suppl II): II-247–II-256.
71. Dawn B, Tiwari S, Kucia MJ, Zuba-Surma EK, Guo Y, Sanganalmath SK, Abdel-Latif A, Hunt G, Vincent RJ, Taher H, Reed NJ, Ratajczak MZ, Bolli R. Transplantation of bone marrow-derived very small embryonic-like stem cells attenuates left ventricular dysfunction and remodeling after myocardial infarction. *Stem Cells*. 2008; 26: 1646-1655.
72. Zeng L, Hu Q, Wang X, Mansoor A, Lee J, Feygin J, Zhang G, Suntharalingam P, Boozer S, Mhashilkar A, Panetta CJ, Swingen C, Deans R, From AH, Bache RJ, Verfaillie CM, Zhang J. Bioenergetic and functional consequences of bone marrow-derived multipotent progenitor cell transplantation in hearts with postinfarction left ventricular remodeling. *Circulation*. 2007; 115: 1866 –1875.
73. Nygren JM, Jovinge S, Breitbach M, Sawen P, Roll W, Hescheler J, Taneera J, Fleischmann BK, Jacobsen SE. Bone marrow-derived hematopoietic cells generate cardiomyocytes at a low frequency through cell fusion, but not transdifferentiation. *Nat Med*. 2004; 10: 494 – 501.
74. Scherschel JA, Soonpaa MH, Srouf EF, Field LJ, Rubart M. Adult bone marrow-derived cells do not acquire functional attributes of cardiomyocytes when transplanted into peri-infarct myocardium. *Mol Ther*. 2008; 16: 1129 – 1137.
75. Reinecke H, Minami E, Zhu WZ, Laflamme MA. Cardiogenic differentiation and transdifferentiation of progenitor cells. *Circ Res*. 2008; 103: 1058-1071.
76. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999; 284: 143-147.
77. Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood*. 2005; 105: 1815-1822.
78. Shiota M, Heike T, Haruyama M, Baba S, Tsuchiya A, Fujino H, Kobayashi H, Kato T, Umeda K, Yoshimoto M, Nakahata T. Isolation and characterization of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells with myogenic and neuronal properties. *Exp Cell Res*. 2007; 313: 1008–1023.
79. Hierlihy AM, Seale P, Lobe CG, Rudnicki MA, Megeney LA. The post-natal heart contains a myocardial stem cell population. *FEBS Lett*. 2002; 530: 239-243.
80. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, Baker M, Limana F, Chimenti S, Kasahara H, Rota M, Musso E, Urbanek K, Leri A, Kajstura J, Nadal-Ginard B, Anversa P. Adult cardiac stem cells are

- multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*. 2003; 114: 763-776.
81. Dawn B, Stein AB, Urbanek K, Rota M, Whang B, Rastaldo R, Torella D, Tang XL, Rezazadeh A, Kajstura J, Leri A, Hunt G, Varma J, Prabhu SD, Anversa P, Bolli R. Cardiac stem cells delivered intravascularly traverse the vessel barrier, regenerate infarcted myocardium, and improve cardiac function. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102: 3766–3771.
 82. Bearzi C, Rota M, Hosoda T, Tillmanns J, Nascimbene A, De Angelis A, Yasuzawa-Amano S, Trofimova I, Siggins RW, Lecapitaine N, Cascapera S, Beltrami AP, D'Alessandro DA, Zias E, Quaini F, Urbanek K, Michler RE, Bolli R, Kajstura J, Leri A, Anversa P. Human cardiac stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007; 104: 14068–14073.
 83. Itzhaki-Alfia A, Leor J, Raanani E, Sternik L, Spiegelstein D, Netser S, Holbova R, Pevsner-Fischer M, Lavee J, Barbash IM. Patient characteristics and cell source determine the number of isolated human cardiac progenitor cells. *Circulation*. 2009; 120: 2559-2566.
 84. Pouly J, Bruneval P, Mandet C, Proksch S, Peyrard S, Amrein C, Bousseaux V, Guillemain R, Deloche A, Fabiani J-N, Menasch P. Cardiac stem cells in the real world. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2008; 135: 673–678.
 85. Parmacek MS, Epstein JA. Pursuing cardiac progenitors: regeneration redux. *Cell*. 2005; 120: 295-8.
 86. Messina E, De Angelis L, Frati G, Morrone S, Chimenti S, Fiordaliso F, Salio M, Battaglia M, Latronico MV, Coletta M, Vivarelli E, Frati L, Cossu G, Giacomello A. Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart. *Circ Res*. 2004; 95: 911–921.
 87. Laugwitz KL, Moretti A, Lam J, Gruber P, Chen Y, Woodard S, Lin LZ, Cai CL, Lu MM, Reth M, Platoshyn O, Yuan JX, Evans S, Chien KR. Postnatal isl1⁺ cardioblasts enter fully differentiated cardiomyocyte lineages. *Nature*. 2005; 433: 647–653.
 88. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, Witzenbichler B, Schatteman G, Isner JM. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997;275:964–967.
 89. Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, Magner M, Isner JM, Asahara T. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med*. 1999; 5: 434–438.
 90. Shi Q, Rafii S, Wu MH, Wijelath ES, Yu C, Ishida A, Fujita Y, Kothari S, Mohle R, Sauvage LR, Moore MA, Storb RF, Hammond WP. Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood* 1998;92:362–367.
 91. Murohara T, Ikeda H, Duan J, Shintani S, Sasaki K, Eguchi H, Onitsuka I, Matsui K, Imaizumi T. Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization. *J Clin Invest*. 2000;105:1527–1536.
 92. Dzau VJ, Gneccchi M, Pachori AS, Morello F, Melo LG. Therapeutic potential of endothelial progenitor cells in cardiovascular diseases. *Hypertension* 2005;46:7-18
 93. Koyanagi M, Bushoven P, Iwasaki M, Urbich C, Zeiher AM, Dimmeler S. Notch signaling contributes to the expression of cardiac markers in human circulating progenitor cells. *Circ Res*. 2007;101:1139–1145.
 94. Murasawa S, Kawamoto A, Horii M, Nakamori S, Asahara T. Niche-dependent translineage commitment of endothelial progenitor cells, not cell fusion in general, into myocardial lineage cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:1388–1394.
 95. Gruh I, Beilner J, Blomer U, Schmiedl A, Schmidt-Richter I, Kruse ML, Haverich A, Martin U. No evidence of transdifferentiation of human endothelial progenitor cells into cardiomyocytes after coculture with neonatal rat cardiomyocytes. *Circulation*. 2006;113:1326–1334.
 96. Planat-Benard V, Menard C, Andre M, Puceat M, Perez A, Garcia-Verdugo JM, Penicaud L, Casteilla L. Spontaneous cardiomyocyte differentiation from adipose tissue stroma cells. *Circ Res*. 2004;94: 223–229.
 97. Yamada Y, Wang XD, Yokoyama S, Fukuda N, Takakura N. Cardiac progenitor cells in brown adipose tissue repaired damaged myocardium. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;342:662–670.
 98. Kogler G, Sensken S, Airey JA, Trapp T, Muschen M, Feldhahn N, Liedtke S, Sorg RV, Fischer J, Rosenbaum C, Greschat S, Knipper A, Bender J, Degistirici O, Gao J, Caplan AI, Colletti EJ, Almeida-Porada G, Muller HW, Zanjani E, Wernet P. A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. *J Exp Med*. 2004;200:123–135.
 99. Bonanno G, Mariotti A, Procoli A, Corallo M, Rutella S, Pessina G, Scambia G, Mancuso S, Pierelli L. Human cord blood CD133⁺ cells immunoselected by a clinical-grade apparatus differentiate in vitro into endothelial- and cardiomyocyte-like cells. *Transfusion*. 2007;47:280–289.
 100. Nishiyama N, Miyoshi S, Hida N, Uyama T, Okamoto K, Ikegami Y, Miyado K, Segawa K, Terai M, Sakamoto M, Ogawa S, Umezawa A. The significant cardiomyogenic potential of human umbilical cord blood-derived

- mesenchymal stem cells in vitro. *Stem Cells*. 2007;25: 2017–2024.
101. Ma N, Stamm C, Kaminski A, Li W, Kleine HD, Muller-Hilke B, Zhang L, Ladilov Y, Egger D, Steinhoff G. Human cord blood cells induce angiogenesis following myocardial infarction in NOD/scid-mice. *Cardiovasc Res*. 2005;66:45–54.
102. Leor J, Guetta E, Feinberg MS, Galski H, Bar I, Holbova R, Miller L, Zarin P, Castel D, Barbash IM, Nagler A. Human umbilical cord blood-derived CD133⁺ cells enhance function and repair of the infarcted myocardium. *Stem Cells*. 2006;24:772–780.
103. Rehman J, Li J, Orschell CM, March KL. Peripheral blood “Endothelial Progenitor Cells” are derived from monocyte/macrophages and secrete angiogenic growth factors. *Circulation*. 2003;107:1164–1169.
104. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Limana F, Jakoniuk I, Quaini F, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:10344–10349.
105. Ferreira-Martins J, Rondon-Clavo C, Tugal D, Korn JA, Rizzi R, Padin-Iruegas ME, Ottolenghi S, De Angelis A, Urbanek K, Ide-Iwata N, D’Amario D, Hosoda T, Leri A, Kajstura J, Anversa P, Rota M. Spontaneous calcium oscillations regulate human cardiac progenitor cell growth. *Circ Res*. 2009;105:764–774.

4

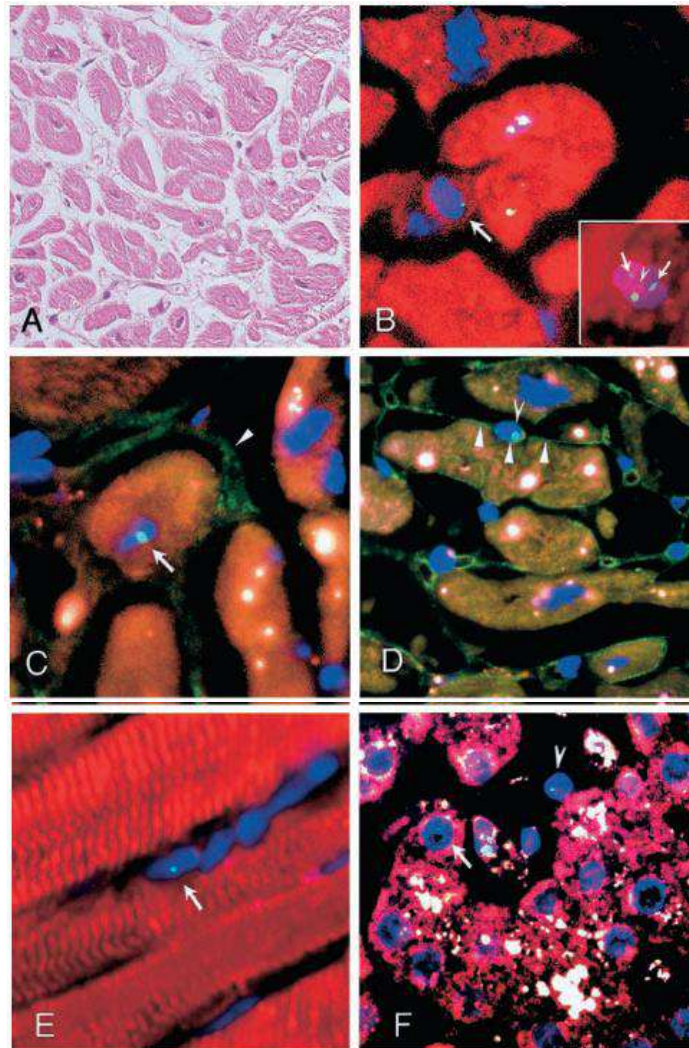
MOBILISASI DAN HOMING SEL PUNCA

- **PENDAHULUAN**
- **PERAN FAKTOR SITOKIN DAN KEMOKIN DALAM PROSES HOMING**
- **HOMING SEL PUNCA PADA INJURI MIOKARD**
- **DAFTAR PUSTAKA**

PENDAHULUAN

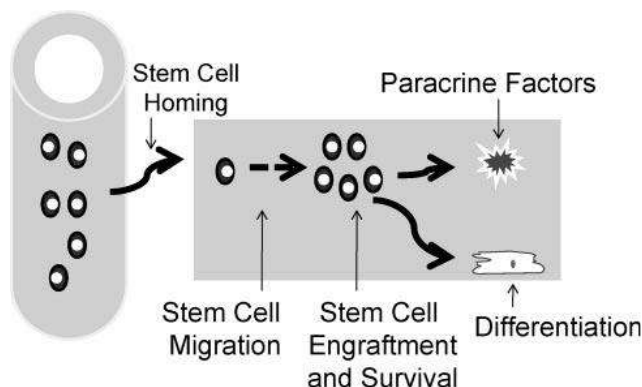
Remodeling jantung meliputi pembentukan jaringan fibrosa dan hipertrofi kompensasi pada miosit yang masih normal, yang dapat ditimbulkan oleh infark miokard yang mengakibatkan hilangnya fungsi jaringan jantung. Meskipun pada zona batas infark terjadi peningkatan indeks mitotik kardiomyosit, potensi replikasi ini sangat terbatas

sehingga manfaat terapeutik kecil.¹ Pembesaran kardiomyosit yang mungkin terjadi tidak melebihi dua kali lipat, sebelum mengalami apoptosis dan berakhir dengan gagal jantung. Upaya untuk menggantikan sel yang mampu berkontraksi pada tempat injuri disertai modulasi matriks, mungkin dapat menormalkan gangguan hemodinamik pada kardiomyosit yang masih berfungsi sehingga dapat mencegah efek perburukan remodeling ventrikel.²



Gambar 1. A. Pewarnaan hematoxylin-eosin menunjukkan bahwa tidak dijumpai tanda sel inflamasi pada sel miosit ventrikel yang normal. B. Kardiomyosit wanita dari pasien transplantasi sumsum tulang dengan pewarnaan positif terhadap α -sarcomeric actin (merah) mempunyai nuklei (biru) positif terhadap kromosom Y (titik hijau). B, inset, nukleus kardiomyosit diploid dari sumsum tulang pada pasien transplantasi sumsum tulang menunjukkan kromosom X (tanda panah terbuka, titik merah), kromosom Y (titik hijau), dan sepasang nukleus pasien transplantasi sumsum tulang menunjukkan kromosom X (tanda panah terbuka, titik merah), kromosom Y (titik hijau), dan sepasang kromosom 18 (tanda panah penuh, titik merah; perhatikan adanya pewarnaan yang bertumpang tindih dengan pewarnaan merah untuk α -sarcomeric actin (merah) di sekitarnya). C. Kromosom Y-positif untuk nukleus (titik biru, hijau, tanda panah) berasal dari sumsum tulang di dalam sitoplasma kardiomyosit (α -sarcomeric actin, merah) dikelilingi basement membrane laminin (hijau, tanda panah). D. Kromosom Y-positif pseudonukleus (tanda panah terbuka) dipisahkan dari kardiomyosit (α -sarcomeric actin, merah) oleh laminin (kepala tanda panah hijau). E dan F. Pewarnaan immunofluorescence kombinasi dan FISH untuk kromosom Y pada subjek dengan transplantasi sumsum tulang dari wanita menunjukkan sel otot skeletal pria. (E) Sitoplasma merah dan nukleus biru dengan titik hijau (tanda panah) dan (F) Hepatosit pria (sitoplasma merah dan nukleus biru dengan titik hijau tanda panah). Perhatikan bahwa sel pria (kepala panah terbuka) tidak mempunyai pewarnaan bersama dengan antibodi hepatosit.

Dikutip dari Deb A, Wang S, Skelding KA, Miller D, Simper D, Caplice NM. Bone marrow-derived cardiomyocytes are present in adult human heart: a study of gender-mismatched bone marrow transplantation patients. *Circulation* 2003; 107:1247-49.



Gambar 2. Langkah-langkah pengobatan sel punca dalam proses perbaikan jaringan miokard. Sel punca bersirkulasi (warna hitam dengan nuklei putih) di dalam pembuluh darah bermigrasi ke dalam jaringan miokard yang mengalami injuri. Proses ini berakhir dengan pelepasan faktor parakrin ke dalam miokard atau sel punca berdiferensiasi ke dalam miosit jantung.

Dikutip dari Penn MS, Mangi AA. Genetic Enhancement of stem cell engraftment, survival, and efficacy. *Circ. Res.* 2008;102:1471-1482

Kini perhatian tercurahkan pada adanya sel prekursor kardiomyosit di dalam sumsum tulang hewan coba. Transplantasi sel yang berasal dari sumsum tulang ke dalam jantung, dengan atau tanpa terapi sebelumnya dengan 5-azacytidine, dilaporkan dapat meningkatkan fungsi ventrikel.³ Jackson et al mengemukakan bahwa *side population* dari progenitor hematopoetik mampu menimbulkan regenerasi jantung.⁴ Orlic et al menunjukkan bahwa sel c-kit⁺ yang diisolasi dari sumsum tulang dapat menimbulkan angiogenesis, vaskulogenesis, dan miogenesis bila disuntikkan ke dalam jantung mencit yang mengalami iskemia.¹ Sel ini juga dapat dimobilisasi dari sumsum tulang dengan pemberian *granulocyte colony stimulating factor* dan *stem cell factor* dan mengadakan “homing” ke miokardium, serta menimbulkan perbaikan miokard setelah infark sehingga dapat mengurangi angka mortalitas.⁵ Penelitian lain mengkonfirmasi adanya kardiomyosit berlabel kromosom Y dan sel c-kit⁺ residen di dalam jantung donor wanita pada laki-laki sebagai resipien.⁶ Sumber sel ini berasal dari sumsum tulang (Gambar 1).⁷

Sebelum sel punca yang ditransplantasikan berhasil berdiferensiasi ke dalam sel residen dan menimbulkan perbaikan fungsi jantung, perlu diketahui perjalanan sel punca untuk mencapai “engraftment” (Gambar 2).⁸ Signal lokal dan mediator apa yang mempengaruhi mobilisasi dan homing sel punca?

PERAN FAKTOR SITOKIN DAN KEMOKIN DALAM PROSES HOMING

Stres fisiologik dan injuri jaringan dapat mengakibatkan pelepasan sitokin dan kemokin dari organ yang mengalami kerusakan untuk merangsang sumsum tulang memobilisasi sel progenitor ke dalam sirkulasi perifer,⁹ kemudian sel ini akan “bersarang” atau dikenal “homing” pada hati, jantung dan organ nonhematopoetik lainnya.^{10,11} Hal ini terjadi sebagai

bagian dari mekanisme pertahanan tubuh dalam proses perbaikan jaringan.¹² Di dalam sumsum tulang terdapat sejumlah tipe sel, termasuk sel punca hematopoetik dengan kemampuan pembelahan diri (self renewal) dan kapasitas diferensiasi multilineage dan sel punca nonhematopoetik, sel punca mesenkimal,¹³ serta sel progenitor endotel (endothelial progenitor cell)¹⁴ yang dapat berkontribusi terhadap regenerasi jaringan untuk pemulihan kerusakan organ¹⁵ dan neovaskularisasi jaringan.¹⁶

Berbagai rangsangan fisiologik seperti aktivitas fisik,¹⁷ dan patologik misalnya infark dan iskemia miokard,¹⁸ juga terapi dengan menggunakan *granulocyte-colony stimulating factor*¹⁹, statin,²⁰ estrogen²¹ dapat meningkatkan mobilisasi berbagai tipe sel progenitor dari sumsum tulang ke dalam sirkulasi, dan berpotensi mengadakan migrasi ke dalam jaringan injuri. Rangsangan tersebut dapat menghasilkan sitokin seperti vascular endothelial growth factor (VEGF) dan kemokin stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) untuk merangsang sumsum tulang memobilisasi sel progenitor.^{22,23} Kemokin SDF-1 berinteraksi dengan reseptor spesifik CXCR4, membentuk aksis SDF-1/CXCR4, dan berperan paling penting dalam mobilisasi, homing, dan survival sel punca (CD34+) dan endothelial progenitor cell (EPC).^{12, 24}

CXCR4 dan molekulnya SDF-1 diekspresikan di dalam sel stroma endotel sumsum tulang dan dinding tulang endosteum mencit dan manusia, yang merupakan *niches* sel punca hematopoetik. Selain itu, ekspresi SDF-1 juga terdapat pada jaringan nonhematopoetik seperti jantung.²⁴ Inflamasi, iskemia dan kondisi hipoksia dapat merangsang peningkatan level VEGF dan SDF-1.¹⁸ SDF-1 dan VEGF dilaporkan berperan penting dalam proses angiogenesis dan neovaskularisasi,^{24,25} misalnya, dengan merekrut prekursor sel endotel dari sumsum tulang¹⁴ untuk proses penyembuhan atau proses

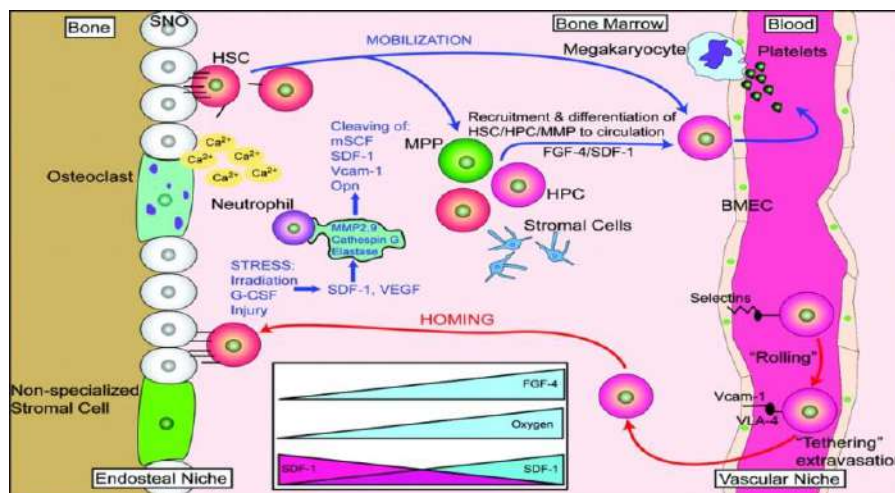
patologik seperti inflamasi kronik atau pertumbuhan tumor.²⁶ SDF-1 merupakan prediktor independen terjadinya peningkatan sel CD 34+ di dalam darah perifer.²⁴ Dalam penelitian menggunakan mencit, Abbott et al.²⁷ mendapatkan bahwa ekspresi SDF-1 meningkat pada zona peri-infarct setelah infark, tempat terjadi rekrutmen sel punca dari sumsum tulang. Pada pasien dengan infark miokard akut juga terjadi peningkatan jumlah sel CXCR4. SDF-1 mengikat pada CXCR4 dan berperan penting terhadap homing sel CXCR4/CD34+.²⁴

Populasi endothelial progenitor cell dapat diidentifikasi melalui pemeriksaan sejumlah antigenic marker seperti CD34, CD133, CD45, VEGFR-2, CXC chemokine receptor (CXCR) 4, CD14, and CD31.²⁸ EPC ini dapat dijumpai di dalam niches sumsum tulang dan dimobilisasi ke area injuri/perbaikan jaringan (Gambar 3).²⁸

Dalam satu penelitian yang dilakukan Wojakowski et al.,²⁹ melibatkan 56 pasien dengan infark miokard akut dan diterapi dengan tindakan PCI (percutaneous coronary intervention) kemudian dimonitor selama 1 tahun diperoleh hasil bahwa jumlah sel yang dimobilisasi selama infark miokard berkorelasi secara positif dengan fungsi ventrikel kiri (fraksi ejeksi ventrikel kiri) (R= 0.55; p<0.03). Pasien dengan jumlah sel CD34+CXCR4 yang lebih tinggi

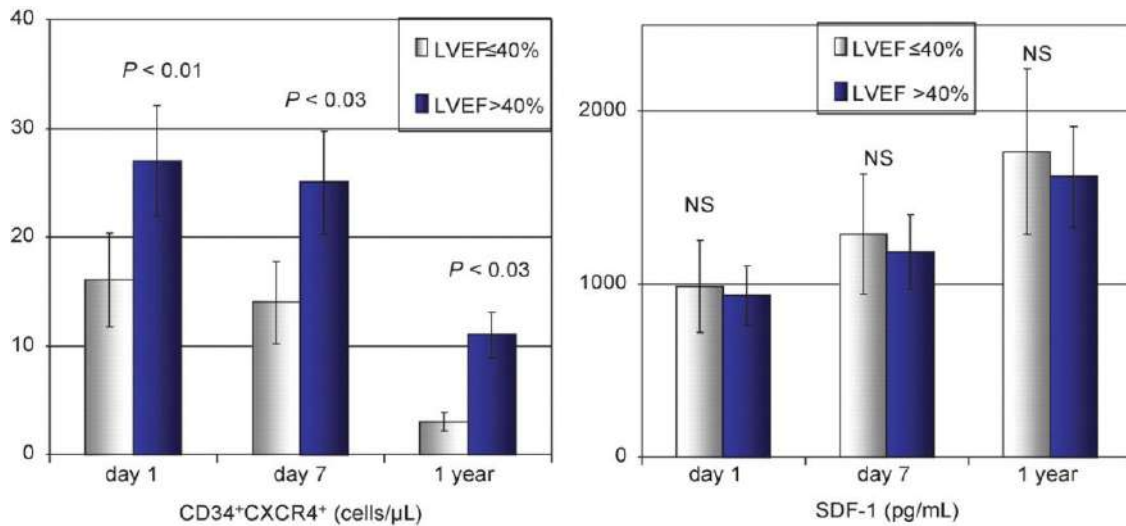
selama terjadi infark mempunyai jumlah sel dalam sirkulasi yang lebih tinggi secara signifikan setelah 1 tahun. Pada pasien dengan fraksi ejeksi (EF) <40%, terjadi penurunan signifikan dari mobilisasi akut sel CD34+CXCR4 yang dinilai pada hari 1, setelah 7 hari, dan setelah 1 tahun infark, dibandingkan dengan pasien dengan fraksi ejeksi > 40%. Kontraktilitas ventrikel meningkat dan pengurangan remodeling terjadi pada pasien dengan mobilisasi sel progenitor yang lebih tinggi pada awal infark miokard dan setelah satu tahun (Gambar 4).³⁰

Penelitian Powell et al., mendapatkan bahwa penurunan EPC pada pasien dengan penyakit jantung koroner yang diperiksa dengan marker permukaan sel CD34+/CD133+ dan sel CD133+/VEGFR-2+ dapat ditingkatkan dengan pemberian G-CSF (granulocyte colony stimulating factor). Pemberian G-CSF dengan dosis 10 µg/kg per hari selama 5 hari dapat meningkatkan jumlah sel CD34+/CD133+ dari 0.5±0.2/µL menjadi 59.5 ±10.6/µL dan CD133+/VEGFR-2+ dari 0.0070 ± 004/µL menjadi 1.9±0.6/µL (keduanya p<0.001). (Gambar 5).³¹ Selain itu, homing receptor CXCR4 juga meningkat,³¹ yang selanjutnya akan meningkatkan homing sel progenitor ke area iskemia miokard sebagai respon terhadap ligand SDF-1.



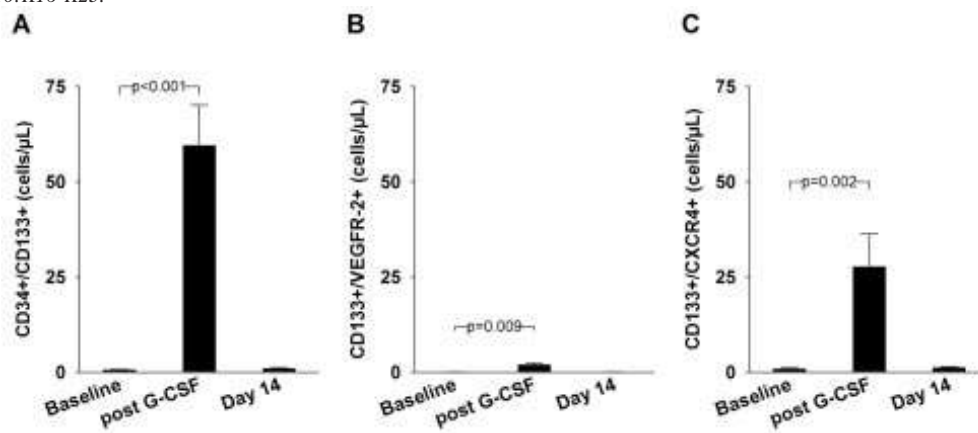
Gambar 3. Niches Sumsum Tulang dan Hematopoietic Stem Cell (HSC). Mempertahankan self renewal dan diferensiasi HSC bergantung pada lingkungan mikro atau “niches.” Sel punca terdapat berdekatan dengan dinding endosteum rongga sumsum tulang, niches endosteum, atau berdekatan dengan endotelium sinusoid, niche vaskuler. Kapiler darah atau sinusoid sumsum tulang masuk ke dalam sinus sentral, struktur vaskuler terbesar di dalam sumsum tulang, yang mengandung lebih banyak sel *committed stem* atau sel progenitor daripada di dalam niche endosteum. Mobilisasi sel sumsum tulang melibatkan eksodus sel punca/progenitor ke dalam sirkulasi, dan akan menempati homing pada tempat injuri. HSC yang dimobilisasi dari niche endosteum masuk ke dalam niche vaskuler dan akhirnya ke dalam sirkulasi. Mobilisasi bergantung pada level sitokin atau growth factor seperti SDF-1, GSCF, fibroblast growth factor (FGF), atau VEGF di dalam sumsum tulang dan sirkulasi dengan keterlibatan matrix metalloproteinase seperti MMP-2, MMP-9, cathepsin-G, dan elastase. Homing melibatkan interaksi integrin di dalam HSC/EPC yang dirangsang oleh SDF-1 dengan vascular cell adhesion molecule (Vcam), intercellular adhesion molecule, selektin E dan P, diikuti oleh transmigrasi endotel ke dalam kompartemen hematopoietik oleh interaksi very-late antigen-4 (VLA-4). HPC menunjukkan hematopoietic progenitor cells; MPP, multipotent progenitor cells; mSCF, murine stem cell factor; Opn, osteopontin; SNO, S-nitrosothiol.

Dikutip dari Jarajapu YPR, Grant MB. *The promise of cell-based therapies for diabetic complications: challenges and solutions.* *Circ. Res.* 2010;106:854-869.



Gambar 4. Perbandingan jumlah sel CD34+CXCR4+, level stromal cell-derived factor-1 pada pasien dengan infark miokard akut dengan fraksi ejeksi $\leq 40\%$ dan $> 40\%$ yang dinilai dengan cardiac magnetic resonance imaging. Presentasi data dalam median \pm range.

Dikutip dari Wojakowski W, Kucia M, Wyderka R, Maslankiewicz K, Zebzda A, Ochala A, Buszman P, Klimeczek P, Majka M, Ratajczak MZ, Tendera M. The role of CXCR4/SDF-1, CD117/SCF, and c-met/HGF chemokine signalling in the mobilization of progenitor cells and the parameters of the left ventricular function, remodelling, and myocardial perfusion following acute myocardial infarction. *Eur Heart J Suppl* 2008;10:K16-K23.



Gambar 5. G-CSF meningkatkan sel progenitor hematopoetik yang diidentifikasi sebagai marker sel permukaan CD34+/CD133+ (A), sel EPC diidentifikasi sebagai CD133+/ VEGFR-2+ (B), dan CD133+ yang diekspresikan bersamaan dengan CXCR4 (C) dalam 24 jam setelah pemberian G-CSF (10 $\mu\text{g}/\text{kgBB}$ per hari pada dosis ke lima, dengan kembali ke baseline pada hari ke 14. Data dinormalisasi dengan jumlah sel mononuklear absolut pada pasien pada setiap kurun waktu dan dipresentasi sebagai mean \pm SEM.

Dikutip dari Powell TM, Paul JD, Hill JM, Thompson M, Benjamin M, Rodrigo M, McCoy JP, Read EJ, Khuu HM, Leitman SF, Finkel T, Cannon RO III. Granulocyte colony-stimulating factor mobilizes functional endothelial progenitor cells in patients with coronary artery disease. *ArteriosclerThromb Vasc Biol.* 2005;25:296-301.

Pilot study yang dilakukan Joseph et al, mendapatkan bahwa granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) dapat digunakan dengan aman dan efektif pada pasien dengan gagal jantung tingkat akhir untuk memobilisasi sel progenitor hematopoetik.³² Dalam penelitian ini direkrut 6 pasien laki-laki dengan gangguan fungsi kontraksi jantung yang berat, dikenal dengan ischemic cardiomyopathy. Pengukuran ekokardiografi mendapatkan bahwa penggunaan G-CSF (5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hari}$ selama 5 hari), dapat meningkatkan fraksi ejeksi sebesar 9% dibandingkan dengan baseline setelah 9 bulan pemberian faktor ini. Sel punca hematopoetik CD34+ meningkat dari

baseline $3.6 \pm 0.5/\mu\text{L}$ menjadi $38.7 \pm 13/\mu\text{L}$ ($p = 0.022$). G-CSF meningkatkan level sitokin anti-inflamasi interleukin-10, tanpa perubahan terhadap level TNF- α , suatu sitokin pro-inflamasi. Hal ini menunjukkan bahwa G-CSF aman digunakan dan dapat memobilisasi sel progenitor hematopoetik dari sumsum tulang untuk memperbaiki kondisi gagal jantung sistolik yang telah lanjut.

Efek samping penggunaan G-CSF yang didapatkan berupa nyeri tulang, dan dimonitor dengan pemeriksaan alkali fosfatase. Dalam penelitian ini tidak dijumpai nyeri dada atau angina, namun dicatat

seorang pasien yang mendapatkan kenaikan parameter alkali fosfatase sebanyak tiga kali lipat, sehingga terapi terhadap pasien ini hanya dilakukan dua kali penyuntikan. Setelah dihentikan obat ini, ternyata terjadi peningkatan kadar kreatinin, dan peningkatan volume cairan yang ditandai perburukan gagal jantung. Pemberian diuretik dapat mengurangi gejala yang dialami dan reduksi kadar kreatinin tersebut. Pasien ini mempunyai riwayat perawatan yang frekuen di rumah sakit sehingga tidak diketahui apakah kondisi ini disebabkan pemberian GCSF. Tidak didapati adanya aritmia ventrikel atau syok defibrillator selama 9 bulan follow up. Namun, perlu dilakukan monitoring dengan cermat dalam penggunaan terapi GCSF baik monitoring klinis dan laboratorium.³²

Dari studi-studi ini tentu akan timbul pertanyaan, bagaimana proses mobilisasi dan homing yang terjadi pada pasien dengan gagal jantung tersebut dengan pemberian GCSF dan bagaimana pula GCSF dapat memperbaiki fungsi jantung? Pemberian GCSF mengaktifkan protease seperti elastase dan cathepsin G dan berakumulasi di dalam sumsum tulang, sehingga mengakibatkan downregulasi reseptor stem cell factor dan reduksi ekspresi vascular cell adhesion molecule (VCAM)-1 di dalam sumsum tulang.³³ Selain itu, perubahan pada level protease juga menyebabkan pemecahan N-terminus CXCR4 di dalam hematopoietic stem cell, sehingga menyebabkan mobilisasi dari sumsum tulang ke dalam sirkulasi perifer.³⁴

Sel punca yang masuk ke dalam sirkulasi perifer akan mengadakan homing pada jaringan target. Istilah "homing" berarti migrasi sel punca di dalam sirkulasi masuk ke jaringan target yang dituju atau masuk ke dalam sumsum tulang.³⁴ Homing terbagi atas beberapa tahapan: tahapan pengenalan dan interaksi dengan endotelium mikrovaskuler, transmigrasi dan akhirnya migrasi dan invasi ke jaringan target. Proses yang kompleks ini meliputi interaksi antara sitokin, kemokin, molekul adhesi dan proteases matriks ekstraseluler.³⁴

Kapasitas migrasi dan invasi sel punca merupakan faktor yang amat penting dalam integrasi fungsi dengan jaringan target meskipun sel punca diberikan secara langsung ke dalam jaringan yang mengalami injuri. Walaupun mekanisme homing sel progenitor ke dalam injuri jaringan belum sepenuhnya diketahui, pemahaman akan homing sel progenitor hematopoetik ke dalam sumsum tulang memberi arah akan proses homing tersebut (Gambar 3).^{23,28} Transmigrasi sel progenitor hematopoetik melintasi endotel vaskuler dikenal sebagai ekstrasvasasi. Dalam proses ini terjadi fase rolling yang dimediasi oleh selektin E dan P (Gambar 3), selanjutnya perlekatan terhadap endotel dimediasi oleh intercellular adhesion molecule-1/leukocyte function-associated antigen-1,

pasangan molekul VCAM-1/very late antigen (VLA)-4 dan platelet endothelial cell adhesion molecule. Interaksi ini amat penting karena homing hematopoietic stem cell (HSC) diblok sekurang-kurangnya 90% oleh antibodi (VLA)-4 (integrin $\alpha_4\beta_1$) atau VCAM.³⁵ Karena itu, integrin memediasi proses adhesi dan transmigrasi sel punca dan progenitor.

Seperti pada mobilisasi sel punca, SDF-1 juga merupakan faktor penting dalam mengatur homing, dengan memicu adhesi leukocyte function-associated antigen-1 terhadap intercellular adhesion molecule dan VLA-4 terhadap VCAM-1 di bawah kondisi shear flow.³⁶ VLA-4 dan VLA-5 dibutuhkan oleh SDF-1 α untuk menginduksi polarisasi dan ekstrasvasasi HSC melalui matriks ekstraseluler pada endotelium.³⁷ Polarisasi diperlukan untuk berlangsungnya migrasi sel.³⁴

HOMING SEL PUNCA PADA INJURI MIOKARD

Untuk mengetahui bagaimana homing berlangsung ke miokard yang mengalami injuri, perlu diketahui faktor-faktor dan pengaturan terhadap sel progenitor menuju area injuri untuk proses perbaikan. Rangsangan endogen akibat suatu infark miokard akut dapat merupakan pemicu terhadap signal homing di dalam jantung. Kollert et al, mendapatkan bahwa SDF-1 yang meningkat pada infark miokard akut dapat merangsang sel punca hematopoetik menuju area injuri.³⁸ Stress signal akibat injuri menyebabkan peningkatan SDF-1 α di dalam sel endotel. SDF-1 yang dilepaskan sebagai respon terhadap hipoksia jaringan merupakan chemo-attracting factor untuk merekrut sel yang mengekspresikan CXCR4 dari sumsum tulang ke jaringan iskemia.³⁹ Karena itu, SDF-1 merupakan faktor kunci yang mengatur sel punca dan progenitor dari sumsum tulang seperti EPC (endothelial progenitor cell)³⁹ dan MSC (mesenchymal stem cell).⁴⁰

Shintani et al., mendapatkan adanya peningkatan EPC di dalam sirkulasi darah perifer pada pasien dengan infark miokard akut dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pemeriksaan dengan flow cytometry mendapatkan peningkatan CD34+ yang signifikan dan mencapai puncak pada hari ke-7 setelah infark.⁴¹ Sel mononuklear di dalam darah perifer menunjukkan klaster sel yang terbentuk pada pemeriksaan kultur, dan sel yang menyerupai EPC dengan marker sel endotel berupa CD31, vascular endothelial cadherin, and kinase insert domain receptor (KDR). Mobilisasi EPC dan sel mononuklear ini berkorelasi dengan peninggian vascular endothelial growth factor (VEGF) di dalam plasma. EPC didefinisikan sebagai sel CD34+ yang diekspresikan bersamaan dengan CD133 dan KDR (VEGFR-2).^{31,42} Dengan demikian, sel CD34+KDR+CD133+

merupakan sekelompok sel di dalam darah perifer yang mempunyai sifat progenitor.⁴² EPC yang dimobilisasi dari sumsum tulang memegang peranan penting dalam neovaskularisasi pada jaringan iskemik dan reendotelialisasi pada pembuluh darah yang mengalami injuri.¹⁶

Homing dari sel progenitor c kit+ dari sumsum tulang juga diikuti oleh rekrutmen natural killer cell dari sumsum tulang sebagai respon terhadap stress signal akibat proses inflamasi di dalam miokard. Kondisi ini dapat berkontribusi terhadap survival dan perbaikan jantung setelah infark miokard.⁴³ Namun, pada pasien yang menderita penyakit jantung iskemik kronik, jumlah dan kapasitas EPC dalam proses neovaskularisasi menurun, karena berkurangnya potensi migrasi oleh SDF-1 atau VEGF, sehingga terjadi penurunan aktivitas colony-forming unit (CFU) dari EPC secara *in vitro*. Hal ini berpengaruh terhadap potensi kapasitas terapeutik EPC karena berkurangnya neovaskularisasi secara *in vivo*.⁴⁴

Hambatan lain dalam mobilisasi dan homing ke tempat injuri di jantung adalah adanya *trapping cell* yang terjadi di dalam limpa.⁴⁵ Namun, sejumlah studi mendapatkan bahwa terapi sitokin dapat mengatasi komplikasi *trapping* karena terjadi regenerasi jantung secara signifikan pada hewan yang tidak dilakukan splenektomi.^{46,47}

Pada kondisi gagal jantung tingkat lanjut berhubungan dengan penurunan EPC.⁴⁸ Mobilisasi EPC yang berlangsung secara persisten dapat mencegah dilatasi ventrikel kiri dan meningkatkan kontraksi pada pasien dengan infark miokard akut.⁴⁹ Penelitian Kissel et al⁵⁰ mendapatkan bahwa pada pasien gagal jantung akibat kardiomiopati iskemik terjadi penurunan jumlah EPC di dalam sumsum tulang dan darah perifer. Kondisi ini berhubungan dengan proses remodeling ventrikel kiri.

DAFTAR PUSTAKA

- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, McKay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;410: 701–705.
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Limana F, Jakoniuk I, Quaini F, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:10344–10349.
- Wang JS, Shum-Tim D, Galipeau J, Chedrawy E, Eliopoulos N, Chiu RC. Marrow stromal cells for cellular cardiomyoplasty: feasibility and potential clinical advantages. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2000;120:999–1005.
- Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, Entman ML, Michael LH, Hirschi KK, Goodell MA. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest*. 2001;107:1395–1402.
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:10344–49.
- Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, Finato N, Beltrami CA, Nadal-Ginard B, Kajstura J, Leri A, Anversa P. Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med*. 2002;346:5–15.
- Deb A, Wang S, Skelding KA, Miller D, Simper D, Caplice NM. Bone marrow-derived cardiomyocytes are present in adult human heart: a study of gender-mismatched bone marrow transplantation patients. *Circulation* 2003; 107:1247–49.
- Penn MS, Mangi AA. Genetic enhancement of stem cell engraftment, survival, and efficacy. *Circ Res*. 2008;102:1471–1482
- Dominko T, Takahashi D, Martinovich C, et al. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med*. 1999;5:431–433.
- Stumm RK, Rummel J, Junker V, et al. A dual role for the SDF-1/CXCR4 chemokine receptor system in adult brain: isoform-selective regulation of SDF-1 expression modulates CXCR4-dependent neuronal plasticity and cerebral leukocyte recruitment after focal ischemia. *J Neurosci* 2002; 22:5865–5878.
- Assmus B, Honold J, Schachinger V, et al. Transcatheter transplantation of progenitor cells after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355(12):1222–1232.
- Dar A, Kollet O, Lapidot T. Homing of stem cells and tissue injur. In : Annarosa L Piero A, William FH. eds. *Cardiovascular Regeneration and Stem Cell Therapy*. John Wiley & Sons. 2007. p. 5-10.
- Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418(6893):41–49.
- Hattori K, Dias S, Heissig B, et al. Vascular endothelial growth factor and angiopoietin-1 stimulate postnatal hematopoiesis by recruitment of vasculogenic and hematopoietic stem cells. *J Exp Med* 2001; 193(9):1005-1014.
- Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ Res*. 2004;95:9-20.
- Dzau VJ, Gnechchi M, Pachori AS, Morello F and Melo LG. Therapeutic potential of endothelial progenitor cells in cardiovascular diseases. *Hypertension* 2005;46:7-18

17. Laufs U, Werner N, Link A, Endres M, Wassmann S, Jurgens K, Miche E, Bohm M, Nickenig G. Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation, and enhances angiogenesis. *Circulation*. 2003;109:220–226.
18. Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology. *Circ Res* 2004; 95(4):343–353.
19. Petit I, Szyper-Kravitz M, Nagler A, et al. G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4. *Nat Immunol* 2002; 3(7):687–694.
20. Vasa M, Fichtlscherer S, Adler K, et al. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation*. 2001;103:2885–2890.
21. Strehlow K, Werner N, Berweiler J, Link A, Dirnagl U, Priller J, Laufs K, Ghaeni L, Milosevic M, Bohm M, Nickenig G. Estrogen increases bone marrow-derived endothelial progenitor cell production and diminishes neointima formation. *Circulation*. 2003;107:3059–3065.
22. Damás JK, Wæhre T, Yndestad A, Ueland T, Müller F, Eiken HG, Holm AM, Halvorsen B, Frøland SS, Gullestad L, Aukrust P. Stromal cell-derived factor-1 α in unstable angina: potential anti-inflammatory and matrix-stabilizing effects. *Circulation*. 2002;106:36–42.
23. Papayannopoulou T. Bone marrow homing: the players, the playfield, and their evolving roles. *Curr Opin Hematol*. 2003;10:214–219.
24. Wojakowski W, Tendera M, Michalowska A, et al. Mobilization of CD34/CXCR4+, CD34/CD117+, c-met+ stem cells, and mononuclear cells expressing early cardiac, muscle, and endothelial markers into peripheral blood in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004; 110(20):3213–3220.
25. Salcedo R, Wasserman K, Young HA, et al. Vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor induce expression of CXCR4 on human endothelial cells: in vivo neovascularization induced by stromal-derived factor-1 α . *Am J Pathol* 1999; 154:1125–1135.
26. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med* 1995; 1:27–31.
27. Abbott JD, Huang Y, Liu DG, Hickey R, Krause DS, Giordano FJ. Stromal cell-derived Factor-1 α plays a critical role in stem cell recruitment to the heart after myocardial infarction but is not sufficient to induce homing in the absence of injury. *Circulation*. 2004;110:3300–3305
28. Jarajapu YPR, Grant MB. The promise of cell-based therapies for diabetic complications: challenges and solutions. *Circ. Res.* 2010;106:854–869.
29. Wojakowski W, Kucia M, Wyderka R, Maslankiewicz K, Zebzda A, Ochala A, Buszman P, Klimeczek P, Majka M, Ratajczak MZ, Tendera M. Mobilization of CXCR4 + stem cells in acute myocardial infarction is correlated with left ventricular ejection fraction and myocardial perfusion assessed by MRI in 1 year follow-up (REGENT Trial). *Circulation Suppl* 2006;114:II–669.
30. Wojakowski W, Kucia M, Wyderka R, Maslankiewicz K, Zebzda A, Ochala A, Buszman P, Klimeczek P, Majka M, Ratajczak MZ, Tendera M. The role of CXCR4/SDF-1, CD117/SCF, and c-met/HGF chemokine signalling in the mobilization of progenitor cells and the parameters of the left ventricular function, remodelling, and myocardial perfusion following acute myocardial infarction. *Eur Heart J Suppl* 2008;10:K16–K23.
31. Powell TM, Paul JD, Hill JM, Thompson M, Benjamin M, Rodrigo M, McCoy JP, Read EJ, Khoo HM, Leitman SF, Finkel T, Cannon RO III. Granulocyte colony-stimulating factor mobilizes functional endothelial progenitor cells in patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:296–301.
32. Joseph J, Mehta P, Rimawi A, Cottler-Fox M, Sinha A, Mansingh B, Smith ES, Mehta JL. Stem cell mobilization utilizing granulocyte colony stimulating factor in advanced chronic heart failure: lessons from a pilot study. *Eur Heart J Suppl* (2008) 10 (Suppl K), K24–K26.
33. Levesque JP, Henty J, Winkler IG, Takamatsu Y, Simmons PJ. Granulocyte colony-stimulating factor induces the release in the bone marrow of proteases that cleave c-KIT receptor (CD117) from the surface of hematopoietic progenitor cells. *Exp Hematol*. 2003;31:109–117.
34. Nicola Smart and Paul R. Riley. The stem cell movement. *Circ. Res.* 2008;102:1155–1168.
35. Papayannopoulou T, Craddock C, Nakamoto B, Priestley GV, Wolf NS. The VLA4/VCAM-1 adhesion pathway defines contrasting mechanisms of lodgement of transplanted murine hemopoietic progenitors between bone marrow and spleen. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92: 9647–9651.
36. Peled A, Grabovsky V, Habler L, Sandbank J, renzana-Seisdedos F, Petit I, Ben-Hur H, Lapidot T, Alon R. The chemokine SDF-1 stimulates integrin-mediated arrest of CD34(+) cells on vascular endothelium under shear flow. *J Clin Invest*. 1999;104:1199–1211.
37. Peled A, Kollet O, Ponomaryov T, Petit I, Franitza S, Grabovsky V, Slav MM, Nagler A, Lider O, Alon R, Zipori D, Lapidot T. The chemokine SDF-1 activates the integrins LFA-1, VLA-4, and VLA-5 on immature human

- CD34(+) cells: role in transendothelial/stromal migration and engraftment of NOD/SCID mice. *Blood*. 2000;95:3289–3296.
38. Kollet O, Shivtiel S, Chen YQ, Suriawinata J, Thung SN, Dabeva MD, Kahn J, Spiegel A, Dar A, Samira S, Goichberg P, Kalinkovich A, renzana-Seisdedos F, Nagler A, Hardan I, Revel M, Shafritz DA, Lapidot T. HGF, SDF-1, and MMP-9 are involved in stress-induced human CD34+ stem cell recruitment to the liver. *J Clin Invest*. 2003; 112:160-169.
 39. Ceradini DJ, Kulkarni AR, Callaghan MJ, et al. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1. *Nat Med* 2004; 10:858–864.
 40. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418(6893):41-49.
 41. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Honma T, Katoh A, Sasaki K, Shimada T, Oike Y, Imaizumi T. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 2001;103:2776-2779.
 42. Hirschi KK, David A, Ingram DA, Yoder MC. Assessing identity, phenotype, and fate of endothelial progenitor cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2008;28:1584-1595
 43. Ayach BB, Yoshimitsu M, Dawood F, et al. Stem cell factor receptor induces progenitor and natural killer cell-mediated cardiac survival and repair after myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103:2304–2309.
 44. Heeschen C, Lehmann R, Honold J, et al. Profoundly reduced neovascularization capacity bone marrow mononuclear cells derived from patients with chronic ischemic heart disease. *Circulation* 2004; 109:1615–1622.
 45. Aicher A, Brenner W, Zuhayra M, Badorf C, Massoudi S, Assmus B, Eckey T, Henze E, Zeiher AM, Dimmeler S. Assessment of the tissue distribution of transplanted human endothelial progenitor cells by radioactive labeling. *Circulation*. 2003;107:2134–2139
 46. Dawn B, Guo Y, Rezazadeh A, Huang Y, Stein AB, Hunt G, Tiwari S, Varma J, Gu Y, Prabhu SD, Kajstura J, Anversa P, Ildstad ST, Bolli R. Postinfarct cytokine therapy regenerates cardiac tissue and improves left ventricular function. *Circ Res*. 2006;98:1098-1105.
 47. Misao Y, Takemura G, Arai M, Ohno T, Onogi H, Takahashi T, Minatoguchi S, Fujiwara T, Fujiwara H. Importance of recruitment of bone marrow-derived CXCR4+ cells in post-infarct cardiac repair mediated by G-CSF. *Cardiovasc Res*. 2006;71:455-
 48. Valgimigli M, Rigolin GM, Fucili A, et al. CD34+ and endothelial progenitor cells in patients with various degrees of congestive heart failure. *Circulation* 2004;110:1209–12.
 49. Leone AM, Rutella S, Bonanno G, et al. Mobilization of bone marrow-derived stem cells after myocardial infarction and left ventricular function. *Eur Heart J* 2005;26:1196–204.
 50. Kissel CK, Lehmann R, Assmus B, Aicher A, Honold J, Fischer-Rasokat U, Heeschen C, Spyridopoulos I, Dimmeler S, Zeiher AM. Selective functional exhaustion of hematopoietic progenitor cells in the bone marrow of patients with postinfarction heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:2341-9.

NICHE SEL PUNCA (STEM CELL NICHE)

- **PENDAHULUAN**
- **SIFAT NICHE SEL PUNCA – MODEL GSC DROSOPHILA**
- **NICHE SEL PUNCA HEMATOPOETIK PADA SUMSUM TULANG**
- **PENGARUH PENYAKIT KARDIOVASKULER TERHADAP NICHE SEL PUNCA**
- **MODULATOR NICHE ENDOSTEUM**
- **DAFTAR PUSTAKA**

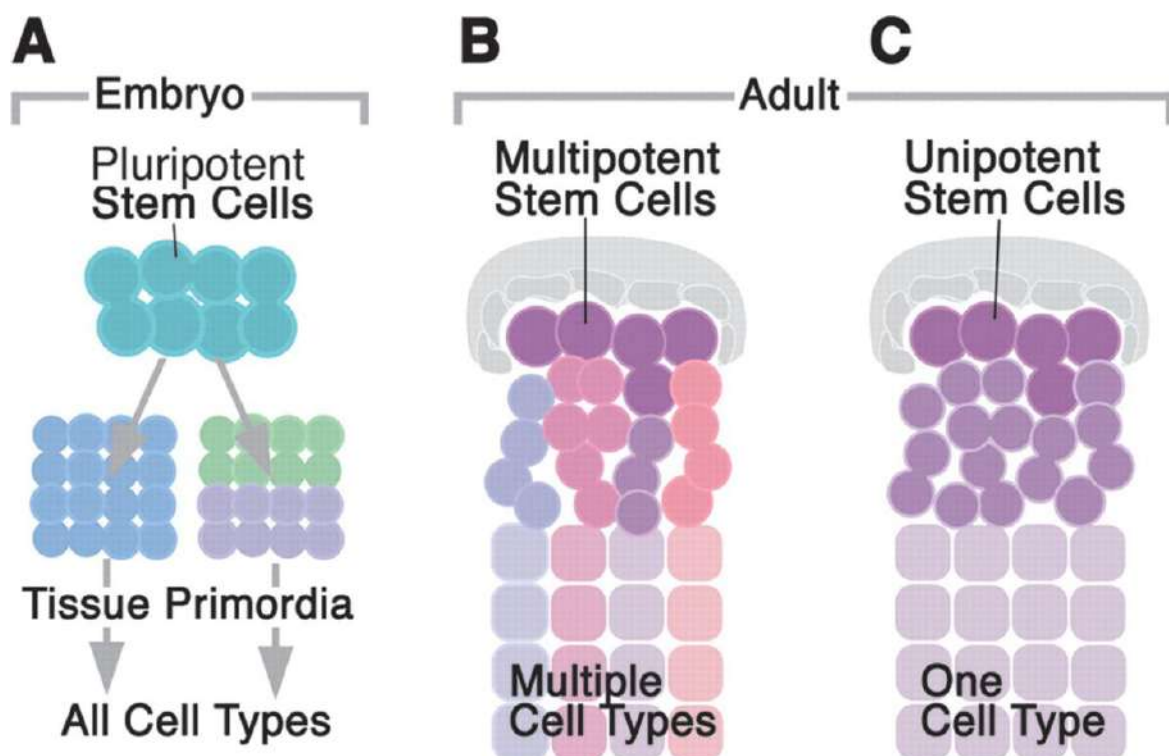
PENDAHULUAN

Sel punca merupakan sel yang membentuk perkembangan dan mempertahankan proses regenerasi jaringan dalam sepanjang kehidupan seseorang. Kemampuan ini didasarkan pada dua fungsi pembelahan untuk menghasilkan sel punca baru melalui pembelahan diri (self-renewal) dan berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel. Dalam hal ini, sel punca dewasa membentuk sel baru untuk menggantikan sel yang berumur pendek tetapi mempunyai tingkat diferensiasi tinggi, seperti darah, kulit dan sperma. Karena itu, populasi sel punca dewasa penting untuk homeostasis jaringan dengan memperbaiki jaringan yang rusak akibat luka atau gangguan mekanik dan biologik oleh pengaruh lingkungan.¹

Pada dasarnya, sel punca dapat dibagi atas sel punca embrio dan sel punca dewasa. Sel punca embrio diperoleh dari 200-250 sel dalam embrio berbentuk rongga, dikenal sebagai blastosis, dapat berdiferensiasi menjadi semua jenis jaringan. Sedangkan sel punca dewasa berasal dari darah, sumsum tulang, dinding pembuluh darah, dan jaringan lain yang mempunyai kapasitas berdiferensiasi,^{2,3} menghasilkan berbagai

tipe sel (multipoten) atau hanya satu tipe sel (unipoten) (Gambar 1).⁴

Potensi diferensiasi sel punca dewasa dapat terjadi karena berada dalam satu lingkungan mikro, yang dikenal sebagai niche. Niche merupakan kumpulan sel jaringan dan ekstraseluler yang membentuk tiga dimensi menunjang keberadaan sel punca, mengatur pembelahan sel punca dan produksi sel progenitor.⁵ Hubungan yang erat dengan struktur penunjang menyebabkan niche sel punca berperan penting dalam memberikan signal proliferasi dan anti-apoptotik, dan menyingkirkan faktor yang mempromosikan diferensiasi. Di sisi lain, lingkungan mikro ini menciptakan pengaruh terhadap orientasi sel punca melakukan pembelahan, sehingga satu sel dapat melekat pada struktur penunjang di dalam niche, sel lain keluar dari niche, dan masuk ke dalam lingkungan lain untuk mengadakan diferensiasi.⁶ Hal ini dilakukan untuk mempertahankan keseimbangan antara sel punca dalam kondisi tidak terdiferensiasi menjadi terdiferensiasi ketika terjadi stimulus baik stimulus diferensiasi, stimulus apoptotik, atau stimulus lain yang merubah cadangan sel punca.⁷ Karena itu, hipotesis niche yang diperkenalkan pada tahun 1978 oleh Schofield adalah konsep untuk pematangan dan membatasi jumlah sel punca dalam mempertahankan homeostasis jaringan.^{7,8}

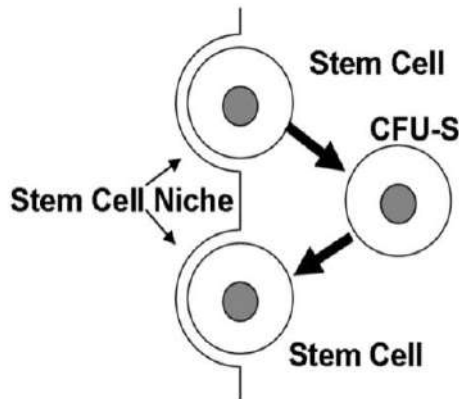


Gambar 1. Potensi sel punca. (A) Sel punca embrio mamalia bersifat pluripoten. (B) Sel punca dewasa multipoten menghasilkan berbagai tipe sel multipel yang berbeda (misalnya, sel punca hematopoetik). (C) Sel punca dewasa unipoten menghasilkan satu tipe sel (misalnya, sel punca germinal).

Dikutip dari Martinez-Agosto JA, Mikkola HKA, Hartenstein V, Banerjee UI. *The hematopoietic stem cell and its niche: a comparative view. Genes Dev.* 2007 21: 3044-3060.



R. Schofield



Gambar 2. Hipotesis niche sel punca. Anak sel punca adalah CFU-S (colony forming units). Namun, jika sel ini menempati niche, ia akan menjadi sel punca. Gambar Schofield R. Artikelnya berjudul : The relationship between the spleen colony-forming cell and the haematopoietic stemcell. *Blood Cells*. 1978;4:7-25.

Dikutip dari Papayannopoulou T, ScaddenDT. *Stem-cell ecology and stem cells in motion. Blood* 2008; 111: 3923-3930.

Usulan Schofield meletakkan dasar konsep mengenai niche sel punca : (1) lokasi anatomi, (2) lokasi dimana sel punca bertahan dan direproduksi, (3) tempat dimana diferensiasi dihambat, (4) tempat terbatas yang membatasi jumlah sel punca, dan (5) yang paling kontroversial, adalah tempat dimana perubahan fenotipe sel punca dapat diinduksi oleh sedikit pematangan tipe sel (Gambar 2).⁹ Ketika mengusulkan hipotesis ini, ia tidak mempunyai bukti untuk menjelaskan konsep ini. Hipotesis ini terbukti benar oleh Xie dan Spradling tahun 1998 secara empirik pada penelitian menggunakan jaringan yang berbeda (ovarium) dari model *Drosophila melanogaster*.¹⁰

Penelitian mereka mendapatkan bahwa sel punca germinal terdapat pada satu tipe sel heterogen dalam satu lokasi khusus. Lokasi ini diperlukan untuk mempertahankan fenotipe sel punca dan memberikan signal spesifik, termasuk signal bone morphogenic protein (BMP), yang mampu menghambat diferensiasi. Ketika sel punca meninggalkan niche, sel punca tidak diinhibisi tetapi terjadi diferensiasi. Validasi niche yang sangat mirip lainnya adalah menggunakan testis *Drosophila* yang dibuktikan oleh Fuller (Kiger et al)¹¹ dan oleh Kimble (Crittenden et al.) menggunakan *Caenorhabditiselegans*.¹² Konsep yang paling kontroversial adalah bahwa niche dapat berubah menjadi fenotipe sel punca pada sel yang tidak lagi berupa sel punca, juga dibuktikan melalui model invertebra ini. Sel ektopik yang menempati suatu niche yang kosong berubah menjadi sel punca, suatu konsep yang mendapat perhatian bagaimana niche berperan dalam menimbulkan neoplasia.

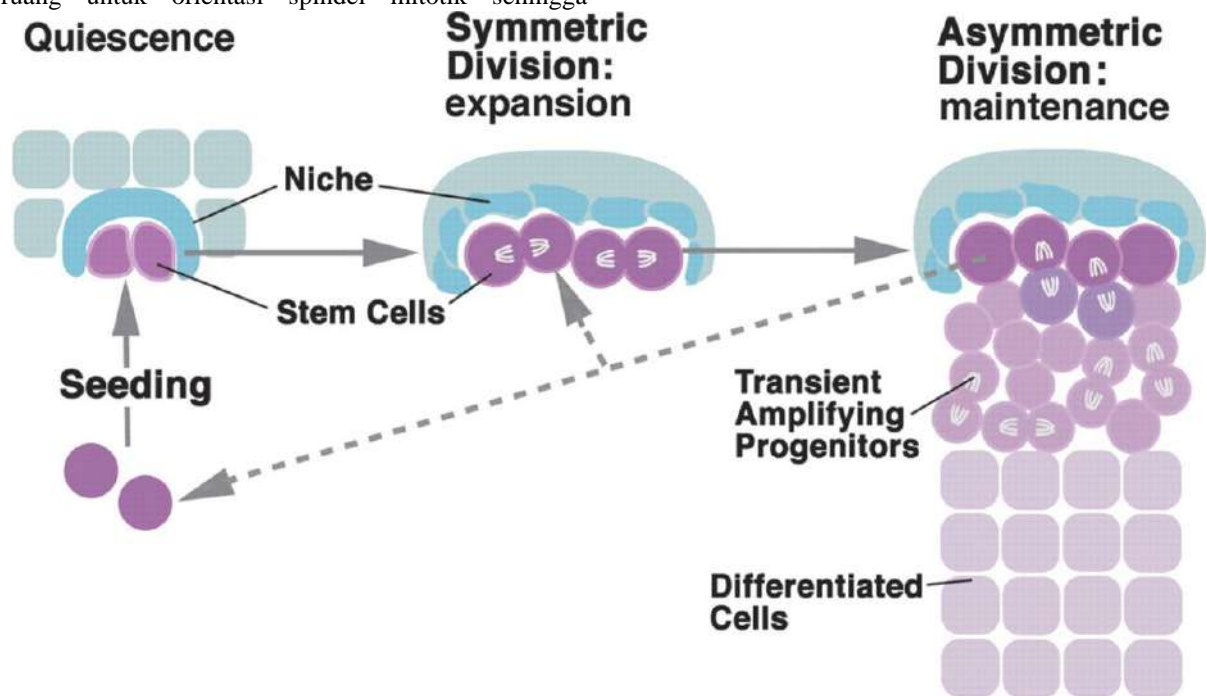
Keberadaan niche dalam mengatur pembelahan diri sel punca dan diferensiasi adalah untuk mengatur keseimbangan antara jumlah sel di dalam niche dengan jumlah diferensiasi dibutuhkan. Jika jumlah sel anak (daughter cell) melakukan diferensiasi berlebihan, jumlah populasi sel punca akan mengalami deplesi. Sebaliknya, pembelahan diri yang tidak terkontrol, akan menimbulkan proliferasi, dan diferensiasi parsial sehingga timbul mutasi sekunder dan berakhir dengan tumorigenesis.⁵

Bab ini akan membahas bagaimana niche sel punca mengatur jumlah sel punca dengan mempertahankan keseimbangan antara pembelahan diri dan diferensiasi dengan mempelajari hasil penelitian terhadap *Drosophila* jantan dan sel punca germline (germline stem cell, GSC) pada betina. Di samping itu, akan dibahas pengaturan niche sel punca terhadap perilaku sel punca, identifikasi sel penunjang dan signal yang mengatur pembelahan diri dan proliferasi, dan molekul adhesi yang melekatkan sel punca di dalam niche.

SIFAT NICHE SEL PUNCA – MODEL GSC DROSOPHILA

Penelitian pada germline *Drosophila* memberikan beberapa gambaran niche sel punca yang penting untuk mengatur perilaku sel punca : (1) signal yang berasal dari niche sel punca mengatur pembelahan diri, survival dan pemeliharaan sel punca. (2) Adhesi antara sel punca dan niche sel memungkinkan sel punca berada dalam signal pembelahan diri, (3) organisasi sel punca dengan sel

niche menimbulkan polarisasi sel punca, memberikan ruang untuk orientasi spindle mitotik sehingga



Gambar 3. Dinamika sel punca. Sel punca dihasilkan di dalam embrio. Sel ini berada di dalam niche dan tidak membelah dalam waktu lama. Ekspansi jumlah sel punca berlangsung dengan pembelahan simetris. Jumlah sel punca juga dapat dihasilkan secara cepat dengan pembelahan progenitor secara asimetris.

Dikutip dari Martinez-Agosto JA, Mikkola HKA, Hartenstein V, Banerjee Ul. *The hematopoietic stem cell and its niche: a comparative view. Genes Dev.* 2007 21: 3044-306

Niche sel punca terdapat diberbagai jaringan tubuh untuk mengatur sifat sel punca, meliputi sistem hematopoetik, jaringan saraf, epitel usus, folikel rambut epidermis, dan jantung.^{4, 5} Sel punca dapat mengadakan pembelahan secara simetris,¹³ yaitu membentuk dua sel anak, untuk meningkatkan jumlah sel punca di dalam kompartemen.^{9,14} Pada pembelahan asimetris, satu sel anak dibentuk sesuai dengan induknya sedangkan sel anak kedua mengadakan diferensiasi (Gambar 3).⁴ Karakteristik sel kedua bergantung pada konteks perkembangan. Pada keadaan tertentu, dapat berupa tipe prekursor yang akan mengalami diferensiasi terminal. Dapat juga terjadi pada pembelahan asimetris, satu sel anak yang dihasilkan memiliki karakteristik sel punca dan satu sel punca lain mempunyai potensi pembelahan diri terbatas, misalnya pada progenitor sumsum tulang.⁴

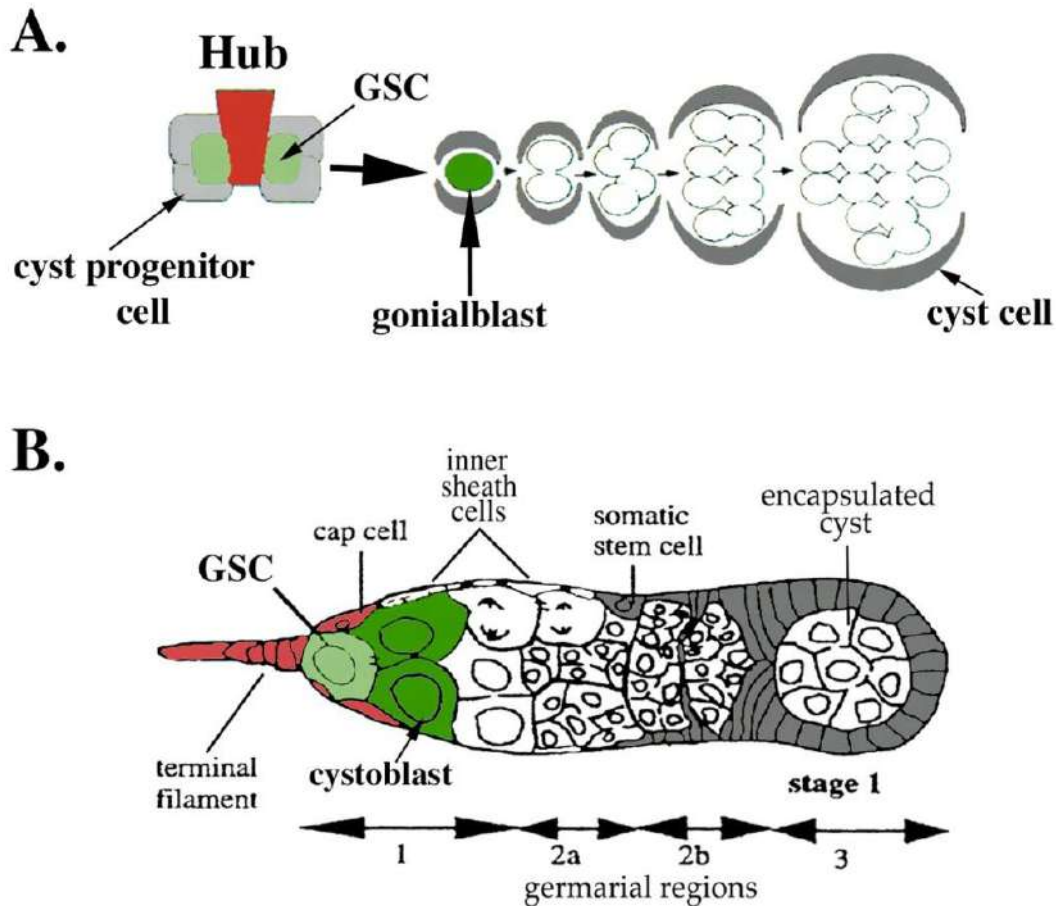
Germline *Drosophila* (lalat buah) merupakan sistem model yang sangat baik untuk mempelajari bagaimana pembelahan sel asimetris diatur oleh lingkungan mikro.¹ Salah satu keuntungan germline stem cell (GSC) *Drosophila* adalah bahwa pembelahan asimetris biasanya menghasilkan satu sel anak dengan ciri sel punca dan satu sel untuk diferensiasi. Dapat juga dibandingkan perbedaan sistem GSC *Drosophila* jantan dan betina, karena dapat dipelajari anatominya.¹

memungkinkan terjadi pembelahan asimetri.¹

Pada ujung apikal alat buah dewasa, terdapat kurang lebih sembilan GSC, membentuk satu cincin mengelilingi satu kumpulan sel somatik pasca-mitotik disebut *hub* (Gambar 4A).¹ Ketika GSC jantan membelah, akan menghasilkan satu sel yang memiliki identitas sel yang sama dengan induknya dan satu sel lain, disebut gonialblast, akan tergeser dari *hub* dan memulai diferensiasi (Gambar 4A).¹ Gonialblast dan progeninya mengalami empat putaran pembelahan mitotik bersifat transit-amplifying dengan sitokinesis yang tidak komplit, menghasilkan satu kumpulan terdiri dari 16 spermatogonia yang saling berhubungan.¹

Jalur Janus kinase (JAK)-signal transducer and activator of transcription (STAT) diperlukan untuk pembelahan diri GSC pada *Drosophila* jantan (Gambar 5A).^{1, 15, 16} Ligand yang mengaktifasi jalur JAK/STAT, Upd, diekspresi secara normal pada "apical hub cell". Signal pembelahan diri dari hub ini terjadi dalam jarak dekat. Ligand Upd berhubungan erat dengan matriks ekstraseluler setelah disekresikan. Aktivasi STAT (fosforilasi) terjadi pada sel yang berdekatan dengan hub. Hal ini menunjukkan bahwa hanya sel yang terletak berdekatan dengan hub mendapat signal Upd dan mampu mengadakan pembelahan diri (Gambar 5A).¹ Karena itu, hub cell berkontribusi terhadap niche GSC, dengan memberikan signal diperlukan kepada germ cell untuk

mempertahankan identitas sel punca setelah terjadi pembelahan.



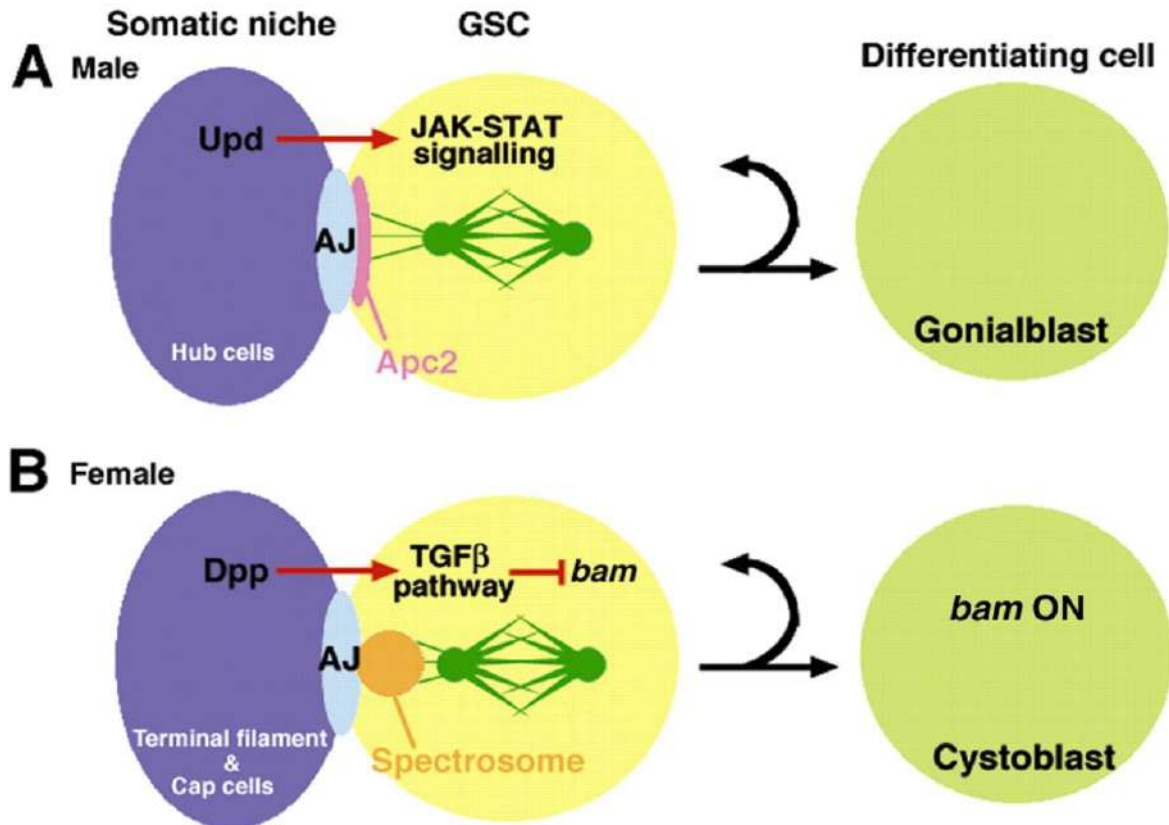
Gambar 4. Niche GSC di dalam testis dan ovarium *Drosophila*. (A) Gambar skematik spermatogenesis *Drosophila* dini. GSC (hijau muda) mengelilingi dan berhubungan dengan satu kumpulan sel somatik pasca-mitotik dikenal sebagai *hub* apikal (merah). Hub cell adalah komponen primer niche GSC jantan. Setiap GSC dikelilingi oleh dua sel somatik dikenal sebagai sel progenitor kista (abu-abu muda). GSC mengalami pembelahan sel asimetris, menghasilkan satu sel anak yang mempertahankan ciri sel punca dan satu sel anak lain, gonialblast (hijau tua), mengalami empat putaran pembelahan sel dengan sitokinesis yang tidak komplit menghasilkan 16 spermatogonia. Gonialblast dikelilingi oleh sel kista (abu gelap), yang menandai diferensiasi spermatogonia. (B) Gambaran skematik germarium *Drosophila*, tempat GSC. Bagian anterior di sebelah kiri dan posterior di sebelah kanan. Filamen terminal cap dan inner sheath cell (merah) mengekspresikan molekul yang penting untuk mempertahankan jumlah dan pembelahan diri GSC betina dan menyusun niche sel punca. GSC (hijau muda) mengalami pembelahan sel asimetris, menghasilkan satu sel anak untuk mempertahankan identitas sel punca dan satu sel sistoblast, yang menginisiasi diferensiasi (hijau tua). Ketika berlangsung pembelahan, lebih banyak kista matur tergeser ke arah germarium posterior. Pembentukan kapsul kista oleh derivatif sel somatik (abu) terjadi pada regio 2a/b. Kista berkapsul matur terpisah dari germarium pada regio 3.

Dikutip dari Yamashita YM, Fuller MT, Jones DL. Signaling in stem cell niches: lessons from the *Drosophila* germline. *J Cell Sci* 2005; 118, 665-672.

Di dalam ovarium *Drosophila*, terdapat niche GSC yang dibentuk oleh filamen terminal, *cap cell* dan *inner germarial sheath cell* yang menghasilkan molekul yang mengatur perilaku GSC (Gambar 5B). Bone morphogenic protein (BMP) 2/4 homolog, yaitu *decapetaplegic (dpp)* memegang peran penting dalam mempertahankan GSC dalam jaringan ini (Gambar 5B).¹ Dpp berikatan dan memfasilitasi reseptor kelas serine/threonine kinase TGF β tipe I dan tipe II, memungkinkan reseptor tipe II mengadakan fosforilasi dan mengaktifkan reseptor tipe I, dan selanjutnya mengadakan fosforilasi dengan activator downstream Smad, Mothers against dpp (Mad).^{17, 18} Mad memfasilitasi translokasi nukleus Medea (Med), suatu

aktivator transkripsi yang merangsang ekspresi gen pada target *dpp*. Cap cell dan *inner germarial sheath cell* mengekspresikan *dpp*, yang selanjutnya mengaktifasi signaling Mad pada GSC. Signaling *dpp* berlebihan dapat memblokir diferensiasi germ cell dalam ovarium *Drosophila* (Gambar 5B).⁴ Ekspresi berlebihan *dpp* menghasilkan germlaria besar yang mengandung sel menyerupai GSC. Signaling jalur TGF- β diperlukan untuk mempertahankan GSC dalam jangka panjang. Dpp, yang dihasilkan oleh sel penunjang memberikan signal untuk mengatur keberadaan dan kecepatan pembelahan GSC betina. Studi lanjut menunjukkan bahwa signaling Dpp memblokir diferensiasi dengan merepresi transkripsi

pada faktor diferensiasi *bag of marbles* (*bam*) di dalam GSC.¹



Gambar 5. Signaling niche sel punca mengatur pembelahan sel dan mempertahankan GSC *Drosophila*. GSC (kuning) melekat pada sel niche (biru) melalui adheren junctions (AJ, abu). Spindel mitotik (hijau) diorientasikan secara ortogonal untuk menyokong sel niche, memastikan bahwa satu sel anak tetap berada di dalam niche, sedangkan sel anak lain keluar dari niche dan mengadakan diferensiasi. (A) Sekresi ligand Upd dari hub cell (biru) mengaktivasi signaling JAK/STAT di dalam GSC jantan. Spindel mitotik melekat pada korteks GSC oleh Apc2 (merah muda) dan sel anak GSC memulai diferensiasi sebagai gonialblast (hijau muda). (B) Sekresi Dpp dari cap cell (biru) mengaktivasi signaling TGF- β di dalam GSC betina, merepresi transkripsi faktor diferensiasi *bag of marbles* (*bam*). Spindel mitotik melekat pada korteks GSC oleh spektrosom (orange), dan sel anak GSC menginisiasi diferensiasi sebagai sitoblast (hijau muda).

Dikutip dari Yamashita YM, Fuller MT, Jones DL. Signaling in stem cell niches: lessons from the *Drosophila* germline. *J Cell Sci* 2005; 118, 665-672.

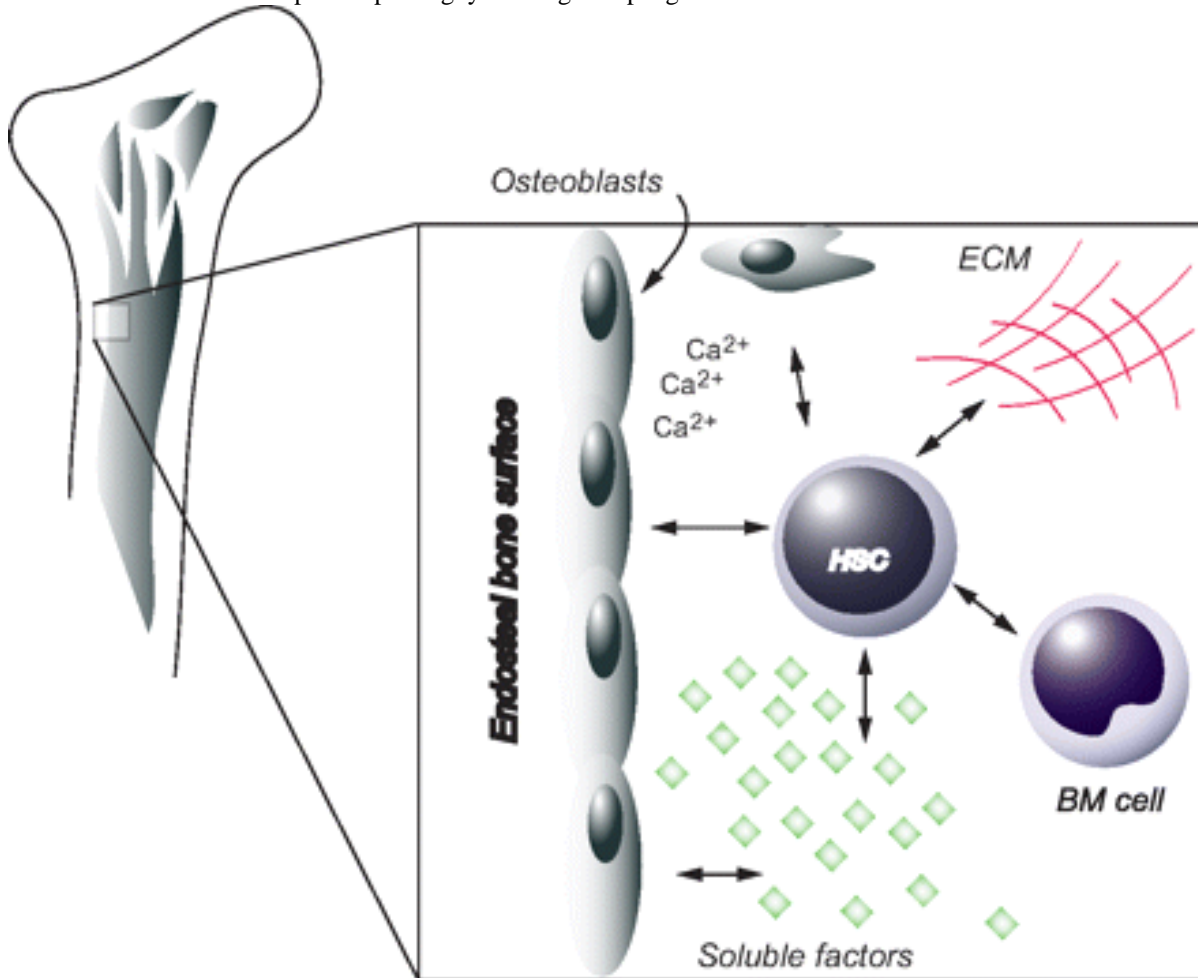
NICHE SEL PUNCA HEMATOPOETIK PADA SUMSUM TULANG

Niche sel punca hematopoetik (Hematopoietic Stem Cell, HSC) terdapat di dalam osteoblast sumsum tulang, juga tempat berlangsungnya osteogenesis.¹⁹ Beberapa studi terdahulu menunjukkan bahwa endosteum sumsum tulang banyak mengandung sel punca hematopoetik/progenitor dibandingkan dengan bagian sentral sumsum tulang.²⁰ Hal ini terbukti dari HSC/progenitor yang terdistribusi di regio endosteum setelah transplantasi, sekaligus mendukung bahwa lingkungan mikro di dalam sumsum tulang penting untuk mempertahankan dan mengatur HSC.²¹ Jumlah sel HSC berkurang secara signifikan akibat berkurangnya jumlah dan fungsi osteoblast. Hal ini sering menyebabkan hematopoiesis ekstramedula yang berlangsung di dalam limpa.²¹ Pada kultur *in vitro*, sel osteoblast menyokong terjadinya pembelahan diri HSC²² dan meningkatkan engraftment sumsum tulang

pada pemeriksaan *in vivo* pada mencit yang mendapat transplantasi. Bukti lain bahwa osteoblast merupakan niche HSC berdasarkan beberapa studi pada model mencit secara genetik^{23, 24} Karena itu, kini osteoblast dianggap merupakan komponen sel utama dari niche HSC karena peningkatan jumlah osteoblast akan meningkatkan jumlah HSC dalam jangka panjang (Gambar 6).^{23, 25, 26}

Selain osteoblast, soluble factors, komponen matriks dan konstituen seluler lainnya berperan sebagai bagian niche HSC. Misalnya, osteopontin, suatu glikoprotein matriks disintesis osteoblast, berhubungan dengan pengaturan negatif terhadap kompartemen HSC. Gradien kalsium berperan dalam mempertahankan HSC berada pada permukaan endosteum permukaan tulang, karena defek pada reseptor kalsium menyebabkan berkurangnya adhesi HSC terhadap matriks ekstraseluler (Gambar 6).²⁶ Defek pada niche dapat menyebabkan gangguan HSC.

Hal ini menekankan pada pentingnya fungsi pengaturan niche HSC.^{27,28}



Gambar 6. Niche HSC. HSC terletak berdekatan dengan osteoblast pada permukaan endosteum tulang. Faktor lain berpengaruh terhadap lingkungan mikro HSC termasuk matriks ekstraseluler, soluble factor dan komponen sel.

Dikutip dari Blank U, Karlsson G, Karlsson S. *Signaling pathways governing stem-cell fate. Blood 2008; 111: 492-503.*

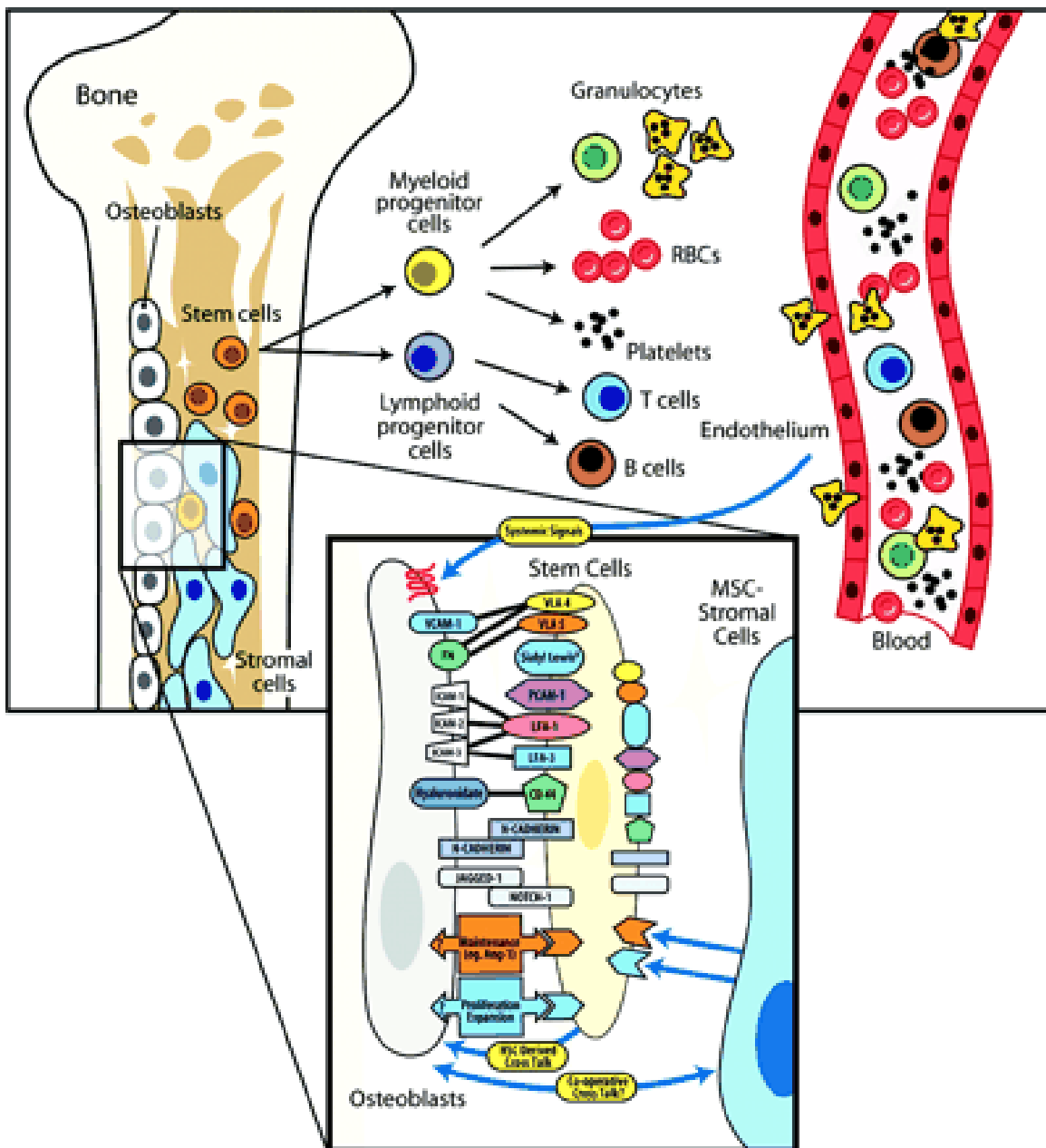
Progeni HSC terletak pada bagian proksimal dari permukaan endosteum tulang trabekuler (Gambar 7).⁷ karena tulang dan sumsumnya secara intrinsik berhubungan dengan HSC. Penelitian Calvi et al.,²³ menemukan bahwa peningkatan signaling hormon paratiroid (parathyroid hormone-related protein receptor (PPR) di dalam osteoblast berhubungan dengan peningkatan level Notch-1 ligand, Jagged-1, dan terjadinya peningkatan signaling Notch-1 di dalam HSC. Sementara studi Zhang et al., mendapatkan peran signaling bone morphogenetic protein (Bmp) terhadap pengaturan jumlah HSC, dengan menginaktivasi reseptor Bmp tipe IA Alk3. Tanpa Alk3, jumlah sel osteoblast berbentuk spindle yang mengekspresikan N-cadherin/ β catenin meningkat. Hal ini berhubungan dengan peningkatan jumlah HSC yang didapati melekat pada N-cadherin osteoblast.²⁵

Studi Bmp IA dan PPR memberikan pemahaman terhadap mekanisme HSC yang dimediasi osteoblast. Studi Bmp IA menjelaskan tentang ekspresi N-

cadherin oleh osteoblast yang membentuk kompleks N-cadherin/ β -catenin dengan HSC, yang mungkin memediasi perlekatan atau adhesi HSC di dalam niche. N-cadherin diregulasi secara negatif oleh c-Myc dalam diferensiasi HSC, yang mungkin meningkatkan pergeseran dari endosteum.²⁹ Pada penelitian PPR, didapati signaling Notch, karena Notch ligand Jagged-1 banyak diekspresikan oleh osteoblast dan Notch diaktivasi di dalam HSC. Sebelumnya Wnt (wingless) protein telah terbukti meningkatkan proliferasi HSC.^{30, 31} Kini studi menunjukkan bahwa input Notch dan Wnt diintegrasikan oleh HSC. Notch signaling kelihatannya menghambat diferensiasi yang menyertai proliferasi Wnt.³² Integrasi stimuli positif dan negatif oleh HSC dapat dilihat pada Gambar 8.⁷

Sejumlah studi menjelaskan tentang regulasi niche, termasuk konstituen tulang yang berkontribusi terhadap regulasi HSC. Tie2 di dalam osteoblast berinteraksi dengan angiopoietin 1 di dalam sel punca meregulasi sel punca menjadi tidak aktif.²⁴ Protein

matriks ekstraseluler di dalam tulang, osteopontin mengurangi jumlah sel punca (Gambar 8).^{7, 9,33, 34, 35}



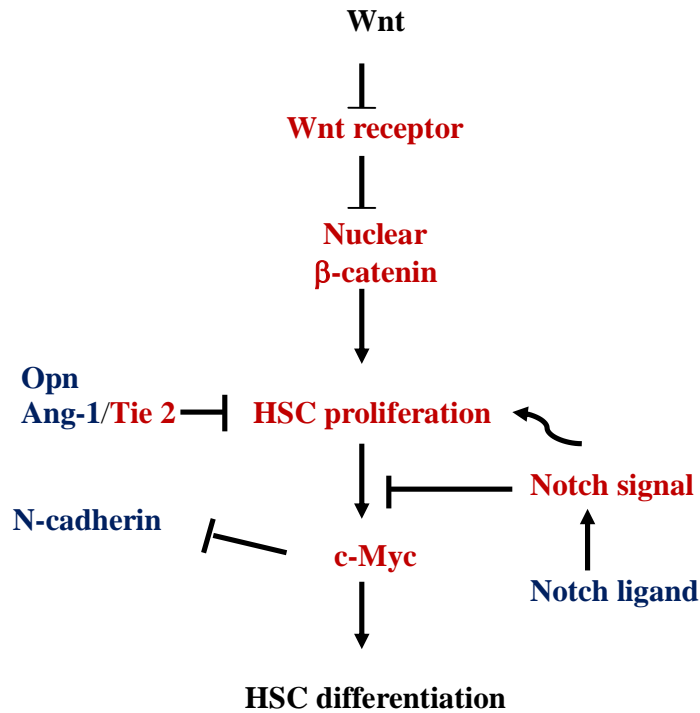
Gambar 7. Model yang menyokong pembentukan sel punca hematopoetik oleh osteoblast. Niche sel punca tersusun atas sistem sel punca sumsum tulang yang berasal dari sel punca mesenkimal. Studi akhir-akhir ini menunjukkan bahwa osteoblast endosteum dan prekursornya memegang peranan penting dalam pembentukan niche sel punca sehingga dapat meregulasi pemeliharaan, proliferasi dan maturasi. Hal terpenting dari hipotesis ini adalah bahwa komponen yang diekspresikan oleh osteoblast dapat mempengaruhi fungsi sel punca meliputi reseptor antar sel, sitokin dan faktor pertumbuhan. Masing-masing faktor ini baik yang telah dikenal atau belum mungkin dipengaruhi oleh signal mekanik, sistemik (mis, PTH), dan lokal (BMP, Ang-1) yang meregulasi fungsi osteoblast. Hubungan timbal-balik antar sel punca dan osteoblast dan tipe sel lain mungkin juga memegang peranan penting dalam mempertahankan sel punca di dalam niche sumsum tulang.

Dikutip dari Taichman, R. S. *Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche. Blood* 2005; 105: 2631-2639.

HSC juga dapat ditemukan di jaringan yang tidak mempunyai osteoblast,³⁵ karena dapat direkrut ke dalam “niche vaskuler” di dalam sumsum tulang (Gambar 9)^{36, 37} Struktur vaskuler ini merupakan komponen niche ekstramedula.⁷ HSC

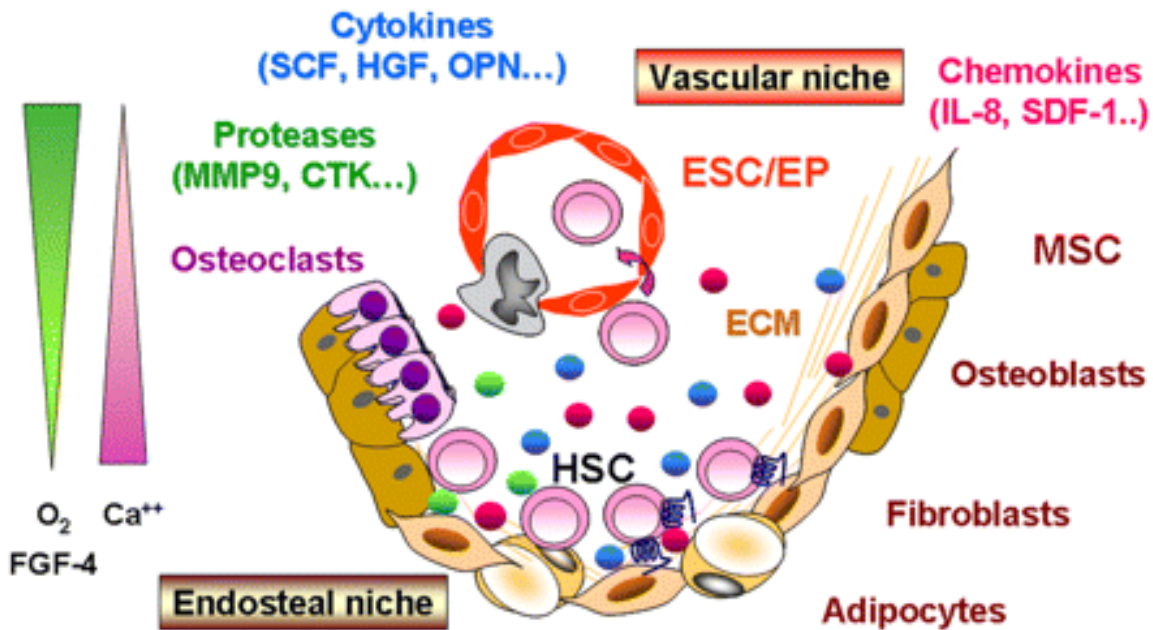
mengekspresikan calcium sensing receptor. Sel punca tanpa reseptor ini gagal menempati niche endosteum dan tidak berfungsi baik setelah transplantasi.³⁸ Studi ini menjelaskan pentingnya ion mineral di dalam tulang itu sendiri dan

matriks tulang dalam retensi HSC di dalam niche endosteum.



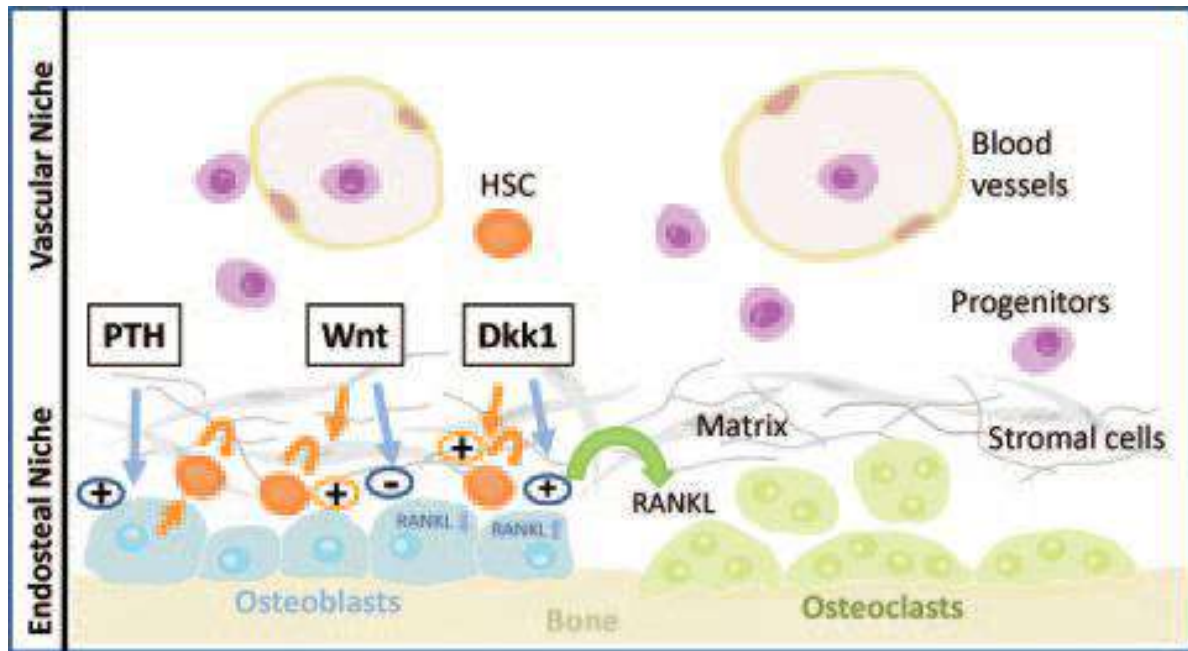
Gambar 8. Kandidat jalur signaling ekstrinsik yang meregulasi proliferasi dan diferensiasi HSC. Yang berwarna merah menunjukkan elemen seluler yang mengirim dan menerima signal.

Modifikasi dari Moore KA, Lemischka IR. Stem cells and their niches. Science 2006; 311:1880-1885.



Gambar 9. Model niche hematopoietic stem cell (HSC). Pada orang dewasa, hematopoiesis terjadi dalam sumsum tulang dimana HSC mengalami crosstalk (interaksi) dengan niche spesifik pada bagian proksimal permukaan endosteum (niche endosteum) dan ruang perivaskuler (niche vaskuler). Niche-niche ini tersusun oleh (1) sel stroma yang berasal dari sel punca mesenkimal (MSC), yang mampu menghasilkan fibroblast, osteoblast/osteosit, dan adiposit, (2) osteoclast berasal dari HSC, dan (3) sel endotel berasal dari sel punca endotel. Signal regulasi yang berasal dari niche yang berbeda ini meliputi mekanisme regulasi sel intrinsik, interaksi molekul adhesi, matriks ekstraseluler, dan komponen lingkungan seperti kadar kalsium (Ca^{++}), oksigen (O_2), protease, dan faktor humoral meliputi sitokin dan kemokin.

Dikutip dari Lataillade JJ, Pierre-Louis O, Hasselbalch HC, Uzan G, Jasmin C, Martyré MC, Bousse-Kerdilès MCL, on behalf of the French INSERM and the European EUMNET Networks on Myelofibrosis. Does primary myelofibrosis involve a defective stem cell niche? From concept to evidence. Blood 2008;112; 3026-3035



Gambar 10. Niche sel punca/progenitor di dalam sumsum tulang. Sumsum tulang mengandung setidaknya 2 tipe niche yaitu niche endosteum ; diregulasi oleh osteoblast dan osteoklast dan niche vaskuler. Wnt dan PTH meregulasi HSC cycling dan memodulasi aktivitas osteoblast. Inhibisi signaling Wnt oleh Dickkopf merangsang signaling HPC dan menimbulkan mobilisasi subset progenitor oleh RANKL, melalui stimulasi terhadap osteoklas.

Dikutip dari Dimmeler S. Regulation of bone marrow-derived vascular progenitor cell mobilization and maintenance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010;30:1088-1093.

PENGARUH PENYAKIT KARDIOVASKULER TERHADAP NICHE SEL PUNCA

Pada penelitian hewan coba dan manusia didapati bahwa penyakit jantung iskemik seperti infark miokard atau trauma vaskuler dapat berpengaruh terhadap niche sel punca dan menginduksi mobilisasi HPC, endothelial progenitor cell (EPC), dan sel progenik.^{39,40,41} Secara keseluruhan, jumlah sel CD34+ mengalami peningkatan antara hari ke 1-7 setelah onset iskemia.⁴¹ Mobilisasi ini dimediasi oleh berbagai sitokin yang diinduksi iskemia (Gambar 10).³⁹ Pada kondisi iskemia injuri dan penyakit kardiovaskuler, timbul berbagai stresor yang memodulasi remodeling tulang dan berpengaruh terhadap niche endosteum, dan menimbulkan mobilisasi sel progenitor.⁴²

Pada pasien gagal jantung terjadi peningkatan aktivasi neurohormonal.⁴³ Agonis adrenergik secara tidak langsung menstimulir diferensiasi osteoklas dan meningkatkan mobilisasi sel punca progenitor dari sumsum tulang.^{44,45} Di samping itu, terjadi disregulasi tingkat HPC di dalam sirkulasi dan sel proangiogenik, juga gangguan pada fungsi sel di dalam sumsum tulang.^{46,47,48} Modulasi regulasi terhadap niche sel punca ini didukung oleh satu studi epidemiologik yang mendapatkan bahwa insiden osteoporosis meningkat pada gagal jantung.⁴⁹ Disregulasi aktivitas osteoblast/osteoklast yang mengatur pemeliharaan dan mobilisasi sel punca endosteum mungkin menyebabkan disregulasi pada tingkat HPC dan sel

proangiogenik dari sumsum tulang pada gagal jantung. Sitokin yang berperan terhadap disregulasi niche sel punca termasuk RANKL.^{39, 42}

MODULATOR NICHE ENDOSTEUM

Wingless (Wnt), molekul signaling dari famili morphogen, dikenal sebagai regulator niche sel punca endosteum (Gambar 10).³⁹ Molekul ini dapat mempercepat proliferasi HPC melalui β -catenin (Gambar 8).⁷ Namun, aktivasi jangka panjang oleh Wnt menyebabkan berkurangnya sel punca. Hal ini menunjukkan bahwa kerja Wnt bergantung pada satu kondisi tertentu. Dengan menginhibisi Wnt dengan inhibitor Dickkopf-1 di dalam osteoblast (sehingga meningkatkan kadar Dkk-1 di dalam niche endosteum) mengaktivasi HPC cycling dan menginduksi penurunan fungsi regenerasi secara progresif.⁵⁰ Pemberian rekombinan Dkk-1 secara sistemik dalam jangka pendek dapat menginduksi mobilisasi sel progenitor vaskulogenik dan sel kultur proangiogenik tetapi tidak meningkatkan level neutrofil secara sistemik.⁵¹ Mobilisasi spesifik ini mungkin disebabkan induksi subset HPC. Pada tingkat molekuler, Dkk-1 merangsang aktivitas osteoklas dan meningkatkan RANKL, sehingga menginduksi mobilisasi sel progenitor melalui aktivasi osteoklas (Gambar 10).³⁹ Karena itu, pengobatan dengan rekombinan Dkk-1 dan mediator RANKL akan meningkatkan angiogenesis secara transien.⁵¹

DAFTAR PUSTAKA

1. Yamashita YM, Fuller MT, Jones DL. Signaling in stem cell niches: lessons from the *Drosophila* germline. *J Cell Sci* 2005; 118, 665-672.
2. Qingbo Xu. Stem cells and transplant arteriosclerosis. *Circ. Res.*2008;102;1011-1024.
3. Menendez P, Bueno C, Wang L, Bhatia M. Human embryonic stem cells: potential tool for achieving immunotolerance? *Stem Cell Rev.* 2005;1:151-158.
4. Martinez-Agosto JA, Mikkola HKA, Hartenstein V, et al. The hematopoietic stem cell and its niche: a comparative view. *Genes Dev.*2007 21: 3044-3060
5. Preston SL, Alison MR, Forbes SJ, Direkze NC, Poulson R, Wright NA. The new stem cell biology: something for everyone. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 2003;56:86-96.
6. Jones DL, Fuller MT. Stem cell niches. In : *Essentials of stem cell biology.* 2 nd ed. Elsevier 2009, Canada, p. 61-72.
7. Moore KA, Lemischka IR. Stem cells and their niches. *Science* 2006; 311:1880-1885.
8. Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells* 1978; 4:7-25.
9. Papayannopoulou T, ScaddenDT. Stem-cell ecology and stem cells in motion. *Blood* 2008; 111: 3923-3930.
10. Xie T, Spradling AC. Decapentaplegic is essential for the maintenance and division of germline stem cells in the *Drosophila* ovary. *Cell.* 1998;94:251-260.
11. Kiger AA, White-Cooper H, Fuller MT. Somatic support cells restrict germline stem cell self-renewal and promote differentiation. *Nature.* 2000;407:750-754.
12. Crittenden SL, Bernstein DS, Bachorik JL, et al. A conserved RNA-binding protein controls germline stem cells in *Caenorhabditis elegans*. *Nature.* 2002;417:660-663.
13. Leri A, Kajstura J, Anversa P. Cardiac stem cells and mechanisms of myocardial regeneration. *Physiol Rev.* 2005;85:1373-416.
14. Watt FM and Hogan BLM. Out of Eden: stem cells and their niches. *Science* 2000; 287: 1427-1438.
15. Kiger AA, White-Cooper H, Fuller MT. Somatic support cells restrict germline stem cell self-renewal and promote differentiation. *Nature* 2000;407, 750-754.
16. Tulina N, Matunis E. Control of stem cell self-renewal in *Drosophila* spermatogenesis by JAK-STAT signaling. *Science* 2001; 294, 2546-2549.
17. Moustakas, A. Smad signalling network. *J. Cell Sci.* 2002;115, 3355-3356.
18. Lim H, Zhu YZ. Role of transforming growth factor- β in the progression of heart failure. *Cell. Mol Life Sci* 2006; 63: 2584-2596. (Basel, Switzerland).
19. Zhang J, Li L. Stem cell niche: microenvironment and beyond. *JBC* 2008; 283:9499-9503.
20. Gong JK. Endosteal marrow: a rich source of hematopoietic stem cells. *Science* 1978;99: 1443-1445
21. Nilsson SK, Johnston H M, Coverdale JA. Spatial localization of transplanted hemopoietic stem cells: inferences for the localization of stem cell niches *Blood* 2001; 97: 2293-2299.
22. Taichman, R. S. Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche. *Blood* 2005; 105: 2631-2639.
23. Calvi, L. M., Adams, G. B., Weibrecht, K. W., Weber, J. M., Olson, D. P., Knight, M. C., Martin, R. P., Schipani, E., Divieti, P., Bringhurst, F. R. Milner, L. A., Kronenberg, H. M., and Scadden, D. T. Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. *Nature* 2003; 425, 841-846.
24. Arai F, Hirao A, Ohmura M, Sato H, Matsuoka S, Takubo K, Ito K, Koh GY, Suda T. Tie2/angiopoietin-1 signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence in the bone marrow niche. *Cell* 2004;118: 149-161.
25. Zhang J, Niu C, Ye L, Huang H, He X, Tong WG., Ross J, Haug J, Johnson, T, Feng JQ. et al. Identification of the hematopoietic stem cell niche and control of the niche size. *Nature* 2003;425:836-841.
26. Blank U, Karlsson G, Karlsson S. Signaling pathways governing stem-cell fate. *Blood* 2008; 111: 492-503.
27. Walkley CR, Olsen GH, Dworkin S, et al. A microenvironment-induced myeloproliferative syndrome caused by retinoic acid receptor gamma deficiency. *Cell.* 2007;129:1097-1110.
28. Walkley CR, Shea JM, Sims NA, Purton LE, Orkin SH. Rb regulates interactions between hematopoietic stem cells and their bone marrow microenvironment. *Cell.* 2007;129:1081-1095.
29. Wilson A, Murphy MJ, Oskarsson T, Kaloulis K, Bettess MD, Oser GM, Pasche AC, Knabenhans C, MacDonald HR, Trumpp A. c-Myc controls the balance between hematopoietic stem cell self-renewal and differentiation *Genes Dev.* November 15, 2004 18: 2747-2763;
30. Reya T, Duncan AW, Ailles L, Domen J, Scherer DC, Willert K, Hintz L, Nusse R, Weissman IL. A role for Wnt signalling in self-renewal of haematopoietic stem cell. *Nature* 2003; 423, 409-414
31. Brandon C, Eisenberg LM, Eisenberg CA. WNT signaling modulates the diversification of hematopoietic cells. *Blood* 200; 13: 4132-4141.
32. Duncan AW, Rattis FM, DiMascio LN, Congdon KL, Pazianos G, Zhao C, Yoon K, Cook JM, Willert K, Gaiano N, Reya T. Integration of Notch and Wnt signaling in hematopoietic stem cell maintenance. *Nat. Immunol.* 2005; 6, 314-322.

33. Nilsson SK, Johnston HM, Whitty GA, et al. Osteopontin, a key component of the hematopoietic stem cell niche and regulator of primitive hematopoietic progenitor cells. *Blood*. 2005;106:1232-1239.
34. Stier S, Ko Y, Forkert R, et al. Osteopontin is a hematopoietic stem cell niche component that negatively regulates stem cell pool size. *J Exp Med*. 2005;201:1781-1791.
35. Taniguchi H, Toyoshima T, Fukao K, Nakauchi H. *Nat. Med.* 2, 198 (1996).
36. Heissig B, Hattori K, Dias S, Friedrich M, Ferris B, Hackett NR, Crystal RG, Peter Besmer P, Lyden D, Moore MAS, Werb Z, Rafii S. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of Kit-ligand. *Cell* 2002; 109: 625-637.
37. Lataillade JJ, Pierre-Louis O, Hasselbalch HC, Uzan G, Jasmin C, Martyré MC, Bousse-Kerdilès MCL, on behalf of the French INSERM and the European EUMNET Networks on Myelofibrosis. Does primary myelofibrosis involve a defective stem cell niche? From concept to evidence. *Blood* 2008;112; 3026-3035
38. Adams GB, Chabner KT, Alley IR, Olson DP, Szczepiorkowski ZM, Poznansky MC, Kos CH, Pollak MR, Edward M. Brown ME, Scadden DT Stem cell engraftment at the endosteal niche is specified by the calcium-sensing receptor . *Nature* 2006; 439: 599-603.
39. Dimmeler S. Regulation of bone marrow-derived vascular progenitor cell mobilization and maintenance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010;30;1088-1093.
40. Gill M, Dias S, Hattori K, Rivera ML, Hicklin D, Witte L, Girardi L, Yurt, R, Himel H, Rafii S. Vascular trauma induces rapid but transient mobilization of VEGFR2(+)AC133(+) endothelial precursor cells. *Circ Res*. 2001;88:16-174.
41. Brunner S, Engelmann MG, Franz WM. Stem cell mobilisation for myocardial repair. *Expert Opin Biol Ther*. 2008;8:1675-1690.
42. Kollet O, Dar A, Shvitiel S, Kalinkovich A, Lapid K, Sztainberg Y, Tesio M, Samstein RM, Goichberg P, Spiegel A, Elson A, Lapidot T. Osteoclasts degrade endosteal components and promote mobilization of hematopoietic progenitor cells. *Nat Med*. 2006;12:657-664.
43. Lim H. β -adrenergic receptor blocking agents in the treatment of chronic heart failure: pathophysiological and pharmacological rationals. *JKM* 2003;1:49-62.
44. Spiegel A, Kalinkovich A, Shvitiel S, Kollet O, Lapidot T. Stem cell regulation via dynamic interactions of the nervous and immune systems with the microenvironment. *Cell Stem Cell*. 2008;3:484-492.
45. Katayama Y, Battista M, Kao WM, Hidalgo A, Peired AJ, Thomas SA, Frenette PS. Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow. *Cell*. 2006;124:407-421.
46. Valgimigli M, Rigolin GM, Fucili A, Porta MD, Soukhomovskaia O, Malagutti P, Bugli AM, Bragotti LZ, Francolini G, Mauro E, Castoldi G, Ferrari R. CD34+ and endothelial progenitor cells in patients with various degrees of congestive heart failure. *Circulation*. 2004;110: 1209-1212.
47. Kissel CK, Lehmann R, Assmus B, Aicher A, Honold J, Fischer-Rasokat U, Heeschen C, Spyridopoulos I, Dimmeler S, Zeiher AM. Selective functional exhaustion of hematopoietic progenitor cells in the bone marrow of patients with postinfarction heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:2341-2349.
48. Balconi G, Lehmann R, Fiordaliso F, Assmus B, Dimmeler S, Sarto P, Carbonieri E, Gualco A, Campana C, Angelici L, Masson S, Mohammed SA, Dejana E, Gorini M, Zeiher AM, Latini R. Levels of circulating pro-angiogenic cells predict cardiovascular outcomes in patients with chronic heart failure. *J Card Fail*. 2009;15:747-755.
49. van Diepen S, Majumdar SR, Bakal JA, McAlister FA, Ezekowitz JA. Heart failure is a risk factor for orthopedic fracture: a population-based analysis of 16,294 patients. *Circulation*. 2008;118:1946-1952.
50. Fleming HE, Janzen V, Lo Celso C, Guo J, Leahy KM, Kronenberg HM, Scadden DT. Wnt signaling in the niche enforces hematopoietic stem cell quiescence and is necessary to preserve self-renewal in vivo. *Cell Stem Cell*. 2008;2:274-283.
51. Aicher A, Kollet O, Heeschen C, Liebner S, Urbich C, Ihling C, Orlandi A, Lapidot T, Zeiher AM, Dimmeler S. The Wnt antagonist Dickkopf-1 mobilizes vasculogenic progenitor cells via activation of the bone marrow endosteal stem cell niche. *Circ Res*. 2008;103:796-803.

MEKANISME PERBAIKAN DAN REGENERASI JANTUNG

- **PENDAHULUAN**
- **TIPE SEL PUNCA**
 - Sel Punca Embrio
 - Sel Punca Dewasa yang Berasal dari Sumsum Tulang
 - Sel Punca Hematopoetik
 - Sel Punca Mesenkimal (Mesenchymal Stm Cell)
- **SEL DARAH FETUS DAN PLASENTA (UMBILICAL CORD)**
- **CARDIAC STEM CELL**
- **SEL OTOT RANGKA (SKELETAL MIOBLAST)**
- **INDUCED PLURIPOTENT STEM CELL (iPC)**
- **IMPLIKASI PENELITIAN EKSPERIMENTAL DAN KLINIS**
- **MEKANISME REGENERASI DAN REPAIR JANTUNG**
- **KESIMPULAN**
- **DAFTAR PUSTAKA**

PENDAHULUAN

Penyakit jantung iskemik merupakan penyebab morbiditas dan mortalitas utama di negara maju juga di negara kita, Indonesia, meskipun terdapat perkembangan berbagai modalitas pengobatan baru, seperti terapi farmakologik dan strategi intervensi (misalnya, melebarkan pembuluh darah dengan kateter). Penyakit vaskuler iskemik perifer menimbulkan gangguan kualitas hidup dengan angka morbiditas (kesakitan) yang tinggi, sedangkan iskemik jantung dapat menyebabkan gagal jantung pascainfark pada pasien dengan infark miokard yang luas dan menimbulkan angka mortalitas yang tinggi.¹

Secara alamiah, infark miokard adalah suatu injuri yang bersifat ireversibel.² Saat kejadian infark, perfusi miokard menurun dan menimbulkan berkurangnya denyutan jantung yang disertai berkurangnya fungsi sistolik dan metabolisme regional.³ Injuri terhadap sel otot jantung (kardiomyosit) mulai berlangsung dalam waktu 15-20 menit setelah oklusi arteri koronaria.⁴ Hal ini terjadi karena kebutuhan metabolisme miokard subendotel yang tinggi dan peka terhadap iskemia.⁵ Luasnya infark ditentukan oleh lamanya dan keparahan defek perfusi.⁶ Infark yang luas dapat menyebabkan hilangnya miosit, namun dapat dikompensasi oleh miosit yang terluput dengan hipertrofi, dan dapat berlanjut menjadi gagal jantung.⁷ Selain itu, luasnya infark juga dipengaruhi oleh beberapa faktor, termasuk suplai darah kolateral, pengobatan dan prekondisi iskemik.⁸ Dengan berjalannya waktu, proses ini dapat menimbulkan gangguan kontraksi akibat pembentukan jaringan fibrotik pada miokard, yang dapat berlanjut menjadi remodeling ventrikel pada area noniskemik. Sehingga menimbulkan gangguan fungsi dalam beberapa minggu atau bulan setelah terjadi infark.⁹

Banyak modalitas pengobatan dilakukan sekarang ini terbukti secara signifikan dapat meningkatkan prognosis pasien dengan infark miokard.¹⁰ Meskipun tindakan angioplasti dan obat trombolitik dapat mengurangi penyebab infark, namun onset oklusi sampai dilakukan reperfusion menentukan apakah injuri miokard terjadi secara ireversibel.¹¹ Sampai sekarang, tidak ada obat atau tindakan yang menunjukkan efikasi dapat menggantikan jaringan fibrosis miokard. Karena itu, diperlukan terapi baru untuk meregenerasi kardiomyosit.¹²

Transplantasi sel merupakan terapi alternatif untuk memperbaiki dan meregenerasikan infark miokard. Strategi ini didasarkan pada repopulasi sel pada area nekrotik miokard dengan sel yang mampu bereplikasi dan memperbaiki fungsi kontraksi.⁷ Berbagai sumber sel dapat digunakan : sel punca embrio dan sel punca dewasa.¹ Perbedaan kedua tipe sel dan subtipe akan dibahas di bawah ini.

TIPE SEL PUNCA

Sel Punca Embrio

Potensi sel punca embrio untuk meregenerasikan kardiomyosit lebih baik dibandingkan dengan sel punca dewasa, karena bersifat pluripoten, mampu berdiferensiasi menjadi berbagai tipe sel, termasuk kardiomyosit dan menghasilkan jaringan dan organ¹ namun potensi ini juga memberikan efek seperti pedang bermata dua, karena di sisi lain berpotensi menimbulkan aritmia dan pembentukan tumor yaitu teratoma.¹³

Pada hewan coba dengan infark miokard dan kardiomyopati noniskemik, transplantasi sel punca embrio memberikan perbaikan fungsi dan struktur jantung secara nyata.¹⁴ Sel punca embrio manusia dapat berdiferensiasi menjadi sel yang dapat berdenyut secara spontan dengan fenotipe kardiomyosit. Morfologi dan ultrastruktur sel ini tersusun atas struktur sarkomer, membentuk diskus interkalatus dan *gap junction*, suatu karakteristik kardiomyosit,^{15,16} dan sel ini juga menunjukkan sinitium yang dapat berfungsi dengan propagasi potensial aksi.^{16,17} Ketika ditransplantasikan ke dalam miokardium yang mengalami infark, kardiomyosit hasil perubahan sel punca embrio akan menyatu (*engraftment*) dan meningkatkan fungsi jantung pada berbagai model rodensia.^{18,19,20} Namun, sampai sekarang, tidak ada studi klinis mengenai penggunaan sel ini karena masalah etika dan kemungkinan pembentukan teratoma.^{13,20} Kini, dengan ditemukan *induced pluripotent stem (iPS) cell* pada sel somatik dewasa sebagai alternatif, maka tidak diperlukan pengorbanan sel telur atau embrio.²¹

Sel Punca Dewasa yang Berasal dari Sumsum Tulang

Sumsum tulang merupakan sumber berbagai populasi sel punca, yang berpotensi bermigrasi dan mengadakan transdiferensiasi ke dalam sel dengan fenotipe yang berbeda.²¹ Penemuan pada hewan coba tidak dapat menjelaskan replikasi secara konsisten^{22,23} dan tidak diketahui secara pasti berapa besar diferensiasi sel ini menjadi kardiomyosit.²¹ Dua subset sel utama yang berasal dari sumsum tulang adalah sel punca hematopoetik dan sel punca mesenkimal. Kedua subset sel masih dapat dikategorikan menjadi subpopulasi sel dan dibagi berdasarkan ekspresi marker sel permukaan. Sel sumsum tulang dapat diisolasi dengan aspirasi sumsum tulang atau diperoleh dari sirkulasi darah perifer melalui mobilisasi sitokin.²¹

Sel Punca Hematopoetik

Sel punca hematopoetik telah digunakan secara luas untuk transplantasi sumsum tulang pada berbagai gangguan hematopoetik karena diidentifikasi adanya ekspresi antigen CD34+ dan CD 133+ di dalam sel ini. Sel ini mempunyai fenotipe endotel di dalam

darah dan sumsum tulang. Sel progenitor endotel (endothelial progenitor cell) menggambarkan hemangioblast dewasa, ditandai dengan ekspresi paling sedikit 2 marker sel punca (CD133+ atau CD 34+) dan marker endotel VEGF receptor 2 (juga dikenal sebagai KDR atau flk-1)¹. Sel ini terutama terdapat di dalam sumsum tulang, dapat meningkatkan neovaskularisasi dengan menghasilkan faktor pertumbuhan proangiogenik dan merangsang reendotelialisasi, yang berfungsi untuk homeostasis dan miogenesis.^{21,24}

Sel Punca Mesenkimal (Mesenchymal Stem Cell)

Populasi sel ini dapat diperoleh dari dalam sumsum tulang dan jaringan adiposa.²¹ Hanya dapat diisolasi 0.001% sampai 0.01% sel mesenkimal dari sel bernukleus sumsum tulang namun dapat dikloning dan mudah diekspansi secara *in vitro*.²⁵ Sel ini memiliki sifat menyerupai sel embrio, karena berpotensi berubah menjadi sel ektoderm dan endoderm.²⁶ Sel ini kurang mengandung major histocompatibility complex (MHC) kelas I dan kelas II pada permukaan sel, sehingga tidak menimbulkan reaksi imun dan dapat digunakan secara alogenik (sesama manusia) atau xenogenik (sesama hewan).²⁶

Pada penelitian eksperimental dengan menggunakan sel ini didapati terjadi perbaikan terhadap fungsi dan remodeling ventrikel. Hal ini dapat terjadi karena berdiferensiasi menjadi kardiomyosit.²⁷ Saito et al., pertama kali menyuntikkan sel mesenkimal secara intravena dan sel ini menempati regio infark miokard.²⁸ Sebagian besar sel mesenkimal yang telah mengalami engraftment memperlihatkan protein spesifik kardiomyosit, dan satu subpopulasi sel mengalami angiogenesis. Hal ini menunjukkan bahwa sel ini juga bermanfaat dalam perbaikan dan regenerasi vaskuler.²⁶ Bukti adanya angiogenesis adalah terjadi ekspresi berbagai marker protein seperti α -smooth muscle actin, von Willebrand factor, vascular endothelial growth factor.²⁶ Ekspresi ini terjadi beberapa minggu setelah pemberian sel di lingkungan mikro jantung dan tidak dijumpai di dalam kultur.²⁶ Data Kinnard et al.²⁹ menunjukkan bahwa mekanisme yang mendasari peningkatan perfusi pada pemberian sel mesenkimal karena sel ini dapat mensekresikan berbagai sitokin angiogenik (fibroblast growth factor, VEGF, matrix metalloproteinases, platelet-derived growth factor, TGF- β , interleukin 1, angiopoetin) akibat hipoksia jaringan karena oklusi.

SEL DARAH FETUS DAN PLASENTA (UMBILICAL CORD)

Sel darah fetus dan plasenta mungkin mengandung sel punca dengan potensi plastisitas lebih besar daripada sel punca dewasa, namun kurang didukung bukti pluripotensi dari penelitian *in vitro*. Sel darah plasenta manusia mengandung sejumlah sel progenitor,

termasuk sel punca hematopoietik (HSC) dan sel punca mesenkimal (MSC), di samping sejumlah populasi sel somatik, yang telah menunjukkan potensi proliferasi. Pada penelitian hewan coba, sel ini masih menimbulkan perdebatan terhadap perbaikan ventrikel kiri.³⁰

CARDIAC STEM CELL

Beberapa kluster sel punca jantung (cardiac stem cell) atau sel progenitor telah diidentifikasi di dalam jantung manusia dan spesies mamalia lain.^{31,32,33} Sel jantung yang diisolasi dari miokardium manusia dan diekspansi pada kultur mengandung c-kit+, yang mempunyai sifat dasar sel punca dapat membelah diri, klonogenik dan multipoten.³⁴ Sel ini mempunyai potensi proliferasi yang tinggi, terutama berdiferensiasi menjadi kardiomyosit.³⁴ Penelitian pada hewan coba menunjukkan perbaikan fungsi ventrikel, remodeling dan besarnya infark.

Sebagai respon terhadap infark akut, sel ini didapati di dalam miokardium dengan ekspresi c-kit. Hal ini menunjukkan peran di dalam perbaikan jantung dan perkembangan jantung dini karena populasi sel ini terutama meningkat pada pascanatal (1-2 minggu setelah lahir) dibandingkan dengan jantung menciit dewasa.²¹

Penelitian Itzhaki-Alfia et al. mendapatkan bahwa sumber sel punca jantung manusia dengan c-kit+ paling banyak didapati di dalam atrium kanan, diikuti masing-masing ventrikel kiri, atrium kiri dan ventrikel kanan. Sel ini lebih banyak terdapat pada wanita dan bersifat multipoten.³⁵ Karena dapat diisolasi dan diekspansi secara *in vitro*, maka memungkinkan penggunaan sel ini untuk terapeutik. Jika sel progenitor ini dapat dirangsang dan diaktivasi secara *in situ*, mungkin dapat digunakan untuk regenerasi jantung dan pengobatan pada penyakit jantung. Karena itu, sel progenitor ini kini telah masuk dalam penelitian acak tersamar.³⁶

SEL OTOT RANGKA (SKELETAL MYOBLAST)

Sel otot rangka adalah sel pertama yang disuntikkan ke dalam miokardium iskemik sebagai bagian terapi sel.^{21,37} Sel ini dapat dikultur dan diekspansi hingga mencapai pertumbuhan sel 10⁹ dari hanya beberapa gram sel otot rangka. Meskipun dilaporkan adanya perbaikan fungsi dan volume ventrikel kiri, sel ini akhirnya terbukti tetap bersifat sebagai otot rangka, karena tidak mengalami transdiferensiasi menjadi kardiomyosit.³⁸ Perbaikan fungsi ventrikel tidak berlangsung lama, karena sel ini tidak mengekspresikan protein adhesi dan *gap junction* akibat berkurangnya ekspresi connexin-43 yang dibutuhkan untuk terjadi couple secara elektromekanik

dengan miokardium, sehingga tidak menimbulkan denyutan sinkron dengan miokardium tikus.³⁹ Karena itu, transplantasi sel ini dapat mempredisposisi terjadinya aritmia.²¹

Satu penelitian acak tersamar berskala kecil menggunakan sel ini menghasilkan perbaikan fungsi ventrikel, gejala dan meningkatkan kualitas hidup.⁴⁰ Namun, antusias terhadap sel ini berkurang. Kini, telah diformulasikan produk sel yang telah dimodifikasi sebagai “generasi kedua” dengan meningkatkan teknik pengadaan sel ini.⁴¹

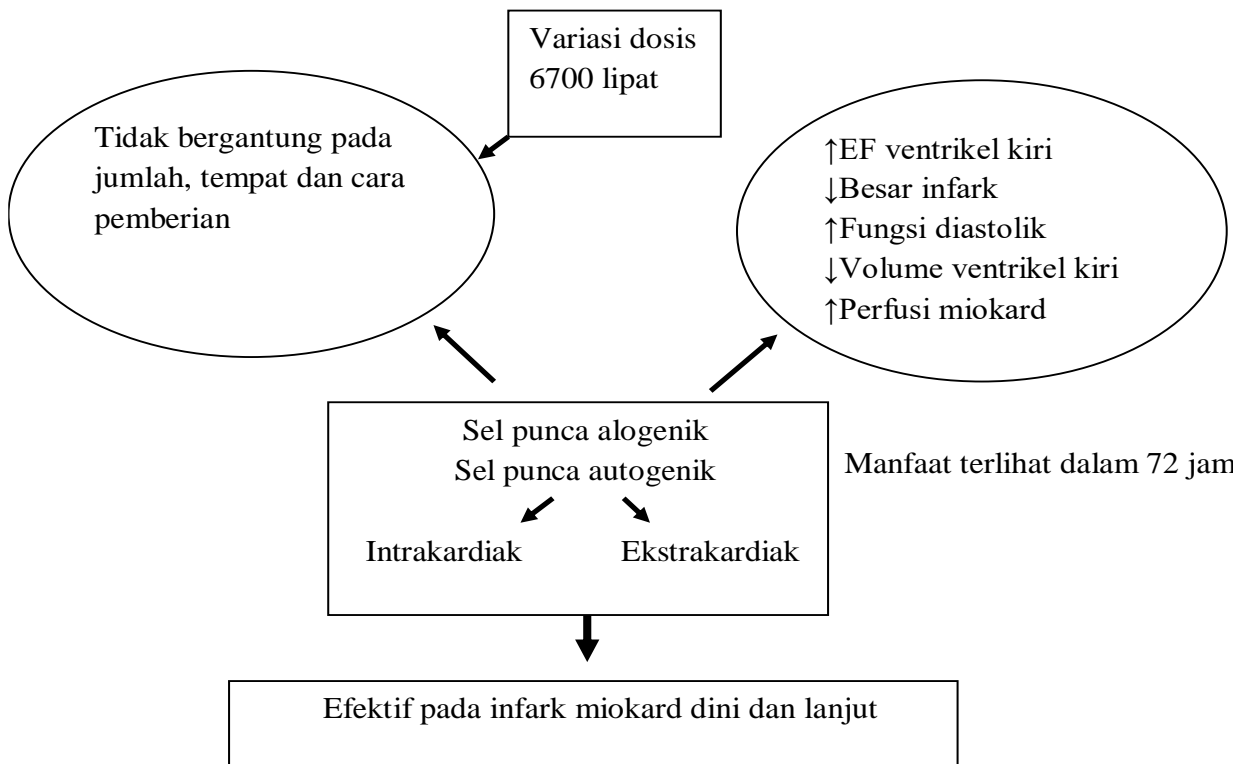
INDUCED PLURIPOTENT STEM CELL (iPC)

Suatu terobosan baru terjadi menggunakan fibroblast kulit dengan melakukan reprogramming nukleus menggunakan berbagai ekspresi ektopi gen berhubungan dengan pluripoten, telah menghasilkan jaringan somatik dengan ciri seperti sel punca embrio.^{42,43,44,45} Pendekatan revolusioner ini memberikan sumber alternatif untuk mendapatkan *cell lines* berpotensi kardiogenik tanpa mengorbankan embrio. Strategi ini juga digunakan untuk mengembangkan sel punca spesifik untuk pasien, yang merupakan sumber unik dalam mempelajari mekanisme genetik tentang perkembangan penyakit, kerja obat dan biologi regeneratif. Laporan terakhir

menunjukkan bahwa pembentukan iPS manusia melalui reprogramming protein secara langsung tidak menggunakan vector DNA.⁴⁶ Implikasi klinis dari konsep ini amat luas, terlebih iPS manusia atau fibroblast yang dimasukkan faktor sel punca dapat berdiferensiasi menjadi miosit yang dapat berfungsi.^{47,48}

IMPLIKASI PENELITIAN EKSPERIMENTAL DAN KLINIS

Hasil penelitian eksperimental melibatkan hewan coba, dan penelitian klinis telah membakukan manfaat terapi sel dalam meningkatkan fraksi ejeksi, menurunkan volume ventrikel, besarnya infark dan meningkatkan perfusi miokard (Gambar 1).²¹ Manfaat ini diperoleh dari seluruh tipe sel yang digunakan, baik alogenik dan autogenik, juga sel autologus yang berasal dari intrakardiak atau ekstrakardiak.⁴⁹ Efek ini tidak bergantung pada waktu pemberian pasca infark miokard, etiologi (iskemik vs noniskemik), metode dan tempat pemberian, dan jumlah sel yang diberikan. Murray et al., melaporkan bahwa rentang dosis pemberian sel mencapai 6700 lipat.¹³ Gambaran menonjol lainnya adalah perbaikan fungsi ventrikel dalam tempo 72 jam – lebih cepat dari perkiraan waktu yang dibutuhkan bagi regenerasi sel.⁵⁰



Gambar 1. Konsep manfaat universal sel punca pada penelitian eksperimental dan klinis. EF, ejection fraction. Modifikasi dari Gersh BJ, Simari RD, Behfar A, Terzic CM, Terzic A, *Cardiac cell repair therapy: A clinical perspective. Mayo Clin Proc.* 2009;84:876-892.

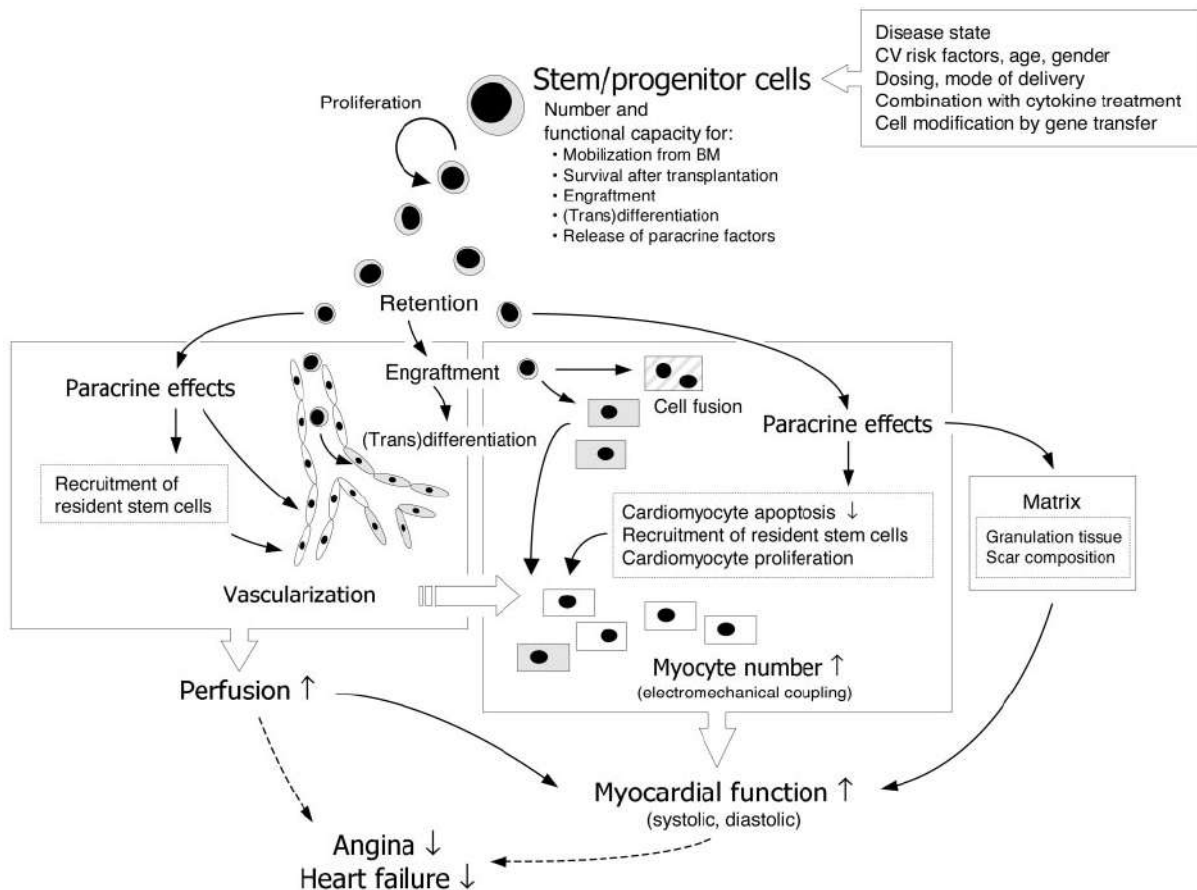
MEKANISME REGENERASI DAN REPAIR
MEKANISME REGENERASI DAN REPAIR
JANTUNG

Gershet al., dalam artikelnya tentang perbaikan fungsi jantung setelah pemberian berbagai tipe sel pada jantung dengan infark, "Everything seems to work."²¹ Murray et al., menyatakan bahwa manfaat fisiologik dari tranplantansi sel tampak terjadi pada berbagai jenis sel.¹³ Yang paling mengherankan adalah hampir semua jenis sel yang diuji memberikan potensi yang sama (equipotent); manfaat ini diperoleh dari penggunaan kardiomyosit,^{51,52} mioblast skeletal,^{53,54} sel otot polos,⁵⁵ fibroblast,⁵⁶ endothelial progenitor,⁵⁷ mesenchymal stem cell,⁵⁸ hematopoietic stem cell,⁵⁹ resident myocardial progenitor,⁶⁰ dan embryonic stem cell.⁶¹ Sehingga menimbulkan kesulitan dalam menentukan mekanisme yang mendasari manfaat yang terjadi.¹³

Apakah sel punca dari sumsum tulang, terutama sel punca hematopoetik, dapat mengadakan

transdiferensiasi menjadi kardiomyosit, masih menimbulkan perdebatan dalam satu dekade ini. Penelitian menggunakan sel punca hematopoetik pada mencit dapat mengadakan transdiferensiasi menjadi tipe sel kardiomyosit dan meningkatkan fungsi jantung dan survival.⁶² Namun, secara fisiologik dan klinis, retensi sel dalam beberapa hari setelah suntikan minimal (Gambar 2).⁶³ Studi genetik membuktikan bahwa transplantasi sel sumsum tulang dapat menginduksi ekspresi gen jantung, meskipun jumlah sel yang berubah menjadi fenotipe kardial rendah.⁶⁴

Meskipun kapasitas regeneratif belum dapat diperlihatkan dengan populasi sel saat ini, hal ini bukan berarti bahwa potensi untuk meningkatkan kapasitas perbaikan endogen melalui mekanisme lain atau upaya meningkatkan regenerasi dianggap gagal.⁶⁵ Dalam setiap penelitian dari berbagai sumber transplantasi sel ditemukan sejumlah respon yang bermanfaat. Karena itu, efikasi yang telah terbukti tidak dapat diabaikan meskipun mekanisme perbaikan belum dapat dipahami seluruhnya.²¹



Gambar 2. Hipotesis transplantasi sel punca untuk regenerasi miokard. Transplantasi sel punca atau progenitor dapat menimbulkan efek baik terhadap perfusi jaringan dan meningkatkan vaskularisasi dan pembentukan miosit. Perbaikan vaskularisasi dapat memberikan manfaat terhadap kompartemen miokard. Kontribusi inkorporasi sel (transdiferensiasi dan/atau fusi vs efek parakrin bervariasi, bergantung pada tipe sel punca dan lingkungan mikro. Jumlah sel punca dan progenitor dan kapasitas fungsional dipengaruhi oleh usia pasien, jenis kelamin, faktor risiko kardiovaskuler dan keadaan penyakit yang mendasarinya.

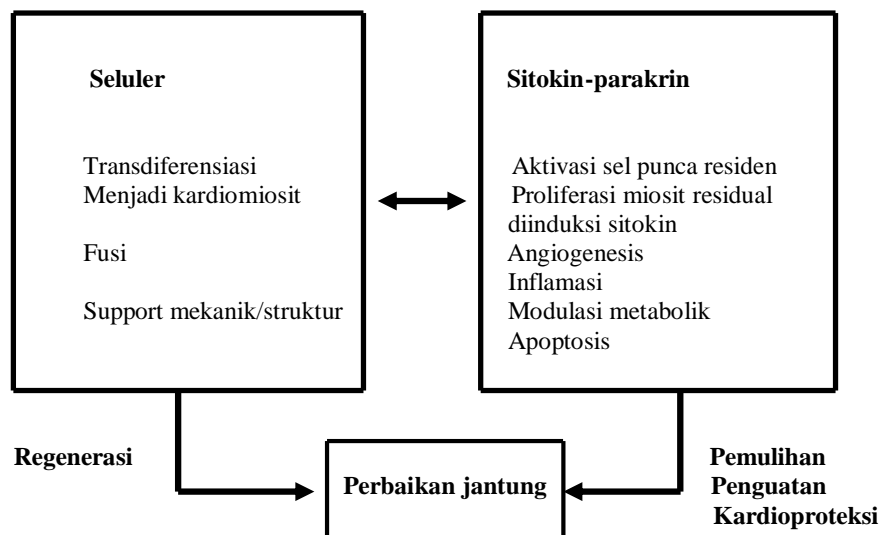
Dikutip dari Wollert KC, Drexler H. Clinical applications of stem cells for the heart. *Circ Res* 2005;96:151–163.

Penelitian lain secara *in vitro* menunjukkan adanya fusi sel (yaitu, sel yang ditransplantasikan berfusi dengan sel lain, membentuk hybrid sel progenitor dengan marker sel berbeda), namun konsep ini diperdebatkan, karena regenerasi jantung dianggap kecil.²¹

Kini mekanisme yang mendasari efikasi sel punca tertuju pada hipotesis sitokin-parakrin (Gambar 3).²¹ Studi pada hewan coba menunjukkan bahwa suntikan conditioning medium dimana dikultur MSC menghasilkan perbaikan fungsi ventrikel kiri dan berkurangnya apoptosis.^{66,67} Mirotso et al.,⁶⁸ mendapatkan bahwa kunci utama mekanisme perbaikan fungsi ventrikel kiri adalah sekresi SFRP2 (secreted frizzled-related protein II) oleh AKT-1 (v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1) yang diperkaya di dalam MSC, memodulasi signaling Wnt (wingless-type MMTV integration site family), yang bersifat antiapoptotik.⁶⁷ Interleukin 10 dari sel mononuklear sumsum tulang yang ditransplantasikan juga berkontribusi terhadap proteksi kardiak setelah infark miokard.⁶⁹ Sitokin dan faktor pertumbuhan lain yang memberikan efek parakrin dari sel progenitor meliputi vascular endothelial growth factor, stromal cell-derived factor, angiopoietin 1, hepatocyte growth factor, insulin-like growth factor 1, dan periostin.^{70,71,72,73} Efek yang ditimbulkan dapat berupa angiogenesis, antiinflamasi, sitoproteksi, modulasi metabolik, dan antiapoptosis.²¹

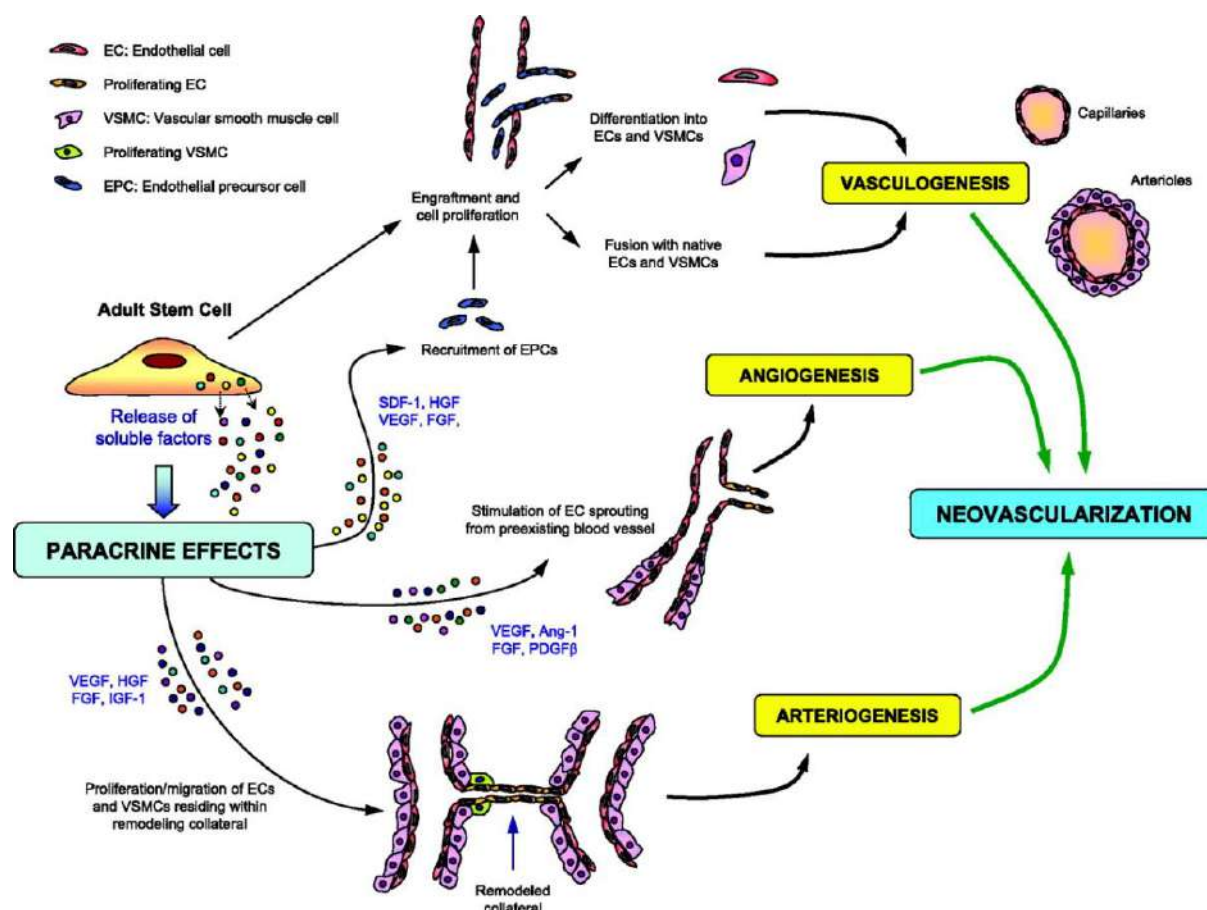
Proses biologik penting yang dipengaruhi sel punca dengan mekanisme parakrin adalah neovaskularisasi (Gambar 4).⁵⁰ Secara umum, istilah

neovaskularisasi meliputi pertumbuhan pembuluh darah baru: vaskulogenesis, angiogenesis, dan arteriogenesis.^{5,74} Vaskulogenesis dapat dimediasi oleh progenitor endotel sumsum tulang tetapi kontribusi vaskulogenesis terhadap neovaskularisasi pada orang dewasa masih menimbulkan perdebatan karena efek fungsional transdiferensiasi dan fusi sel dipertanyakan.⁷⁵ Angiogenesis dimulai dari timbulnya pembuluh darah “percabangan” atau “intususepsi” sehingga terbentuk struktur endotel ber dinding tipis, sedangkan arteriogenesis adalah pembentukan arteri, berlapis tiga, melalui remodeling dan pembesaran pembuluh darah yang telah ada atau dari venula pascakapiler. Secara klinis, pembuluh darah arteri yang terbentuk ini dikenal sebagai kolateral, menghubungkan stenosis arteri yang berat dari bagian proksimal (regio tekanan darah tinggi) ke bagian distal (tekanan darah rendah).⁷⁶ Kedua proses pembentukan pembuluh darah dimediasi oleh sheer stress,⁷⁷ melalui mediator seperti, nitric oxide, VEGF, bFGF, HGF, angiopoietin.⁵⁰ Molekul-molekul ini menyebabkan migrasi sel endotel dan vascular smooth muscle cells (VSMC), proliferasi, pembesaran pembuluh darah, maturasi dan sintesis matriks ekstraseluler. Kamihata et al mendapatkan bahwa suntikan sel mononuklear sumsum tulang mengekspresikan peningkatan molekul angiogenik bFGF, VEGF, dan angiopoietin-1 secara signifikan 3 minggu setelah penyuntikan dibandingkan dengan kontrol.⁷⁸ Pelepasan faktor proangiogenik ini memegang peranan penting dalam meningkatkan densitas kapiler dan perkembangan pembuluh darah kolateral pada jaringan iskemik hewan coba yang diterapi dengan sel punca.⁵⁰



Gambar 3. Mekanisme yang menjelaskan potensi manfaat terapi terhadap perbaikan dan regenerasi sel. Konsep sekarang telah menggeser efek sel secara langsung dari transdiferensiasi menjadi kardiomiosit ke arah hipotesis sitokin-parakrin. Sel yang ditransplantasikan atau faktor yang terdapat di media kultur dapat meningkatkan angiogenesis, menghentikan inflamasi, meningkatkan modulasi metabolik, dan mengurangi apoptosis, sehingga menyebabkan peningkatan respon reparatif dan kardioprotektif, yang berlawanan dengan regenerasi in sendiri.

Dikutip dari Gersh BJ, Simari RD, Behfar A, Terzic CM, Terzic A. Cardiac cell repair therapy: A clinical perspective. *Mayo Clin Proc.* 2009;84:876-892.



Gambar 4. Mekanisme neovaskularisasi. Ketika terjadi stres atau kondisi patologik, seperti infark miokard, pembuluh darah jantung dewasa berekspansi, hal ini berlawanan dengan pembuluh darah jantung embrio. Neovaskularisasi pascanatal dari sel punca dewasa meliputi 3 mekanisme berbeda. Vaskulogenesis pascanatal adalah pembentukan pembuluh darah baru dari hasil fusi dan diferensiasi sel prekursor endotel yang berasal dari sumsum tulang. Mekanisme kedua adalah angiogenesis yang dibentuk dari pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang telah ada. Mekanisme ketiga adalah pembesaran dan muskularisasi disebut, arteriogenesis. Pelepasan faktor proangiogenik dan proarteriogenik oleh sel punca secara positif berpengaruh terhadap neovaskularisasi dalam mekanisme parakrin.

Dikutip dari Gnechhi M, Zhang Z, Ni A, Dzau VJ. Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy. *Circ Res.* 2008;103:1204-1219.

VEGF adalah mediator endothelial progenitor cell (EPC) yang efektif dan inducer poten terhadap angiogenesis. Ketika terjadi injuri jaringan dan diperlukan pembentukan pembuluh darah baru, VEGF memediasi proliferasi, diferensiasi dan kemotaksis sel endotel.^{79,80} Selain itu, sel endotel juga mensekresi SDF-1 (stromal cell-derived factor-1) dalam jumlah banyak untuk menginduksi migrasi EPC dari sumsum tulang, dan meningkatkan ekspresi marker sel endotel terhadap sel progenitor endotel (EPC) sumsum tulang. Stromal cell-derived factor 1 α (SDF-1 α) adalah faktor kemotaktik EPC pada manusia. Ikatan SDF-1 α dengan CX-chemokine receptor 4 (CXCR4) dapat mencegah pelepasan EPC dari sumsum tulang. Akhir-akhir ini Jujo et al. melaporkan bahwa pemberian penghambat CXCR4, AMD3100 dapat memobilisasi EPC dengan cepat dari sumsum tulang.⁸¹ Sehingga dapat meningkatkan densitas kapiler, meningkatkan populasi sel untuk proses neovaskularisasi dan mengurangi angka mortalitas pada infark miokard.^{81,82}

Kolateral koronaria, atau “bypass alamiah”⁸³ merupakan anastomosis alternatif untuk aliran darah pada penyakit jantung koroner ketika pembuluh darah koroner setempat tidak mampu memberikan suplai darah secara adekuat.^{83,84,85} Pembesaran kolateral yang tepat waktu malah dapat mencegah infark miokard transmural dan kematian pada pasien penyakit jantung koroner simptomatik.^{83,86} Terapi dengan sel punca merupakan upaya untuk meningkatkan pembuluh darah kolateral melalui mekanisme parakrin.

KESIMPULAN

Mekanisme yang mendasari perbaikan, penguatan energi dan proteksi melalui seluler, respon parakrin dan faktor pertumbuhan untuk mengurangi apoptosis dan meningkatkan vaskulogenesis, modulasi metabolik merupakan rangkaian proses yang mendasari peningkatan fungsi ventrikel kiri dan

survival pada pemberian sel punca. Kunci utama dalam memahami terapi sel punca di masa mendatang adalah pemahaman substrat proteomik dan genomik yang memodifikasi berbagai signaling multipel dan sistem homing yang terlibat di dalam transformasi sel pluripoten menjadi miosit. Mekanisme transdiferensiasi benar terjadi, hanya frekuensi yang masih rendah, sehingga diperlukan penguatan melalui metode terhadap sel dan substrat. Yang lebih dianut sekarang adalah hipotesis sitokin-parakrin, melalui efek neovaskularisasi dan reendotelialisasi (Gambar 4). Perbaikan fungsi berkelanjutan pada pemberian endothelial progenitor cell adalah melalui mekanisme proteksi terhadap apoptosis dan induksi proliferasi/regenerasi kardiomyosit endogen (Gambar 2) (Gambar 3).

DAFTAR PUSTAKA

1. Dimmeler S, J. Burchfiel, and A.M. Zeiher. Cell-based therapy of myocardial infarction. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2008; 28 : 208-216.
2. Ho KK, Anderson KM, Kannel WB, Grossman W, Levy D. Survival after the onset of congestive heart failure in Framingham Heart Study subjects. *Circulation.* 1993;88:107–115.
3. Arai AE, Pantely GA, Thoma WJ, Anselone CG, Bristow JD. Energy metabolism and contractile function after 15 beats of moderate myocardial ischemia. *Circ Res.* 1992;70:1137–1145.
4. Heyndrickx GR, Baig H, Nellens P, Leusen I, Fishbein MC, Vatner SF. Depression of regional blood flow and wall thickening after brief coronary occlusions. *Am J Physiol.* 1978;234:H653–H659.
5. Griggs DM Jr, Tchokoev VV, Chen CC. Transmural differences in ventricular tissue substrate levels due to coronary constriction. *Am J Physiol.* 1972;222:705–709.
6. Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB. The wavefront phenomenon of ischemic cell death, 1: myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation.* 1977;56:786–794.
7. Melo LG, Pachori AS, Kong D, Gneocchi M, Wang K, Pratt RE, Dzau VJ. Molecular and cell-based therapies for protection, rescue, and repair of ischemic myocardium: reasons for cautious optimism. *Circulation.* 2004;109:2386-2393.
8. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.* 1986; 74:1124–1136.
9. Pfeffer MA. Left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Annu Rev Med.* 1995;46:455–466.
10. Ryan TJ, Antman EM, Brooks NH, Califf RM, Hillis LD, Hiratzka LF, Rapaport E, Riegel B, Russell RO, Smith EE III, Weaver WD, Gibbons RJ, Alpert JS, Eagle KA, Gardner TJ, Garson A Jr, Gregoratos G, Ryan TJ, Smith SC Jr. 1999 update: ACC/AHA guidelines for the management of patients with acute myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Management of Acute Myocardial Infarction). *J Am Coll Cardiol.* 1999;34:890–911.
11. Schwarz F, Schuler G, Katus H, Hofmann M, Manthey J, Tillmanns H, Mehmel HC, Kubler W. Intracoronary thrombolysis in acute myocardial infarction: duration of ischemia a major determinant of late results after recanalization. *Am J Cardiol.* 1982;50:933–937.
12. Orlic D, Hill JM, Arai AE. Stem cells for myocardial regeneration. *Circ. Res.* 2002; 91: 1092-1102.
13. Murry CE, Hans Reinecke H, Pabon LM. Regeneration Gaps : Observations on Stem Cells and Cardiac Repair. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006;47:1777-1785.
14. Behfar A, Terzic A. Cardioprotective repair through stem cell-based cardiopoiesis. *J Appl Physiol.* 2007; 103:1438-1440.
15. Schuster MD, Kocher AA, Seki T, Martens TP, Xiang G, Homma S, Itescu S. Myocardial neovascularization by bone marrow angioblasts results in cardiomyocyte regeneration. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;287:H525–H532.
16. Gneocchi M, He H, Liang OD, Melo LG, Morello F, Mu H, Noiseux N, Zhang L, Pratt RE, Ingwall JS, Dzau VJ. Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-modified mesenchymal stem cells. *Nat Med.* 2005;11:367–368.
17. Moore KA, Lemischka IR. Stem cells and their niches. *Science.* 2006; 311:1880 –1885.
18. Nygren JM, Jovinge S, Breitbach M, Sawen P, Roll W, Hescheler J, Taneera J, Fleischmann BK, Jacobsen SEW. Bone marrow-derived hematopoietic cells generate cardiomyocytes at a low frequency through cell fusion, but not transdifferentiation. *Nat Med.* 2004;10:494 –501.
19. Fujii T, Yau TM, Weisel RD, Ohno N, Mickle DAG, Shiono N, Ozawa T, Matsubayashi K, Li R-K. Cell transplantation to prevent heart failure: a comparison of cell types. *Ann Thorac Surg.* 2003;76:2062–2070.
20. Boyle AJ, Schulman SP, Hare JM. Stem cell therapy for cardiac repair : ready for the next step. *Circulation.* 2006;114:339-352.
21. Gersh BJ, Simari RD, Behfar A, Terzic CM, Terzic A. Cardiac cell repair therapy: A clinical perspective. *Mayo Clin Proc.* 2009;84:876-892.
22. Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, Kofidis T, Weissman IL, Robbins RC. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in

- ischaemic myocardium. *Nature*. 2004;428:668-673.
23. Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, et al. Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms. *Circ Res*. 2004; 94:678-685.
 24. Rehman J, Li J, Orschell CM, March KL. Peripheral blood "endothelial progenitor cells" are derived from monocyte/macrophages and secrete angiogenic growth factors. *Circulation*. 2003;107(8):1164-1169.
 25. Dai W, Hale SL, Martin BJ, Kuang JQ, Dow JS, Wold LE, Klöner RA. Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in postinfarcted rat myocardium: short- and long-term effects. *Circulation* 2005;112:214-223
 26. Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ Res*. 2004;95:9-20.
 27. Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, Byrne BJ, Kessler PD. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation*. 2002;105(1):93-98.
 28. Saito T, Kuang JQ, Bittira B, Al-Khaldi A, Chiu RC. Xenotransplant cardiac chimera: immune tolerance of adult stem cells. *Ann Thorac Surg*. 2002;74:19-24.
 29. Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, Lee CW, Barr S, Fuchs S, Epstein SE. Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms. *Circ Res*. 2004;94:678-685.
 30. Kim BO, Tian H, Prasongsukarn K, et al. Cell transplantation improves ventricular function after a myocardial infarction: a preclinical study of human unrestricted somatic stem cells in a porcine model. *Circulation*. 2005;112;(suppl):I96-I104.
 31. Smith RR, Barile L, Messina E, Marbán E. Stem cells in the heart: what's the buzz all about?--Part 1: preclinical considerations. *Heart Rhythm*. 2008; 5 :749-757.
 32. Smith RR, Barile L, Messina E, Marbán E. Stem cells in the heart: what's the buzz all about? Part 2: arrhythmic risks and clinical studies. *Heart Rhythm*. 2008; 5 :880-887.
 33. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*. 2003;114(6):763-776.
 34. Bearzi C, Rota M, Hosoda T, et al. Human cardiac stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007; 104 :14068-14073.
 35. Ayelet Itzhaki-Alfia A, Leor J, Raanani E, Sternik L, Spiegelstein D, Netser S, Holbova R; Pevsner-Fischer M, Lavee J, Barbash IM. Patient characteristics and cell source determine the number of isolated human cardiac progenitor cells. *Circulation*. 2009;120:2559-2566.
 36. Leri A, Anversa P, Kajstura J. Stem cells and heart disease. In : Lanza R eds. *Essential of stem cell biology*. 2nd ed. 2009 Elsevier Inc. 529-542.
 37. Menasché P, Hagege AA, Vilquin JT, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41:1078-1083.
 38. Reinecke H, Poppa V & Murry CE. Skeletal muscle stem cells do not transdifferentiate into cardiomyocytes after cardiac grafting. *J Mol Cell Cardiol* 2002;34, 241-249.
 39. Leobon B, Garcin I, Menasche P *et al*. Myoblasts transplanted into rat infarcted myocardium are functionally isolated from their host. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:7808-7811.
 40. Dib N, Dinsmore J, Lababidi Z, et al. One-year follow-up of feasibility and safety of the first U.S., randomized, controlled study using 3-dimensional guided catheter-based delivery of autologous skeletal myoblasts for ischemic cardiomyopathy (CAuSMIC study). *JACC Cardiovasc Interv*. 2009;2(1):9-16.
 41. Menasché P. Towards the second generation of skeletal myoblasts [editorial] ? *Cardiovasc Res*. 2008;79 :355-356.
 42. Hochedlinger K, Jaenisch R. Nuclear reprogramming and pluripotency. *Nature*. 2006;441:1061-1067.
 43. Jaenisch R, Young R. Stem cells, the molecular circuitry of pluripotency and nuclear reprogramming. *Cell*. 2008;132:567-582.
 44. Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, et al. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nat Biotechnol*. 2008 ;26:101-106.
 45. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131:861-872.
 46. Kim D, Kim CH, Moon JI, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells by direct delivery of reprogramming proteins. *Cell Stem Cell*. 2009; 4: 472-476.
 47. Zhang J, Wilson GF, Soerens AG, et al. Functional cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells. *Circ Res*. 2009 104: e30-e41.
 48. Nelson TJ, Martinez-Fernandez A, Yamada S, Perez-Terzic C, Ikeda Y, Terzic A. Repair of acute myocardial infarction by human stemness factors induced pluripotent stem cells. *Circulation*. 2009 Aug 4;120(5):408-416
 49. Gersh BJ, Simari RD. Cardiac stem cell repair therapy: a clinical perspective. *Indian Heart J*. 2006;58:308-314.
 50. Gneocchi M, Zhang Z, Ni A, Dzau VJ. Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy. *Circ Res*. 2008;103:1204-1219.

51. Etzion S, Battler A, Barbash IM, et al. Influence of embryonic cardiomyocyte transplantation on the progression of heart failure in a rat model of extensive myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol* 2001;33:1321–30.
52. Li RK, Jia ZQ, Weisel RD, et al. Cardiomyocyte transplantation improves heart function. *Ann Thorac Surg* 1996;62:654–60.
53. Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, et al. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat Med* 1998;4:929–33.
54. Pouzet B, Vilquin JT, Hagege AA, et al. Factors affecting functional outcome after autologous skeletal myoblast transplantation. *Ann Thorac Surg* 2001;71:844–50.
55. Fujii T, Yau TM, Weisel RD, et al. Cell transplantation to prevent heart failure: a comparison of cell types. *Ann Thorac Surg* 2003;76: 2062–70.
56. Hutcheson KA, Atkins BZ, Hueman MT, Hopkins MB, Glower DD, Taylor DA. Comparison of benefits on myocardial performance of cellular cardiomyoplasty with skeletal myoblasts and fibroblasts. *Cell Transplant* 2000;9:359–68.
57. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 2001;7:430–6.
58. Amado LC, Saliaris AP, Schuleri KH, et al. Cardiac repair with intramyocardial injection of allogeneic mesenchymal stem cells after myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:11474–9.
59. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;410:701–5.
60. Dawn B, Stein AB, Urbanek K, et al. Cardiac stem cells delivered intravascularly traverse the vessel barrier, regenerate infarcted myocardium, and improve cardiac function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:3766–71.
61. Menard C, Hagege AA, Agbulut O, et al. Transplantation of cardiac-committed mouse embryonic stem cells to infarcted sheep myocardium: a preclinical study. *Lancet* 2005;366:1005–12.
62. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, McKay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*. 2001;410:701–705.
63. Wollert KC, Drexler H. Clinical applications of stem cells for the heart. *Circ Res* 2005;96:151–163.
64. Rupp S, Koyanagi M, Iwasaki M, et al. Genetic proof-of-concept for cardiac gene expression in human circulating blood-derived progenitor cells [letter]. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51:2289-2290.
65. Sussman MA, Murry CE. Bones of contention: marrow-derived cells in myocardial regeneration. *J Mol Cell Cardiol*. 2008 ;44:950-953.
66. Gneocchi M, Zhang Z, Ni A, Dzau VJ. Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy. *Circ Res*. 2008;103:1204-1219.
67. Gneocchi M, He H, Liang OD, et al. Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-modified mesenchymal stem cells. *Nat Med*. 2005;11:367-368.
68. Mirotsov M, Zhang Z, Deb A, et al. Secreted frizzled related protein 2 (Sfrp2) is the key Akt-mesenchymal stem cell-released paracrine factor mediating myocardial survival and repair. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104:1643-1648.
69. Burchfield JS, Iwasaki M, Koyanagi M, et al. Interleukin-10 from transplanted bone marrow mononuclear cells contributes to cardiac protection after myocardial infarction. *Circ Res*. 2008;103:203-211.
70. Gneocchi M, He H, Noiseux N, et al. Evidence supporting paracrine hypothesis for Akt-modified mesenchymal stem cell-mediated cardiac protection and functional improvement. *FASEB J*. 2006;20:661-669.
71. Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, et al. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation* 2001;104:1046-1052.
72. Kühn B, del Monte F, Hajjar RJ, et al. Periostin induces proliferation of differentiated cardiomyocytes and promotes cardiac repair. *Nat Med*. 2007; 13:962-969.
73. Uemura R, Xu M, Ahmad N, Ashraf M. Bone marrow stem cells prevent left ventricular remodeling of ischemic heart through paracrine signaling. *Circ Res*. 2006; 98:1414-1421.
74. Silvestre JS, Mallat Z, Tedgui A, Levy BI. Post-ischaemic neovascularization and inflammation. *Cardiovasc Res*. 2008;78:242–249.
75. Simons M, Ware JA. Therapeutic angiogenesis in cardiovascular disease. *Nat Rev Drug Discov*. 2003;2:863– 871.
76. van Royen N, Piek JJ, Buschmann I, Hoefler I, Voskuil M, Schaper W. Stimulation of arteriogenesis; a new concept for the treatment of arterial occlusive disease. *Cardiovasc Res*. 2001;49:543–553.
77. Keeley EC, Mehrad B, Strieter RM. Chemokines as mediators of neovascularization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28:1928-1936
78. Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, Fujiyama S, Tsutsumi Y, Ozono R, Masaki H, Mori Y, Iba O, Tateishi E, Kosaki A, Shintani S, Murohara T, Imaizumi T, Iwasaka T. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic

- myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation*. 2001;104:1046–1052.
79. Asahara T, Takahashi T, Masuda H, Kalka C, Chen D, Iwaguro H et al. VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Embo J* 1999;18:3964-3972.
80. Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996;86:353-364.
81. Jujo K, Hamada H, Iwakura A, Thornea T, Sekiguchi H, Clarke T, Ito A, Misener S, Tanaka T, Klyachko E, Kobayashi K, Tongers J, Roncallia J, Tsurumic Y, Hagiwarac N, Losordo DW. CXCR4 blockade augments bone marrow progenitor cell recruitment to the neovasculature and reduces mortality after myocardial infarction. *PNAS* 2010; 107: 11008–11013.
82. Zampetaki A, Kirton JP, and Xu QB. Vascular repair by endothelial progenitor cells. *Cardiovasc Res* 2008;78:413-421.
83. Koerselman J, van der Graaf Y, de Jaegere PPTH, Grobbee DE. Coronary collaterals : an important and underexposed aspect of coronary artery disease. *Circulation*. 2003;107:2507-2511.
84. Berry C, Balachandran KP, L'Allier PL, Lesperance J, Bonan R, Oldroyd KG. Importance of collateral circulation in coronary heart disease. *Eur Heart J* 2007; 28: 278-291.
85. Sasayama S, Fujita M. Recent insights into coronary collateral circulation. *Circulation*. 1992;85:1197-1204.
86. Schaper W, Gorge G, Winkler B, et al. The collateral circulation of the heart. *Prog Cardiovasc Dis*. 1988;31:57–77.

SEL PROGENITOR ENDOTEL DAN REGENERASI KARDIOVASKULER

- **PENDAHULUAN**
- **SEL PROGENITOR ENDOTEL**
- **SEL PROGENITOR ENDOTEL DAN NEOVASKULARISASI**
- **SEL PROGENITOR ENDOTEL DAN REGENERASI ENDOTEL**
- **HIPERTENSI**
- **HIPERLIPIDEMIA**
- **DIABETES MELITUS**
- **MEROKOK**
- **AKTIVITAS FISIK**
- **FAKTOR RISIKO LAIN**
- **EPC DAN PENYAKIT KARDIOVASKULER**
- **REKRUTMEN EPC UNTUK REPARASI KARDIOVASKULER**
- **EPC DAN REGENERASI KARDIOMIOSIT**
- **DAFTAR PUSTAKA**

PENDAHULUAN

Aterosklerosis adalah penyebab kematian utama di negara barat dan juga Indonesia. Manifestasi klinis aterosklerosis meliputi infark miokard, gagal jantung, stroke dan penyakit arteri perifer.¹ Studi INTERHEART mendapatkan 9 faktor risiko utama mendasari >90% risiko terjadinya infark miokard akut. Merokok, hipertensi dan diabetes meningkatkan odd ratios (OD) infark miokard hingga 13.01% (99% CI, 10,69-15,83) dibandingkan dengan pasien tanpa risiko.² Meskipun korelasi antara faktor risiko dan aterosklerosis dalam menimbulkan infark miokard telah diketahui, kepatuhan terhadap modifikasi gaya hidup dan faktor risiko sangat rendah.¹ Karena itu, diperlukan pengobatan regeneratif terhadap vaskuler agar dapat menurunkan insiden kardiovaskuler.

Faktor-faktor risiko kardiovaskuler menimbulkan atherogenesis dengan menginduksi injuri dan disfungsi endotel.³ Hill et al mendapatkan injuri endotel tanpa sel progenitor endotel (EPC, endothelial progenitor cell) yang adekuat berpengaruh terhadap progresivitas penyakit kardiovaskuler.³ Werner et al melaporkan bahwa sel progenitor endotel CD34+KDR+ dapat memprediksi kejadian dan kematian kardiovaskuler.¹ Karena itu, pengukuran kadar sel progenitor endotel amat penting pada pasien dengan penyakit jantung koroner (PJK) untuk mengidentifikasi pasien dengan risiko tinggi akan kejadian kardiovaskuler.

Seberapa besar manfaat sel progenitor endotel dalam mengidentifikasi outcome pada pasien dengan penyakit jantung koroner? Adakah hubungan antara faktor risiko kardiovaskuler dengan kadar EPC di dalam darah? Dari 519 pasien dengan penyakit jantung koroner yang dikonfirmasi dengan angiografi, Werner et al mendapatkan bahwa peningkatan kadar EPC berhubungan dengan penurunan angka kematian akibat kejadian kardiovaskuler sebesar 31% (hazard ratio (HR), 0,31; 95% CI, 0,16-0,63; p=0,001), kejadian kardiovaskuler mayor (HR, 0,74; 95% CI, 0,61-0,89; p=0,002), revaskularisasi (HR, 0,77; 95% CI, 0,62-0,95; p=0,02). Hal ini menunjukkan bahwa EPC merupakan prediktor yang baik terjadi kejadian kardiovaskuler pada pasien PJK.¹

SEL PROGENITOR ENDOTEL

Sel progenitor endotel (EPC) adalah sel tidak mature (imatur) yang mampu berdiferensiasi menjadi sel endotel yang matur.⁴ Tahun 1997 Asahara et al., pertama kali mengisolasi EPC dari darah perifer manusia sebagai antigen positif CD34 (CD34+) sel mononuclear.⁵ Lalu hasil isolasi ini dikulturkan pada fibronectin, dan diuji ternyata memiliki marker ekspresi leukosit (CD45), sel endotel [CD34, CD31, Flk-1, Tie-1, E-selectin dan endothelial nitric oxide synthase (eNOS)]. Hasil ini mengkonfirmasi bahwa sel kultur berkembang menjadi fenotipe menyerupai sel endotel. Sesudah disuntikkan ke dalam

mencitimunodefisiensi dengan iskemia anggota gerak belakang, sel berfluoresensi dengan label CD34+ terinkorporasikan ke dalam tempat neovaskularisasi iskemik. Pembuktian ini mendasari peran isolasi CD34+ dari sel mononuclear (CD34) pada orang dewasa. Sejak itu, EPC menjadi subjek penelitian eksperimental dan klinis karena berperan pada patofisiologi dan aplikasi terapeutik.⁴

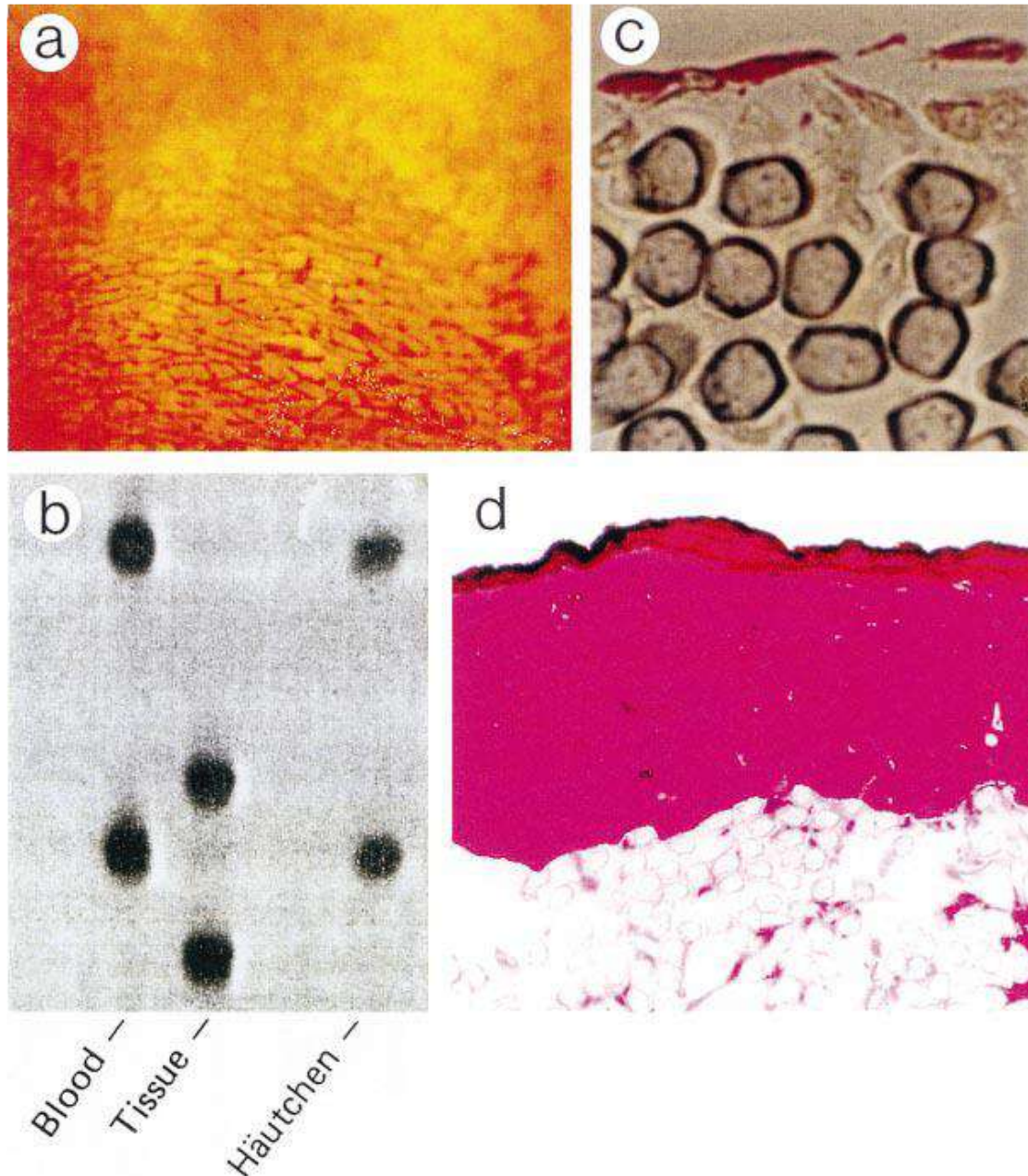
Sebelum pembahasan lebih lanjut mengenai hubungan EPC dengan faktor risiko kardiovaskuler, perlu diketahui asal usul EPC sehingga didapati ciri-ciri EPC yang sampai sekarang masih menimbulkan kontroversial.⁶ Sebenarnya setelah Asahara et al., menemukan purifikasi CD34 dari sel progenitor hematopoetik, setahun berikutnya kelompok Rafii, et al, 1998 melaporkan adanya sel progenitor endotel yang berasal dari sumsum tulang di dalam sirkulasi, dikenal sebagai "circulating bone marrow-derived endothelial progenitor cells" (CEPCs).⁷ Sebagai bukti, kelompok ini mendapatkan bahwa EPC, dengan satu subset sel CD34+, yang mengekspresikan marker protein endotel seperti vWF and incorporated Dil-Ac-LDL, dapat membentuk satu lapisan pada permukaan graft Dacron resipien. Morfologi endotel dikenal dari pewarnaan argentum nitrat. Sel progenitor endotel yang diambil dari sumsum tulang yang melapisi graft Dacron resipien diidentifikasi dengan metode PCR genotyping (Gambar 1).⁷

Dengan penemuan awal ini, maka EPC atau CEPC didefinisikan sebagai sel yang ditandai dengan marker permukaan dari sel punca hematopoetik CD34+ dan marker protein endotel VEGFR2, juga dikenal sebagai KDR (kinase domain receptor).^{1,8} Karena CD34+ tidak hanya diekspresikan pada sel punca hematopoetik, tetapi juga pada sel endotel matur dalam jumlah lebih kecil, maka studi selanjutnya mendapatkan adanya marker sel punca hematopoetik imatur CD133+, yang dapat berdiferensiasi menjadi sel endotel secara *in vitro*. CD133+ dikenal sebagai prominin atau AC133, antigen yang sangat terkonservasi, tidak memiliki aktivitas biologik, tidak didapati pada sel endotel matur dan sel monositik. Karena itu, CD133+VEGFR2+ lebih menggambarkan sel progenitor imatur sedangkan CD34+VEGFR2+ mungkin juga menggambarkan pelepasan sel dari dinding sel. Sampai sekarang, tidak diketahui apakah CD133 hanya berupa marker permukaan atau berperan dalam regulasi neovaskularisasi.⁸

Kontroversi terjadi berkenaan dengan identifikasi dan asal sel progenitor endotel, yang dapat diisolasi dari sel mononuclear darah perifer, pada medium yang memungkinkan diferensiasi endotel. Berbagai sumber sel mononuclear darah perifer dapat terjadi: (1) dari sel punca hematopoetik, (2) sel mieloid, yang berdiferensiasi menjadi sel endotel, (3) sel progenitor dalam sirkulasi lainnya (misalnya, sel "side

population”), dan (4) sel endotel matur dalam sirkulasi, yang dilepas dari dinding pembuluh darah, dan melekat pada cawan kultur. Hebbel et al., dikutip Urbich menunjukkan bahwa terdapat lebih dari satu sumber progeni endotel di dalam sirkulasi darah, dan bahwa perbedaan morfologi dan fungsi populasi sel endotel dapat ditumbuhkan dari sel mononuklear darah perifer. Mereka membagi berbagai sel endotel dalam sirkulasi berdasarkan ciri pertumbuhan dan morfologi sebagai “sel menyerupai spindel” dengan kapasitas proliferasi rendah dan sel dapat tumbuh.⁸

Secara umum, beberapa studi mendapatkan bahwa sel endotel selain berasal dari sel hematopoetik sumsum tulang (Gambar 2),⁸ juga dapat berasal dari luar sumsum tulang, Sel punca/ sel progenitor sumsum tulang seperti sel side population dan multipotent adult progenitor cell, berbeda dengan sel punca hematopoetik, juga dapat berdiferensiasi menjadi sel endotel.^{9,10} Sel punca residen dalam jantung (resident cardiac stem cell), dapat berdiferensiasi menjadi sel endotel.¹¹ Karena itu, sulit untuk mendefinisikan sel progenitor endotel yang sebenarnya.⁸

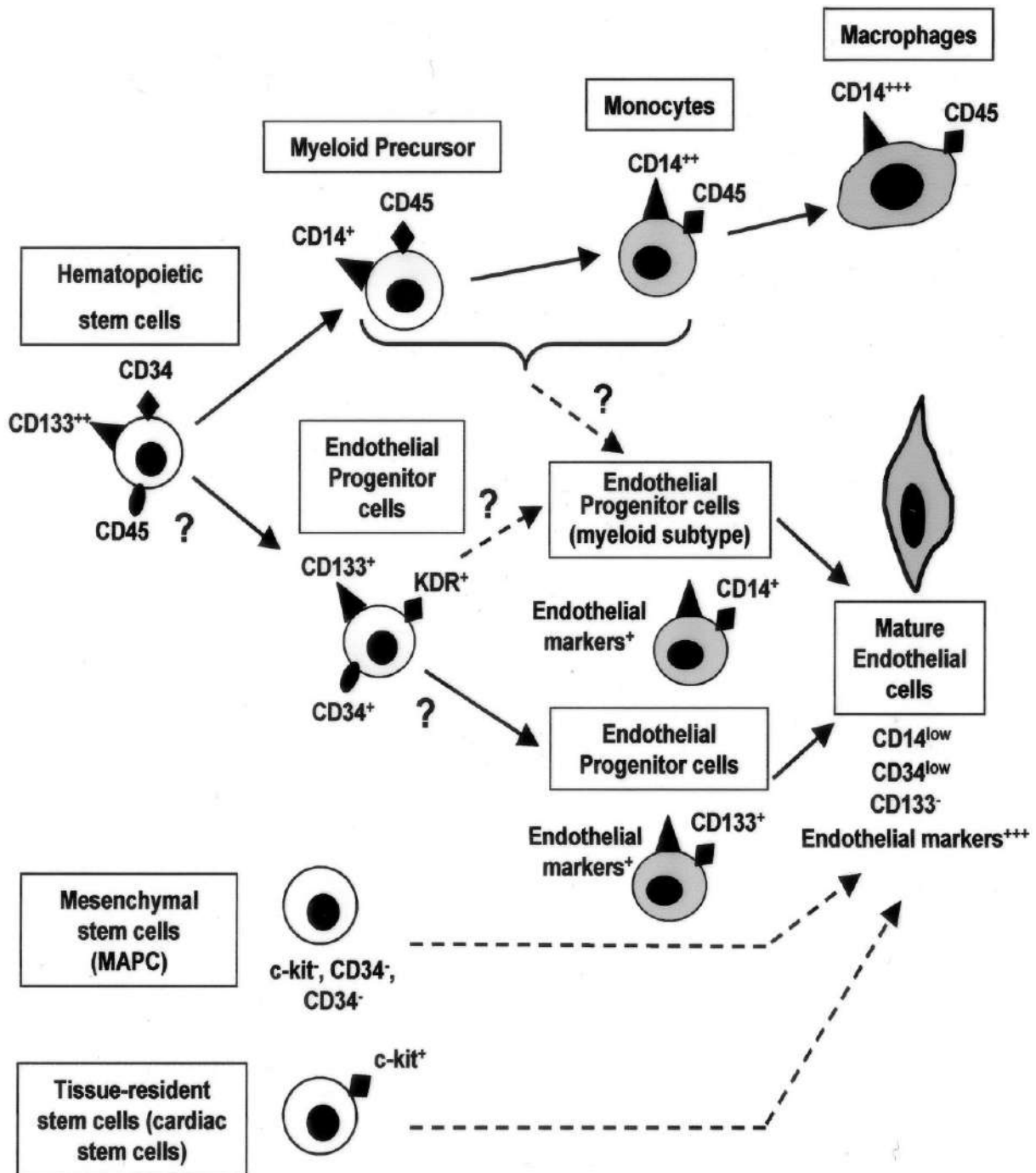


Gambar 1. PCR genotyping untuk menentukan asal usul sel endotel diwarnai argentum nitrat. (a) Sel endotel poligonal didapati pada graft Dacron setelah diwarnai argentum nitrat. (b) PCR genotyping pada sel endotel yang diwarnai argentum nitrat menunjukkan asal sel endotel dari sumsum tulang. (c) Sel endotel diwarnai positif dengan antigen CD34. (d) Pewarnaan hemotoxillin dan eosin pada bagian sel yang diwarnai argentum nitrat.

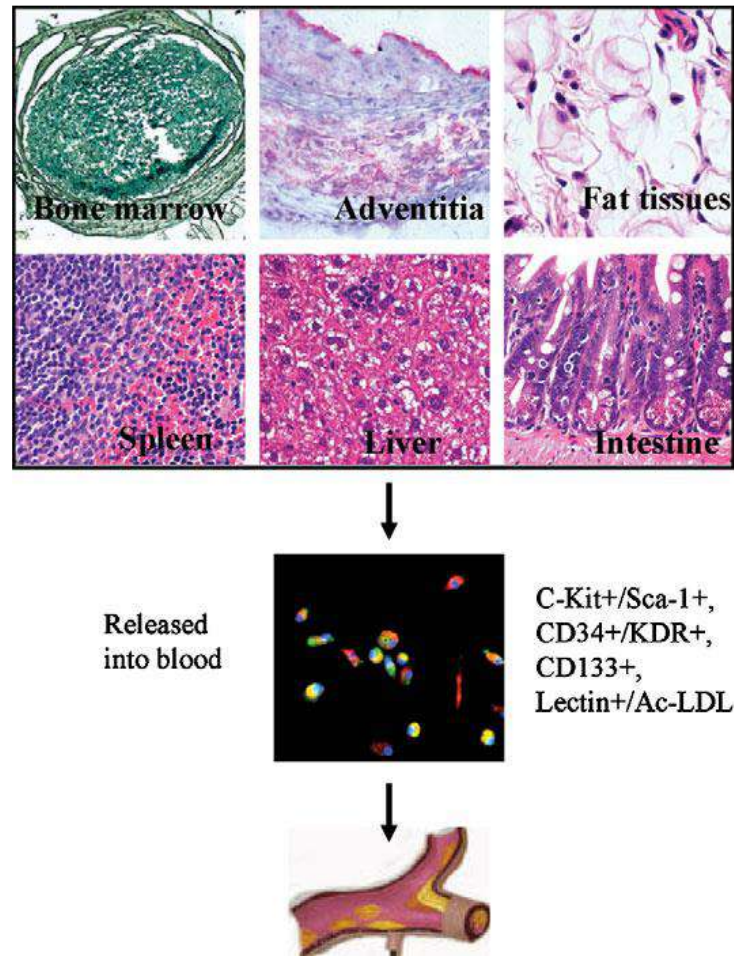
Dikutip dari Shi Q, Rafii S, Wu MH, Wijelath ES, Yu C, Ishida A, Fujita Y, Kothari S, Mohle R, Sauvage LR, Moore MA, Storb RF, Hammond WP. Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood*. 1998;92:362-367.

Dari sisi organ yang memproduksi sel progenitor endotel dan masuk ke dalam sirkulasi, selain sumsum tulang sebagai sumber utama,¹² organ lain seperti limpa, dengan sel progenitor yang dapat meningkatkan reendotelialisasi dan mengurangi pembentukan neointima pada injuri arteri karotis.^{13,14} Sel progenitor ini juga didapati di dalam usus dan hati pada model tikus dengan transplantasi usus dan hati.¹⁵ Sel punca adiposa manusia, dapat berdiferensiasi menjadi sel endotel secara *in vitro*.¹⁶ Sel ini juga didapati pada

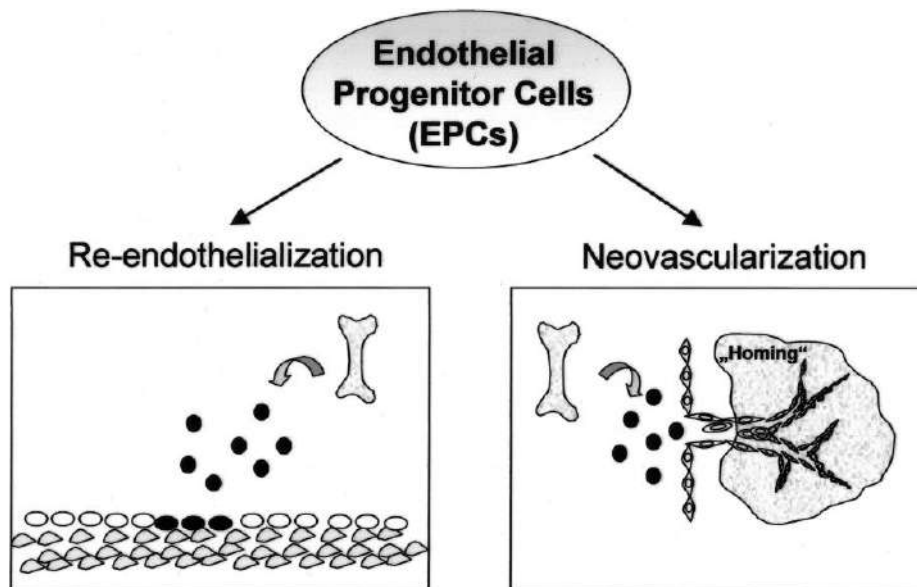
dinding pembuluh darah manusia.¹² Ingram et al mendapatkan hirarki EPC pada dinding pembuluh darah manusia dan membedakan potensi klonogenik dan proliferaatif.¹⁷ Keberagaman sumber EPC pada pembuluh darah manusia memberikan suatu kerangka konsep dalam menentukan sumber dan fungsi EPC dalam mempertahankan integritas pembuluh darah. Banyak organ yang dapat menghasilkan sel progenitor dan masuk ke dalam darah perifer sebagai EPC (Gambar 3).¹²



Gambar 2. Sumber dan diferensiasi sel progenitor endotel. Skema menggambarkan potensi sumber dan diferensiasi sel progenitor endotel dari sel punca hematopoetik dan sel non hematopoetik.
 Dikutip dari Urbich C, Dimmeler S. *Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology. Circ Res. 2004;95:343-353.*



Gambar 3. EPC dapat berasal dari sumsum tulang , jaringan lemak, dinding pembuluh darah, terutama adventisia, limpa, dan usus dan masuk ke dalam darah perifer sebagai EPC. EPC berfungsi untuk reparasi pembuluh darah yang rusak.
 Dikutip dari Zampetaki A, Paul Kirton JP, Qingbo Xu Q. Vascular repair by endothelial progenitor cells. *Cardiovasc Res* 2008;78, 413-421.



Gambar 4. Peran EPC pada biologi vaskuler. Suntikan EPC secara signifikan meningkatkan reendotelialisasi dan neovaskularisasi setelah injuri.
 Dikutip dari Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells : characterization and role in vascular biology. *Circ Res*. 2004;95:343-353.

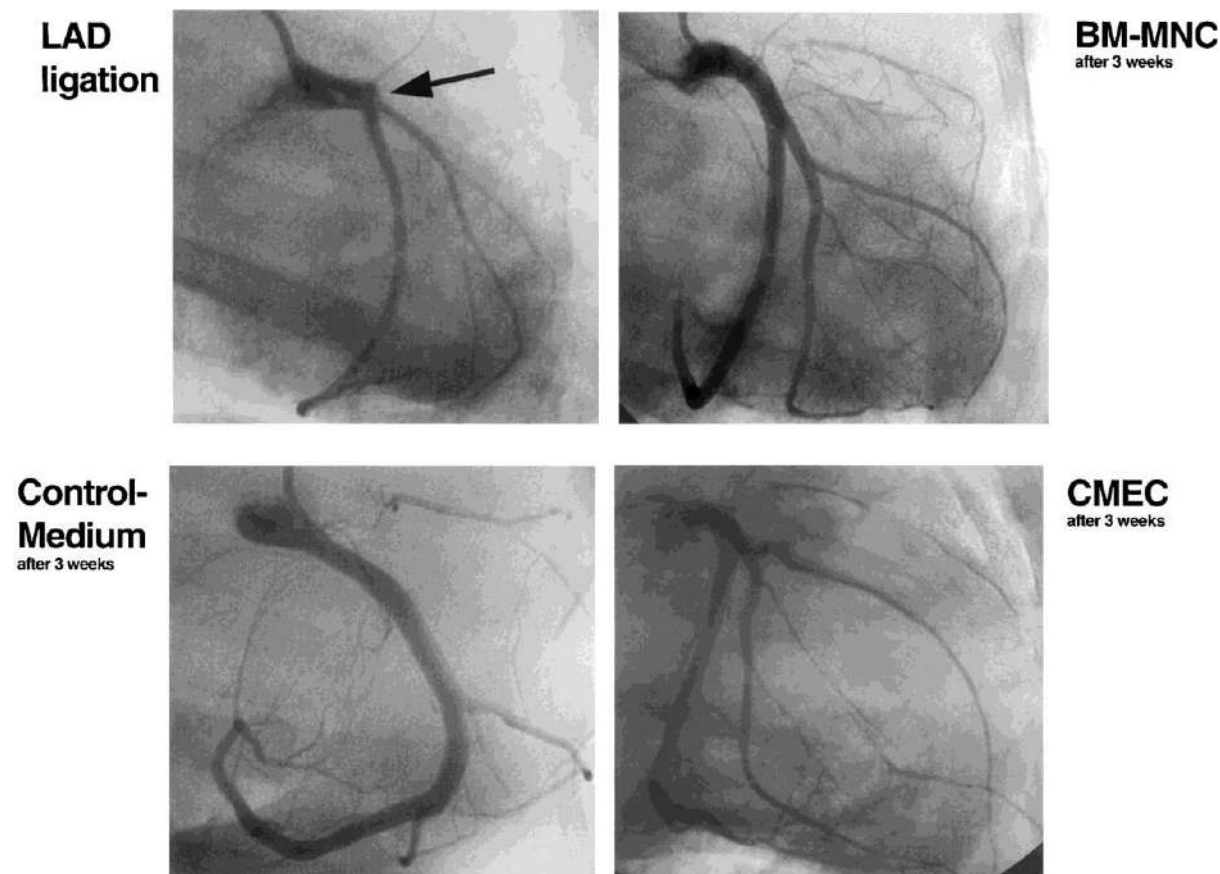
SEL PROGENITOR ENDOTEL DAN NEOVASKULARISASI

Berbagai studi telah membuktikan rekrutmen EPC ke tempat injuri dan memperbaiki neovaskularisasi dengan reparasi terhadap jaringan yang rusak.^{18,19,20,21} Pemberian bermacam jenis sel yang berbeda dalam bentuk infus yang diisolasi dari sumsum tulang atau dilakukan ekspansi secara *in vitro* dapat meningkatkan densitas kapiler dan neovaskularisasi pada jaringan iskemik (Gambar 4).⁸

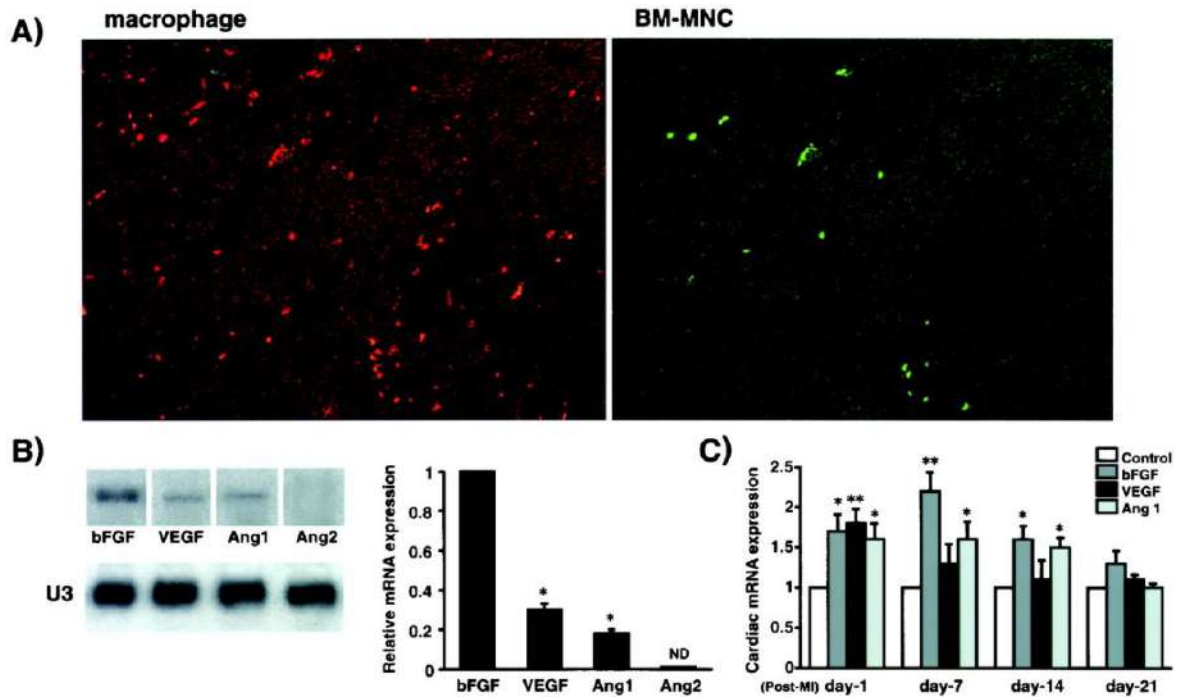
Suntikan EPC yang diekspansi secara *in vitro* atau sel punca atau sel progenitor pada mencit atau tikus secara signifikan meningkatkan aliran darah dan fungsi jantung dan mengurangi pembentukan jaringan fibrosa pada ventrikel.^{19,22} Hal yang sama juga terjadi pada studi klinis menggunakan sel progenitor sumsum tulang atau darah perifer bermanfaat dalam meningkatkan suplai darah pada jaringan iskemik^{23,24} melalui peningkatan neovaskularisasi dengan pembentukan pembuluh darah kolateral (Gambar 5).²⁵ Transplantasi EPC ekspansi *ex vivo* meningkatkan

aliran darah koroner cadangan dan fungsi ventrikel kiri secara signifikan pada pasien dengan infark miokard akut.²⁶

Meskipun sel mononuklear sumsum tulang atau darah perifer dilaporkan mengandung jumlah EPC relatif kecil (0,2-2%)^{4,8,23} dalam meningkatkan neovaskularisasi pada studi preklinis dan klinis^{26,27} sel ini dapat menghasilkan sitokin angiogenik yang berperan penting dalam mekanisme parakrin dan berkontribusi terhadap neovaskularisasi (Gambar 6).^{25,28} Dalam penelitian Kamihata et al., dilaporkan bahwa implantasi sel mononuklear sumsum tulang autologus meningkatkan aliran darah koroner dan fungsi jantung serta mengurangi besarnya infark. Sel mononuklear sumsum tulang memberikan suplai ligand angiogenik (VEGF, Ang-1) dan sitokin (IL-1 β dan TNF- α). Antiapoptotik VEGF dan Ang-1 meningkatkan survival sel endotel, sedangkan IL-1 β dan TNF- α memiliki aktivitas angiogenik. Sehingga faktor-faktor ini secara efektif dan aman menginduksi neovaskularisasi pada miokardium dengan iskemik.²⁵

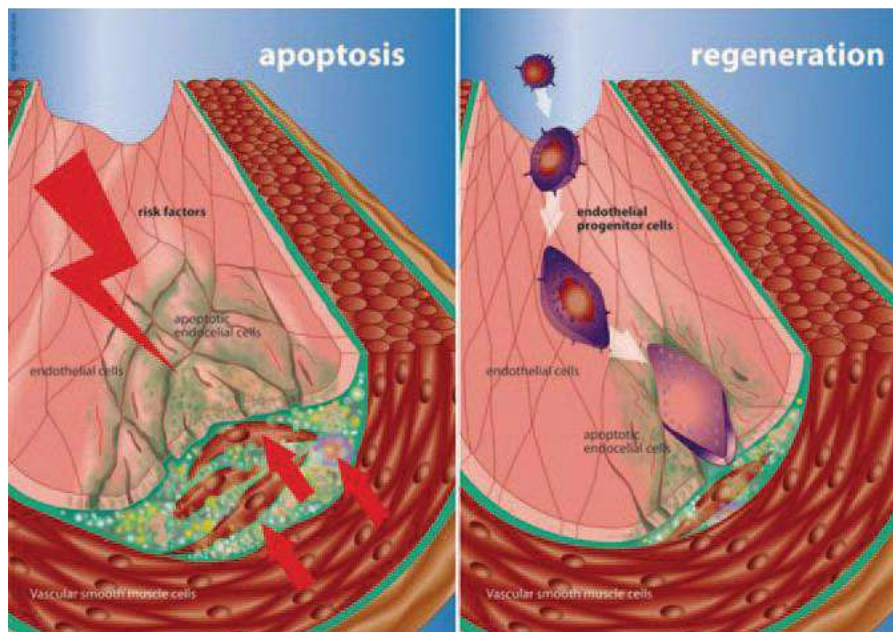


Gambar 5. Efek implantasi sel progenitor sumsum tulang terhadap pembentukan pembuluh darah kolateral. Tampak cabang sirkumfleksi kiri dan patensi LAD secara angiografi. Tanda panah menunjukkan LAD proksimal 60 menit setelah ligasi. Dikutip dari Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, et al. *Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. Circulation* 2001;104:1046-1052.



Gambar 6. Diferensiasi sel mononuklear sumsum tulang ke dalam makrofag dan ekspresi molekul angiogenik. A. Makrofag diwarnai dengan PM-2K. Kadar mRNA VEGF, Ang-1 dan Ang-2 di dalam sel mononuklear sumsum tulang. (B) bagian miokardium dengan infark (C) evaluasi RNA total (20 μ g) dengan Northern blotting menggunakan cRNA riboprobes. Kadar mRNA dinormalisasi dengan kadar U3 mRNA dan pengukuran kadar bFGF mRNA dibuat sebagai 1 U (B, n=4), dan kadar mRNA pada kontrol dianggap sebagai 1 U (C, n=4 pada hari 1, n=4 pada hari 7, n=5 pada hari 14, n=5 pada hari 21). ND menunjukkan non detectable; MI, myocardial infarction. Hasil dinyatakan dalam means \pm SEM. * P <0.05, ** P <0.01 vs control.

Dikutip dari Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, et al. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation* 2001;104:1046–1052.



Gambar 7. Keseimbangan antara apoptosis dan regenerasi sel endotel menentukan derajat dan progresivitas aterosklerosis. Indeks perbaikan vaskuler meliputi marker regenerasi dan apoptosis sel endotel dan bermanfaat untuk memprediksikan risiko aterosklerosis dan monitoring pengobatan, karena dapat menggambarkan situasi sebenarnya terjadi pada lapisan tunggal endotel.

Dikutip dari Werner N, Nickenig G. Influence of cardiovascular risk factors on endothelial progenitor cells: limitations for therapy? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:257-266.

Jadi EPC dapat bekerja menyerupai monosit/makrofag, yang meningkatkan arteriogenesis dengan sitokin dan faktor pertumbuhan.⁸ EPC yang diperoleh dari berbagai sumber menunjukkan ekspresi faktor pertumbuhan seperti VEGF, HGF, dan IGF. Sel mononuklear adhesi yang juga diperoleh melalui kondisi yang sama, tetapi tidak mengekspresikan marker protein endotel, juga melepaskan VEGF, HGF dan G-CSF.²⁹ Pelepasan faktor-faktor ini selanjutnya mempengaruhi terhadap proses angiogenesis, yaitu proliferasi dan migrasi juga survival sel endotel yang matur. Sedangkan EPC yang terinkorporasi di dalam struktur pembuluh darah baru menunjukkan ekspresi marker sel endotel secara *in vivo*. Namun, infus makrofag, dikenal melepaskan faktor pertumbuhan, tidak terinkorporasi di dalam struktur pembuluh baru, hanya menginduksi sedikit neovaskularisasi setelah iskemia.^{30,31} Hal ini menunjukkan bahwa kapasitas EPC memasuki struktur pembuluh darah berkontribusi terhadap neovaskularisasi.²³

SEL PROGENITOR ENDOTEL DAN REGENERASI ENDOTEL

Kerusakan endotel sebagai awal proses aterosclerosis,¹ dapat terjadi melalui berbagai mekanisme, termasuk apoptosis dimediasi antibodi atau sitotoksik sel T.³² Apoptosis sel endotel berhubungan dengan perubahan konformasi membran plasma, kondensasi nukleus fragmentasi DNA dan pelepasan partikel membran kecil, disebut mikropartikel endotel.^{1,33} Sebagai konsekuensi hilangnya fungsi barrier ini, terjadi influks protein pembekuan (termasuk fibrin, platelet, sel darah dan lipid. Edema, deposisi matriks interseluler, akumulasi lipid dan peningkatan pergantian sel terjadi pada ke-3 lapisan endotelium, terutama lapisan intima.³⁴ Proses ini berakhir dengan gangguan homeostasis intima dan memicu respon reparasi sel punca.³² Hristov et al. menunjukkan bahwa mikropartikel apoptotik secara *in vitro* berpengaruh terhadap migrasi EPC.³⁵ Karena itu, upaya untuk meningkatkan kapasitas regeneratif akan mencegah aterosclerosis. Upaya untuk mempertahankan keseimbangan antara apoptosis dan regenerasi sel endotel menentukan derajat dan progresivitas aterosclerosis (Gambar 7).¹

Pertanyaan yang paling penting adalah bagaimana sel endotel yang telah mati dapat digantikan dan sel apa yang bertanggung jawab terhadap regenerasi endotel?³² Konsep tradisional menyatakan bahwa kerusakan sel endotel digantikan oleh migrasi dan proliferasi sel endotel di sampingnya.^{8,36,37} Namun, studi akhir-akhir ini menunjukkan bahwa mekanisme reparasi terjadi melalui pergantian sel pada arteri yang rusak. Graft Dacron yang diimplantasikan pada aorta torakal descending dilapisi oleh sel punca hematopoetik CD34+ pada model

penelitian anjing.⁷ Pada manusia, permukaan ventricular assist devices (VAD) ditutupi oleh sel punca hematopoetik CD133+, yang juga mengekspresi reseptor VEGF-2 (KDR).³⁸ Walter et al., mendapatkan bahwa sel endotel darah perifer dapat menempati pada bagian arteri yang rusak akibat balonisasi.³⁹ Penelitian transplantasi sumsum tulang menunjukkan bahwa sel yang berasal dari sumsum tulang berkontribusi terhadap reendotelialisasi pada graft dan arteri yang rusak.^{14,40} Populasi sel yang berkontribusi terhadap reendotelialisasi adalah sel yang dimobilisasi dari sumsum tulang dan sel yang bukan berasal dari sumsum tulang, seperti sel punca residen dari jaringan atau sel yang berasal dari dinding pembuluh darah.⁸

Regenerasi yang cepat pada lapisan tunggal endotel dapat mencegah perkembangan restenosis melalui sintesis endotel mediator antiproliferatif seperti nitric oxide. Pemberian infus sel mononuklear CD3+/CD14+, suatu populasi sel “hemangioblast klasik” berkontribusi terhadap regenerasi endotel.⁴¹ Endotelium yang mengalami regenerasi dapat berfungsi secara aktif dengan melepaskan NO, sebagai salah satu mekanisme vaskuloprotektif.⁴¹ Akibatnya, terjadi reduksi pertumbuhan neointima setelah pemberian sel.⁴¹

Upaya untuk mempertahankan lapisan tunggal endotel yang utuh dapat mencegah komplikasi trombotik dan perkembangan lesi aterosklerotik.⁸ Pada pasien dengan penyakit jantung koroner, jumlah sel progenitor CD34/KDR berkurang sebanyak $\pm 50\%$.¹ Berbagai faktor risiko penyakit jantung koroner (PJK), seperti hipertensi, hiperkolesterolemia, diabetes, dan merokok, berpengaruh terhadap jumlah dan aktivitas fungsional EPC baik pada orang sehat⁴² maupun pada pasien dengan penyakit jantung koroner.⁴³

HIPERTENSI

Pada pasien dengan hipertensi, tekanan darah sistolik yang tinggi berkorelasi negatif terhadap jumlah EPC CD133+ dan CD34+/KDR+, namun potensi klonogenik (jumlah colony forming unit – sel endotel) tidak terganggu. Data eksperimental menunjukkan bahwa angiotensin II, mediator penting terhadap efek hipertensi dapat mempercepat penuaan EPC, melalui peningkatan stres oksidatif yang dimediasi gp91 phox. Sehingga terjadi gangguan aktivitas proliferasi EPC. Studi Endothelial Progenitor Cells in Coronary Artery Disease (EPCAD) mendapatkan bahwa pemberian angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor dapat meningkatkan jumlah dan potensi klonogenik EPC dalam sirkulasi.⁴⁴ Demikian juga pemberian angiotensin receptor blocker menghambat penuaan EPC yang dimediasi angiotensin II.⁴⁵

HIPERLIPIDEMIA

Salah satu faktor risiko kardiovaskuler adalah peningkatan kolesterol density lipoprotein (LDL). Hiperkolesterolemia berkorelasi dengan reduksi jumlah EPC.⁴⁶ Kemampuan proliferasi, aktivitas migrasi dan vaskulogenesis *in vitro* menurun. Hal ini mungkin disebabkan peningkatan penuaan/apoptosis EPC.⁴⁷ Pemberian 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors (statin) dapat mencegah efek tersebut terhadap EPC. Mekanisme yang mendasari peningkatan jumlah EPC setelah pengobatan dengan statin adalah melalui phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent pathway.⁴⁸ Peningkatan kolesterol HDL bersifat vaskuloprotektif dan berkorelasi terhadap peningkatan jumlah EPC.

DIABETES MELITUS

Tepper et al., menemukan bahwa kapasitas proliferasi EPC menurun, dan kemampuan adhesi pada sel endotel terganggu.⁴³ Kadar hemoglobin A1C (HbA1C) berkorelasi negatif terhadap proliferasi EPC dan jumlah EPC pada diabetes tipe 1 dan tipe 2 secara *in vitro*. Hiperglikemia memediasi gangguan terhadap EPC melalui penurunan produksi NO dan aktivitas matrix metalloproteinase 9.⁴⁹ Mobilisasi sel sumsum tulang ke dalam darah perifer menurun secara signifikan pada model diabetes sehingga mengakibatkan gangguan revascularisasi pada iskemia anggota gerak belakang.⁵⁰ Mobilisasi EPC dapat ditingkatkan dengan ARB, seperti hasil studi pasien diabetes tipe II yang menggunakan omeprazole.⁵¹

MEROKOK

Vasa et al., mendapatkan bahwa jumlah EPC menurun pada perokok.⁴² Kondo et al.,⁵² menemukan bahwa pada perokok kronik terdapat penurunan kadar EPC dan dapat pulih kembali dengan menghentikan merokok selama 4 minggu.⁵³ Tidak ada perbedaan antara pasien yang mendapat nicotine patch untuk menghentikan merokok dibandingkan dengan pasien tanpa penggunaan patch.⁵⁴

AKTIVITAS FISIK

Aktivitas fisik secara teratur merupakan prediktor penting dalam menurunkan angka mortalitas dan morbiditas kardiovaskuler. Sebaliknya, berkurangnya aktivitas fisik berhubungan dengan peningkatan penyakit kardiovaskuler, seperti PJK dan meningkatnya stres oksidatif, disfungsi endotel dan aterosklerosis pada model eksperimental.⁵⁴ Menciptakan aktivitas fisik teratur memperlihatkan jumlah EPC dalam darah lebih tinggi daripada

menciptakan menjalani sedentary life (tidak ada aktivitas fisik).¹ Peningkatan EPC berhubungan dengan peninggian reendotelialisasi setelah kerusakan sel endotel fokal, yang menyebabkan reduksi pembentukan neointima. Studi pada manusia menunjukkan bahwa terjadi peningkatan EPC secara signifikan pada pasien yang melakukan aktivitas fisik pada program rehabilitasi pasien dengan PJK⁵⁵ dan pada orang sehat yang melakukan aktivitas fisik selama > 30 menit.⁵⁶

FAKTOR RISIKO LAIN

Riwayat keluarga dengan PJK prematur, termasuk homosistein⁵⁷ dan C-reactive protein (CRP), adalah faktor risiko yang mengurangi jumlah dan fungsi EPC.⁵⁸ CRP adalah marker inflamasi berhubungan dengan disfungsi endotel dan aterosklerosis. Jika EPC dikulturkan ke dalam CRP > 15 g/ml, jumlah EPC menurun secara signifikan dibandingkan dengan kontrol dan marker permukaan endotel seperti lectin dan vascular endothelial (VE)-cadherin hilang. Potensi angiogenesis secara signifikan terganggu setelah inkubasi dengan CRP *in vitro*, namun efek ini dapat diantagonis dengan pemberian peroxisome proliferator-activated receptor - agonis rosiglitazone secara bersamaan. Akhir-akhir ini diketahui bahwa supresor cytokine signaling (SOCS) 2 dan 3, adalah inhibitor terhadap jalur Janus kinase (JAK) signal transducer and activator of transcription (STAT) yang mengatur pertumbuhan seluler, diferensiasi dan hematopoiesis, yang sangat ditingkatkan regulasinya oleh EPC. Peningkatan protein SOCS yang dimediasi CRP dapat menghambat jalur JAK/STAT. Sehingga mengganggu fungsi pelepasan sitokin oleh EPC, yang penting untuk arteriogenesis dan re-endotelialisasi EPC.⁵⁹

EPC DAN PENYAKIT KARDIOVASKULER

Selain faktor-faktor risiko kardiovaskuler, beberapa penyakit kardiovaskuler berhubungan dengan gangguan jumlah dan fungsi EPC, seperti infark miokard, stroke iskemik, disfungsi ereksi, insufisiensi renal, dan penyakit arteri perifer (Gambar 8).¹ Akumulasi faktor risiko kardiovaskuler menimbulkan gangguan sel progenitor dan menyebabkan penurunan potensi regenerasi.⁴² Hill et al mendapatkan bahwa terdapat korelasi yang kuat antara jumlah EPC dengan skor faktor risiko Framingham.⁶⁰ Level EPC dalam darah merupakan prediktor disfungsi endotel yang lebih baik daripada faktor risiko konvensional.⁶⁰

Meskipun acute coronary syndrome dan infark miokard menimbulkan peningkatan jumlah EPC yang menunjukkan perbaikan jaringan dan pembuluh darah dimediasi EPC secara fisiologik sebagai respon terhadap iskemia yang berat ini, EPC yang

dimobilisasi secara fungsional sebenarnya terganggu.¹ Hal yang sama juga didapat pada gagal jantung kongestif. Heeschen et al mendapatkan bahwa pada pasien dengan penyakit jantung iskemik, potensi proangiogenik sel mononuklear sumsum tulang yang ditransplantasikan pada model mencit dengan iskemia anggota gerak belakang menurun.⁶¹ Hal ini disebabkan berkurangnya kapasitas migrasi dan potensi klonogenik sel mononuklear sumsum tulang.¹

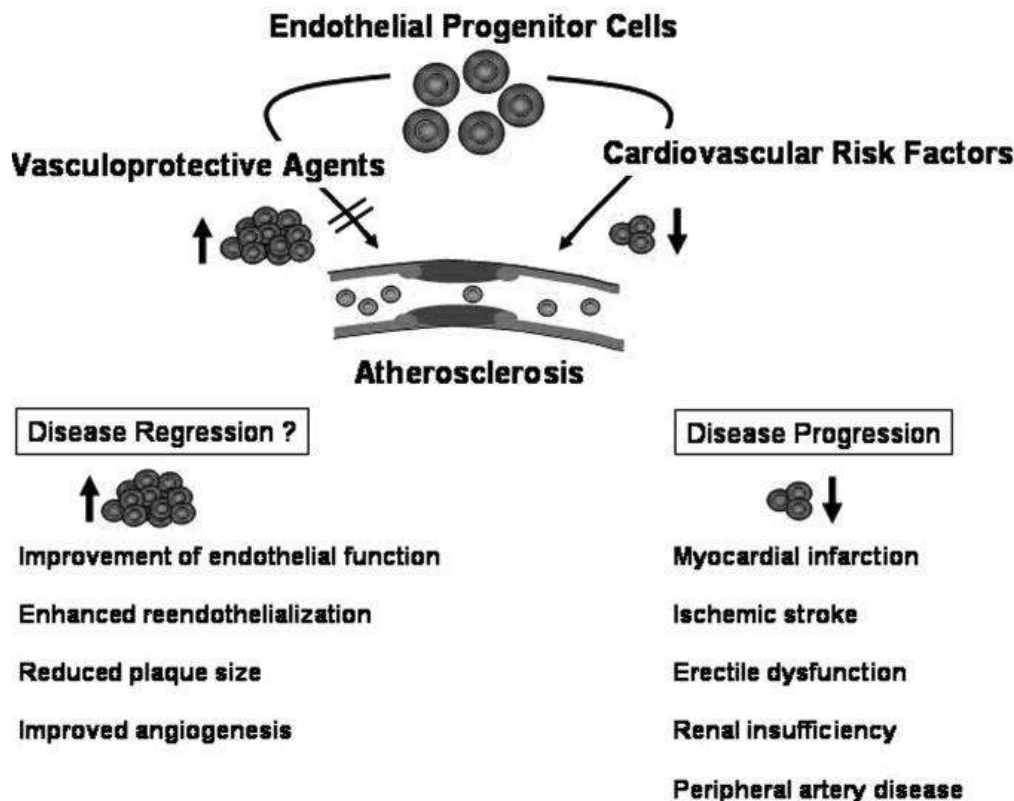
Jumlah EPC pada pasien dengan stroke menurun secara signifikan dibandingkan dengan kontrol.⁶² Level EPC berkorelasi dengan skor risiko koroner Framingham, menunjukkan bahwa jumlah EPC yang rendah memegang peranan penting terhadap patofisiologi penyakit serebrovaskuler.⁶² Analisis pada pasien dengan oklusi arteri serebral menunjukkan hubungan yang positif antara EPC dalam darah dengan aliran darah regional pada area dengan hipofungsi kronik, yang juga berarti bahwa semakin tinggi EPC semakin baik aliran darah regional.⁶³

Insufisiensi renal adalah salah satu faktor risiko berhubungan dengan peningkatan penyakit aterosklerotik. Hal ini berhubungan dengan penurunan EPC darah dan koloninya secara nyata.^{64,65} Pada disfungsi ereksi, didapat penurunan jumlah sel progenitor CD133+ dibandingkan dengan kontrol.¹ Hal ini menunjukkan bahwa gangguan regenerasi oleh

EPC pada disfungsi endotel memegang peranan penting terhadap penyakit aterosklerotik.

REKRUTMEN EPC UNTUK REPARASI KARDIOVASKULER

Rekrutmen EPC ke tempat iskemik untuk proses neovaskularisasi dan reendotelialisasi memerlukan tahapan terpadu dari kejadian adhesi dan signaling meliputi kemoatraksi, adhesi, transmigrasi dan diferensiasi menjadi sel endotel (Gambar 9).⁸ Tahap awal adalah homing sel progenitor ke jaringan iskemik yang diaktivasi sitokin dan iskemia serta transmigrasi sel progenitor melalui lapisan tunggal endotel. Adhesi berbagai sel termasuk sel punca hematopoetik dan leukosit ke protein matriks ekstraseluler dan ke dalam sel endotel dimediasi oleh integrin.^{66,67} Interaksi antar sel dimediasi oleh integrin $\beta 2$ dan $\alpha 4\beta 1$. Integrin ini terlibat dalam homing sel progenitor ke jaringan iskemik.⁸ Adhesi EPC ke dalam pembuluh darah dimediasi oleh reseptor vitronektin (integrin $\alpha_v\beta 3$ dan $\alpha_v\beta 5$). Inhibisi terhadap integrin ini menyebabkan hambatan reendotelialisasi secara *in vivo*, yang berarti bahwa integrin ini berperan pada reendotelialisasi pada injuri arteri seperti arteri karotis.³⁹ Integrin $\beta 1$ juga memediasi adhesi sel progenitor ke protein matriks ekstraseluler selama terjadi reendotelialisasi pada arteri.⁶⁸

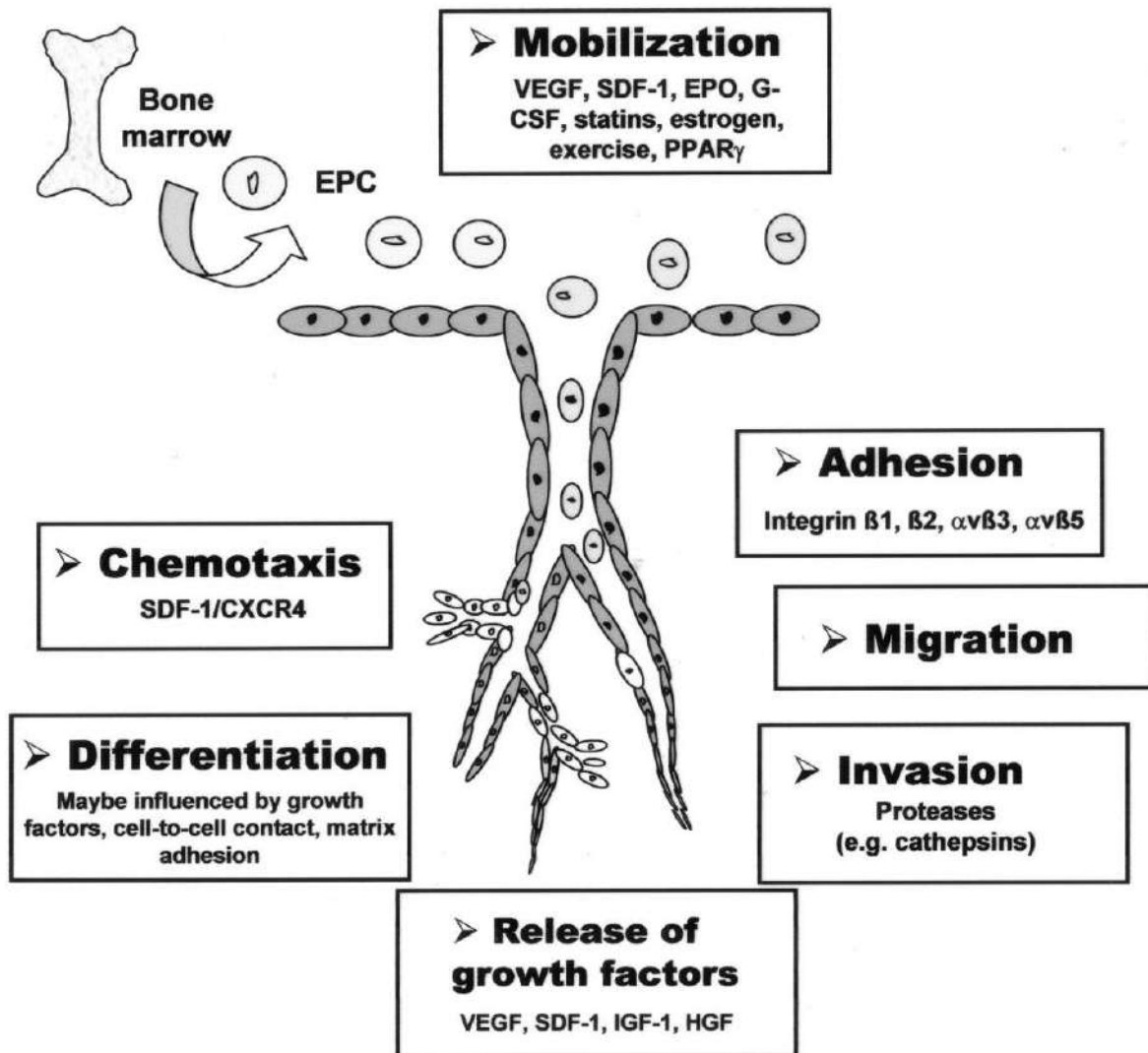


Gambar 8. Obat vaskuloprotektif meningkatkan jumlah dan fungsi endotel dan mencegah progresivitas aterosklerosis. Faktor risiko kardiovaskuler menurunkan jumlah dan fungsi EPC yang berhubungan dengan penyakit aterosklerotik. Dikutip dari Werner N, Nickenig G. Influence of cardiovascular risk factors on endothelial progenitor cells: limitations for therapy? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26;257-266.

Kemoatraksi sel progenitor ke jaringan iskemik atau injuri mungkin merupakan rekrutmen yang paling penting, karena jumlah sel progenitor relatif sedikit. Faktor-faktor yang berperan meliputi kemokin seperti SDF-1 (stromal cell-derived factor-1).^{69,70} mediator lipid (sphingosine-1-phosphate),⁷¹ dan sel heterologous.⁷² SDF-1 telah terbukti merangsang rekrutmen sel progenitor ke jaringan iskemik⁷³ karena kadarnya meningkat selama awal kejadian infark miokard. Ekspresi ini mempercepat homing sel punca dan inkorporasi ke dalam jaringan iskemik.⁷³ Sel hematopoetik hanya sensitif dan reaktif terhadap SDF-1. Abbott et al., mendapatkan bahwa SDF-1 meningkat secara signifikan setelah infark miokard dan ekspresi SDF-1 didapati sangat tinggi pada zona peri-infark, tempat terjadi rekrutmen sel sumsum tulang. SDF-1 berinteraksi dengan reseptor endogen CXCR4 untuk merekrut sel punca sumsum tulang ke jaringan iskemik tersebut.⁷⁴ Aksis signaling SDF-1/CXCR4 juga penting untuk mobilisasi sel endotel ke

tempat neoangiogenesis.⁷⁵ Level VEGF merupakan faktor kemoatraktif terhadap EPC pada waktu terjadi iskemia. Kapasitas migrasi EPC dan sel sumsum tulang terhadap masing-masing VEGF dan SDF-1 menentukan perbaikan fungsional pasien terhadap terapi sel punca.⁷⁶ Invasi EPC ke dalam jaringan mungkin dimediasi oleh proteases seperti cathepsin atau metalloproteinase.⁸

Diferensiasi EPC menjadi sel endotel di dalam pembuluh darah merupakan tahap akhir proses neovaskularisasi. Kaskade genetik yang mengatur diferensiasi ini tidak sepenuhnya diketahui. Yang jelas, VEGF dan reseptornya memegang peranan penting dalam merangsang diferensiasi endotel pada waktu perkembangan embrio. Pada kultur ex vivo, VEGF menginduksi diferensiasi menggunakan sejumlah populasi progenitor dewasa (CD34+, CD133+, sel mononuklear darah perifer).



Gambar 9. Mekanisme homing dan diferensiasi EPC. Rekrutmen dan inkorporasi EPC ke dalam jaringan iskemik memerlukan berbagai tahapan secara terkoordinasi meliputi mobilisasi, migrasi, invasi jaringan, dan diferensiasi. Dapat dilihat berbagai faktor yang berpengaruh terhadap tahapan yang berbeda.

Dikutip dari Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells : characterization and role in vascular biology. *Circ Res.* 2004;95:343-353.

EPC DAN REGENERASI KARDIOMIOSIT

Kontribusi EPC tidak hanya terbatas pada proses vaskularisasi,⁷⁷ tetapi pada pemeriksaan imunohistokimia dan analisis molekuler, Iwasaki et al mendapatkan bahwa sel CD34+ ditemukan pada kardiomyosit dan sel otot polos miokardium tikus.⁷⁸ Terapi dengan EPC mempertahankan integritas struktur dan fungsi jantung termasuk komponen vaskulogenik dan kardiomyogenik. Peningkatan densitas kapiler melalui efek vaskulogenesis dan kardiomyogenesis melalui diferensiasi dan fusi EPC ke dalam kardiomyosit dan inhibisi fibrosis bersifat dose-dependent, yang berarti bahwa semakin tinggi dosis EPC, semakin besar pula potensinya pada area miokardium yang rusak, melalui reduksi area fibrosis atau mengurangi remodeling ventrikel kiri.⁷⁸ Penelitian Hsieh et al. mendapatkan bahwa pergantian atau regenerasi kardiomyosit endogen memang terjadi setelah adanya injuri.⁷⁹

Penggunaan terapi dengan EPC untuk infark miokard akut atau subakut oleh Assmus et al mendapatkan terjadi peningkatan fungsi ventrikel kiri dan gerakan dinding regional.²⁶ Data uji TOPCARE-AMI selama 5 tahun yang di follow-up dengan MRI mendapatkan bahwa fraksi ejection dapat dipertahankan dan malah meningkat pada pasien yang mendapat terapi EPC dengan reduksi NT-Pro BNP dalam serum. Hal ini menunjukkan manfaat terapi sel terhadap remodeling ventrikel.⁸⁰ Supresi inflamasi selama remodeling mungkin berkontribusi terhadap peningkatan fungsi jantung dan pengurangan efek buruk remodeling ventrikel kiri.⁸¹

DAFTAR PUSTAKA

- Werner N, Nickenig G. Influence of cardiovascular risk factors on endothelial progenitor cells: limitations for therapy? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:257-266.
- Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, Lisheng L. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004;364:937-952.
- Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, Finkel T. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2003;348:593-600.
- Kawamoto A, Losordo DW. Endothelial progenitor cells for cardiovascular regeneration. *Trends Cardiovasc Med*. 2008;18: 33-37.
- Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, Witzensbichler B, Schatteman G, Isner JM. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*. 1997;275:964-967.
- Dimmeler S. Regulation of bone marrow-derived vascular progenitor cell mobilization and maintenance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30:1088-1093.
- Shi Q, Rafii S, Wu MH, Wijelath ES, Yu C, Ishida A, Fujita Y, Kothari S, Mohle R, Sauvage LR, Moore MA, Storb RF, Hammond WP. Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood*. 1998;92:362-367.
- Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology. *Circ Res*. 2004;95:343-353.
- Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, Entman ML, Michael LH, Hirschi KK, Goodell MA. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest*. 2001;107:1395-1402.
- Reyes M, Dudek A, Jahagirdar B, Koodie L, Marker PH, Verfaillie CM. Origin of endothelial progenitors in human postnatal bone marrow. *J Clin Invest*. 2002;109:337-346.
- Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, Baker M, Limana F, Chimenti S, Kasahara H, Rota M, Musso E, Urbanek K, Leri A, Kajstura J, Nadal-Ginard B, Anversa P. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*. 2003;114:763-776.
- Zampetaki A, Paul Kirton JP, Qingbo Xu Q. Vascular repair by endothelial progenitor cells. *Cardiovasc Res* 2008;78, 413-421.
- Wassmann S, Werner N, Czech T, Nickenig G. Improvement of endothelial function by systemic transfusion of vascular progenitor cells. *Circ Res* 2006;99:e74-e83.
- Werner N, Junk S, Laufs U, Link A, Walenta K, Bohm M et al. Intravenous transfusion of endothelial progenitor cells reduces neointima formation after vascular injury. *Circ Res* 2003;93:e17-e24.
- Aicher A, Rentsch M, Sasaki K, Ellwart JW, Fandrich F, Siebert R et al. Nonbone marrow-derived circulating progenitor cells contribute to postnatal neovascularization following tissue ischemia. *Circ Res* 2007;100: 581-589.
- Sengenès C, Miranville A, Maumus M, de Barros S, Busse R, Bouloumie A. Chemotaxis and differentiation of human adipose tissue CD34^b/CD31- progenitor cells: role of stromal derived factor-1 released by adipose tissue capillary endothelial cells. *Stem Cells* 2007;25:2269-2276.
- Ingram DA, Mead LE, Moore DB, Woodard W, Fenoglio A, Yoder MC. Vessel wall-derived endothelial cells rapidly proliferate because they contain a complete hierarchy of endothelial progenitor cells. *Blood* 2005;105:2783-2786.

18. Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, Magner M, Isner JM, Asahara T. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone-marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med.* 1999;5:434-438.
19. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, Burkhoff D, Wang J, Homma S, Edwards NM, Itescu S. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med.* 2001;7:430-436.
20. Masuda H, Asahara T. Post-natal endothelial progenitor cells for neovascularization and tissue regeneration. *Cardiovasc Res.* 2003;58: 390-398.
21. Yamashita J, Itoh H, Hirashima M, Ogawa M, Nishikawa S, Yurugi T, Naito M, Nakao K, Nishikawa S. Flk1-positive cells derived from embryonic stem cells serve as vascular progenitors. *Nature.* 2000;408: 92-96.
22. Murohara T, Ikeda H, Duan J, Shintani S, Sasaki K, Eguchi H, Onitsuka I, Matsui K, Imaizumi T. Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization. *J Clin Invest.* 2000;105:1527-1536.
23. Urbich C, Heeschen C, Aicher A, Dernbach E, Zeiher AM, Dimmeler S. Relevance of monocytic features for neovascularization capacity of circulating endothelial progenitor cells. *Circulation.* 2003;108: 2511-2516.
24. Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, Ikeda U, Shintani S, Masaki H, Amano K, Kishimoto Y, Yoshimoto K, Akashi H, Shimada K, Iwasaka T, Imaizumi T. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet.* 2002;360: 427-435.
25. Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, et al. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation* 2001;104:1046-1052.
26. Assmus B, Schachinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Dobert N, Grunwald F, Aicher A, Urbich C, Martin H, Hoelzer D, Dimmeler S, Zeiher AM. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation.* 2002;106:3009-3017.
27. Tateno K, Minamino T, Toko H, et al. Critical roles of muscle-secreted angiogenic factors in therapeutic neovascularization. *Circ Res* 2006;98:1194-1202.
28. Dzau VJ, Gneocchi M, Pachori AS, Morello F, Melo LG. Therapeutic Potential of Endothelial Progenitor Cells in Cardiovascular Diseases. *Hypertension* 2005;46:7-18.
29. Rehman J, Li J, Orschell CM, March KL. Peripheral blood "endothelial progenitor cells" are derived from monocyte/macrophages and secrete angiogenic growth factors. *Circulation.* 2003;107:1164-1169.
30. Polverini PJ, Cotran PS, Gimbrone MA Jr, Unanue ER. Activated macrophages induce vascular proliferation. *Nature.* 1977;269:804-806.
31. Berse B, Brown LF, Van de Water L, Dvorak HF, Senger DR. Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) gene is expressed differentially in normal tissues, macrophages, and tumors. *Mol Biol Cell.* 1992;3:211-220.
32. Xu Q. Stem cells and transplant arteriosclerosis. *Circ. Res.* 2008;102:1011-1024.
33. Horstman LL, Jy W, Jimenez JJ, Ahn YS. Endothelial microparticles as markers of endothelial dysfunction. *Front Biosci.* 2004;9:1118-1135.
34. Miller LW, Granville DJ, Narula J, McManus BM. Apoptosis in cardiac transplant rejection. *Cardiol Clin.* 2001;19:141-154.
35. Hristov M, Erl W, Linder S, Weber PC. Apoptotic bodies from endothelial cells enhance the number and initiate the differentiation of human endothelial progenitor cells in vitro. *Blood.* 2004;104:2761-2766.
36. Yousem SA, Sonmez-Alpan E. Use of a biotinylated DNA probe specific for the human Y chromosome in the evaluation of the allograft lung. *Chest.* 1991;99:275-279.
37. Hruban RH, Long PP, Perlman EJ, Hutchins GM, Baumgartner WA, Baughman KL, Griffin CA. Fluorescence in situ hybridization for the Y-chromosome can be used to detect cells of recipient origin in allografted hearts following cardiac transplantation. *Am J Pathol.* 1993; 142:975-980.
38. Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, Zhu Z, Lane WJ, Williams M, Oz MC, Hicklin DJ, Witte L, Moore MA, Rafii S. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood.* 2000;95:952-958.
39. Walter DH, Rittig K, Bahlmann FH, Kirchmair R, Silver M, Murayama T, Nishimura H, Losordo DW, Asahara T, Isner JM. Statin therapy accelerates reendothelialization: a novel effect involving mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Circulation.* 2002;105:3017-3024.
40. Kaushal S, Amiel GE, Guleserian KJ, Shapira OM, Perry T, Sutherland FW, Rabkin E, Moran AM, Schoen FJ, Atala A, Soker S, Bischoff J, Mayer JE, Jr. Functional small-diameter neovessels created using endothelial progenitor

- cells expanded ex vivo. *Nat Med.* 2001;7:1035-1040.
41. Fujiyama S, Amano K, Uehira K, Yoshida M, Nishiwaki Y, Nozawa Y, Jin D, Takai S, Miyazaki M, Egashira K, Imada T, Iwasaka T, Matsubara H. Bone marrow monocyte lineage cells adhere on injured endothelium in a monocyte chemoattractant protein-1-dependent manner and accelerate reendothelialization as endothelial progenitor cells. *Circ Res.* 2003;93:980-989.
 42. Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, Adler K, Urbich C, Martin H, Zeiher AM, Dimmeler S. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res.* 2001;89:e1-e7.
 43. Tepper OM, Galiano RD, Capla JM, Kalka C, Gagne PJ, Jacobowitz GR, Levine JP, Gurtner GC. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation.* 2002;106:2781-2786.
 44. Werner N, Kosiol S, Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, Link A, Bohm M, Nickenig G. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med.* 2005;353:999-1007.
 45. Imanishi T, Hano T, Nishio I. Angiotensin II potentiates vascular endothelial growth factor-induced proliferation and network formation of endothelial progenitor cells. *Hypertens Res.* 2004;27:101-108.
 46. Chen JZ, Zhang FR, Tao QM, Wang XX, Zhu JH. Number and activity of endothelial progenitor cells from peripheral blood in patients with hypercholesterolaemia. *Clin Sci (Lond).* 2004;107:273-280.
 47. Imanishi T, Hano T, Sawamura T, Nishio I. Oxidized low-density lipoprotein induces endothelial progenitor cell senescence, leading to cellular dysfunction. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2004;31:407-413.
 48. Dimmeler S, Aicher A, Vasa M, Mildner-Rihm C, Adler K, Tiemann M, Rutten H, Fichtlscherer S, Martin H, Zeiher AM. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via the PI 3-kinase/ Akt pathway. *J Clin Invest.* 2001;108:391-397.
 49. Krankel N, Adams V, Linke A, Gielen S, Erbs S, Lenk K, Schuler G, Hambrecht R. Hyperglycemia reduces survival and impairs function of circulating blood-derived progenitor cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:698-703.
 50. Tamarat R, Silvestre JS, Ricousse-Roussanne S, Barateau V, Lecomte- Racllet L, Clergue M, Duriez M, Tobelem G, Levy BI. Impairment in ischemia-induced neovascularization in diabetes: bone marrow mononuclear cell dysfunction and therapeutic potential of placenta growth factor treatment. *Am J Pathol.* 2004;164:457-466.
 51. Bahlmann FH, De Groot K, Mueller O, Hertel B, Haller H, Fliser D. Stimulation of endothelial progenitor cells: a new putative therapeutic effect of angiotensin II receptor antagonists. *Hypertension.* 2005;45:526-529.
 52. Kondo T, Hayashi M, Takeshita K, Numaguchi Y, Kobayashi K, Iino S, Inden Y, Murohara T. Smoking cessation rapidly increases circulating progenitor cells in peripheral blood in chronic smokers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:1442-1447.
 53. Wang X, Zhu J, Chen J, Shang Y. Effects of nicotine on the number and activity of circulating endothelial progenitor cells. *J Clin Pharmacol.* 2004;44:881-889.
 54. Laufs U, Wassmann S, Czech T, Munzel T, Eisenhauer M, Bohm M, Nickenig G. Physical inactivity increases oxidative stress, endothelial dysfunction, and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25:809-814.
 55. Laufs U, Werner N, Link A, Endres M, Wassmann S, Jurgens K, Miche E, Bohm M, Nickenig G. Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation, and enhances angiogenesis. *Circulation.* 2004;109:220-226.
 56. Sandri M, Adams V, Gielen S, Linke A, Lenk K, Krankel N, Lenz D, Erbs S, Scheinert D, Mohr FW, Schuler G, Hambrecht R. Effects of exercise and ischemia on mobilization and functional activation of blood-derived progenitor cells in patients with ischemic syndromes: results of 3 randomized studies. *Circulation.* 2005;111:3391-3399.
 57. Chen JZ, Zhu JH, Wang XX, Zhu JH, Xie XD, Sun J, Shang YP, Guo XG, Dai HM, Hu SJ. Effects of homocysteine on number and activity of endothelial progenitor cells from peripheral blood. *J Mol Cell Cardiol.* 2004;36:233-239.
 58. Suh W, Kim KL, Choi JH, Lee YS, Lee JY, Kim JM, Jang HS, Shin IS, Lee JS, Byun J, Jeon ES, Kim DK. C-reactive protein impairs angiogenic functions and decreases the secretion of arteriogenic chemo-cytokines in human endothelial progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;321:65-71.
 59. Verma S, Kuliszewski MA, Li SH, Szmitko PE, Zucco L, Wang CH, Badiwala MV, Mickle DA, Weisel RD, Fedak PW, Stewart DJ, Kutryk MJ. C-reactive protein attenuates endothelial progenitor cell survival, differentiation, and function: further evidence of a mechanistic link between C-reactive protein and cardiovascular disease. *Circulation.* 2004;109:2058-2067.
 60. Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, Finkel T. Circulating endothelial progenitor cells, vascular

- function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2003;348:593–600.
61. Heeschen C, Lehmann R, Honold J, Assmus B, Aicher A, Walter DH, Martin H, Zeiher AM, Dimmeler S. Profoundly reduced neovascularization capacity of bone marrow mononuclear cells derived from patients with chronic ischemic heart disease. *Circulation*. 2004;109:1615–1622.
 62. Ghani U, Shuaib A, Salam A, Nasir A, Shuaib U, Jeerakathil T, Sher F, O'Rourke F, Nasser AM, Schwandt B, Todd K. Endothelial progenitor cells during cerebrovascular disease. *Stroke*. 2005;36:151-153.
 63. Taguchi A, Matsuyama T, Moriwaki H, Hayashi T, Hayashida K, Nagatsuka K, Todo K, Mori K, Stern DM, Soma T, Naritomi H. Circulating CD34-positive cells provide an index of cerebrovascular function. *Circulation*. 2004;109:2972-2975.
 64. Choi JH, Kim KL, Huh W, Kim B, Byun J, Suh W, Sung J, Jeon ES, Oh HY, Kim DK. Decreased number and impaired angiogenic function of endothelial progenitor cells in patients with chronic renal failure. *ArteriosclerThromb Vasc Biol*. 2004;24:1246–1252.
 65. De Groot K, Bahlmann FH, Sowa J, Koenig J, Menne J, Haller H, Fliser D. Uremia causes endothelial progenitor cell deficiency. *Kidney Int*. 2004;66:641–646.
 66. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell*. 1994;76:301–314.
 67. Carlos TM, Harlan JM. Leukocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood*. 1994;84:2068–2101.
 68. Fujiyama S, Amano K, Uehira K, Yoshida M, Nishiwaki Y, Nozawa Y, Jin D, Takai S, Miyazaki M, Egashira K, Imada T, Iwasaka T, Matsubara H. Bone marrow monocyte lineage cells adhere on injured endothelium in a monocyte chemoattractant protein-1-dependent manner and accelerate reendothelialization as endothelial progenitor cells. *Circ Res*. 2003;93:980–989.
 69. Lapidot T. Mechanism of human stem cell migration and repopulation of NOD/SCID and B2mnull NOD/SCID mice. The role of SDF-1/CXCR4 interactions. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;938:83–95.
 70. Wright DE, Bowman EP, Wagers AJ, Butcher EC, Weissman IL. Hematopoietic stem cells are uniquely selective in their migratory response to chemokines. *J Exp Med*. 2002;195:1145–1154.
 71. Kimura T, Boehmler AM, Seitz G, Kuci S, Wiesner T, Brinkmann V, Kanz L, Mohle R. The sphingosine 1-phosphate (S1P) receptor agonist FTY720 supports CXCR4-dependent migration and bone marrow homing of human CD34₊ progenitor cells. *Blood*. 2004;26:26.
 72. Adams GB, Chabner KT, Foxall RB, Weibrecht KW, Rodrigues NP, Dombkowski D, Fallon R, Poznansky MC, Scadden DT. Heterologous cells cooperate to augment stem cell migration, homing, and engraftment. *Blood*. 2003;101:45–51.
 73. Askari AT, Unzek S, Popovic ZB, Goldman CK, Forudi F, Kiedrowski M, Rovner A, Ellis SG, Thomas JD, DiCorleto PE, Topol EJ, Penn MS. Effect of stromal-cell-derived factor 1 on stem-cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy. *Lancet*. 2003;362:697–703.
 74. Abbott JD, Huang Y, Liu D, Hickey R, Krause DS, Giordano FJ. Stromal cell-derived factor-1 α plays a critical role in stem cell recruitment to the heart after myocardial infarction but is not sufficient to induce homing in the absence of injury. *Circulation*. 2004;110:3300-3305.
 75. James D, Seandek M, Rafii S. Endothelial ontogeny during embryogenesis : Role of cytokine signaling pathways. In : Rajasekhar VK, Vemuri MC eds. *Regulatory networks in stem cells*. Humana Press, New York, p. 319-327.
 76. Britten MB, Abolmaali ND, Assmus B, Lehmann R, Honold J, Schmitt J, Vogl TJ, Martin H, Schachinger V, Dimmeler S, Zeiher AM. Infarct remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): mechanistic insights from serial contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Circulation*. 2003;108:2212-2218.
 77. Kawamoto A, Losordo DW. Endothelial progenitor cells for cardiovascular regeneration. *Trends Cardiovasc Med*. 2008;18: 33-37.
 78. Iwasaki H, Kawamoto A, Ishikawa M, et al. Dose-dependent contribution of CD34-positive cell transplantation to concurrent vasculogenesis and cardiomyogenesis for functional regenerative recovery after myocardial infarction. *Circulation* 2006;113:1311–1325.
 79. Hsieh PC, Segers VF, Davis ME, Macgillivray C, Gannon J, Molkentin JD, Robbins J, Lee RT. Evidence from a genetic fate-mapping study that stem cells refresh adult mammalian cardiomyocytes after injury. *NatMed*. 2007;13:970–974.
 80. Assmus B, Honold J, Schachinger V, Britten MB, Fischer-Rasokat U, Lehmann R, Teupe C, Pistorius K, Martin H, Abolmaali ND, Tonn T, Dimmeler S, Zeiher AM. Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2006;355:1222-1232.
 81. Dimmeler S, Burchfield J, Zeiher AM. Cell-based therapy of myocardial infarction. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2008; 28:208-216.

SEL PUNCA SUMSUM TULANG DAN REGENERASI MIOKARD

- **PENDAHULUAN**
- **TIPE SEL SUMSUM TULANG**
- **SEL PUNCA HEMATOPOITIK (HEMATOPOETIC STEM CELL, HSC)**
- **SEL PUNCA MESENKIMAL (MESENCHYMAL STEM CELL, MSC)**
- **SEL PUNCA SUMSUM TULANG DAN PERBAIKAN FUNGSI MIOKARD**
- **SEL PUNCA HEMATOPOETIK DAN REGENERASI KARDIOMIOSIT**
- **SEL PUNCA MESENKIMAL DAN REGENERASI MIOKARD**
- **DAFTAR PUSTAKA**

PENDAHULUAN

Penyakit jantung iskemik merupakan penyebab mortalitas dan morbiditas di seluruh dunia. Di Amerika Serikat, penyakit ini merupakan penyebab utama sebesar 20% dari seluruh kematian.^{1,2} Meskipun terdapat kemajuan pengobatan dan tindakan intervensi, prognosis jutaan pasien dengan infark miokard akut dan kardiomiopati iskemik masih memprihatinkan.³ Hal ini disebabkan keterbatasan terapi konvensional dalam mencegah progresivitas remodeling ventrikel kiri dan gagal jantung kongestif.^{4,5}

Penyumbatan arteri koronaria mendadak yang mendasari infark miokard menyebabkan hilangnya kardiomyosit secara masif dengan konsekuensi perburukan fungsi jantung karena kapasitas kardiomyosit menjadi terbatas digantikan jaringan yang rusak.⁶ Remodeling ventrikel kiri setelah infark miokard merupakan permulaan proses gagal jantung dan kematian prematur melalui transformasi jaringan nekrotik dan peri-infark.⁷ Penumpukan jaringan kolagen, hipertrofi miokard dan perubahan fungsi ventrikel kiri mendasari terjadinya remodeling ventrikel kiri.⁸ Upaya untuk mencegah remodeling ventrikel kiri melalui replikasi sel otot miokard setelah infark miokard berimplikasi terhadap pergantian hilangnya kardiomyosit dan pencegahan terjadinya gagal jantung.⁸

Transplantasi sel punca sumsum tulang dewasa tidak hanya menyebabkan diferensiasi jaringan, tetapi juga regenerasi miokard melalui miogenesis, angiogenesis, atau efek parakrin dengan perbaikan fungsi jantung dari hasil penelitian hewan coba dan manusia.^{9,10,11,12} Penelitian pada hewan coba mendapatkan bahwa transplantasi sel sumsum tulang setelah infark miokard dan kardiomiopati iskemik menyebabkan reduksi besarnya infark dan perbaikan fungsi dan perfusi ventrikel kiri.¹³ Hasil meta-analisis Abdel-Latif et al. mendapatkan bahwa transplantasi sel punca sumsum tulang dapat memperbaiki fraksi ejeksi, besarnya area infark dan volume sistolik ventrikel kiri.³

Meskipun plastisitas sel punca dewasa masih menjadi perdebatan, data hasil penelitian hewan coba menunjukkan bahwa sel punca sumsum tulang mampu berdiferensiasi menjadi sel jantung dan vaskuler.^{14, 15, 16, 17, 18} Sel punca hematopoetik, sel punca mesenkimal, sel mononuklear kesemuanya berasal dari sumsum tulang dapat berdiferensiasi menjadi kardiomyosit baik secara *in vitro* dan *in vivo*, sehingga dapat menyelamatkan jaringan yang rusak.⁷ Sel progenitor endotel juga berasal dari sumsum tulang dan telah dibahas pada bab 7. Melacak diferensiasi sel punca pada manusia setelah transplantasi jauh lebih sulit. Potensi mekanisme lain adalah bahwa transplantasi sel sumsum tulang dapat mensekresi

berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin,¹⁹ sehingga meningkatkan survival miosit setelah injuri miokard, dan memfasilitasi migrasi sel punca jantung ke tempat injuri untuk reparasi.²⁰ Reduksi besarnya infark dengan terapi sel punca sumsum tulang menunjukkan bahwa terjadi pembentukan miosit baru, yang lebih superior daripada miosit yang ada, atau potensi sebanding.³

TIPE SEL SUMSUM TULANG

Sumsum tulang adalah kompartemen yang sangat heterogen dan mengandung sejumlah populasi sel punca.²¹ Sel punca hematopoetik (hematopoietic stem cell, HSC/ hematopoetic progenitor cell (HPC), didefinisikan sebagai sel CD34+ pada manusia atau sel c-kit⁺, Sca-1⁺ lin⁻ pada mencit. Side population (SP) cells, adalah bagian sel HSC yang dapat mengeluarkan zat warna fluoresen seperti Hoechst, dan berhubungan dengan aktivitas pembelahan sel jangka panjang. Sel punca mesenkimal, berhasil meningkatkan neovaskularisasi dan fungsi pada model iskemik.²² Sel progenitor hematopoetik atau endotel, dapat dimobilisasi dari sumsum tulang juga menunjukkan manfaat secara *in vivo* (bab7) dan terakhir adalah very small embryonic-like stem cells (VSESCs) (Gambar 1).²¹

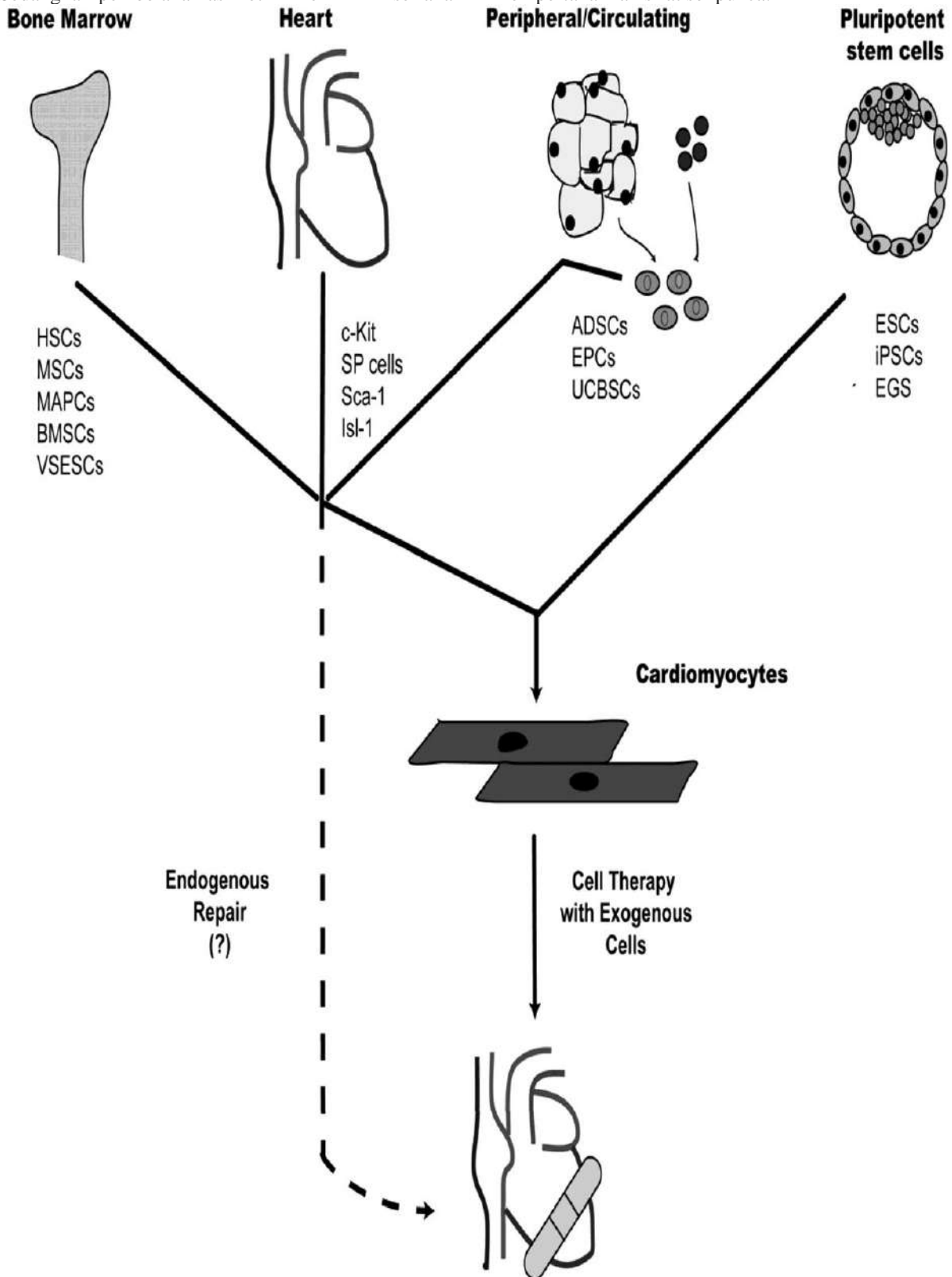
Istilah “sel punca” dan “progenitor” sering digunakan untuk menunjukkan tipe sel yang sama, karena sifat alamiah dan ciri sel punca tidak sepenuhnya diketahui.²³ Misalnya, sel dengan stem cell antigen-1 (Sca-1⁺) dan c-kit positif memperlihatkan sifat menyerupai sel punca, berdiferensiasi menjadi lebih dari 3 tipe sel; kardiomyosit, sel endotel, dan sel otot polos. Namun, sel ini sering disebut “sel progenitor.”^{24,25} “Sel punca” yang digunakan dalam bab ini menunjukkan sel yang lebih pluripoten. Sedangkan sel progenitor mampu berdiferensiasi menjadi sel endotel atau sel otot polos, seperti sel endotel progenitor (EPC, endothelial progenitor cell), dan progenitor otot polos. Tipe sel yang digunakan dalam penelitian untuk regenerasi miokard adalah sel punca hematopoetik dan sel punca mesenkimal.²¹

SEL PUNCA HEMATOPOITIK (HEMATOPOETIC STEM CELL, HSC)

Sel punca hematopoetik adalah sel dengan potensi pembelahan diri dan berdiferensiasi menjadi berbagai sel. Definisi ini didasarkan pada studi Till JE and McCulloch EA²⁶ pada colony-forming cells limpa sekitar setengah abad yang lalu. Pembelahan diri adalah proses pembelahan HSC menghasilkan satu sel anak yang membawa sifat sel punca dan dapat berupa pembelahan simetrik atau asimetrik (Gambar 2).²⁷ Pembelahan diri simetrik berarti proses pembelahan

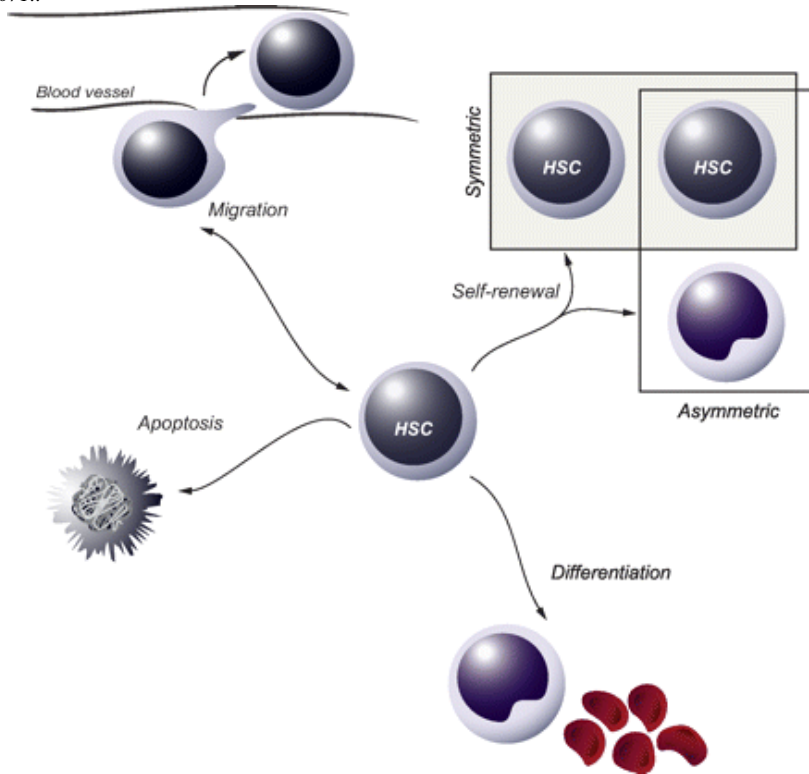
dengan kedua sel anak memiliki sifat sel punca. Sedangkan pembelahan asimetrik memiliki 2 sel anak

dengan sifat berbeda, dengan satu sel anak mempertahankan sifat sel punca.

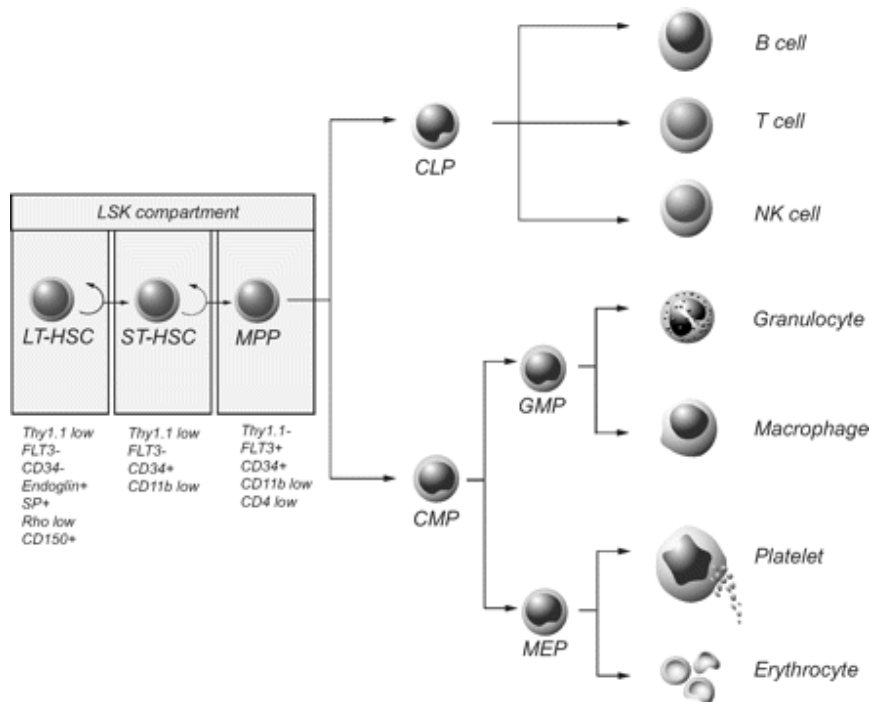


Gambar 1. Sumber sel punca kardiogenik untuk regenerasi miokard. Berbagai sel punca dilaporkan dapat berdiferensiasi menjadi kardiomyosit, termasuk tipe sel punca dewasa multipel di dalam kompartemen sumsum tulang, jantung, sirkulasi/jaringan perifer, seperti sel punca embrio pluripoten dan induced pluripotent stem cell (iPSC). Upaya untuk “mengotakkan kembali” jantung yang mengalami injuri dengan meningkatkan reparasi progenitor endogen atau melakukan pergantian

kardiomyosit. MAPC adalah multiple adult progenitor cell; BMS, bone marrow stem cell; VSESC, very small embryonic stem cell-like stem cell; EGC, embryonic germ cell.
 Dikutip dari Reinecke H, Minami E, Zhu WZ, Michael, MA. *Cardiogenic differentiation and transdifferentiation of progenitor cells. Circ Res. 2008;103:1058-1071.*



Gambar 2. Pada waktu pembelahan sel, 2 sel anak HSC menghadapi beberapa kemungkinan. Kemungkinan sel anak tetap menjadi HSC (proses pembelahan diri), dapat berupa simetrik atau asimetrik, disamping itu, satu sel lain mengalami diferensiasi atau apoptosis. Kemungkinan lain adalah sel mengalami migrasi keluar dari sumsum tulang, penting dalam tahap perkembangan berbagai tipe sel ketika HSC masuk ke jaringan lain atau kembali ke sumsum tulang.
 Dikutip dari Blank U, Karlsson G, Karlsson S. *Signaling pathways governing stem-cell fate. Blood 2008; 111: 492-503.*



Gambar 3. Hirarki hematopoetik dan marker yang berhubungan dengan HSC. Kompartemen LSK mengandung LT-HSC, ST-HSC, dan MPP, dengan subpopulasi yang berhubungan dengan gambaran fenotipe yang berbeda. CLP menunjukkan common lymphoid progenitor; CMP, common myeloid progenitor; GMP, granulocyte /macrophage progenitor; dan MEP, megakaryocyte/erythrocyte progenitor.

Dikutip dari Blank U, Karlsson G, Karlsson S. *Signaling pathways governing stem-cell fate. Blood* 2008; 111: 492-503..

HSC berada di dalam sumsum tulang dewasa bertanggung jawab terhadap produksi semua sel turunannya setiap hari secara berkesinambungan.²⁸ Hirarki sel hematopoetik tersusun secara terorganisir dengan populasi HSC menghasilkan progeni yang memiliki kehilangan potensi pembelahan sel dengan diferensiasi yang semakin terbatas dan akhirnya menghasilkan sel matur (Gambar 3).²⁷ Semua HSC yang berfungsi memiliki marker sel permukaan yang rendah, yang umumnya terdapat pada sel darah berdiferensiasi atau sel matur, namun dengan level Sca-1 dan c-kit yang tinggi. Berdasarkan pada kapasitas pembelahan diri, HSC dapat dibagi atas LT-HSC (long-term HSC) dan ST-HSC (short-term HSC). Kapasitas LT-HSC (HSC jangka panjang) memiliki pembelahan diri yang ekstensif dengan hematopoiesis berlangsung seumur hidup, sedangkan ST-term HSC (HSC jangka pendek) memiliki potensi pembelahan diri terbatas, dengan daya hematopoiesis terbatas pada *in vivo*.^{29,30} Kompartemen LSK bersifat heterogen, mengandung campuran LT-HSC, ST-HSC, dan multipotent progenitor cell (MPP). Side population adalah sel subset yang kecil dengan ciri LT-HSC.³¹

SEL PUNCA MESENKIMAL (MESENCHYMAL STEM CELL, MSC)

MSC adalah populasi sel yang jarang terdapat di dalam sumsum tulang, berkisar 0.001-0.01% dari sel bernukleus, dengan jumlah 10 lipat lebih kecil daripada hematopoietic stem cells (HSCs).³² Isolasi sel punca mesenkimal manusia pertama kali dilakukan oleh Caplan pada tahun 1980-an dari aspirat sumsum tulang dengan jumlah sangat sedikit.³³ Namun sel ini dapat diekspansi secara *in vitro* 1 juta kali lipat dan mempunyai kapasitas berdiferensiasi menjadi berbagai turunan mesenkimal.^{34,35} Sel punca mesenkimal manusia mudah diisolasi, potensi ekspansi tinggi, stabilitas genetik tinggi, isolat dapat direproduksi, berpotensi meningkatkan reparasi jaringan sehingga merupakan model sel punca yang kini dikembangkan untuk terapi sel.^{36, 37, 38}

LeBlanc et al., mendapatkan bahwa MSC berdiferensiasi secara *in vitro* dan ketika diuji interaksinya dengan sel T tidak didapati peningkatan antigenitas.³⁹ Penelitian eksperimental mendapatkan bahwa MSC dapat menginhibisi proliferasi sel T.^{40, 41} Hal ini berimplikasi terhadap penggunaan alogenik MSC dalam terapi sel.⁴²

Marker permukaan bermanfaat untuk mengenal ciri sel punca ketika diisolasikan atau dikultur, untuk memahami interaksi potensi dengan lingkungan sel.

Sejumlah molekul permukaan MSC ditampilkan pada Gambar 4.³² MSC yang diisolasi dari berbagai spesies dengan metode yang berbeda dapat direproduksi oleh laboratorium lain.^{43, 44}

Verfaillie et al., melaporkan adanya sel progenitor sumsum tulang atau multipotent adult progenitor cells (MAPCs).^{45, 46} Sel ini mempunyai ciri yang hampir sama dengan MSC, tetapi tidak mempunyai major histocompatibility complex (MHC) kelas I and kelas II di permukaannya, sehingga dapat digunakan secara alogenik. Berkurangnya molekul MHC kelas I membuat sel ini mudah dieliminasi oleh natural killer cell. MAPC pada manusia telah diverifikasi mempunyai potensi sama dengan MAPC pada mencit.^{47, 48}

MSC bersifat multipoten, dapat berdiferensiasi menjadi adiposit, kondrosit, osteoblast, dan sel endotel.^{34,45} Ketika dikulturkan dalam kondisi khusus, dapat berdiferensiasi menjadi kardiomyosit yang dapat berkontraksi.^{14, 15, 49} MSC juga dapat berdiferensiasi menjadi sel ginjal, dan sel saraf sehingga memperlihatkan plastisitas yang tinggi.^{50, 51} Efek terapeutik yang menjanjikan dari MSC adalah kapasitasnya melakukan engraftment pada jaringan target dalam jangka panjang.⁵²

SEL PUNCA SUMSUM TULANG DAN PERBAIKAN FUNGSI MIOKARD

Studi pada hewan coba dan pada pasien dengan infark miokard menunjukkan bahwa terjadi perbaikan fungsi jantung yang mendapat terapi sel punca sumsum tulang, yang berarti bahwa terapi ini layak dilakukan.⁵³ Orlic et al pertama kali mengusulkan terjadinya transdiferensiasi sel punca sumsum tulang (berubah menjadi turunan sel lain melalui diferensiasi) menjadi kardiomyosit ketika disuntikkan sel ini ke dalam miokardium dengan infark.⁹ Sel punca sumsum tulang yang disuntikkan secara langsung ke dalam jantung tidak mengekspresi marker diferensiasi (lin-) tetapi membawa stem cell factor (c-kit) dari mencit transgenik yang mengekspresikan GFP (green fluorescent protein) (Gambar 5).^{9,54} Pada hari ke-9 pascatransplantasi, didapati bahwa dua pertiga zona infarct (68%) telah ditempati sel yang mengekspresikan GFP. Regenerasi miokard yang terjadi disertai perbaikan fungsi miokard dan berkurangnya efek buruk remodeling ventrikel.^{9,55} Laporan ini bersamaan dengan penelitian lainnya menunjukkan bahwa sel punca dewasa, khususnya sel punca sumsum tulang, mampu mencapai target pada

tempat injuri miokard dan mengadakan diferensiasi menjadi kardiomyosit.^{56, 57, 58, 59, 60}

Hasil ini disanggah oleh peneliti yang menggunakan teknik baru yang menunjukkan bahwa sel progenitor sumsum tulang mengalami sel fusi dengan sel lokal, sehingga mengekspresikan kombinasi marker. Hal ini menimbulkan proses transdiferensiasi menjadi terbatas.^{61,62,63}

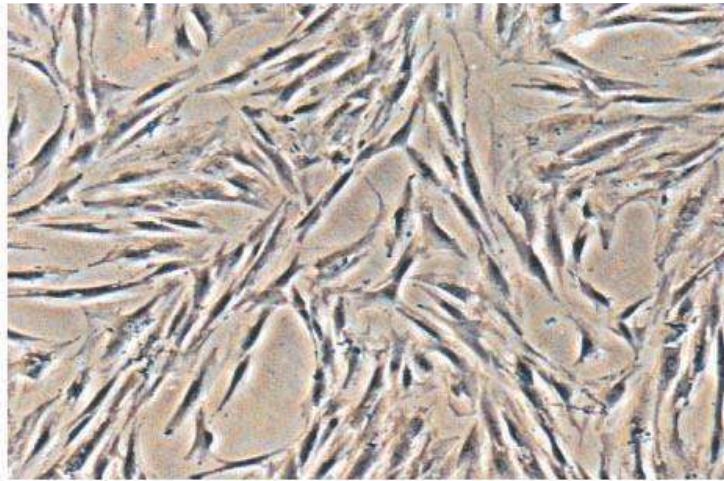
Peneliti lain menggunakan metode genetik ketimbang imunofluoresen dalam upaya mengklarifikasi keberadaan sel progenitor sumsum tulang pada tempat infark miokard.^{64,65} Eksperimen ini menunjukkan bahwa sel progenitor sumsum tulang pada model mencit dengan infark miokard sangat sedikit mengalami transdiferensiasi dan diferensiasi sel ini mengikuti garis turunan hematopoetik.^{64,65} Pembentukan pembuluh darah pada tempat infark yang menimbulkan peningkatan suplai darah merupakan penyebab utama perbaikan fungsi ventrikel kiri.⁶⁶ Hal ini sesuai dengan beberapa laporan bahwa interaksi sel dengan miokardium menghasilkan pembuluh darah baru.^{67,68,69,70,71}

SEL PUNCA HEMATOPOETIK DAN REGENERASI KARDIOMIOSIT

Jackson et al., berhasil mengisolasi satu populasi HSC dikenal sebagai side population atau "SP" dari sumsum tulang mencit transgenik dengan ekspresiβ-

galactosidase (LacZ). Kemudian sel donor LacZ ini diberikan kepada resipien mencit wide type (tipe normal) yang diradiasi, lalu diligasi arteri koronaria sehingga terjadi infark miokard. Pemeriksaan histologik setelah 4 minggu menunjukkan bahwa pada area infark terbentuk kardiomyosit baru sebanyak 0.02% (dan 3,3% sel endotel) menunjukkan LacZ+, menandakan bahwa terjadi diferensiasi kardiomyosit pada donor (Gambar 6).⁵⁶ Namun, penelitian Wagers et al., tidak mendapatkan diferensiasi menjadi kardiomyosit dengan menggunakan sel punca hematopoetik (c-kit⁺, Lin⁻ Sca-1⁺) yang ditransplantasikan berlabel GFP (green fluorescent protein) ke dalam jantung mencit dengan infark atau injuri miokard yang mendapat radiasi.⁷²

Deb et al., melaporkan bahwa sumsum tulang sebagai sumber sel progenitor ekstrakardiak yang berkontribusi terhadap pembentukan kardiomyosit setelah transplantasi sumsum tulang. Jumlah rata-rata kromosom Y yang ditemukan dalam jantung hasil otopsi pada wanita penerima transplantasi sumsum tulang adalah 0.23±0.06%, sedangkan pada kelompok kontrol dalam jumlah yang sama tidak dijumpai kromosom Y.⁷³ Potensi sel yang berasal dari sumsum tulang tidak diketahui, mungkin termasuk sel mesenkimal, hematopoetik, progenitor multipoten dewasa dan sel angioblast.



hMSC Surface Markers

Positive

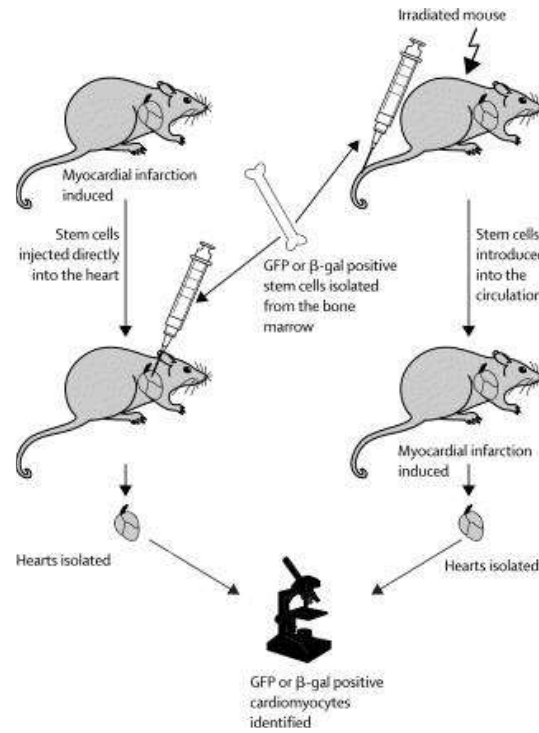
CD13, CD29, CD44, CD49a, b, c, e, f, CD51, CD54, CD58, CD71, CD73, CD90, CD102, CD105, CD106, CDw119, CD120a, CD120b, CD123, CD124, CD126, CD127, CD140a, CD166, P75, TGFβ1R, TGFβIIIR, HLA- A,B,C, SSEA-3, SSEA-4, D7

Negative

CD3, CD4, CD6, CD9, CD10, CD11a, CD14, CD15, CD18, CD21, CD25, CD31, CD34, CD36, CD38, CD45*, CD49d, CD50, CD62E,L,S, CD80, CD86, CD95, CD117, CD133, SSEA-1

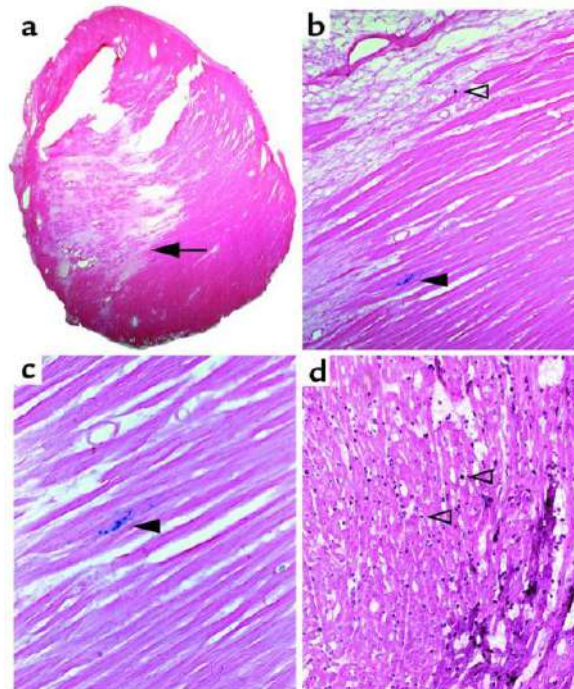
Gambar 4. Sel punca mesenkimal manusia pada kultur tampak seperti fibroblast dengan ukuran dan morfologi homogen pada pasase kedua. Flow cytometry digunakan untuk menentukan molekul permukaan pada populasi sel yang telah diekspansi, dan molekul permukaan positif dan negatif tertera.

Dikutip dari Pittenger MF, Martin BJ. *Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. Circ. Res. 2004;95:9-20*



Gambar 5. Sel punca diperoleh dari sumsum tulang menunjukkan potensi regenerasi miokard. Eksperimen menunjukkan bahwa sel punca sumsum tulang berkontribusi terhadap regenerasi kardiomyosit ketika disuntikkan secara langsung ke dalam jantung atau melalui darah.

Dikutip dari Mathur A, Martin JF. *Stem cells and repair of the heart. Lancet 2004; 364: 183-92.*



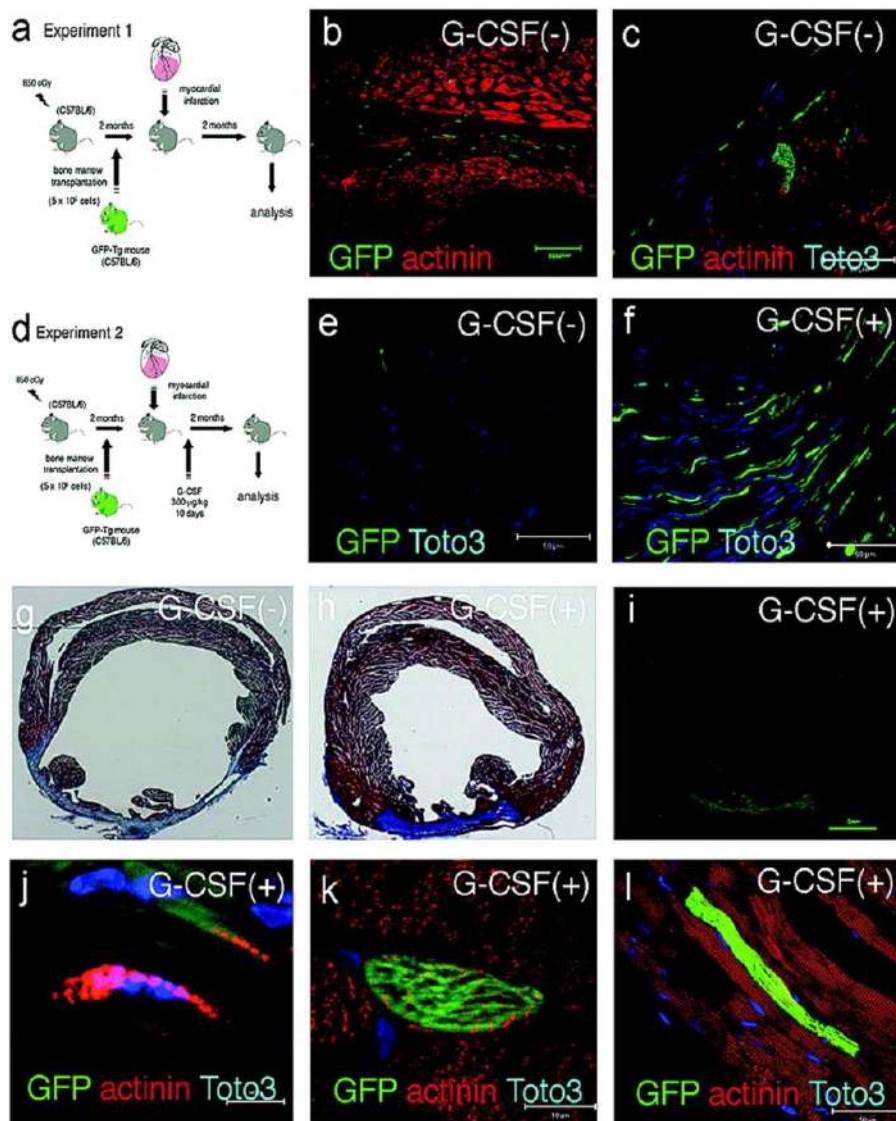
Gambar 6. Pewarnaan LacZ terutama terdapat pada batas infark miokard. (a) fotograf dengan pembesaran 10 x menunjukkan infark miokard setelah 4 minggu. Anak panah menunjukkan lokasi pewarnaan LacZ pada b dan c. Jaringan merah muda di sebelah kiri dan atas anak panah menunjukkan fibrotik karena infark. (b) Fotograf pembesaran (20 x) pada

bagian yang sama diwarnai dengan LacZ dan antimacrophage AbF489. Anak panah terbuka menunjukkan makrofag, anak panah penuh menunjukkan kardiomiosit. (c) Pembesaran tinggi pada bagian yang sama (40 x). (d) Densitas makrofag pada bagian jantung satu jam setelah iskemia dan 3 jam setelah reperfusi. Anak panah terbuka hanya menunjukkan dua buah makrofag.

Dikutip dari Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, Entman ML, Michael LH, Hirschi KK, Goodell MA. *Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells.* *J Clin Invest.* 2001;107:1395-1402.

Kemudian Kawada et al.¹⁷ melaporkan kemampuan diferensiasi HSC menggunakan c-kit+Sca-1+CD34-Lin- SP (CD34_KSL-SP) dari HSC. Ketika dilakukan transplantasi seluruh sel sumsum tulang meliputi HSC dan MSC, dari mencit transgenik GFP ke mencit yang diradiasi dengan dosis letal dan diinduksi infark miokard, didapati sangat sedikit jumlah kardiomiosit yang berasal dari sel sumsum tulang dengan GFP+, namun jumlah kardiomiosit dan nonkardiomiosit dapat diinduksi dengan pemberian

granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) di area infark atau zona perbatasan (Gambar 7).^{17,74} Namun, ketika ditransplantasikan HSC diikuti induksi infark miokard dan pemberian GSCF, jumlah kardiomiosit jarang terdapat pada kelompok dengan HSC saja, dan dapat diamati sel menyerupai fibroblast, dan meningkat dengan pemberian GSCF. Selanjutnya pemberian MSC yang dimurnikan menyebabkan jumlah kardiomiosit dengan GFP+ menjadi lebih dominan.^{17,74}



Gambar 7. Sel dari sumsum tulang pada area infark dan efek G-CSF. a. Protokol transplantasi sel sumsum tulang dan infark miokard. b dan c, sel menyerupai fibroblast dengan GFP+ dapat diamati di area infark (b), tetapi sedikit sekali kardiomiosit dengan GFP+ terdapat pada area iskemik atau area perbatasan (c). d, G-CSF diberikan setelah infark miokard. e, dan f, jumlah sel menyerupai fibroblast dengan GFP+ pada area infark pada kelompok G-CSF (f) meningkat dibandingkan dengan kelompok tanpa G-CSF (e). g sampai i, G-CSF memperbaiki remodeling jantung. Pengobatan dengan G-CSF (h) dapat mencegah area infark dari proses penipisan dan pemanjangan miokard dibandingkan dengan kelompok tanpa pengobatan (g).

Image mikroskop fluoresen (i) dari bagian serial (h) menunjukkan area infark dipenuhi sel dengan GFR+. J sampai l, imunostaining tripel untuk aktinin (merah), GFR (hijau) dan Toto-3 (nukleus, biru) pada area infark dan area zona perbatasan pada kelompok pengobatan GCSF memperlihatkan kardiomyosit imatur (j) dan kardiomyosit matur (k dan l).

Dikutip dari Kawada H, Fujita J, Kinjo K, Matsuzaki Y, Tsuma M, Miyatake H, Muguruma Y, Tsuboi K, Itabashi Y, Ikeda Y, Ogawa S, Okano H, Hotta T, Ando K, Fukuda K. *Nonhematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. Blood.* 2004;104:3581–3587.

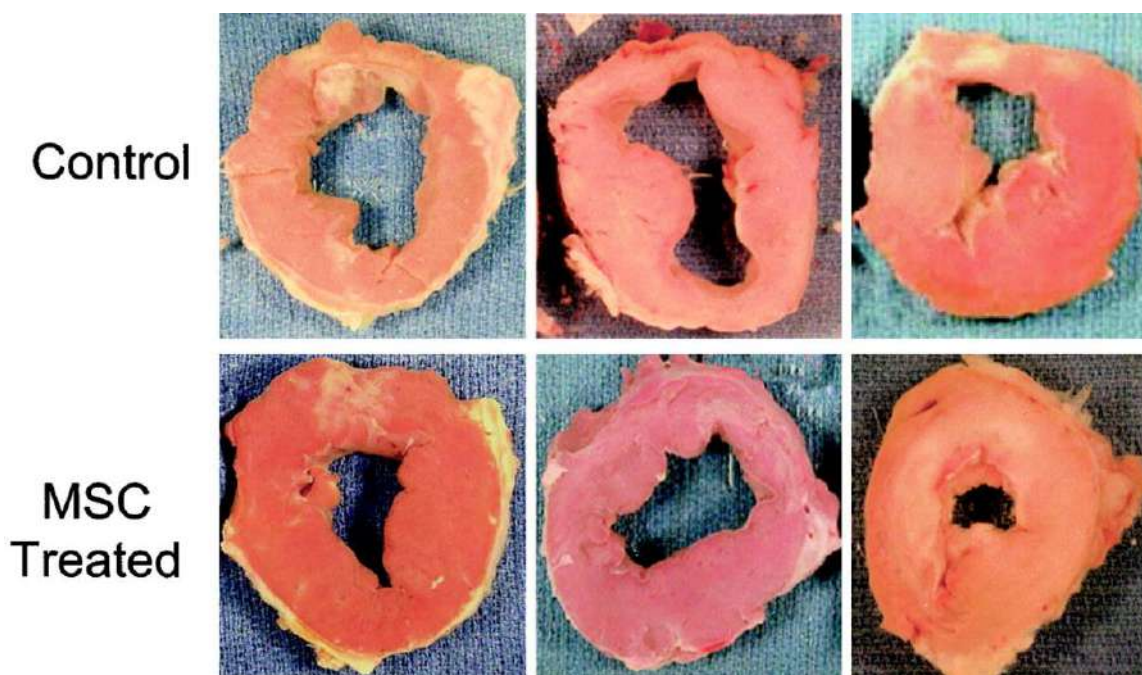
SEL PUNCA MESENKIMAL DAN REGENERASI MIOKARD

MSC memiliki sejumlah sifat unik yang memungkinkan penggunaannya untuk terapi sel dengan efektivitas yang tinggi.³² MSC dapat digunakan secara alogenik, diberikan secara sistemik dan berdiferensiasi menjadi fenotipe menyerupai kardiomyosit ketika ditransplantasikan ke dalam miokardium yang sehat.^{16,76} Jika diberikan secara intravena setelah infark akut, MSC mampu menempati (homing) pada tempat injuri miokard.³² MSC dapat berdiferensiasi menjadi miogenik, karena dapat mengekspresikan protein otot yang spesifik termasuk α -aktinin, troponin-T, tropomiosin, myosin heavy chain-MHC, phospholamban.⁷⁷ Juga ekspresi connexin-43, protein yang bertanggung jawab terhadap persambungan intraseluler dan coupling elektrik antar sel, yang menunjukkan diferensiasi kardiomyosit.⁷⁷

Kardiomioplasti MSC menimbulkan sejumlah perbaikan pada jantung pascainfark.⁷⁶ Shake et al mendapatkan manfaat engraftment MSC meliputi pencegahan penipisan dinding miokard patologik dengan perbaikan sebesar 30% penebalan dinding diastolik pada minggu ke-12 dan perbaikan hemodinamik pascainfark (Gambar 8).⁷⁷ Tekanan diastolik akhir menurun dengan reduksi tekanan diastolik akhir ventrikel kiri sebesar 50% dalam 6

bulan pada hewan mendapat pengobatan MSC. Hal ini menunjukkan perbaikan relaksasi diastolik dan penurunan tegangan dinding karena perbaikan remodeling ventrikel.⁷⁸ Tidak didapati perbaikan fungsi sistolik karena terdapat organisasi sarkomerik pada implantasi MSC.⁷⁶

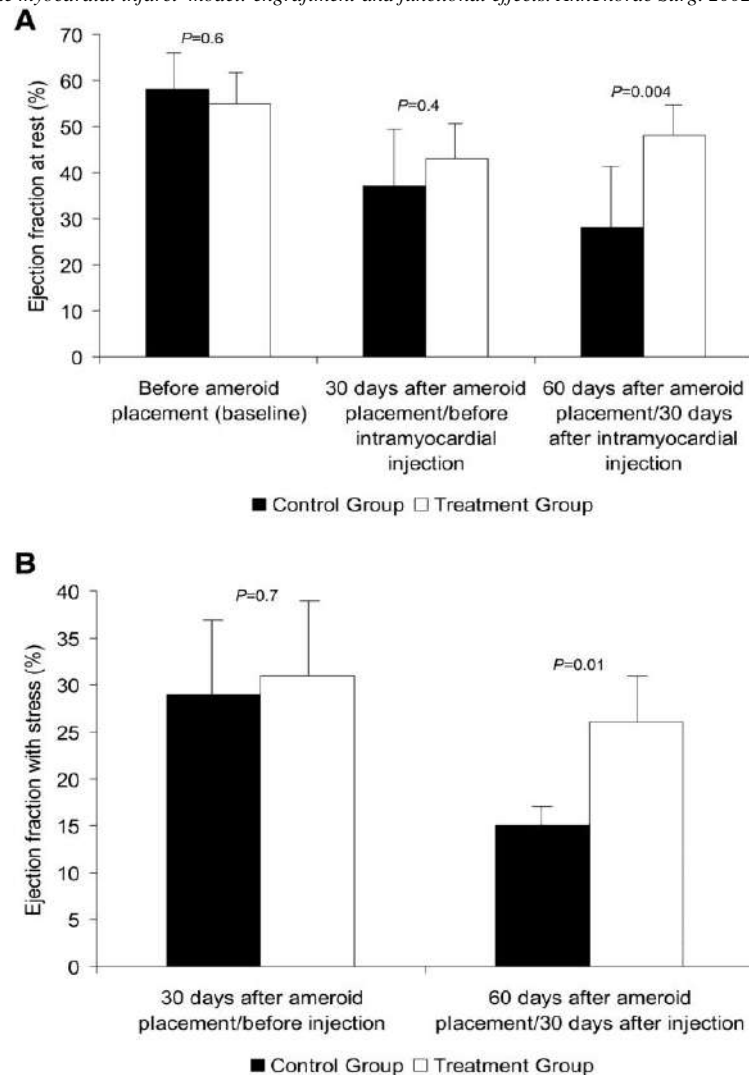
Dengan melakukan iskemik kronik pada model anjing dengan implantasi konstriktor ameroid pada bagian left anterior descending (LAD) proksimal selama 30 hari dan disuntikan MSC alogenik, Silva et al., melaporkan bahwa engraftment MSC terjadi pada dinding pembuluh darah dengan ditemukan α -smooth muscle actin positif, berarti terjadi transdiferensiasi MSC ke dalam sel otot polos, namun transdiferensiasi MSC lebih dominan terdapat pada permukaan luminal endotel pembuluh darah dengan ekspresi faktor VIII.⁷⁹ Transdiferensiasi ini berkontribusi terhadap peningkatan densitas kapiler secara signifikan pada dinding anterolateral dari hewan coba yang diberi MSC melalui suntikan intramiokard dibandingkan dengan suntikan saline sebagai kontrol ($p=0.03$). Karena itu, peningkatan densitas kapiler dan transdiferensiasi ke dalam otot polos dan sel endotel berkontribusi terhadap peningkatan fraksi ejeksi ventrikel kiri pada waktu istirahat atau selama beban dengan stres dengan menggunakan ekokardiogram, yang menandakan perbaikan beban iskemik total pada kedua kondisi tersebut (Gambar 9).⁷⁹



Gambar 8. Fotograf potongan melintang ventrikel pada level suntikan MSC. Data ini membuktikan bahwa kardiomioplasti seluler dapat membatasi penipisan dinding ventrikel kiri. Tampak jaringan parut, penipisan dinding, hipertrofi kompensasi

pada miokardium dan hilangnya geometri ruang ventrikel (dilatasi) pada jantung kontrol (atas). Sebaliknya, jantung pada hewan coba dengan pengobatan MSC (bawah) dapat mempertahankan ketebalan dinding dan geometri ventrikel kiri yang normal, meskipun besarnya infark sama.

Dikutip dari Shake JG, Gruber PJ, Baumgartner WA, Senechal G, Meyers J, Redmond JM, Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects. *AnnThorac Surg.* 2002;73:1919-1926.



Gambar 9. Fraksi ejeksi pada waktu istirahat. Penilaian dilakukan pada baseline sebelum penempatan ameroid (kiri), dan 30 hari kemudian dengan suntikan sel atau saline (tengah), dan 60 hari setelah penempatan ameroid (kanan). B, Fraksi ejeksi dengan stres. Penilaian dilakukan sebelum dan 30 hari setelah suntikan intramiokard.

Dikutip dari Silva GV, Litovsky S, Assad JA, Sousa AL, Martin BJ, Vela D, Coulter SC, Lin J, Ober J, Vaughn WK, Branco RV, Oliveira EM, He R, Geng YJ, Willerson JT, Perin EC. Mesenchymal stem cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a canine chronic ischemia model. *Circulation.* 2005; 111: 150-156

Quevedo et al., melaporkan bahwa pada hewan coba babi betina yang mendapat suntikan MSC alogenik dari hewan jantan secara transendokardial dibandingkan dengan kontrol setelah 12 minggu (3 bulan) dengan infark miokard atau mengalami kardiomiopati iskemik kronik diperoleh bahwa MSC mengadakan diferensiasi menjadi kardiomyosit, otot vaskuler dan pada endotel. Bukti adanya diferensiasi ke dalam kardiomyosit karena ditemukan kolokalisasi dengan GATA-4, Nkx2.5 dan α sarcomeric actin. MSC dengan kromosom-Y positif menunjukkan diferensiasi menjadi sel otot polos dan sel endotel, dan hal ini berkontribusi terhadap pembentukan pembuluh darah besar dan kecil. Besarnya infark berkurang dari

$19.3 \pm 1.7\%$ menjadi $13.9 \pm 2.0\%$ ($p < 0.001$), and fraksi ejeksi meningkat dari $35.0 \pm 1.7\%$ menjadi $41.3 \pm 2.7\%$ ($p < 0.05$). Penemuan ini menunjukkan bahwa MSC dapat mengadakan engraftment dan diferensiasi setelah ditransplantasikan ke dalam miokardium dengan jaringan fibrosis kronik. Kapasitas kardiomiogenesis dan vaskulogenesis berkontribusi terhadap perbaikan fungsi jantung.⁸⁰

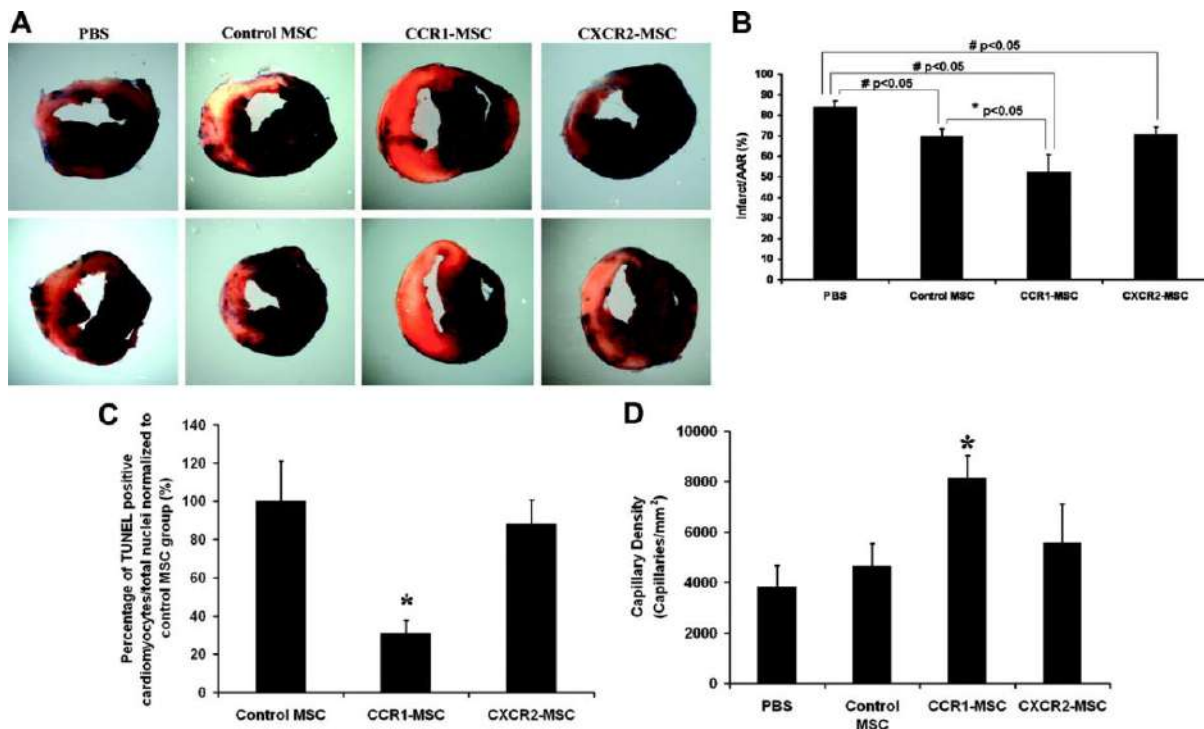
Chen et al., melakukan studi secara acak pada 69 pasien dengan pascainfark miokard akut dan menyuntikkan MSC autologus melalui kateter secara intrakoroner dan mendapatkan bahwa terjadi penurunan presentase segmen hipokinetik, akinetik

dan diskinetik pada pasien dengan pengobatan MSC dengan perbaikan terhadap fraksi ejeksi.⁸¹ Perbaikan fraksi ejeksi global ini lebih besar daripada infus sel hematopoetik,⁸² Hal ini yang menunjukkan bahwa infus MS pada jantung manusia memicu terjadinya pembentukan kardiomyosit baru dan neoangiogenesis.⁸³ Disamping itu, juga membuktikan bahwa infus MSC intrakoroner tidak menimbulkan efek samping, seperti dilaporkan sebelumnya, yaitu iskemia miokard akut pada hewan coba.^{84, 85}

Meskipun terdapat efektivitas penggunaan MSC dalam studi klinis, masih terdapat kesulitan dalam meningkatkan survival sel. Homing, engraftment dan survival dari sel yang ditransplantasikan pada area iskemik masih menimbulkan problem, karena kebanyakan sel hilang dalam beberapa jam setelah ditransplantasikan.^{86, 87} Penyebab yang mendasari kematian sel sehingga angka survival sel menurun setelah ditransplantasikan adalah hilangnya matrix support, iskemia dan inflamasi.^{88,89}

Akhir-akhir ini Huang et al., melakukan modifikasi genetik terhadap MSC dengan melakukan overexpression CCR1 (chemokine c-c motif receptor-1) pada MSC. Lalu menyuntikkan overexpression CCR1-MSC secara intramiokard dan mengukur area

infark dan area at risk (AAR) dengan pewarnaan Evans Blue dan triphenyltetrazolium chloride (TTC) pada bagian jantung mencit 3 hari setelah infark miokard. Penyuntikan MSC tanpa modifikasi genetik menimbulkan penurunan infark tetapi signifikan dibandingkan dengan kelompok PBS (peripheral blood serum). (Gambar 10B).⁹⁰ Namun, mencit yang disuntikkan MSC dengan overexpression CCR1 menunjukkan pengurangan rasio infark/AAR secara signifikan dibandingkan dengan kelompok mencit yang mendapat MSC saja (Gambar 10A dan 10B). Persentase sel dengan TUNEL positif (apoptosis) berkurang signifikan pada kelompok MSC dengan overexpression CCR1, (Gambar 10C) sedangkan densitas kapiler meningkat pada zona batas infark. (Gambar 10D). Penelitian ini menunjukkan bahwa overexpression CCR1 pada MSC meningkatkan migrasi, survival dan engraftment MSC pada area iskemik. Engraftment MSC yang lebih baik dapat mencegah remodeling miokard dan memperbaiki fungsi jantung. Dengan pemahaman mekanisme baru ini dapat berimplikasi terhadap perbaikan kapasitas perbaikan dan aplikasi terapeutik menggunakan modifikasi genetik pada MSC.⁹⁰



Gambar 10. Suntikan CCR1-MSC intramiokard mengurangi besarnya infark dan meningkatkan survival kardiomyosit dan densitas kapiler 3 hari setelah infark miokard. **A** dan **B**, suntikan intramiokard CCR1-MSC, bukan CXCR2-MSC, mengurangi besarnya infark 3 hari setelah infark. Infark miokard dinilai dengan pewarnaan Evans Blue dan triphenyltetrazolium chloride. **A**, representatif bagian jantung. Area Evans blue-perfusi, menunjukkan area tidak dalam risiko (area not at risk), **biru**, viable myocardium, **merah**; miokardium infark, **putih pucat**. **B**, Persentase area dengan injuri vs total AAR dari jantung miokard infark dari berbagai kelompok. **C**, Perhitungan densitas kardiomyosit dengan TUNEL-positif. Persentase TUNEL dan sel α -sarcomeric actin dengan positif ganda /total nuclei dihitung dan data dibandingkan dengan kelompok kontrol MSC. Presentasi data means \pm SEM; n=6 sampai 8 ekor per grup, * P <0.05 vs area infarct/risk dari mencit

disuntik MSC; # $P < 0.05$ vs area infarkt/risk disuntikan PBS. **D**, suntikan intramiokard CCR1-MSc, meningkatkan densitas kapiler pada miokardium dengan infark 3 hari setelah infark. Kapiler diwarnai dengan lectin pada infark dekat dengan zona perbatasan. Jumlah kapiler dihitung sebagai per millimeter kwadrat. $P < 0.05$ vs kontrol mencit disuntik MSC.

Dikutip dari Huang J, Zhang JP, Guo J, Ni AG, Deb A, Zhang L, Mirosou M, Pratt RE, Dzau VJ. Genetic modification of mesenchymal stem cells overexpressing CCR1 increases cell viability, migration, engraftment, and capillary density in the injured myocardium. *Cir Res* 2010;106:1753-1762

DAFTAR PUSTAKA

1. Myerburg RJ. Sudden cardiac death: exploring the limits of our knowledge. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2001;12:369-381.
2. Miller TD, Christian TF, Hopfenspirger MR, Hodge DO, Gersh BJ, Gibbons RJ. Infarct size after acute myocardial infarction measured by quantitative tomographic 99mTc sestamibi imaging predicts subsequent mortality. *Circulation*. 1995;92:334-341.
3. Abdel-Latif A, Bolli R, Tleyjeh IM, Montori VM, Perin EC, Hornung CA, Zuba-Surma EK, Al-Mallah M, Dawn B. Adult bone marrow-derived cells for cardiac repair. A systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med*. 2007;167:989-997.
4. Rubio PA, Guinn GA. Myocardial infarction following carotid endarterectomy. *Cardiovasc Dis* 1975; 2: 402-04.
5. Zhao TM, Zhang DS, Millard RW, Ashraf M, Wang YG. Stem cell homing and angiomyogenesis in transplanted hearts are enhanced by combined intramyocardial SDF-1 α delivery and endogenous cytokine signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 296:976-986.
6. Iwasaki H, Kawamoto A, Ishikawa M, et al. Dose-dependent contribution of CD34-positive cell transplantation to concurrent vasculogenesis and cardiomyogenesis for functional regenerative recovery after myocardial infarction. *Circulation* 2006;113:1311-1325.
7. Ince HS, Petzsch M, Kleine HD, Eckard H, Rehders T, Burska D, Kische S, Freund M, Nienaber CA. Prevention of left ventricular remodeling with granulocyte colony-stimulating factor after acute myocardial infarction. Final 1-year results of the front-integrated revascularization and stem cell liberation in evolving acute myocardial infarction by granulocyte colony-stimulating factor (FIRSTLINE-AMI) trial. *Circulation*. 2005;112[suppl I]:I-73-I-80.
8. Lim H, Zhu YZ. Role of transforming growth factor- β in the progression of heart failure. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63: 2584-2596 (Switzerland).
9. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, McKay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*. 2001;410: 701-705.
10. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Limana F, Jakoniuk I, Quaini F, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:10344-10349.
11. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, Takuma S, Burkhoff D, Wang J, Homma S, Edwards NM, Itescu S. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med*. 2001;7:430-436.
12. Tomita S, Mickle DA, Weisel RD, Jia ZQ, Tumati LC, Allidina Y, Liu P, Li RK. Improved heart function with myogenesis and angiogenesis after autologous porcine bone marrow stromal cell transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2002;123:1132-1135.
13. Dawn B, Bolli R. Adult bone marrow-derived cells: regenerative potential, plasticity, and tissue commitment. *Basic Res Cardiol*. 2005;100:494-503.
14. Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest*. 1999;103:697-705.
15. Tomita S, Li RK, Weisel RD, et al. Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. *Circulation*. 1999;100(suppl):II247-II256.
16. Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, Byrne BJ, Kessler PD. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation*. 2002;105:93-98.
17. Kawada H, Fujita J, Kinjo K, Matsuzaki Y, Tsuma M, Miyatake H, Muguruma Y, Tsuboi K, Itabashi Y, Ikeda Y, Ogawa S, Okano H, Hotta T, Ando K, Fukuda K. Nonhematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. *Blood*. 2004;104:3581-3587.
18. Hattan N, Kawaguchi H, Ando K, et al. Purified cardiomyocytes from bone marrow mesenchymal stem cells produce stable intracardiac grafts in mice. *Cardiovasc Res*. 2005;65:334-344.
19. Urbich C, Aicher A, Heeschen C, et al. Soluble factors released by endothelial progenitor cells promote migration of endothelial cells and cardiac resident progenitor cells. *J Mol Cell Cardiol*. 2005; 39:733-742.
20. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*. 2003;114:763-776.
21. Reinecke H, Minami E, Zhu WZ, Michael MA. Cardiogenic differentiation and

- transdifferentiation of progenitor cells. *Circ Res.* 2008;103:1058-1071.
22. Dimmeler S. Regulation of bone marrow-derived vascular progenitor cell mobilization and maintenance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010;30:1088-1093.
 23. Xu QB. Stem cells and transplant arteriosclerosis. *Circ. Res.* 2008;102:1011-1024.
 24. Hibbert B, Chen YX, O'Brien ER. c-kit-immunopositive vascular progenitor cells populate human coronary in-stent restenosis but not primary atherosclerotic lesions. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;287:H518-H524.
 25. Xiao Q, Zeng L, Zhang Z, Hu Y, Xu Q. Stem cell-derived Sca-1+progenitors differentiate into smooth muscle cells, which is mediated by collagen IV-integrin α 1/beta1/ α v and PDGF receptor pathways. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2007;292:C342-C352.
 26. Till JE, McCulloch, EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat. Res.* 1961; 14, 213-222.
 27. Blank U, Karlsson G, Karlsson S. Signaling pathways governing stem-cell fate. *Blood* 2008; 111: 492-503.
 28. Ogawa M. Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells. *Blood.* 1993;81:2844-2853.
 29. Yang L, Bryder D, Adolfsson J, et al. Identification of Lin (-) Sca1(+) kit(+) CD34(+)Flt3- short-term hematopoietic stem cells capable of rapidly reconstituting and rescuing myeloablated transplant recipients. *Blood.* 2005;105:2717-2723.
 30. Morrison SJ, Weissman IL. The long-term repopulating subset of hematopoietic stem cells is deterministic and isolatable by phenotype. *Immunity.* 1994;1:661-673.
 31. Goodell MA, Brose K, Paradis G, Conner AS, Mulligan RC. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo. *J Exp Med.* 1996;183:1797-1806.
 32. Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ. Res.* 2004;95:9-20.
 33. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res.* 1991;9:641-650.
 34. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science.* 1999;284: 143-147.
 35. Muraglia A, Cancedda R, Quarto R. Clonal mesenchymal progenitors from human bone marrow differentiate in vitro according to a hierarchical model. *J Cell Sci* 2000; 113:1161-1166.
 36. Jones EA, Kinsey SE, English A, Jones RA, Straszynski L, Meredith DM, Markham AF, Jack A, Emery P, McGonagle D. Isolation and characterization of bone marrow multipotential mesenchymal progenitor cells. *Arthritis Rheum.* 2002;46:3349-3360.
 37. Lodie TA, Blickarz CE, Devarakonda TJ, He C, Dash AB, Clarke J, Gleneck K, Shihabuddin L, Tubo R. Systematic analysis of reportedly distinct populations of multipotent bone marrow-derived stem cells reveals a lack of distinction. *Tissue Eng.* 2002;8:739-751.
 38. Gronthos S, Zannettino AC, Hay SJ, Shi S, Graves SE, Kortesisidis A, Simmons PJ. Molecular and cellular characterization of highly purified stromal stem cells derived from human bone marrow. *J Cell Sci.* 2003; 116:1827-1835.
 39. Le Blanc K, Tammik C, Rosendahl K, Zetterberg E, Ringden O. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Exp Hematol.* 2003;31:890-896.
 40. McIntosh KR, Bartholomew A. Stromal cell modulation of the immune system: a potential role for mesenchymal stem cells. *Graft.* 2000; 3:324-328.
 41. Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, Milanese M, Longoni PD, Matteucci P, Grisanti S, Gianni AM. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood.* 2002;99:3838-3843.
 42. Tse WT, Pendleton JD, Beyer WM, Egalka MC, Guinan EC. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation. *Transplantation.* 2003;75:389-397.
 43. Gronthos S, Franklin DM, Leddy HA, Robey PG, Storms RW, Gimble JM. Surface protein characterization of human adipose tissue-derived stromal cells. *J Cell Physiol.* 2001;189:54-63.
 44. Lodie TA, Blickarz CE, Devarakonda TJ, He C, Dash AB, Clarke J, Gleneck K, Shihabuddin L, Tubo R. Systematic analysis of reportedly distinct populations of multipotent bone marrow-derived stem cells reveals a lack of distinction. *Tissue Eng.* 2002;8:739-751.
 45. 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. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature.* 2002;418: 41-49.
 46. Jiang Y, Vaessen B, Lenvik T, Blackstad M, Reyes M, Verfaillie CM. Multipotent progenitor cells can be isolated from postnatal murine bone marrow, muscle, and brain. *Exp Hematol.* 2002;30:896-904.

47. Verfaillie CM, Schwartz R, Reyes M, Jiang Y. Unexpected potential of adult stem cells. *Ann N Y Acad Sci.* 2003;996:231–234.
48. Verfaillie CM. Adult stem cells: assessing the case for pluripotency. *Trends Cell Biol.* 2002;12:502-508.
49. Shiota, M., Heike, T., Haruyama, M., Baba, S., Tsuchiya, A., Fujino, H., Kobayashi, H., Kato, T., Umeda, K., Yoshimoto, M. et al. Isolation and characterization of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells with myogenic and neuronal properties. *Exp. Cell Res.* 2007; 313 1008-1023.
50. Ito T, Suzuki A, Okabe M, Imai E, Hori M. Application of bone marrow-derived stem cells in experimental nephrology. *Exp Nephrol* 2001;9:444–450,
51. Neuhuber B, Gallo G, Howard L, Kostura L, Mackay A, Fischer I. Reevaluation of in vitro differentiation protocols for bone marrow stromal cells: disruption of actin cytoskeleton induces rapid morphological changes and mimics neuronal phenotype. *J Neurosci Res* 2004; 77:192-204.
52. Minguell JJ, Erices A. Mesenchymal stem cells and the treatment of cardiac disease. *Exp Biol Med* 2006; 231:39-49.
53. Uemura R, Xu MF, Ahmad N, Ashraf M. Bone marrow stem cells prevent left ventricular remodeling of ischemic heart through paracrine signaling. *Circ Res.* 2006;98:1414-1421.
54. Mathur A, Martin JF. Stem cells and repair of the heart. *Lancet* 2004; 364: 183-92.
55. Reinecke R, Minami E, Zhu WZ, Laflamme MA. Cardiogenic differentiation and transdifferentiation of progenitor cells. *Circ. Res.* 2008;103:1058-1071.
56. Jackson KA, Majka SM, Wang H, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest* 2001; 107: 1395–402.
57. Kuramochi Y, Fukazawa R, Migita M, et al. Cardiomyocyte regeneration from circulating bone marrow cells in mice. *Pediatr Res* 2003; 54: 319-25.
58. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Bodine DM, Leri A, Anversa P. Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice. *Ann N Y Acad Sci USA* 2001; 938: 221-30.
59. Saito T, Kuang JQ, Lin CC, Chiu RC. Transcoronary implantation of bone marrow stromal cells ameliorates cardiac function after myocardial infarction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 126: 114-23.
60. Ciulla MM, Lazzari L, Pacchiana R, et al. Homing of peripherally injected bone marrow cells in rat after experimental myocardial injury. *Haematologica* 2003; 88: 614-21.
61. Terada N, Hamazaki T, Oka M, et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature* 2002; 416: 542-45.
62. Alvarez-Dolado M, Pardo R, Garcia-Verdugo JM, et al. Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature* 2003; 425: 968-73.
63. Oh H, Bradfute SB, Gallardo TD, et al. Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100: 12313-18.
64. Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature* 2004; 428: 664–68.
65. Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, Kofidis T, Weissman IL, Robbins RC. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium.
66. Chien KR. Stem cells: lost in translation. *Nature* 2004; 428:607-08.
67. Fuchs S, Baffour R, Zhou YF, et al. Transendocardial delivery of autologous bone marrow enhances collateral perfusion and regional function in pigs with chronic experimental myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 1726–32.
68. Hamano K, Li TS, Kobayashi T, et al. Therapeutic angiogenesis induced by local autologous bone marrow cell implantation. *Ann Thorac Surg* 2002; 73: 1210-15.
69. Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, et al. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation* 2001; 104: 1046-52.
70. Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, et al. Improvement of collateral perfusion and regional function by implantation of peripheral blood mononuclear cells into ischemic hibernating myocardium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 1804-10.
71. Kobayashi T, Hamano K, Li TS, et al. Enhancement of angiogenesis by the implantation of self bone marrow cells in a rat ischemic heart model. *J Surg Res* 2000; 89: 189-95.
72. Wagers AJ, Sherwood RI, Christensen JL, Weissman IL. Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. *Science.* 2002;297:2256-2259.
73. Deb A, Wang S, Skelding KA, Miller D, Simper D, Caplice NM. Bone marrow-derived cardiomyocytes are present in adult human heart: a study of gender-mismatched bone marrow transplantation patients. *Circulation.* 2003;107:1247-1249.
74. Fukuda K, Yuasa S. Stem cells as a source of regenerative cardiomyocytes. *Circ. Res.* 2006;98:1002-1013.

75. Friedenstein AJ, Piatetzky-Shapiro II, Petrakova KV. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. *J Embryol Exp Morphol.* 1966;16: 381-390.
76. Pittenger MF, Mosca JD, McIntosh KR. Human mesenchymal stem cells : progenitor cells for cartilage, bone, fat and stroma. *Curr Top MicrobiolImmunol.* 2000;251:3-11.
77. Shake JG, Gruber PJ, Baumgartner WA, Senechal G, Meyers J, Redmond JM, Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects. *AnnThorac Surg.* 2002;73:1919–1926.
78. Caparelli DJ, Cattaneo SM, Shake JG, Flynn EC, Meyers J, Baumgartner WA, Martin BJ. Cellular myoplasty with mesenchymal stem cells results in improved cardiac performance in a swine model of myocardial infarction. *Circulation.*2001;104:II-599
79. Silva GV, Litovsky S, Assad JA, Sousa AL, Martin BJ, Vela D, Coulter SC, Lin J, Ober J, Vaughn WK, Branco RV, Oliveira EM, He R, Geng YJ, Willerson JT, Perin EC. Mesenchymal stem cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a canine chronic ischemia model. *Circulation.*2005; 111: 150–156
80. Quevedoa HC, Hatzistergosa KE, Oskoueia BN, Feigenbauma GS,. Rodrigueza JE,Valdesa D, Pattanya PM, Zambrano JP, Hua QH, McNiecea I, Heldmana, AWHarea JM. Allogeneic mesenchymal stem cells restore cardiac function in chronic ischemic cardiomyopathy via trilineage differentiating capacity. *PNAS* 2009; 106: 14022-14027.
81. Chen SL, Fang WW, Ye F, Liu YH, Qian J, Shan SJ, Zhang JJ, Chunhua RZ, Liao LM, Lin S, Sun JP. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2004; 94:92-95,
82. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, Fichtner S, Korte T, Hornig B, Messinger D, Arseniev L, Hertenstein B, Ganser A, Drexler H. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet* 2004; 364:141-148.
83. Nagaya N, Fujii T, Iwase T, Ohgushi H, Itoh T, Uematsu M, Yamagishi M, Mori H, Kangawa K, Kitamura S. Intravenous administration of mesenchymal stem cells improves cardiac function in rats with acute myocardial infarction through angiogenesis andmyogenesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287:H2670-H2676.
84. Vulliet PR, Greeley M, Halloran SM, MacDonald KA, Kittleson MD. Intra-coronary arterial injection of mesenchymal stromal cells and microinfarction in dogs. *Lancet* 2004; 363:783-784.
85. Florenzano F, Minguell JJ. Autologous mesenchymal stem cell transplantation after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2005; 95: 435-
86. Dai W, Hale SL, Martin BJ, Kuang J-Q, Dow JS, Wold LE, Kloner RA. Allogeneic mesenchymalstemcelltransplantation in postinfarcted rat myocardium: short- and long-term effects. *Circulation.*2005; 112: 214–223.
87. Wollert KC, Drexler H. Mesenchymal stem cells for myocardial infarction: promises and pitfalls. *Circulation.* 2005;112:151-153.
88. Zhang M, Methot D, Poppa V, Fujio Y, Walsh K, Murry CE. Cardiomyocyte grafting for cardiac repair: graft cell death and anti-death strategies. *J Mol Cell Cardiol.* 2001;33:907–921.
89. Del Re DP, Sadoshima J. Optimizing cell-based therapy for cardiac regeneration.*Circulation* 2009;120;831-834.
90. Huang J, Zhang JP, Guo J, Ni AG, Deb A, Zhang L, Mirotsou M, Pratt RE, Dzau VJ. Genetic modification of mesenchymal stem cells overexpressing CCR1 increases cell viability, migration, engraftment, and capillary density in the injured myocardium. *Cir Res* 2010;106:1753-1762.

INDUCED PLURIPOTENT STEM CELL DAN PENYAKIT KARDIOVASKULER

- **PENDAHULUAN**
- **SIFAT UMUM SEL PUNCA**
- **SUMBER DAN DIFERENSIASI INDUCED PLURIPOTENT STEM CELL (iPSC)**
- **PEMBENTUKAN KARDIOMIOSIT DARI SEL iPS**
- **SEL iPS DAN PENGOBATAN PENYAKIT JANTUNG**
- **PENGGUNAN iPSC BERDASARKAN PASIEN DAN PENYAKIT**
- **KESIMPULAN**
- **DAFTAR PUSTAKA**

PENDAHULUAN

Sel punca diinduksi pluripoten (disingkat sel iPS) [Induced pluripotent stem cell (iPS) cell] adalah sel yang berasal dari sel somatik dewasa berdiferensiasi terminal, yang “direprogram” menyerupai sel embrio dengan beberapa faktor transkripsi yang mengatur diferensiasi sel.¹ Pelopor penelitian, Takahashi dan Yamanaka melaporkan bahwa overekspresi faktor transkripsi, Oct3/4, Sox2, c-Myc dan Klf4, dapat mereprogram fibroblast mencit menjadi sel yang bersifat pluripoten ini.² Hasil penelitian ini membuka tabir baru dalam komunitas penelitian biomedik termasuk penelitian kardiovaskuler.¹ Hal ini disebabkan sel ini bersifat autologus (tidak memerlukan immunosupresan), pluripotensi (dapat berdiferensiasi menjadi 3 lapis sel germinal; ektodermal, mesodermal dan endodermal), tidak kontroversial (tidak menimbulkan masalah etika karena berasal dari jaringan dewasa) dan berasal dari banyak sumber (dari sel dewasa; kulit fibroblast, sel darah tepi).^{1,3}

Tahun 2007, kurang dari satu tahun setelah ditemukan reprogram fibroblast mencit, teknik epigenetik ini dapat diekstrapolasikan pada manusia dengan menggunakan kombinasi faktor reprogram yang sama : octamerbinding transcription factor-3/4 (Oct 3/4), SRY-related high-mobility group (HMG)-box protein-2 (Sox2), Kruppel-like factor 4 (Klf4) dan c-Myc atau sedikit perubahan kombinasi transgen (*OCT4*, *NANOG*, *SOX2*, *LIN28*) ke dalam fibroblast manusia.^{4,5,6} Sel iPS manusia ini dihasilkan setelah 9 tahun diperoleh sel embrio manusia.⁷ Sedangkan sel embrio manusia baru ada setelah hampir 17 tahun ditemukan sel punca embrio mencit tahun 1981 oleh dua kelompok independen.^{8,9,10} Secara morfologi, ekspresi gen, dan status gen spesifik pluripotensi, sel iPS manusia sama dengan sel embrio manusia. Kedua jenis sel ini dapat berdiferensiasi menjadi 3 lapis germinal secara *in vitro* menjadi sel dewasa dan menghasilkan teratoma secara *in vivo*.⁷ Sel punca dewasa bersifat multipoten, yaitu menghasilkan beberapa tipe sel terdiferensiasi, misalnya sel punca hematopoetik menghasilkan jenis sel mesodermal ketika ditransplantasikan ke dalam sumsum tulang pada pasien leukemia. Sel punca dewasa multipoten ini tidak menghasilkan sel endodermal atau ektodermal di dalam sumsum tulang.¹ Karena itu, iPS yang bersifat pluripoten merupakan sel yang paling menarik perhatian untuk kedokteran regeneratif,¹ termasuk untuk regenerasi miokard dan vaskuler (Gambar 1).¹¹

SIFAT UMUM SEL PUNCA

Sel punca didefinisikan sebagai sel yang mampu membelah diri (self-renewal) dan berdiferensiasi.¹ Dikenal 2 tipe sel : sel punca embrio dan sel punca

dewasa. Sel punca embrio berasal dari lapisan *inner cell mass* pada blastula fetus dan bersifat pluripoten, yaitu mampu berdiferensiasi menjadi setiap tipe sel dewasa yang dijumpai pada tubuh orang dewasa. Sel embrio dapat bereplikasi melalui pembelahan mitosis dan mempertahankan dalam keadaan tidak terdiferensiasi (pembelahan diri) atau berdiferensiasi menjadi sel dengan garis turunan spesifik di bawah stimuli yang sesuai. Dua puluh delapan tahun setelah laporan pertama dan sepuluh tahun setelah keberhasilan mendapatkan sel embrio manusia, US Food Drug and Administration (FDA) menyetujui uji klinis pertama menggunakan sel embrio manusia untuk cedera medula spinalis tahun 2008. Namun, sampai sekarang, belum ada satu pasien pun terdaftar sebagai subjek penelitian, meskipun penelitian telah masuk fase ke 2.¹² Penundaan ini bersifat multifaktorial, selain isu etika, risiko onkogenik, dan rejeksi dari sel graft karena melibatkan penggunaan alogenik (sumber lain). Telah dilaporkan pasien pertama mendapat tumor otak multipel dan medulla spinalis setelah mendapat sel punca saraf dari fetus.¹³

Sel punca dewasa hanya mampu menghasilkan satu lapis sel germinal, namun sel ini juga mempunyai sifat plastisitas, yaitu menghasilkan sel baru di luar batas pembentukan sel asal (baca bab 3). Dengan kata lain, sel ini bersifat multipoten. Aplikasi sel punca dewasa dalam terapeutik sejalan dengan perkembangan penelitian klinis dibandingkan dengan sel punca lain.¹ Penelitian eksperimental dengan menggunakan sel punca dewasa, baik EPC (bab 8), maupun sel punca sumsum tulang (bab 9) telah berhasil digunakan untuk neovaskularisasi dan regenerasi miokard. Penelitian klinis juga telah menunjukkan manfaat sel punca dewasa dalam memperbaiki fungsi ventrikel kiri, mengurangi angka mortalitas dan mencegah infark miokard dan revaskularisasi (volume 2, segera diterbitkan).

Bentuk ketiga sel punca adalah induced pluripotent stem cell (iPS) cells. Perbedaan ketiga tipe sel baik kelebihan maupun kekurangan masing-masing, dapat dilihat pada Gambar 2.¹

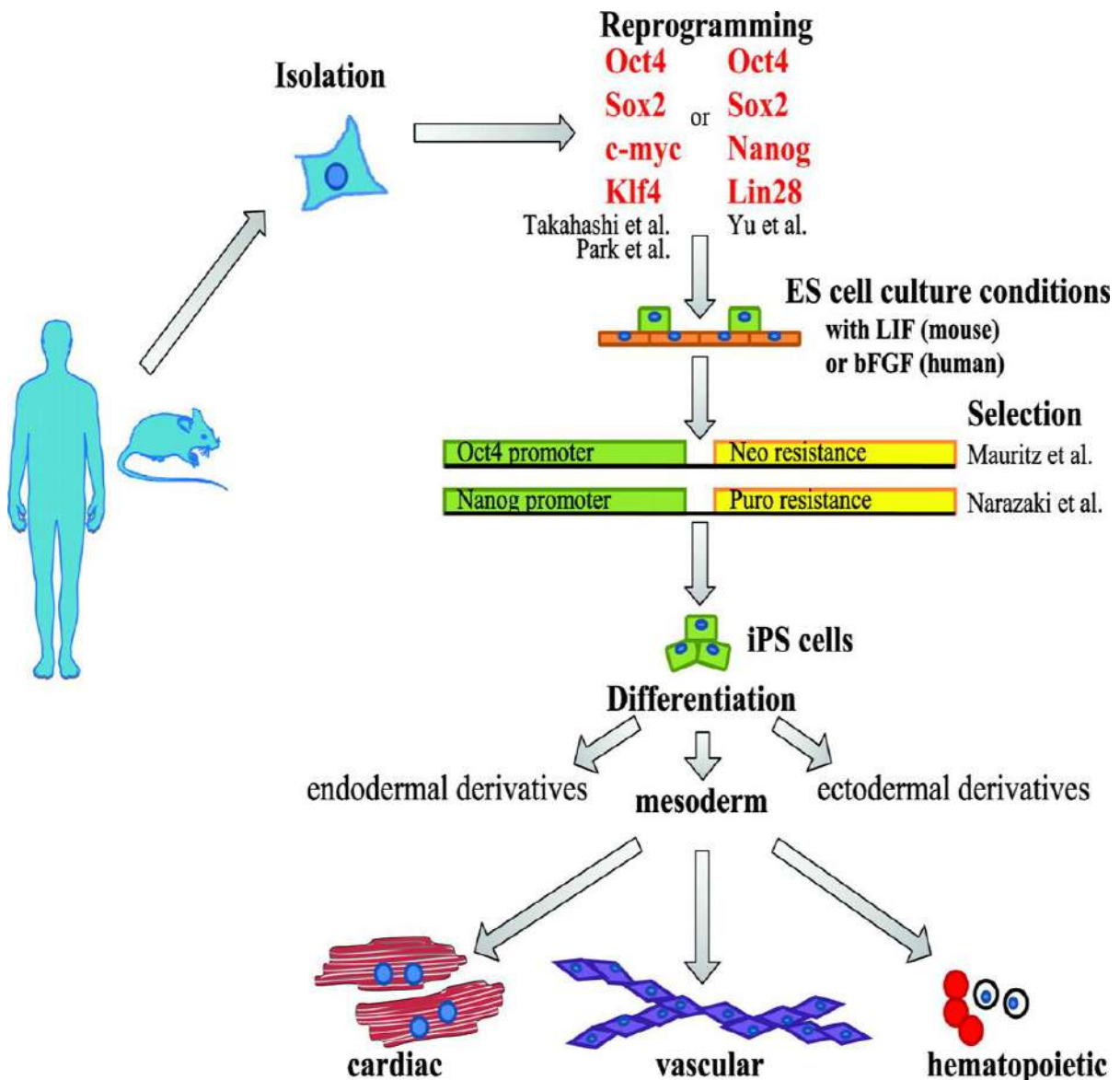
SUMBER DAN DIFERENSIASI INDUCED PLURIPOTENT STEM CELL (iPSC)

Dengan menggunakan 4 faktor transkripsi (Oct3/4, Sox2, c-Myc dan Klf4), dengan transduksi dimediasi oleh vektor retrovirus, Takahashi dan Yamanaka berhasil menginduksi fibroblast kulit mencit menjadi sel bersifat pluripoten, dikenal sebagai sel iPS. Hasil sel iPS mencit ini dapat berdiferensiasi menjadi derivat sel 3 lapis germinal (Gambar 3),⁷ termasuk kardiomiosit.^{14,15} Dalam studi yang bersamaan, Thomson et al.¹⁰ memfokuskan pada Oct 3/4 and Sox2 bersama dengan Nanog dan Lin28. Kedua kelompok menggunakan vektor viral untuk

menimbulkan overekspresi gen yang menyandi faktor reprogram pada fibroblast manusia.¹Faktor transkripsi ini diperlukan untuk induksi, bukan mempertahankan pluripotensi.¹⁶

Pada awalnya, sel iPS berasal dari sel somatik dengan 4 faktor transkripsi yang ditransduksi oleh vektor retroviral atau lentiviral, dan transgen ini dimasukkan secara acak ke dalam genom pada host penerima yaitu mencit. Insersi transgen ini dapat mengganggu gen alamiah mencit. Ekspresi transgenik yang menetap akan menimbulkan sel iPS bersifat refraktori terhadap diferensiasi baik *in vitro* maupun *in*

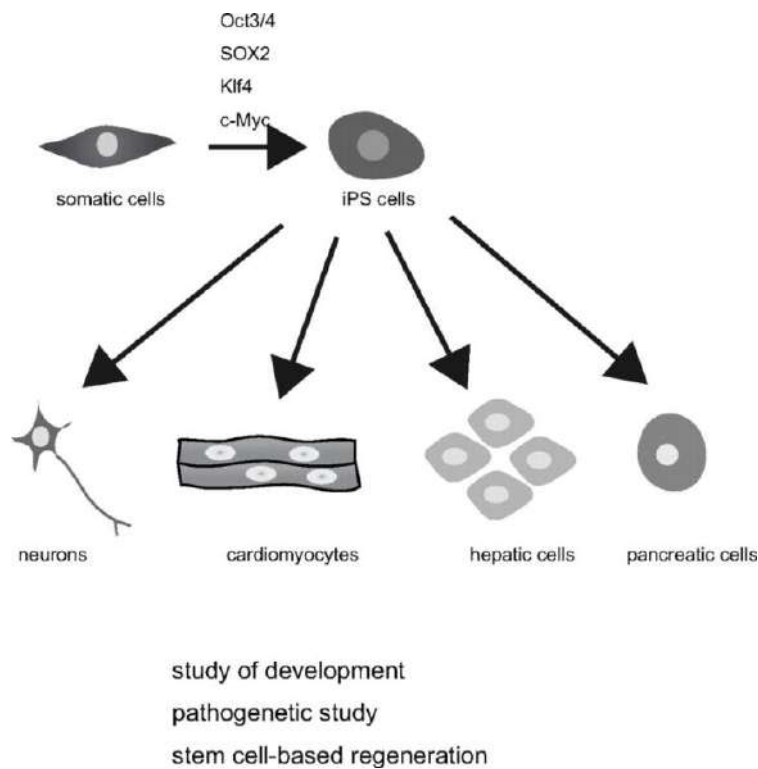
vivo.⁷ Di samping itu, ekspresi transgen aberan seperti c-Myc dapat menyebabkan perkembangan tumor. Okita et al melaporkan bahwa kimera dan progeni yang berasal dari sel iPS sering menunjukkan pembentukan tumor.¹⁶ Di dalam tumor ini dijumpai reaktivasi ekspresi retroviral dari c-Myc. Di sisi lain, efisiensi reprogramming sel somatik menjadi sel iPS amat rendah. Problem ini, yaitu tumorigenitas dan efisiensi reprogramming yang rendah menyebabkan hambatan penggunaan teknologi iPS ke dalam aplikasi klinis.⁷ Karena itu, upaya untuk menghilangkan proto-onkogen selama reprogramming akan mengurangi risiko transformasi tumorigenik.¹⁷



Gambar 1. Pembentukan sel iPS. Sel somatik mencit dan manusia (misalnya, fibroblast dermal) diisolasi dan direprogram dengan konstruk viral yang menyandi 4 faktor transkripsi yang ditemukan pada sel embrio. Sel ini ditumbuhkan di dalam kondisi kultur sel embrio (pada feeder layer dari fibroblast mencit yang disuplemen dengan leukemia inhibitory factor untuk mencit dan basic fibroblast growth factor untuk manusia dan diseleksi dengan gen resisten antibiotik yang dibawa oleh promoter Oct 4 atau Nanog. Sel iPS tumbuh secara klonal dan dapat didiferensiasi menjadi 3 lapis germinal. Dikutip dari Tulloch NL, Pabon L Murry CE. Get with the (Re) program: cardiovascular potential of skin-derived induced pluripotent stem cells. *Circulation* 2008;118:472-475.

ESCs	Adult SCs	iPSCs
<p>Isolate from the inner cell mass of the blastocyst</p> <p>ESCs</p> <p>Endoderm Mesoderm Ectoderm</p>	<p>Circulating precursors</p> <p>Bone marrow derived Tissue derived</p> <p>Adult SCs</p> <p>Vascular integration and for pro-angiogenic paracrine factors</p> <p>Enhanced perfusion and tissue function</p>	<p>Isolate and amplify somatic cells</p> <p>Retroviral transfection</p> <p>Pluripotency induction</p> <p>iPSCs</p> <p>Endoderm Mesoderm Trophoblast Ectoderm</p>
<p>Origin:</p> <ul style="list-style-type: none"> Blastocyst of embryo <p>Strengths:</p> <ul style="list-style-type: none"> Pluripotent (3 germ layers) Self-renewal and high replicative capacity <p>Weaknesses:</p> <ul style="list-style-type: none"> Immunological concerns Subject to ethical debate Potential for teratoma and teratocarcinoma Currently no clinical trial data 	<p>Origin:</p> <ul style="list-style-type: none"> Bone marrow, circulation or resident tissue <p>Strengths:</p> <ul style="list-style-type: none"> Autologous Clinical safety and efficacy data Typically lineage committed <p>Weaknesses:</p> <ul style="list-style-type: none"> Limited number Limited replicative capacity Lineage restricted 	<p>Origin:</p> <ul style="list-style-type: none"> Reprogramming of somatic cells <p>Strengths:</p> <ul style="list-style-type: none"> Totipotent (3 germ layers and trophoblast) Autologous Large reservoir of cells <p>Weaknesses:</p> <ul style="list-style-type: none"> Potential for teratoma and teratocarcinoma No clinical data

Gambar 2. ESC (embryonic stem cell), ASC (adult stem cell) dan iPSC (induced pluripotent stem cells)
 Dikutip dari Leeper NJ, Hunter AL, Cooke JP. Stem cell therapy for vascular regeneration: adult, embryonic, and induced pluripotent stem cells. *Circulation* 2010;122:517-526.



Gambar 3. Sel iPS dapat dihasilkan dari sel somatik dengan melakukan reprogram faktor transkripsi secara *in vitro*. Sel ini dapat berdiferensiasi menjadi berbagai tipe sel.
 Dikutip dari Yoshida Y, Shinya Yamanaka S. Recent stem cell advances: induced pluripotent stem cells for disease modeling and stem cell-based regeneration. *Circulation* 2010;122:80-87

Dengan menggunakan 3 faktor transkripsi, SOX2, OCT4, and KLF4, tanpa c-Myc, meskipun faktor ini diperlukan untuk ekspresi gen kardiovaskuler,^{18,19,20} Martinez-Fernandez et al.²¹ melaporkan bahwa ke-3 faktor ini dapat menginduksi marker sel punca menghasilkan 3 lapis germinal, sehingga bersifat pluripotensi. Klon 3F-iPS ini menunjukkan diferensiasi jantung ditandai dengan aktivitas denyutan dari embrioid body dan ekspresi kuat marker jantung Mef2c, α -actinin, connexin43, MLC2a, and troponin I. Kardiomyosit hasil sel iPS menunjukkan functional excitation-contraction coupling secara *in vitro*. Dalam penelitian Martinez-Fernandez et al digunakan sistem lentivirus untuk mentransduksikan ke 3F tersebut. Namun, keberhasilan kelompok peneliti ini dalam mengintegrasikan lentiviral 3F sel iPS dalam diferensiasi menjadi otot jantung merupakan suatu kemajuan dalam upaya penyempurnaan teknologi iPS.²²

Pendekatan untuk menghasilkan sel iPS berubah dengan cepat. Molekul kecil telah digunakan untuk meningkatkan efisiensi iPS cell lines, sehingga memungkinkan penggunaan 2 transgen untuk menghasilkan iPS cell line.^{23,24} Sel iPS menciit dapat dihasilkan melalui penggunaan transfeksi adenovirus atau dimediasi plasmid, sehingga dapat menghindari potensi yang berhubungan dengan integrasi transgen dari viral.^{25,26} Dengan hanya menggunakan protein rekombinan tanpa transgen juga dihasilkan sel iPS.²⁷ Teknik menggunakan transgen nonintegrasi dengan viral juga telah menghasilkan iPS pada sel manusia.²⁸ Kemampuan teknologi menghasilkan sel iPS telah melebihi kemampuan melakukan investigasi sifat yang dihasilkan sel iPS.

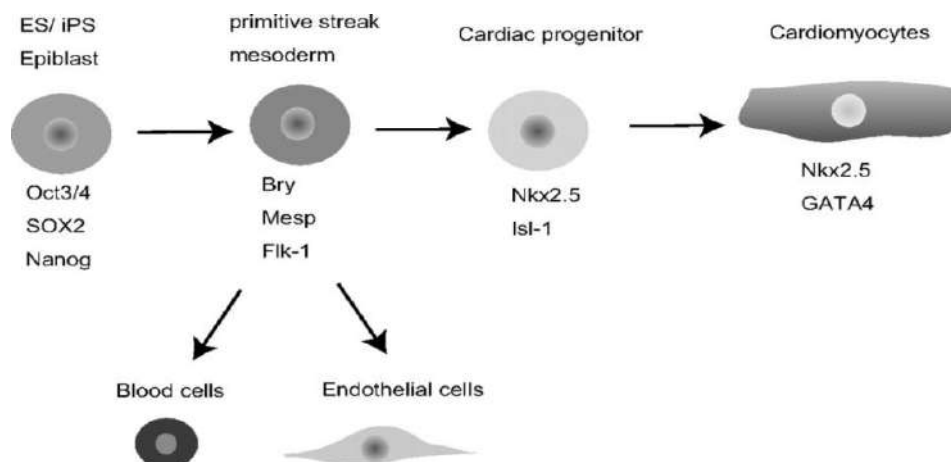
Fibroblast kulit menciit merupakan target pertama dalam upaya reprogramming, namun tipe sel lain telah digunakan untuk menginduksi sel pluripotensial.¹

Kini, sel iPS telah dapat diperoleh dari berbagai sumber jaringan,⁷ termasuk fibroblast embrio,¹⁶ adult tail-tip fibroblast,¹⁷ hepatosit,²⁹ sel epitel lambung,²⁹ sel pancreas,³⁰ sel punca saraf^{31,32} keratosit³³ dan sel darah tepi manusia.³⁴ Tidak diketahui apakah sel punca pluripoten yang dihasilkan memiliki ciri yang sama.⁷

Miura et al.,³⁵ mendapatkan neurosphere mengandung sel punca saraf dari iPS cell lines, berasal dari fibroblast embrio, adult tail-tip fibroblast, hepatosit dan sel epitel lambung, dan mengevaluasi kecenderungan terjadi teratoma dari neurosphere sekunder. iPS cell lines dari tail tip fibroblast mengandung lebih banyak sel tidak terdiferensiasi daripada iPS embrio fibroblast. Data ini menunjukkan bahwa sel iPS yang berasal dari sumber berbeda memiliki potensi diferensiasi berbeda juga, sehingga tipe sel tertentu akan lebih baik dalam mencapai reprogramming yang komplrit dan mengurangi risiko pembentukan teratoma.⁷

PEMBENTUKAN KARDIOMIOSIT DARI SEL iPS

Sejumlah penelitian telah melaporkan bahwa sel iPS menciit dan manusia dapat berdiferensiasi menjadi kardiomyosit,^{36,37,38,39} namun efisiensi diferensiasi masih rendah, dan ini merupakan isu penting.⁷ Kardiomyosit yang dihasilkan dari sel embrio dan sel iPS terdiri dari sub tipe, termasuk atrium, sinus nodal, dan ventrikel. Analisis elektrofisiologi menunjukkan perbedaan potensi aksi dari masing-masing sub tipe. Diferensiasi kardiomyosit dari sel embrio menyerupai proses perkembangan dalam embrio (Gambar 4).⁷ Karena itu, beberapa penelitian memfokuskan pada perkembangan jaringan jantung selama diferensiasi sel embrio secara *in vitro*.^{40,41,42}



Gambar 4. Skema diferensiasi kardiomyosit dari sel embrio dan sel iPS. Kardiomyosit berasal dari sel progenitor mesenkimal dengan flk-1 positif.

Dikutip dari Yoshida Y, Shinya Yamanaka S. Recent stem cell advances: induced pluripotent stem cells for disease modeling and stem cell-based regeneration. *Circulation* 2010;122:80-87

Dengan menggunakan transgenOCT4, SOX2, NANOG, dan LIN28 dalam menghasilkan sel iPS manusia, Zhang et al melaporkan bahwa sel iPS manusia dapat berdiferensiasi menjadi kardiomyosit yang berkontraksi. Dengan analisis elektrofisiologi menunjukkan bahwa sel iPS mempunyai kapasitas sama dengan sel embrio dengan diferensiasi fenotipe nodus, atrium dan ventrikel berdasarkan potensial aksi (Gambar 5).³⁸

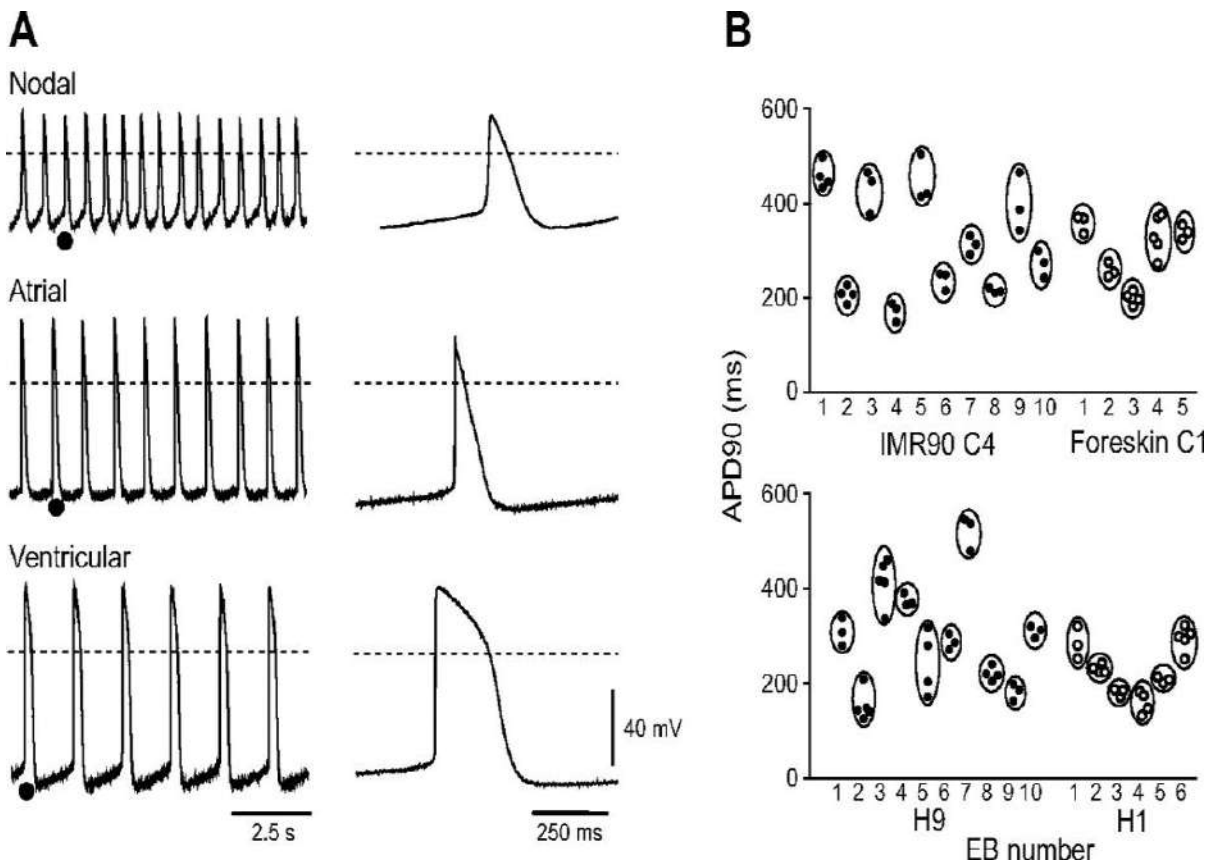
SEL iPS DAN PENGOBATAN PENYAKIT JANTUNG

Transplantasi sel jantung berasal dari sel embrio atau sel iPS menunjukkan integrasi ke dalam jantung dan meningkatkan fungsinya (Gambar 6).^{43,44} Namun mekanisme yang mendasarinya belum diketahui.⁴⁵ Beberapa model penyakit, termasuk sickle cell anemia, penyakit Parkinson dan hemofili A berhasil diobati menggunakan sel iPS.^{46,47,48}

Dengan menggunakan OCT3/4, SOX2, KLF4, and c-MYC, Nelson et al. melaporkan bahwa sel iPS yang diperoleh, disuntikkan secara intramiokardberasal dari fibroblast embrio mencit

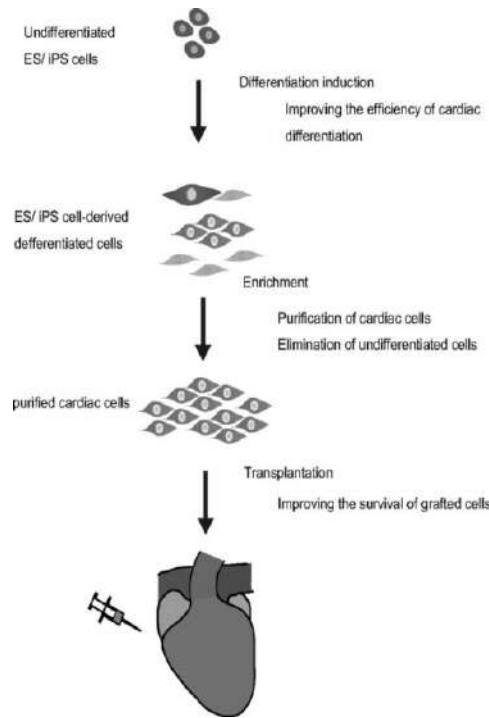
dapat memulihkan fungsi jantung pascainfark (Gambar 7)⁴⁹ karena terjadi regenerasi jantung, otot polos dan jaringan endotel secara *in situ*. Pada transplantasi ini tidak ditemukan teratoma dalam jantung resipien meskipun digunakan sel iPS undifferentiated. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi infark miokard pada resipien imunokompeten memberikan lingkungan mikro untuk diferensiasi dan menunjukkan pula potensi terapeutik sel iPS pada infark miokard.⁴⁹

Namun, kemungkinan pembentukan teratoma dengan sel undifferentiated yang tersisa merupakan isu paling penting dalam terapi sel menggunakan sel embrio dan iPS.⁷ Teratoma jantung dapat mengakibatkan aritmia fatal, tamponade jantung dan gagal jantung. Karena itu, perlu untuk mengeliminasi sel undifferentiated dari graft untuk mencegah pembentukan teratoma. Hal ini dapat dilakukan dengan pemurnian sel jantung.⁷ Hattori et al.⁵⁰ melaporkan bahwa purifikasi > 99% dapat dicapai dengan menggunakan zat warna fluoresen berlabel mitokondria dengan alat fluorescence-activated cell sorting (FACS). Metode nongenetik ini dapat digunakan dalam klinis.



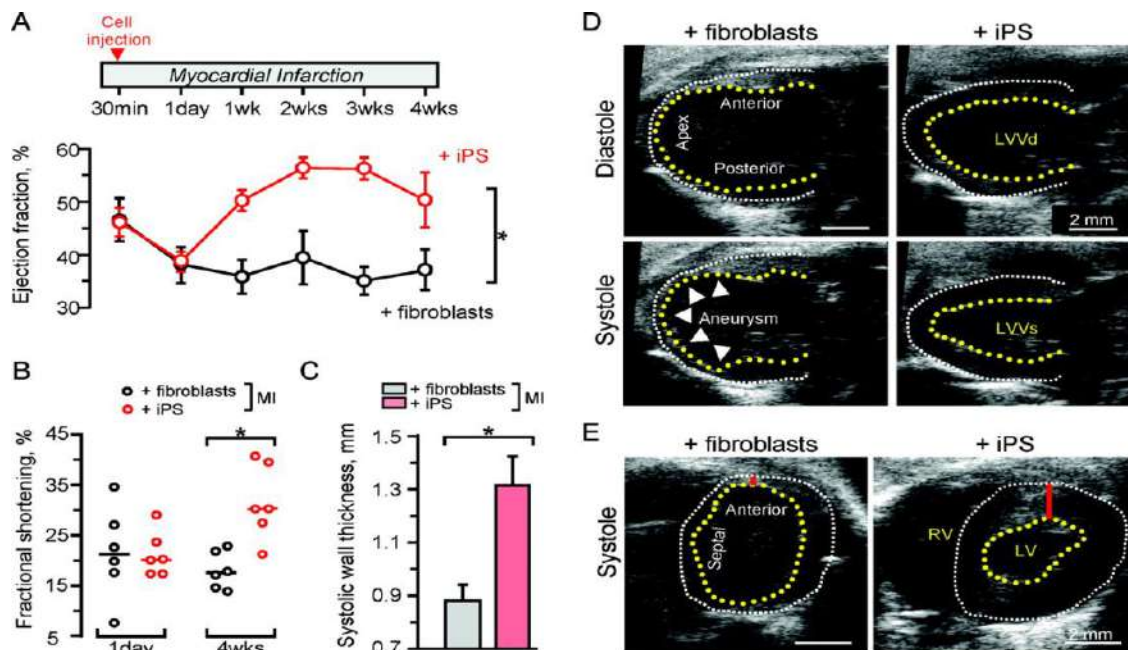
Gambar 5. Karakteristik elektrofisiologi kardiomyosit berasal dari sel iPS. A. Rekaman representatif dari 3 embryonic bodies (EB) dari iPS menunjukkan 3 potensial aksi utama. Kanan, potensial aksi berdasarkan skala waktu diambil dari regio di sebelah kiri (●). Garis terputus-putus menunjukkan 0 mV. B, Kardiomyosit dalam EB menunjukkan sifat elektrofisiologi yang sama. APD90 dari hasil studi pada sel iPS (atas) atau dari sel embrio (bawah). EB dari 3 atau lebih sel yang diperiksa.

Dikutip dari . Zhang J, Wilson GF, Soerens AG, Koonce CH, Yu J, Palecek SP, Thomson JA, Kamp TJ. Functional cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells. *Circ Res.* 2009;104:e30–e41.



Gambar 6. Skema terapi regenerasi jantung menggunakan sel punca pluripoten.

Dikutip dari Yoshida Y, Shinya Yamanaka S. *Recent stem cell advances: induced pluripotent stem cells for disease modeling and stem cell-based regeneration.* *Circulation* 2010;122:80-87



Gambar 7. Sel iPS memulihkan fungsi setelah infark miokard akut. A, intervensi dilakukan 30 menit setelah ligasi koroner. Terlihat perbedaan EF pada iPS (n =) vs jantung yang diobati fibroblast (n=6) dalam 1 minggu setelah terapi, dan di follow up. * $P=0.002$ dengan ANOVA. B, Fractional shortening sama pada hari 1 setelah infark, tetapi 4 minggu kemudian, perbaikan signifikan hanya terjadi pada jantung diterapi dengan sel iPS. * $P=0.01$. C, Ketebalan dinding septum dapat dipertahankan setelah terapi dengan iPS (n=6) dibandingkan dengan pengobatan fibroblast. * $P=0.006$. D, Ekokardiografi long axis menunjukkan penipisan dinding anterior dan pembentukan aneurisma apeks (kepala anak panah) pada jantung dengan fibroblast dan menunjukkan dinding akinetik (kiri), dibandingkan gerakan dinding sistolik normal dengan pengobatan iPS (kanan). E, Dengan short axis mengkonfirmasi penipisan dinding anterior (bar merah) dan penurunan performan jantung secara keseluruhan dengan pengobatan fibroblast dibandingkan dengan intervensi sel iPS. Garis titik-titik berwarna kuning dan putih menunjukkan masing-masing endokardium dan epikardium.

Dikutip dari . Nelson TJ, Martinez-Fernandez A, Yamada S, Perez-Terzic C, Ikeda Y, Terzic A. *Repair of acute myocardial infarction by human stemness factors induced pluripotent stem cells.* *Circulation.* 2009;120:408-416.

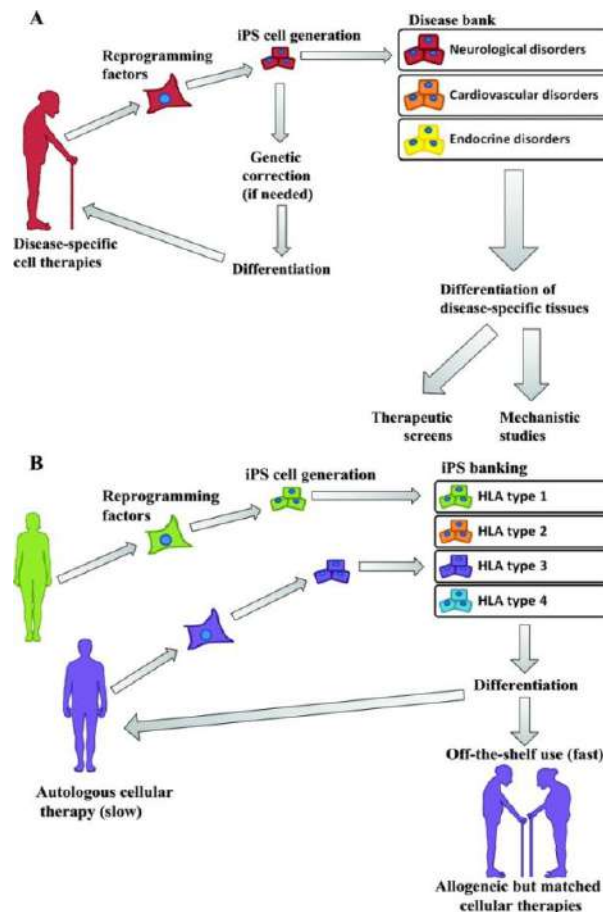
PENGGUNAN iPSC BERDASARKAN PASIEN DAN PENYAKIT

Terapi sel didasarkan pada penyakit yang diderita pasien merupakan suatu terobosan terapi baru. Sel iPSC yang dihasilkan dari pasien yang terkena suatu penyakit tertentu akan memungkinkan dihasilkan sel iPSC dari penyakit pasien dalam jumlah besar.⁵¹ Sebaliknya sel ini dapat digunakan untuk terapi pergantian sel secara autologus, modeling penyakit dan penemuan obat.⁵¹ Sel iPSC telah diperoleh dari pasien dengan berbagai penyakit seperti amyotrophic lateral sclerosis,⁵¹ Fanconi anemia,⁵² adenosine deaminase deficiency,⁵³ Schwachman-Bodian-Diamond syndrome,⁵³ Gaucher disease,⁵³ Duchenne dan Becker muscular dystrophy,⁵³ Parkinson disease,⁵⁴ Huntington disease, type 1 diabetes mellitus, Down syndrome, Lesch-Nyhan syndrome, spinal muscular atrophy,⁵⁵

Dimon et al⁵¹ mendapatkan pasien familial amyotrophiclateral sclerosis (ALS) berusia 82 tahun

dan diperoleh sel iPSC yang dapat berdiferensiasi menjadi motor neuron, tipe sel yang rusak akibat ALS. Sel iPSC yang diperoleh dapat ditransplantasikan kembali kepada pasien untuk mendapatkan motor neuron yang baru.

Sel iPSC yang spesifik terhadap penyakit dari pasien dengan penyakit jantung seperti congenital long QT syndrome, Brugada syndrome, catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia, arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy, dan aritmia genetik lainnya dapat digunakan untuk menjelaskan mekanisme penyakit, sehingga menghasilkan penemuan terapi baru. (Gambar 8A).¹¹ Sel iPSC yang spesifik terhadap penyakit bukan digunakan untuk kondisi akut, tetapi dapat dianalogikan dengan bank sumsum tulang atau sebagai bank iPSC cell lines yang dapat disesuaikan dengan HLA pasien yang sangat berbeda, sehingga dapat digunakan sebagai terapi yang tersedia (Gambar 8B).¹¹



Gambar 8. Penggunaan sel iPSC spesifik untuk penyakit. Sel iPSC dapat dihasilkan dari pasien, yang memerlukan koreksi genetik (jika diperlukan) melalui seleksi dan rekombinasi homolog secara *in vitro* dan berdiferensiasi menjadi sel dan jaringan untuk penggunaan terapi autologus. Cell line ini dapat didiferensiasi dan digunakan untuk skrining molekuler dan untuk mengetahui mekanisme dan patogenesis penyakit. B, Bank sel iPSC untuk terapi standar. Sel iPSC dapat dihasilkan dari orang dengan kesesuaian HLA dari satu populasi. Sel ini dapat disimpan dalam bank dan didiferensiasikan untuk penggunaan yang tersedia, memberikan terapi alogenik dengan HLA yang telah disesuaikan, dan memberikan pelayanan pengobatan lebih cepat daripada terapi autologus yang dihasilkan kasus per kasus.

Dikutip dari Tulloch NL, Pabon L Murry CE. Get with the (Re) program: cardiovascular potential of skin-derived induced pluripotent stem cells. *Circulation* 2008;118:472-475.

KESIMPULAN

Teknologi berkembang dengan sangat pesat, sejak ditemukan 4 faktor transkripsi yang dimediasi vector retrovirus dan dapat direprogram menjadi sel pluripoten pada mencit oleh Takahashi dan Yamanaka. Kurang dari satu tahun, telah berhasil ditemukan sel iPS pada manusia, sel yang dapat menghasilkan 3 lapis germinal, menyerupai sel embrio, namun tidak menimbulkan problem etik. Sehingga sel iPS dapat digunakan sebagai terapi didasarkan pada pasien dan penyakit. Penggunaan sel iPS untuk penyakit kardiovaskuler terutama untuk infark miokard karena dalam penelitian telah berhasil mendapatkan sel kardiomyosit, dan perbaikan terhadap fungsi jantung. Pada penyakit jantung QT syndrome kongenital, Brugada syndrome, telah diperoleh sel iPS. Sehingga dapat disediakan untuk terapi penyakit ini. Efisiensi iPS yang rendah, kemungkinan pembentukan teratoma merupakan isu penting penggunaan iPS dan sel embrio. Isu ini harus dapat diatasi sebelum teknologi iPS berhasil digunakan dalam aplikasi klinis. Karena itu, penemuan spektakuler sekarang ini masih merupakan fase primordial dari suatu perjalanan yang panjang. Kalau manusia menjadi dewasa dalam waktu 20 tahun sejak dari bayi, perkembangan sel iPS dalam bidang kedokteran khususnya kedokteran kardiovaskuler mungkin akan lebih singkat, mengingat dalam waktu 4 tahun telah ditemukan diferensiasi sel iPS menjadi kardiomyosit yang siap digunakan untuk reparasi dan regenerasi penyakit jantung.

DAFTAR PUSTAKA

- Leeper NJ, Hunter AL, Cooke JP. Stem cell therapy for vascular regeneration adult, embryonic, and induced pluripotent stem cells. *Circulation* 2010;122;517-526.
- Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126:663-676.
- Yamanaka S. A new path : Induced pluripotent stem cell. In : Lanz R, ed. *Essentials of stem cell biology*. 2nd ed. Elsevier Inc 2009; p. xxi.
- Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131:861-872.
- Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, Nie J, Jonsdottir GA, Ruotti V, Stewart R, Slukvin II, Thomson JA. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*. 2007;318:1917-1920.
- Park IH, Zhao R, West JA, Yabuuchi A, Huo H, Ince TA, Lerou PH, Lensch MW, Daley GQ. Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. *Nature*. 2008;451:141-146.
- Yoshida Y, Shinya Yamanaka S. Recent stem cell advances: induced pluripotent stem cells for disease modeling and stem cell-based regeneration. *Circulation* 2010;122;80-87.
- Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*. 1981;292:154-156.
- Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981;78:7634-7638.
- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998;282:1145-1147.
- Tulloch NL, Pabon L Murry CE. Get with the (Re) program: cardiovascular potential of skin-derived induced pluripotent stem cells. *Circulation* 2008;118;472-475.
- Schenke-Layland K, MacLellan R. Induced pluripotent stem cells. It's like déjà vu all over again. *Circulation*. 2009;120:1462-1464.
- Amariglio N, Hirshberg A, Scheithauer BW, Cohen Y, Loewenthal R, Trakhtenbrot L, Paz N, Koren-Michowitz M, Waldman D, Leider-Trejo L, Toren A, Constantini S, Rechavi G. Donor-derived brain tumor following neural stem cell transplantation in an ataxia telangiectasia patient. *PLoS Med*. 2009;6:e1000029.
- Mauritz C, Schwanke K, Reppel M, Neef S, Katsirntaki K, Maier LS, Nguemo F, Menke S, Haustein M, Hescheler J, Hasenfuss G, Martin U. Generation of functional murine cardiac myocytes from induced pluripotent stem cells. *Circulation*. 2008;118:507-517.
- Narazaki G, Uosaki H, Teranishi M, Okita K, Kim B, Matsuoka S, Yamanaka S, Yamashita JK. Directed and systematic differentiation of cardiovascular cells from mouse induced pluripotent stem cells. *Circulation*. 2008;118:498-506.
- Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature*. 2007;448:313-317.
- Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, Takahashi K, Ichisaka T, Aoi T, Okita K, Mochizuki Y, Takizawa N, Yamanaka S. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nat Biotechnol*. 2008;26:101-106.
- Izumo S, Nadal-Ginard B, Mahdavi V. Protooncogene induction and reprogramming of cardiac gene expression produced by pressure overload. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988;85:339-343.

19. Xiao G, Mao S, Baumgarten G, Serrano J, Jordan MC, Roos KP, Fishbein MC, MacLellan WR. Inducible activation of c-Myc in adult myocardium in vivo provokes cardiac myocyte hypertrophy and reactivation of DNA synthesis. *Circ Res.* 2001;89:1122-1129.
20. Zhong W, Mao S, Tobis S, Angelis E, Jordan MC, Roos KP, Fishbein MC, de Albornán IM, MacLellan WR. Hypertrophic growth in cardiac myocytes is mediated by Myc through a Cyclin D2-dependent pathway. *EMBO J.* 2006;25:3869-3879.
21. Martinez-Fernandez A, Nelson TJ, Yamada S, Reyes S, Alekseev AE, Perez-Terzic C, Ikeda Y, Terzic A. iPS programmed without c-MYC yield proficient cardiogenesis for functional heart chimerism. *Circ. Res.* 2009;105:648-656.
22. Kamp TJ, Lyons GE. On the road to iPS cell cardiovascular applications. *Circ. Res.* 2009;105:617-619.
23. Huangfu D, Osafune K, Maehr R, Guo W, Eijkelenboom A, Chen S, Muhlestein W, Melton DA. Induction of pluripotent stem cells from primary human fibroblasts with only Oct4 and Sox2. *Nat Biotechnol.* 2008;26:1269-1275.
24. Shi Y, Despons C, Do JT, Hahm HS, Scholer HR, Ding S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic fibroblasts by Oct4 and Klf4 with small-molecule compounds. *Cell Stem Cell.* 2008;3:568-574.
25. Stadtfeld M, Nagaya M, Utikal J, Weir G, Hochedlinger K. Induced pluripotent stem cells generated without viral integration. *Science.* 2008;322:945-949.
26. Okita K, Nakagawa M, Hyenjong H, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science.* 2008;322:949-953.
27. Zhou H, Wu S, Joo JY, Zhu S, Han DW, Lin T, Trauger S, Bien G, Yao S, Zhu Y, Siuzdak G, Scholer HR, Duan L, Ding S. Generation of induced pluripotent stem cells using recombinant proteins. *Cell Stem Cell.* 2009;4:381-384.
28. Yu J, Hu K, Smuga-Otto K, Tian S, Stewart R, Slukvin II, Thomson JA. Human induced pluripotent stem cells free of vector and transgene sequences. *Science.* 2009;324:797-801.
29. Aoi T, Yae K, Nakagawa M, Ichisaka T, Okita K, Takahashi K, Chiba T, Yamanaka S. Generation of pluripotent stem cells from adult mouse liver and stomach cells. *Science.* 2008;321:699-702.
30. Stadtfeld M, Brennand K, Hochedlinger K. Reprogramming of pancreatic Beta cells into induced pluripotent stem cells. *Curr Biol.* 2008;18:890-894.
31. Silva J, Barrandon O, Nichols J, Kawaguchi J, Theunissen TW, Smith A. Promotion of reprogramming to ground state pluripotency by signal inhibition. *PLoS Biol.* 2008;6:e253.
32. Eminli S, Utikal J, Arnold K, Jaenisch R, Hochedlinger K. Reprogramming of neural progenitor cells into induced pluripotent stem cells in the absence of exogenous Sox2 expression. *Stem Cells.* 2008;26:2467-2474.
33. Aasen T, Raya A, Barrero MJ, Garreta E, Consiglio A, Gonzalez F, Vassena R, Bilic J, Pekarik V, Tiscornia G, Edel M, Boue S, Belmonte JC. Efficient and rapid generation of induced pluripotent stem cells from human keratinocytes. *Nat Biotechnol.* 2008;26:1276-1284.
34. Loh YH, Agarwal S, Park IH, Urbach A, Huo H, Heffner GC, Kim K, Miller JD, Ng K, Daley GQ. Generation of induced pluripotent stem cells from human blood. *Blood.* 2009;113:5476-5479.
35. Miura K, Okada Y, Aoi T, Okada A, Takahashi K, Okita K, Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, Ohnuki M, Ogawa D, Ikeda E, Okano H, Yamanaka S. Variation in the safety of induced pluripotent stem cell lines. *Nat Biotechnol.* 2009;27:743-745.
36. Schenke-Layland K, Rhodes KE, Angelis E, Butylkova Y, Heydarkhan-Hagvall S, Gekas C, Zhang R, Goldhaber JI, Mikkola HK, Plath K, MacLellan WR. Reprogrammed mouse fibroblasts differentiate into cells of the cardiovascular and hematopoietic lineages. *Stem Cells.* 2008;26:1537-1546.
37. Narazaki G, Uosaki H, Teranishi M, Okita K, Kim B, Matsuoka S, Yamanaka S, Yamashita JK. Directed and systematic differentiation of cardiovascular cells from mouse induced pluripotent stem cells. *Circulation.* 2008;118:498-506.
38. Zhang J, Wilson GF, Soerens AG, Koonce CH, Yu J, Palecek SP, Thomson JA, Kamp TJ. Functional cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells. *Circ Res.* 2009;104:e30-e41.
39. Yamashita JK, Takano M, Hiraoka-Kanie M, Shimazu C, Peishi Y, Yanagi K, Nakano A, Inoue E, Kita F, Nishikawa S. Prospective identification of cardiac progenitors by a novel single cell-based cardiomyocyte induction. *FASEB J.* 2005;19:1534-1536.
40. Metzger JM, Lin WI, Johnston RA, Westfall MV, Samuelson LC. Myosin heavy chain expression in contracting myocytes isolated during embryonic stem cell cardiogenesis. *Circ Res.* 1995;76:710-719.
41. Westfall MV, Samuelson LC, Metzger JM. Troponin I isoform expression is developmentally regulated in differentiating embryonic stem cell-derived cardiac myocytes. *Dev Dyn.* 1996;206:24-38.
42. Miller-Hance WC, LaCorbiere M, Fuller SJ, Evans SM, Lyons G, Schmidt C, Robbins J, Chien KR. In vitro chamber specification during embryonic stem cell cardiogenesis: expression of

- the ventricular myosin light chain-2 gene is independent of heart tube formation. *J Biol Chem.* 1993;268:25244-25252.
43. van Laake LW, Passier R, Monshouwer-Kloots J, Verkleij AJ, Lips DJ, Freund C, den Ouden K, Ward-van Oostwaard D, Korving J, Tertoolen LG, van Echteld CJ, Doevendans PA, Mummery CL. Human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes survive and mature in the mouse heart and transiently improve function after myocardial infarction. *Stem Cell Res.* 2007;1:9 – 24.
 44. Caspi O, Huber I, Kehat I, Habib M, Arbel G, Gepstein A, Yankelson L, Aronson D, Beyar R, Gepstein L. Transplantation of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes improves myocardial performance in infarcted rat hearts. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50:1884 –1893.
 45. Rubart M, Field LJ. ES cells for troubled hearts. *Nat Biotechnol.* 2007; 25:993-994.
 46. Hanna J, Wernig M, Markoulaki S, Sun CW, Meissner A, Cassady JP, Beard C, Brambrink T, Wu LC, Townes TM, Jaenisch R. Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin. *Science.* 2007;318:1920 –1923.
 47. Wernig M, Zhao JP, Pruszak J, Hedlund E, Fu D, Soldner F, Broccoli V, Constantine-Paton M, Isacson O, Jaenisch R. Neurons derived from reprogrammed fibroblasts functionally integrate into the fetal brain and improve symptoms of rats with Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105:5856 –5861.
 48. Xu D, Alipio Z, Fink LM, Adcock DM, Yang J, Ward DC, Ma Y. Phenotypic correction of murine hemophilia A using an iPS cell-based therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106:808–813.
 49. Nelson TJ, Martinez-Fernandez A, Yamada S, Perez-Terzic C, Ikeda Y, Terzic A. Repair of acute myocardial infarction by human stemness factors induced pluripotent stem cells. *Circulation.* 2009;120:408–416.
 50. Hattori F, Chen H, Yamashita H, Tohyama S, Satoh YS, Yuasa S, Li W, Yamakawa H, Tanaka T, Onitsuka T, Shimoji K, Ohno Y, Egashira T, Kaneda R, Murata M, Hidaka K, Morisaki T, Sasaki E, Suzuki T, Sano M, Makino S, Oikawa S, Fukuda K. Nongenetic method for purifying stem cell-derived cardiomyocytes. *Nat Methods.* 2010;7:61– 66.
 51. Dimos JT, Rodolfa KT, Niakan KK, Weisenthal LM, Mitsumoto H, Chung W, Croft GF, Saphier G, Leibel R, Golland R, Wichterle H, Henderson CE, Eggan K. Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science.* 2008;321:1218-1221.
 52. Raya A, Rodriguez-Piza I, Guenechea G, Vassena R, Navarro S, Barrero MJ, Consiglio A, Castella M, Rio P, Sleep E, Gonzalez F, Tiscornia G, Garreta E, Aasen T, Veiga A, Verma IM, Surrallés J, Bueren J, Belmonte JC. Disease-corrected haematopoietic progenitors from Fanconi anaemia induced pluripotent stem cells. *Nature.* 2009;460:53-59.
 53. Park IH, Arora N, Huo H, Maherali N, Ahfeldt T, Shimamura A, Lensch MW, Cowan C, Hochedlinger K, Daley GQ. Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell.* 2008;134:877-886.
 54. Soldner F, Hockemeyer D, Beard C, Gao Q, Bell GW, Cook EG, Hargus G, Blak A, Cooper O, Mitalipova M, Isacson O, Jaenisch R. Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors. *Cell.* 2009;136:964-977.
 55. Ebert AD, Yu J, Rose FF Jr, Mattis VB, Lorson CL, Thomson JA, Svendsen CN. Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient. *Nature.* 2009;457:277-280.

Indeks

A

aberan, 114
 acak, 73, 74, 106, 114
 acute coronary syndrome, 90
 adenovirus, 116
 adhesi, 2, 55, 61, 64, 65, 67, 73, 89, 90, 91
 adipose, 42, 48, 93, 109
 adiposit, 40, 67, 101
 adrenergik, 68
 adrenomedullin, 36
 adult stem cell, iii, 31, 37, 38, 46, 77, 79, 80, 115
 adventisia, 86
 akinetik, 106, 118
 alkali fosfatase, 54
 allogenik, 10, 101
 allograft, 3, 94
 allotransplantasi, 40
alpha-sarcomeric actin, 6, 7
 Amplifying cell, 24
 anafase, 15
 angina, 54, 57
 angiogenesis, 43, 46, 48, 49, 52, 57, 68, 73, 76, 77, 80, 89, 90, 93, 94, 95, 98, 108, 110, 111
 angiogenik, 43, 73, 76, 87, 88
 angioplasti, 5, 72
 angiopoetin, 65, 76
 angiopoetin, 73
 angiotensin II, 89, 95
 angiotensin receptor blocker, 89
 angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor, 89
 angka mortalitas, 2, 52, 72, 77, 90, 113
 antiapoptosis, 76
 antiapoptotik, 38, 76
 antigen, 3, 7, 15, 20, 21, 40, 53, 55, 72, 83, 84, 98
 antigenic, 53
 antigenitas, 101
 antiinflamasi, 37, 76
 antiproliferatif, 89
 antiseptik, 2
 apeks, 16, 17, 21, 24, 40, 118
 aplikasi klinis, 114, 120
 aplikasi terapeutik, 83, 107
 apoptosis, iii, 6, 12, 15, 16, 24, 38, 43, 51, 76, 77, 80, 88, 89, 94, 100, 107, 108
 argentum nitrat, 83, 84
 aritmia, 2, 55, 72, 74, 117, 119
 arteri, 5, 38, 39, 72, 76, 83, 85, 89, 90, 91, 98, 102
 arteriogenesis, 76, 77, 79, 80, 89, 90
 artifact, 42
 aterogenesis, 83, 89
 aterosklerosis, 83, 88, 89, 90, 91
 atrium, 16, 19, 21, 23, 24, 40, 73, 116, 117
 autofluorescence, 42
 autogenik, 74
 autologus, 3, 10, 29, 43, 74, 87, 106, 113, 119
 autoradiografi, 14

B

balonisasi, 89
 barrier, 26, 48, 80, 89
 baseline, 20, 54, 106

biokompatibilitas, 2
 biologi, iii, 19, 37, 74, 86
 biologik, 2, 37, 60, 76, 83
 biomateri, 3
 biopsi, 19
 blastula, 113
 blood lineage, 16
 bromodeoxyuridine, 15, 43
 bronkomalacia, 3
 bronkus, 3

C

Caenorhabditiselegans, 61, 69
 cardiac stem cell, 7, 15, 17, 19, 21, 38, 40, 41, 73, 84
 cardiosphere, 18, 19, 40
 cathepsin, 53, 92
Cell, iv, 11, 12, 20, 25, 26, 28, 38, 39, 42, 45, 46, 47, 48, 56, 63, 64, 69, 70, 71, 73, 78, 79, 80, 81, 93, 94, 95, 96, 108, 109, 111, 119, 120, 121, 122
 cell line, 42, 45, 116, 120
 cell signaling, 14
 cholesterol, 40
 c-kit, 7, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 23, 31, 35, 36, 40, 41, 52, 73, 98, 101, 102, 104, 108
 committed cell, 7, 24, 33
 connexin, 17, 19, 24, 40, 41, 73, 105, 116
 C-reactive protein (CRP), 90

D

darah tepi, 36, 40, 113, 116
 dediferensiasi, 33, 34
 defek, 5, 64, 72
 defibrillator, 55
 dekompensasi, 6, 14, 15
 demografi, 2
 densitas, 36, 40, 76, 77, 87, 93, 105, 107
 derajat, 5, 7, 32, 40, 88, 89
 derivat, 113
 dermal, 114
 dewasa, iii, 2, 7, 8, 9, 14, 15, 16, 19, 23, 24, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 37, 38, 40, 42, 60, 62, 67, 72, 73, 76, 77, 83, 92, 98, 99, 101, 102, 113, 120
 diabetes, 83, 89, 90, 95, 119
 diastolik, 5, 105
 diferensiasi, 6, 9, 14, 19, 20, 21, 24, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 38, 40, 42, 43, 52, 53, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 67, 68, 72, 77, 83, 85, 90, 91, 92, 93, 98, 100, 101, 102, 104, 105, 106, 113, 114, 116, 117, 120
 dilatasi, 6, 35, 56, 105
 diploid, 8, 51
 disfungsi endotel., 83
 disfungsi ereksi, 90, 91
 diskinetik, 106
 DNA, 8, 14, 21, 25, 29, 36, 40, 74, 89, 94, 121
 dogma, iii, 6, 7, 14
 donor, 3, 7, 31, 36, 39, 40, 52, 102
 dose-dependent, 93
 Drosophila melanogaster, 61

E

efek, 37, 38, 42, 43, 51, 72, 75, 76, 78, 89, 90, 93, 98, 101, 104, 106
 effector pathway, 14
 efikasi, 5, 72, 75, 76
 efisiensi, 114, 116
 ekokardiografi, 35, 40, 54
 eksperimen, 36, 37
 ekspresi, 18, 19, 21, 24, 33, 34, 35, 36, 40, 42, 52, 55, 63, 65, 72, 73, 74, 75, 77, 83, 88, 89, 92, 102, 105, 113, 114, 116
 ekstrakardiak, 74, 102
 ekstraseluler, 21, 24, 55, 60, 62, 64, 65, 67, 76, 91
 ekstrasvasi, 55
 ektoderm, 29, 73
 elektrofisiologi, 116, 117
 embrio, iii, 19, 29, 31, 33, 40, 60, 62, 72, 73, 74, 77, 92, 99, 113, 114, 116, 117, 120
 embroid body, 116
 empirik, 61
 endoderm, 29, 73
 endogen, 21, 43, 55, 75, 78, 92, 93, 99
 endosteum, 52, 53, 64, 65, 66, 67, 68
 endotel, 7, 16, 18, 19, 20, 24, 36, 39, 40, 42, 43, 52, 53, 55, 67, 72, 76, 77, 83, 84, 85, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 98, 101, 102, 105, 106, 117
 endotel fokal, 90
 endothelial progenitor cell, 36, 38, 52, 53, 55, 57, 68, 73, 77, 78, 83, 95, 96, 98
 engraftment, 43, 45, 52, 56, 58, 70, 72, 73, 96, 101, 105, 106, 107, 110, 111
 enhanced green fluorescent protein, 20
 EPC, 36, 40, 42, 43, 52, 53, 54, 55, 56, 68, 77, 82, 83, 85, 86, 87, 89, 90, 91, 92, 93, 98, 113
 epidemiologic, 10
 epifluorescence, 42
 epigenetik, 113
 epitel, 3, 4, 36, 62, 116
 equipotent, 75
 ex vivo, 87, 92, 95
 excitation-contraction coupling, 116

F

faktor parakrin, 37, 52
 faktor pertumbuhan, 40, 43, 66, 73, 76, 77, 89, 98
 faktor risiko, 75, 83, 89, 90, 91
 farmakologik, iii, 72
 fase, 15, 20, 55, 113, 120
 feeder layer, 29, 114
 fenomena, 29, 36
 fenotipe, 18, 19, 20, 31, 34, 39, 40, 42, 61, 72, 75, 83, 100, 105, 117
 fetus, 16, 43, 73, 113
 fibrin, 89
 fibroblast, 24, 29, 36, 37, 41, 46, 47, 53, 57, 67, 73, 74, 75, 104, 113, 114, 116, 117, 118, 120
 fibroblast growth factor, 114
 fibrogenesis, 37
 fibronektin, 23, 24, 83
 fibrosa, 38, 51, 87
 fibrosis, 5, 72, 93, 106
 fibrotik, 72, 103
 fisiologik, 15, 17, 24, 36, 52, 75, 90
 flow cytometry, 8, 42, 55
 fluorescence-activated cell sorting (FACS), 117

fotofobia, 4
 fotosintesis, 8
 fractional shortening, 35
 Fractional shortening, 118
 fraksi ejeksi, 53, 54, 74, 98, 105, 106
 fusi, 18, 29, 34, 36, 37, 38, 43, 75, 76, 77, 93, 101

G

gagal jantung, iii, 2, 5, 6, 11, 14, 15, 21, 38, 40, 43, 51, 54, 55, 56, 68, 72, 83, 91, 98, 117
 gangguan, 2, 5, 14, 15, 51, 54, 60, 64, 68, 72, 89, 90, 91
 gap, 24, 41, 42, 72, 73
 gaya hidup, 83
 gen, 22, 29, 33, 34, 36, 63, 74, 75, 113, 114, 116
 genetik, 31, 36, 43, 64, 74, 75, 92, 101, 102, 107, 119
 genom, 114
 genotyping, 83, 84
 geometri, 105
 germinal, 29, 32, 33, 60, 61, 113, 114, 116, 120
 germline, 61, 62, 63, 64, 69, 120
 ginjal, 30, 101
 gonialblast, 62, 63, 64
 graft, 39, 40, 83, 84, 89, 111, 113, 117
 granulocyte colony stimulating factor, 52, 53, 54, 57, 104
 growth factor, 11, 26, 52, 53, 55, 56, 57, 69, 73, 76, 94, 95, 108

H

hazard ratio, 83
 hemangioblast, 31, 36, 89
 hematopoiesis, 33, 64, 67, 90, 101
 hematopoetik, 6, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 52, 53, 54, 55, 60, 62, 64, 66, 72, 73, 75, 83, 84, 85, 89, 91, 92, 98, 101, 102, 106, 113
 hepatocyte growth factor, 76
 hepatosit, 36, 51, 116
 heterogen, 39, 40, 61, 98, 101
 heterologous, 92
 hiperkolesterolemia, 89
 hiperplasia, 14
 hipertensi, 2, 83, 89
 hipertensif, 2
 hipertrofi, 6, 8, 14, 21, 23, 51, 72, 98, 105
 hipofungsi, 91
 hipokinetik, 106
 hipoksia, 52, 55, 73
 hipotesis, 14, 60, 61, 66, 76, 78
 hirarki, 32, 33, 85
 histamin, 44
 histologik, 39, 40, 102
 homeostasis, iii, 7, 15, 21, 60, 73, 89
 homing, 20, 26, 27, 46, 52, 53, 55, 56, 57, 78, 91, 92, 96, 105, 108, 110
 homolog, 63, 76, 119
 homosistein, 90
 hospitalisasi, 2
 host, 12, 79, 114

I

idiopatik, 6
 imaging, 6, 20, 54, 96, 108
 imatur, 16, 83, 104

immunomodulasi, 40
 immunoreaktivitas, 40
 immunostaining, 42
 implant, 2, 3
 Imunohistokimia, 42
 imunokompeten, 117
 imunosupresif, 3
 in situ, 73, 94, 117
 in vitro, 2, 9, 16, 19, 20, 36, 37, 43, 47, 48, 49, 56, 64, 73, 76, 79, 83, 85, 87, 89, 90, 94, 98, 101, 108, 109, 110, 113, 114, 115, 116, 119
 in vivo, 2, 19, 21, 33, 34, 36, 45, 46, 56, 57, 64, 70, 79, 89, 91, 98, 101, 109, 113, 114, 121
 indeks, 51
 induksi, 40, 43, 68, 78, 104, 114
 infark miokard, iii, 2, 5, 6, 15, 17, 18, 20, 21, 37, 38, 39, 43, 51, 53, 54, 55, 56, 68, 72, 73, 74, 76, 77, 83, 87, 90, 92, 93, 98, 101, 102, 103, 104, 106, 107, 113, 117, 118, 120
 inflamasi, 2, 37, 51, 53, 54, 56, 76, 90, 93, 107
 influks, 89
 Injuri, 5, 72
 inkorporasi, 14, 40, 42, 43, 75, 92
 inner cell mass, 29, 113
 insiden, iii, 2, 68, 83
 insufisiensi renal, 90
 insulin-like growth factor 1, 76
 integrin, 24, 37, 46, 53, 55, 57, 91, 109
 interleukin, 37, 54, 73
 interstisium, 24, 40
 intrakardiak, 74
 intrakoroner, 106
 intramiokard, 43, 105, 106, 107, 117
 intravena, 16, 18, 43, 73, 105
 iPS, iii, 72, 74, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122
 ireversibel, 5, 72
 ischemic preconditioning, 5
 iskemik, 2, 6, 15, 17, 21, 29, 35, 38, 56, 68, 72, 73, 74, 76, 83, 87, 90, 91, 92, 98, 104, 105, 106, 107

J
 Jantung, iv, 15, 22, 28, 40, 44
 jaringan, 2, 3, 5, 6, 14, 15, 16, 21, 29, 30, 31, 32, 33, 36, 38, 40, 43, 51, 52, 53, 55, 56, 60, 61, 62, 63, 66, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 86, 87, 89, 90, 91, 92, 98, 99, 100, 101, 105, 106, 113, 116, 117, 119
 junction, 24, 42, 72, 73

K
 kalsifikasi, 2
 kalsium, 20, 39, 64, 67
 kapiler, 20, 36, 42, 76, 77, 87, 93, 105, 107
 karbon, 8, 9
 kardiak, 24, 75, 76
 kardiogenik, 15, 40, 42, 43, 74, 99
 kardiomiogenesis, 38, 93, 106
 kardiomiopati, 6, 15, 17, 21, 38, 56, 72, 98, 106
 kardiomioplasti, 105
 kardiomiosit, 5, 8, 9, 10, 14, 16, 18, 19, 20, 21, 30, 31, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 42, 43, 44, 51, 52, 72, 73, 75, 76, 78, 93, 98, 99, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 113, 116, 117, 120

kardiovaskuler, iii, 2, 3, 6, 38, 68, 75, 83, 90, 91, 113, 116, 120
 kariokinesis, 14
 katup jantung buatan, 2
 kemoatraksi, 91
 kemokin, iii, 52, 55, 67, 92
 keratoplasty, 4
 keratosit, 116
 kimeria, 114
 kimerisme, 7
 klon, 20
 klonogenik, 4, 16, 19, 20, 39, 40, 73, 85, 89, 91
 kolateral, 5, 72, 76, 77, 87
 kolokalisasi, 35, 106
 Koloni, 40
 kompartemen, 24, 38, 39, 40, 53, 62, 64, 75, 98, 99
 kompensasi, 14, 51, 105
 kondrosit, 40, 101
 kongestif, 6, 38, 91, 98
 konstruk, 114
 kontraksi, 5, 8, 20, 54, 56, 72
 kontraktilitas, 14, 37
 Kontraktilitas, 53
 kontrol, 7, 15, 37, 55, 76, 88, 90, 91, 102, 105, 106, 107
 korelasi, 9, 83, 90
 koronaria, iii, 5, 6, 7, 14, 16, 21, 38, 39, 43, 44, 72, 77, 98, 102
 kreatinin, 55
 kromosom, 6, 7, 23, 35, 37, 51, 52, 102, 106
 kultur, 4, 5, 18, 19, 20, 21, 29, 40, 42, 43, 55, 64, 68, 73, 76, 83, 84, 92, 102, 114

L

lambung, 116
 lapisan intima, 89
 lectin, 90, 107
 lentiviral, 114, 116
 lesi aterosklerotik, 89
 leukosit, 83, 91
 Ligand, 62
 limbus, 3, 4, 5
 limpa, 56, 64, 85, 86, 98
 lingkungan mikro, 2, 31, 37, 53, 60, 62, 64, 65, 73, 75, 117
 lipid, 89, 92

M

maligna, 36
 mamalia, 29, 43, 60, 73
 marker, 18, 20, 21, 29, 35, 36, 40, 53, 54, 55, 72, 73, 76, 77, 83, 88, 89, 90, 100, 101, 116
 matriks, 24, 51, 55, 62, 64, 65, 66, 67, 76, 89, 91
 matrix metalloproteinase, 53, 90
 matur, 40, 63, 83, 84, 89, 101, 104
 mediator, 52, 68, 76, 77, 89, 92
 medula spinalis, 113
 mekanik, ii, 2, 3, 14, 60, 66
 mekanisme, 14, 21, 29, 32, 34, 36, 37, 38, 39, 42, 43, 52, 55, 65, 67, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 87, 89, 98, 107, 117, 119
 mencit, 9, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 29, 31, 35, 36, 37, 39, 40, 43, 44, 52, 64, 73, 75, 83, 87, 90, 91, 98, 101, 102, 104, 107, 113, 114, 116, 117, 120
 merokok, 89, 90

mesenkim, 3, 31
mesenkimal, 34, 52, 66, 67, 72, 73, 98, 101, 102, 116
mesoderm, 29
metabolik, 76, 77
metabolisme, 5, 37, 72
metafase, 6, 15
metodologi, 36
MHC, 3, 20, 40, 73, 101, 105
microenvironment, 2, 21, 24, 69, 70
migrasi, 15, 52, 55, 56, 76, 77, 89, 90, 91, 92, 98, 100, 107
mikropartikel, 89
mikroskop konfokal, 6, 20, 31
mikrovaskuler, 55
miogenesis, 52, 73, 98
miokard, 2, 5, 14, 15, 17, 35, 36, 37, 38, 44, 52, 53, 55, 56, 72, 74, 75, 83, 92, 98, 99, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 113, 117
miokardium, 5, 6, 7, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22, 24, 29, 30, 31, 35, 36, 39, 41, 43, 52, 72, 73, 87, 88, 93, 101, 102, 105, 106, 107
miosit, 6, 7, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 35, 39, 40, 41, 42, 51, 52, 72, 74, 75, 78, 98
mitosis, 14, 15, 19, 113
mitotik, iii, 6, 14, 16, 23, 40, 41, 51, 61, 62, 63, 64
mobilisasi, 5, 43, 52, 53, 55, 56, 68, 72, 92
modulator, 7
molekul, 37, 46, 53, 55, 121
mononuklear, 36, 40, 42, 54, 55, 76, 83, 87, 88, 89, 91, 92, 98
morfometrik, 14
multilineage, 30, 52
multipel, 34, 36, 39, 60, 78, 99, 113
multipoten, 16, 20, 29, 32, 36, 40, 43, 60, 73, 101, 102, 113
multiseluler, 20
myocardial scar, 5

N

natural killer cell, 56, 101
nekrosis, iii, 15, 16, 38, 43
neoangiogenesis, 92, 106
neointima, 57, 85, 89, 90, 93, 95
neonatus, 16, 19, 20, 42
neoplasia, 61
neovaskularisasi, 36, 37, 38, 40, 42, 52, 56, 76, 77, 78, 83, 86, 87, 89, 91, 92, 98, 113
neuron, 36, 119
neurosphere, 116
niches, 9, 15, 21, 23, 24, 27, 41, 43, 52, 53, 63, 64, 67, 69, 78
nitric oxide, 76, 83, 89
nodus, 117
nongenetik, 117
noniskemik, 5, 72, 74
nuklei, 8, 14, 17, 23, 31, 35, 36, 37, 51, 52
nukleus, 7, 8, 14, 15, 34, 37, 51, 63, 74, 89, 104

O

odd ratios, 83
oklusi, 5, 38, 72, 73, 91
onkogenik, 113
osilasi Ca²⁺, 43
osteoblast, 64, 65, 66, 67, 68, 101
osteogenesis, 64

osteogenik, 40
osteoklas, 68
osteopontin, 53, 64, 65
osteoporosis, 68
otak, 31, 113
otopsi, 15, 102
otot polos, 7, 16, 20, 24, 36, 39, 40, 75, 93, 98, 105, 106, 117
outcome, 80, 83
overexpression, 107

P

pancreas, 116
parakrin, 36, 37, 38, 42, 75, 76, 77, 87, 98
parenkim, 14, 15
pascakapiler, 76
pasien, iii, 2, 3, 4, 5, 6, 15, 17, 21, 36, 38, 40, 42, 43, 51, 53, 54, 55, 56, 68, 72, 74, 75, 77, 83, 87, 89, 90, 91, 92, 93, 98, 101, 106, 113, 119, 120
patofisiologi, 38, 83, 91
patogenesis, 119
patologis, 14, 21
pembedahan, 40
pembelahan, 6, 15, 24, 29, 37, 41, 52, 60, 61, 62, 63, 64, 98, 100, 101, 113
penelitian, iii, 3, 8, 14, 20, 29, 30, 32, 36, 37, 38, 40, 53, 54, 61, 65, 68, 73, 74, 75, 83, 87, 89, 98, 101, 102, 113, 116, 120
Penelitian eksperimental, 101, 113
penelitian klinis, 74
penghambat, 77
pengobatan, iii, 2, 5, 6, 38, 44, 52, 68, 72, 73, 83, 88, 90, 98, 104, 105, 106, 118, 119
Penyakit, iv, 2, 72
penyakit jantung koroner, 2
perfusi, 5, 72, 73, 74, 75, 98, 107
perifer, 18, 38, 42, 52, 53, 55, 56, 72, 83, 85, 86, 87, 89, 90, 92, 99
peri-infark, 53, 92, 98
periostin, 76
phospholamban, 105
plasmid, 116
plastisitas, 29, 30, 31, 32, 33, 36, 38, 73, 98, 101, 113
platelet, 55, 73, 89
platelet-derived growth factor, 73
pluripoten, 29, 34, 40, 60, 72, 74, 78, 98, 99, 113, 116, 118, 120
polyploidy, 8, 25
pool, 7, 20, 24, 70
populasi, 2, 15, 18, 19, 24, 29, 30, 32, 38, 39, 40, 60, 61, 72, 73, 75, 77, 84, 89, 92, 98, 101, 102, 119
postmitotik, 14
postnatal, 19, 46, 48, 56, 81, 93, 94, 109
potensi aksi, 116
prediktor, 53, 83, 90
prekursor, 21, 32, 33, 36, 52, 62, 77
prematuur, 90, 98
prevalensi, 2
primitif, 7, 15, 16, 19, 20, 21
proangiogenik, 38, 68, 76, 77, 91
proarteriogenik, 77
probes, 42
profase, 15
progeni, 14, 29, 84, 101, 114
prognosis, 5, 10, 25, 72, 98
pro-inflamasi, 54
prokolagen, 41

Proliferasi, 6, 19, 36
 promoter, 114
 prostesis, 2
 protease, 55, 67
 proto-onkogen, 114
 purifikasi, 83, 117
 Purkinje, 36, 46, 110
 putative, 21, 46, 48, 93, 95

Q

QT syndrome, 119, 120

R

reaksi imun, 73
 re-entry, 36
 refraktori, 114
 regeneratif, 2, 29, 38, 74, 75, 83, 89, 113
 regenerative, 96, 108, 110
 regio, 17, 21, 35, 63, 64, 73, 76, 117
 rehabilitasi, 90
 rejeksi, 3, 40, 113
 rekayasa jaringan, 3
 rekombinan, 68, 116
 rekrutmen, 53, 56, 92
 relaksasi, 5, 105
 remodeling, 5, 11, 25, 36, 37, 38, 47, 51, 53, 56, 68, 72, 73, 76, 78, 80, 93, 94, 96, 98, 101, 104, 105, 107, 108, 110
 renewal, 9, 10, 12, 19, 24, 29, 37, 45, 46, 52, 53, 60, 69, 70, 113
 repair, 6, 10, 16, 21, 25, 26, 32, 33, 34, 37, 45, 47, 49, 56, 58, 70, 74, 76, 78, 79, 80, 81, 86, 93, 103, 108, 110, 111
 reparasi, iii, 86, 87, 89, 98, 99, 101, 120
 replikasi, 14, 15, 16, 21, 24, 51, 72, 98
 repolarisasi, 43
 repopulasi, 39, 72
 reprogramming, 74, 79, 114, 116, 120, 121, 122
 reseptor, 21, 24, 52, 55, 63, 64, 65, 66, 89, 91, 92
 residen, 7, 20, 30, 40, 52, 84, 89
 resipien, 3, 7, 31, 39, 52, 83, 102, 117
 respon, 2, 6, 31, 36, 37, 40, 53, 55, 56, 73, 75, 76, 77, 89, 90
 restenosis, 89, 108
 retikulum endoplasmic, 43
 retroviral, 114
 revaskularisasi, 83, 90, 113
 revolusi, iii
 revolusioner, 74
RNA, 25, 36, 69, 88
 rodensia, 9, 14, 20, 43, 72
 RT-PCR, 22, 42

S

sarkomerik, 40, 105
 sel CXCR4, 53
 sel endotel, 16, 36, 52, 76, 77, 83, 84, 85, 88, 89, 90, 91, 98, 105, 106
 sel progenitor, 9, 18, 33, 36, 38, 40, 52, 53, 54, 55, 56, 60, 63, 68, 73, 76, 77, 83, 84, 85, 87, 89, 90, 91, 92, 98, 101, 102, 116

sel punca, iii, 3, 4, 5, 6, 9, 14, 15, 16, 19, 20, 21, 24, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 42, 43, 52, 53, 55, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 83, 84, 85, 87, 89, 91, 92, 98, 99, 101, 102, 103, 113, 116, 118

sel saraf, 101
 sel T, 89, 101
 self renewing, 16, 20, 40
 seluler, 14, 21, 33, 64, 67, 77, 90, 105
 sendi, 2
 serebrovaskuler, 91
 signal, 2, 24, 55, 56, 60, 61, 62, 63, 66, 67, 90, 121
 siklus, 9, 14, 15, 16, 21, 29, 36, 37, 43
 simetrik, 24, 98, 100
 sinsitium, 72
 sintesis DNA, 8
 sintetik, 2
 sinusoid, 53
 sistolik, 5, 54, 72, 89, 98, 105, 118
 sitokin, iii, 24, 37, 52, 53, 54, 55, 56, 66, 67, 68, 72, 73, 76, 78, 87, 89, 90, 91, 98
 sitokinesis, 14, 62, 63
 sitoplasma, 20, 23, 35, 51
 sitoproteksi, 76
 sitotoksik, 89
 skeletal, 30, 51, 75, 79, 80
 skrining, 119
 soluble factors, 36, 64
 somatik, 29, 62, 63, 72, 73, 74, 113, 114, 115
 spermatogonia, 29, 62, 63
 spesies, 73, 101
 spesimen, 40
 statin, 52, 57, 90
 stem cell, iii, 3, 7, 10, 11, 16, 21, 23, 24, 26, 27, 30, 31, 33, 36, 39, 40, 45, 46, 47, 48, 52, 53, 55, 56, 57, 58, 60, 61, 62, 63, 64, 67, 69, 70, 75, 78, 79, 80, 96, 98, 99, 101, 105, 110, 111, 113, 115, 116, 118, 120, 121, 122
 stenosis aorta, 15, 21
 stent, 2, 108
 stent kardiovaskuler, 2
 stres oksidatif, 89, 90
 stroke, 2, 83, 90, 91
 stromal, 31, 46, 47, 52, 54, 56, 57, 58, 76, 77, 79, 92, 93, 96, 108, 109, 110, 111
 stromal cell-derived factor-1 (SDF-1), 52
 subendotel, 5, 72
 sumsum tulang, iii, 5, 9, 20, 29, 30, 31, 34, 35, 36, 38, 39, 40, 43, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 60, 62, 64, 66, 67, 68, 72, 73, 75, 76, 77, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 113, 119
 survival, 10, 26, 49, 52, 56, 58, 61, 75, 78, 80, 87, 89, 95, 98, 107, 108

T

tamponade jantung, 117
 tekanan, 6, 14, 21, 36, 76, 89, 105
 Teknik, 116
 teknologi iPS, 114, 116, 120
 telofase, 15
 terapi, iii, 4, 5, 10, 17, 36, 37, 38, 52, 55, 56, 72, 73, 74, 76, 78, 92, 93, 98, 101, 105, 117, 118, 119, 120
 teratoma, 72, 113, 116, 117, 120
 terminal, 6, 9, 14, 19, 29, 40, 62, 63, 113
 tetraploid, 8, 29, 36
 tikus, 16, 17, 20, 21, 22, 23, 40, 42, 74, 85, 87, 93

timidin, 14, 15
 tipe, 29, 31, 33, 34, 36, 37, 42, 52, 60, 61, 62, 63, 65, 66, 68, 72, 74, 75, 90, 98, 99, 100, 102, 113, 115, 116, 119
 totipoten, 29
 trakea, 3
 transdiferensiasi, 29, 31, 33, 34, 35, 36, 38, 39, 42, 72, 73, 75, 76, 78, 101, 102, 105
 transduksi, 113
 transendokardial, 106
 transfeksi, 116
 transformasi, 36, 78, 98, 114
 transgen, 113, 114, 116, 117
 transgenik, 35, 39, 101, 102, 104, 114
 transkripsi, 19, 20, 24, 29, 40, 63, 64, 113, 114, 115, 116, 120
 Transmigrasi, 55
 transmural, 77
 transplantasi, 3, 4, 5, 29, 30, 31, 36, 38, 39, 40, 42, 51, 64, 66, 72, 74, 75, 85, 89, 98, 102, 104, 117
 trombolitik, 5, 72
 trombotik, 89
 tropomiosin, 105
 troponin, 35, 36, 37, 105, 116
 tuberkulosis, 3
 tumor, 53, 72, 113, 114, 120
 tumorigenesis, 61, 81
 TUNEL, 6, 107

U

uji klinis, 113
 urodele, 33, 34

usus, 62, 85, 86

V

vascular smooth muscle cells, 76
 vaskuler, 7, 15, 16, 36, 40, 42, 53, 55, 66, 67, 68, 72, 73, 83, 86, 88, 98, 106, 113
 vaskulogenesis, 52, 76, 77, 90, 93, 106
 vaskulogenik, 68, 93
 vaskuloprotektif, 89, 90, 91
 vektor, 113, 114
 ventrikel, 2, 5, 6, 7, 14, 15, 16, 17, 21, 35, 36, 37, 40, 44, 51, 52, 53, 55, 56, 72, 73, 74, 76, 77, 87, 93, 98, 101, 102, 105, 113, 116, 117
 venula, 76
 viral, 76, 113, 114, 116, 121, 122
 vitronektin, 91
 volume, iii, 3, 14, 55, 73, 74, 98, 113
 von Willebrand factor, 73

W

wild-type, 39

X

xenograft, 3

Z

zona, 15, 19, 22, 40, 51, 53, 92, 101, 104, 107