

Peranan *stem cells* sebagai terapi glioma studi *invivo* dan *invitro*

The role of stem cells in gliomas treatment study in vivo and in vitro

Ika Marlia*, Ahmad Asmedi**, Indarwati Setyaningsih**

*RSUD dr. Zainoel Abidin, Banda Aceh

** Bagian Neurologi, Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta

ABSTRACT

Keywords:
stem cells,
brain tumor,
glioma,
tropism,
apoptosis

Gliomas are primary brain tumors that originate from glia cells. Central Brain Tumor Registry of United States data showed that glioma accounts for 77% of primary brain tumors, and patients with glioma have very poor survival. These gliomas have aggressive biological features, such as extensively infiltrative growth and resistance to therapy. In order to increase efficacy, novel glioma therapies must be specific and selective in targeting invasive tumor micro-foci. Stem cells hold great promise as an emerging alternative or adjunct glioma therapy because of their inherent tumor-tropic and migratory properties. Stem cells may target brain tumors by blocking DNA replication, by boosting an immune response or by inducing apoptosis of tumor cells.

ABSTRAK

Kata kunci:
stem cells,
tumor otak,
glioma,
tropisme,
apoptosis.

Glioma merupakan tumor otak primer yang berasal dari sel glia. Data Central Brain Tumor Registry of United States menunjukkan bahwa 77% tumor otak primer adalah glioma, dan berkaitan dengan prognosis yang buruk. Glioma memiliki gambaran biologis yang agresif, seperti pertumbuhan yang ekstensif, infiltratif dan resisten terhadap terapi. Dalam rangka meningkatkan efektivitas pengobatan, maka terapi glioma harus spesifik dan selektif terhadap target invasif fokus tumor mikro. Rekayasa genetik stem cells potensial sebagai terapi adjuvan pada tumor otak glioma karena sifat tumor-tropisme dan kapasitas migrasi dengan memblokir replikasi DNA, meningkatkan respons imun dan menginduksi apoptosis sel tumor.

Correspondence:

Ika Marlia: ika_marlia@yahoo.com

PENDAHULUAN

Glioma merupakan tumor otak primer yang paling sering ditemukan pada anak maupun dewasa, berkaitan dengan prognosis buruk dan tingginya angka mortalitas serta morbiditas. Data *Central Brain Tumor Registry of the United State (CBTRUS)* menunjukkan 77% tumor otak primer adalah glioma.¹ Data CBTRUS tahun 2007-2008 melaporkan insiden glioma sekitar 16,5 kasus per 100.000 orang per tahun dan 51.410 penduduk per tahun di Amerika, 14.000 di antaranya glioma derajat tinggi.² Data CBTRUS tahun 2009 melaporkan 13.000 kematian akibat tumor otak primer, adanya peningkatan kejadian tumor otak primer selama 30 tahun terakhir, terutama pada usia lanjut.^{1,3}

Berbagai kemajuan dalam bidang terapi seperti kemajuan teknik bedah, radiasi, regimen kemoterapi maupun terapi gen telah dilakukan, namun belum dapat menurunkan angka kematian terkait tumor otak. Rekurensi dan tumor-genesis menunjukkan kegagalan terapi dan resistensi sel tumor terhadap terapi.⁴

Operasi bedah hampir selalu diikuti dengan pertumbuhan kembali sel tumor yang berada di daerah yang berdekatan dengan jaringan otak normal. Rekurensi terjadi dalam waktu enam bulan setelah operasi bedah, radiasi maupun kemoterapi, serta dalam waktu satu tahun ditemukan 80% penderita meninggal.⁵ Terapi operasi bedah bertujuan menghancurkan jaringan tumor, namun dapat mengakibatkan cedera otak yang menyebabkan kondisi pasien semakin lemah.⁶ Efek toksik terapi adjuvan dapat menyebabkan penyakit sistemik dan gangguan kognitif.⁷ Untuk meningkatkan efektivitas terapi, maka terapi glioma harus spesifik dan selektif dalam menentukan target invasif fokus tumor mikro.⁴

Penggunaan *stem cells* dapat menjadi target ideal dalam pengobatan tumor otak dan SSP, karena kemampuannya melewati *blood brain barrier (BBB)*, *homing* pada sel tumor, mampu mensekresi molekul terapi dan memiliki kemampuan transkripsi, translasi serta mengekspresikan informasi genetik.⁸

Tinjauan pustaka ini bertujuan untuk mengetahui peranan *stem cells* sebagai terapi glioma.

DISKUSI

Glioma merupakan tumor otak primer yang berasal dari sel glia, yang merupakan sel pendukung neuron.⁹ Penyebab glioma belum diketahui dengan pasti. Akumulasi *deoxyribonucleic acid* (DNA) bertanggung jawab terhadap terjadinya transformasi sel tumor yang merupakan hasil interaksi antara paparan lingkungan dan kerentanan genetik. Polimorfisme DNA, perubahan siklus sel, metabolisme sel, dan jalur inflamasi diduga berperan penting dalam proses terbentuknya glioma.¹

Adanya mediator sinyal mempengaruhi jalur ekstrinsik pada proliferasi, migrasi dan interaksi sel glioma dengan sel endotel dan mikroglia. *Apoptosis* merupakan kaskade reaksi biokimia dalam fragmentasi seluler. Proses ini dipicu melalui jalur ekstrinsik dan intrinsik. Jalur *apoptosis* ekstrinsik diaktifkan oleh sistem imun setelah deteksi permukaan abnormal oleh sel. Hal ini menyebabkan transduksi sinyal intraseluler melalui *death-inducing signalling complex* mengaktifkan caspase 8 dan 10, kemudian caspase 3 dan 7 serta memulai kaskade *apoptosis irreversible*.¹⁰

Penekanan jalur *apoptosis* ekstrinsik terjadi pada glioma, kemungkinan oleh karena resistensi yang disebabkan oleh aktivasi berlebihan jalur proliferasi *the akt and mammalian target of rapamycin* (mTOR). Sinyal ekstrinsik kematian sel dan sinyal sphingolipid telah diidentifikasi pada glioma, meliputi *tumor necrosis factor alpha* (TNF α) yang menstimulasi pelepasan sphingolipid dan *apoptosis* serta TNF-terkait *tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand* (TRAIL) yang berperan dalam *apoptosis* sel glioma invasif.¹⁰

Jalur *apoptosis* intrinsik dipicu langsung oleh kerusakan sel meliputi hipoksia yang berkaitan dengan agresivitas tumor, stres oksidatif, radioterapi dan kemoterapi, menyebabkan masuknya Ca²⁺ ke dalam sel, generasi *reactive oxygen species* (ROS) dan kerusakan langsung DNA. Hal ini mengakibatkan aktivasi p53 dan meningkatkan perubahan transkripsi DNA. Kelainan jalur ini ditemukan pada 30-50% penderita glioma.¹⁰

Penggunaan *stem cells* pada terapi glioma sebagai terapi alternatif atau adjuvan diduga berdasar tumor-tropisme dan kapasitas migrasi yang tinggi.⁴ Migrasi sel merupakan proses perkembangan dan perbaikan jaringan serta regenerasi. Migrasi sel ini berkaitan dengan faktor ekstraseluler melalui kaskade jalur molekuler dan sinyal intraseluler.¹¹

Mekanisme tropisme ini belum diketahui secara pasti, diduga dipengaruhi oleh *chemokine* dan *pro-angiogenic growth factor*.¹² Penelitian eksperimental secara *invivo* menunjukkan bahwa *human mesenchymal stem cells* (hMSCs) memiliki selektivitas terhadap faktor tertentu, misalnya *platelet-derived growth*

factor (PDGF), *epidermal growth factors* (EGF), dan *stromal cell-derived factor-1* (SDF-1 α) meningkatkan tropisme hMSCs, sedangkan *fibroblast growth factor* (FGF) dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF) tak banyak berpengaruh pada migrasi hMSCs. Sitokin yang dilepaskan oleh jaringan neoplasma atau inflamasi, seperti VEGFs, *tumor growth factors* (TGFs), EGFs, PDGF, *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1), dan *interleukin-8* (IL-8) merupakan tempat tropisme *stem cells*. *Neural stem cells* (NSCs) menunjukkan tropisme luas terhadap tumor, dan belum banyak diketahui mengenai faktor-faktor yang mempengaruhi tropisme NSCs pada tumor maupun interaksinya di jaringan sekitar tumor.¹¹

Penelitian eksperimental NSCs pada tumor otak secara *invitro* menunjukkan bahwa tropisme NSCs melibatkan SDF-1, *stem cell factor* (SCF)/c-Kit, *hepatocyte growth factor* (HGF)/c-Met, VEGF/VEGFR, *macrophage chemotactic protein-1* (MCP-1)/CCR2 *ligand* dan *urokinase plasminogen activator* (uPA). VEGF berperan dalam migrasi NSCs, melokalisasi batas tepi tumor dan sebagai sinyal terhadap tropisme NSCs pada lokasi patologi tumor otak. Penelitian *invitro* menunjukkan SDF-1, rekombinan VEGF dan SF/HGF mempengaruhi kemampuan migrasi NSCs.¹³

Mekanisme *stem cells* sebagai terapi glioma meliputi: 1) meningkatkan *apoptosis* sel glioma, 2) efek sitotoksitas sel glioma, 3) menghambat pertumbuhan sel glioma, 4) menghambat kebocoran vaskular, dan 5) efek *barrier*.¹¹ *Stem cells* juga memiliki kapasitas sebagai sarana pengiriman terapi seluler pada glioma. Agen antineoplastik dibagi menjadi tiga kategori, yaitu 1) *suicide gene* melalui *prodrug-converting* enzim, 2) vektor virus, dan 3) respons imunomodulator. NSCs potensial untuk pengiriman obat tertentu melalui enzim yang mengkonversi *prodrug*, seperti *cytokine deaminase*, yaitu enzim yang mengubah 3,5-fluorocytosine (5-FC) menjadi 5-fluorouracil suatu obat onkolitik yang mudah berdifusi ke dalam sel tumor, diberikan secara sistemik menjadi metabolit toksin. Metabolit toksin secara selektif menargetkan sel glioma aktif untuk meninggalkan neuron secara utuh. Penelitian melaporkan bahwa *cytokine deaminase* yang ditransplantasikan bersama NSCs pada glioma menunjukkan pengurangan massa tumor sekitar 80% dalam waktu dua minggu setelah injeksi 5-FC secara sistemik.^{7,14} Penggunaan HSV-timidin kinase (HSV-tk) disertai gansiklovir sistemik pada glioma derajat tinggi secara signifikan memperpanjang *survival* dan menghambat pertumbuhan tumor.⁷

Terapi gen NSCs manusia memiliki manfaat terapi yang signifikan dalam penelitian eksperimental glioma. Rekayasa NSCs dengan *cytokine deaminase* dan *prodrug* sistemik 5-fluorocytosine menunjukkan pengurangan

80% massa tumor. Selain *cytokine deaminase*, NSCs juga mengekspresikan interleukin-12 (IL-12), interleukin-4 (IL-4), *platelet factor 4* (PF-4), *tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand* (TRAIL), PEX dan *herpes simplex virus tipe 1-thymidine kinase* (HSV-TK).⁴

Penelitian eksperimental *invivo* pada glioma intrakranial menunjukkan NSCs berdistribusi dengan cepat dan bermigrasi secara luas di seluruh lokasi sel tumor, serta mengelilingi tepi batas tumor. Ketika implantasi intrakranial pada lokasi yang jauh dari lokasi tumor pada (jaringan otak normal, hemisfer kontralateral atau ventrikel otak), sel donor akan bermigrasi melalui jaringan normal dengan target sel tumor dan berkumpul terutama di tepi batas tumor dengan jaringan otak normal. Ketika implantasi di luar sistem saraf pusat (SSP) misalnya intravaskular, NSCs akan menargetkan tumor intrakranial. Penemuan dan pengetahuan mengenai NSCs ini menyebabkan terapi rekayasa genetika NSCs menjadi pilihan terapi yang sangat menarik dan ideal, oleh karena NSCs secara efektif dapat menargetkan massa tumor primer, penyebaran tumor (metastasis) maupun lokasi tumor yang jauh.^{7,13}

Cara pemberian lain melalui suntikan pada arteri karotis interna dengan mengirim interferon beta (IFN- β) yang mengekspresikan MSCs manusia secara signifikan memperpanjang *survival rate* hewan coba yang mengalami glioma intrakranial, sedangkan pemberian intravena tidak memperpanjang *survival rate*.¹²

Dosis *stem cells* untuk efek antitumor masih belum diketahui dengan pasti dan masih perlu dipelajari. Penelitian memperkirakan minimal 25% dari 10^6 sel ($2,5 \times 10^5$ sel) harus terintegrasi ke dalam tumor untuk menimbulkan efek yang signifikan melalui penekanan pertumbuhan tumor.¹⁵

RINGKASAN

Stem cells merupakan rekayasa genetik yang dapat menjadi harapan pengobatan berbagai penyakit neurologi seperti amyotrophic lateral sclerosis, parkinson, huntington, multiple sclerosis, stroke, maupun glioma.

Terapi *stem cells* dapat menjadi target ideal dalam pengobatan tumor otak dan sistem saraf pusat, karena kemampuannya melewati *blood brain barrier*, *homing* pada sel tumor, mampu mensekresi molekul terapi dan memiliki kemampuan transkripsi, translasi serta mengekspresikan informasi genetik.

Aplikasi *stem cells* melalui penelitian *invivo* dan *invitro* menunjukkan efektivitas *stem cells* terhadap pengobatan glioma derajat tinggi dengan mengurangi progresivitas tumor, ukuran massa tumor, volume tumor dan meningkatkan *survival rate*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gu J, Liu Y, Kyritsis A, Bondy M. Molecular epidemiology of primary brain tumors. *Neurotherapeutics: the journal of the American society for experimental NeuroTheurapeutics*. 2009;6:427-435.
2. Germano I, Swiss V, Casaccia P. Primary brain tumor, neural stem cell and brain tumor cancer cells: Where is the link?. *Neuropharmacology*. 2010;58:903-910.
3. Brem S, Bierman P, Brem H, Butowsky N, Chamberlain M, Chiocca E, et al. Central nervous system cancers: Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network: JNCCN*. 2011;3:644-690.
4. Lin D, Najbauer J, Salvaterra P, Mamelak A, Barish M, Garcia E, et al. Novel method for visualizing and modeling the spatial distribution of neural stem cells within intracranial glioma. *NeuroImage*. 2007;37:18-26.
5. Burns M, Weiss W. Targeted therapy of the brain tumors utilizing neural stem and progenitor cells. *Frontiers in Bioscience*. 2003;8:228-234.
6. Sandu N, Schaller B. Stem cell transplantation in brain tumors: a new field of molecular imaging? *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)*. 2010;16:433-437.
7. Oh M, Lim D. Novel treatment strategies for malignant gliomas using neural stem cells. *Neurotherapeutic: the Journal of American society for experimental neurotherapeutics*. 2009;6:458-464.
8. Kosztowski T, Zaldi H, Hinojosa A. Applications of neural and mesenchymal stem cells in the treatments of gliomas. *Expert rev anticancer therapy*. 2009;9:597-612.
9. Schwartzbaum J, Fischer J, Aldape K, Wrensch M. Epidemiology and molecular pathology of glioma. *Nature clinical practice. Neurology*. 2006;2:494-503.
10. Ordys B, Launay S, Deighton R, McCulloch J, Whittle I. The role of mitochondria in glioma pathophysiology. *Molecular Neurobiology*. 2010;42:64-75.
11. Eskandary H, Basiri M, Nouredin S, Mahani N, Mehravaran S. The role of stem cells in tumor targeting and growth suppression of gliomas. *Biologics: Targets and therapy*. 2011;5:61-70.
12. Ahmed A, Alexiades N, Lesniak M. The use of neural stem cells in cancer gene therapy: predicting the path to the clinic. *Curr Opin Mol Ther*. 2010;12:546-552.
13. Colleoni F, Torrente Y. The new challenge of stem cell: Brain tumour therapy. *Cancer letters*. 2008;272:1-11.
14. Dwain I, Xiangpeng Y, Zeng Z, Patricia T, John Y. Neural stem cells-a therapy. 2006;1:79-84.
15. Nakamizo A, Marini F, Amano T. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of gliomas. *Cancer Research*. 2005;65:3307-3318.