

BAB 7

Sel Punca Dewasa: Mamosfir Asal Monyet Ekor Panjang

Silmi Mariya

Tubuh kita tersusun dari banyak sel sebagai unit terkecil, salah satu jenis sel penyusunnya merupakan sel yang naif, belum mempunyai fungsi spesifik. Walaupun demikian, kelompok sel ini mempunyai peran yang tidak kalah penting dengan sel spesifik. Sel naif ini dikenal sebagai sel punca, dan dapat diisolasi dari jaringan yang disebut sel punca dewasa. Sel punca tersebut banyak digunakan dalam pengobatan regeneratif dan mempelajari perkembangan suatu organisme. Salah satu sumber sel punca dewasa ini adalah kelenjar susu. Sel punca kelenjar susu mempunyai fungsi untuk berdiferensiasi menjadi kelenjar susu dewasa, memperbanyak dan membentuk kelenjar susu selama siklus kehamilan, laktasi, involusi serta perbaikan kelenjar susu apabila terjadi kerusakan pada jaringan. Sel punca asal kelenjar susu satwa primata dapat dijadikan model dalam mempelajari proses terjadinya kanker dan pencegahan kanker melalui teknik *in-vitro*, suatu

Silmi Mariya,
IPB University, e-mail: mariyasilmi@gmail.com

© 2024 Penerbit BRIN

Mariya, S. (2024). Sel Punca dewasa: Mamosfir asal monyet ekor panjang. Dalam T. Atmoko (Ed.), *Membangkit satwa primata Indonesia dalam tiga pilar: Biologi, konservasi, biomedis* (91–99). Penerbit BRIN. DOI: 10.55981/brin.732.c569, E-ISBN: 978-623-8372-87-4

Buku ini tidak diperjualbelikan

teknik untuk menumbuhkan sel di luar tubuh dengan menggunakan botol kultur. Teknik tersebut hanya memerlukan penggunaan senyawa bioaktif dalam jumlah lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan secara *in vivo*, suatu teknik yang dilakukan pada organisme hidup. Namun, yang paling penting adalah dengan tidak menggunakan organisme hidup, masalah etik dalam penggunaan hewan percobaan dapat dihindari.

A. Kultur Tiga Dimensi Mamosfir

Mamosfir merupakan kultur sel tiga dimensi (3D) asal kelenjar susu, populasi sel ini heterogen mengandung sel punca dewasa yang belum terdiferensiasi. Mamosfir primer mengandung delapan kali *billineage* sel progenitor dibandingkan kultur sel dua dimensi pada kelenjar susu manusia. Mamosfir yang telah disubkultur dapat mengandung 100% progenitor bipoten dan lebih jauh populasi sel ini dapat membentuk tiga galur kelenjar susu yaitu mioepitel, duktus epitel, dan sel epitel alveolar (Dontu et al., 2003).

Mamosfir asal monyet ekor panjang (MEP) ini merupakan mamosfir pertama yang dikembangkan dari satwa primata asli Indonesia. Mamosfir dapat diisolasi dari kelenjar susu MEP. Jaringan kelenjar susu dari MEP *nulliparous* berhasil dikoleksi melalui biopsi dengan ukuran kurang lebih 2 cm × 0,5 cm dan berat 100–120 mg (Mariya et al., 2017). Biopsi dilakukan pada fase luteal, yang ditandai dominasi populasi sel intermedial, sel parabasal, dan teramati adanya netrofil. Proliferasi sel sangat tinggi pada fase luteal dibandingkan fase folikuler, reseptor estrogen juga aktif (Dewi et al., 2016). Penggunaan satwa primata sebagai model mamosfir ini memudahkan kita untuk memperoleh sampel dari berbagai siklus kelenjar susu (puber, belum beranak [*nulliparous*]), kebuntingan, dan yang sudah pernah beranak (*parous*). Semua prosedur yang melibatkan penggunaan jaringan pada hewan harus melalui persetujuan dari komisi etik hewan. Hewan yang belum melahirkan dipilih untuk pengembangan mamosfir ini karena pada siklus ini terdapat sel punca kelenjar susu yang lebih banyak daripada hewan puber dan hewan yang sudah beranak. Sel punca

kelenjar susu merupakan salah satu target transformasi yang dapat menyebabkan terjadinya kanker payudara. Pencegahan terjadinya kanker payudara perlu diteliti baik secara molekuler maupun seluler melalui teknik *in-vitro* tiga dimensi, menggunakan kultur sel kelenjar susu asal satwa primata.

Sel punca ditemukan dalam jumlah sedikit di dalam suatu jaringan. Layaknya pada organ lain, komposisi seluler kelenjar susu manusia dapat dihasilkan oleh komponen sel punca. Faktor intrinsik untuk sel punca, serta interaksi sel dengan sel stroma dan matriks ekstraseluler sangat penting dalam morfogenesis kelenjar susu secara normal. Kendala untuk melakukan isolasi sel punca epitel kelenjar susu adalah karena keterbatasan markah untuk karakterisasi sel tersebut, serta mempertahankannya untuk tidak berdiferensiasi

Mamosfir berhasil terbentuk, tumbuh tidak menempel pada substratnya, multiseluler, melayang-layang dalam media pertumbuhan dan mempunyai morfologi spherical (Mariya et al., 2019) (Gambar 7.1). Sel primer akan mengalami kematian yang tinggi dalam kondisi ini, dan sel yang bertahan hidup jumlahnya sedikit dan menghasilkan koloni menyerupai bola yang melayang dalam kultur. Mamosfir mengandung suatu lapisan yang dapat memengaruhi pertumbuhannya yang terdiri atas matriks ekstraseluler fibronektin, laminin dan kolagen IV juga matriks ekstraseluler embrionik yaitu tenasin dan dekorin (Dontu et al., 2003).

Mamosfir ditumbuhkan dalam media yang disuplementasi dengan faktor penumbuh, mampu memperkaya progenitor dan sel punca yang tetap *self-renewal*, yaitu suatu proses perbanyak sel dengan tetap mempertahankan karakteristiknya dan tidak berdiferensiasi atau tidak menjadi sel spesifik yang lain. Teknik mamosfir dikembangkan dengan mengadopsi teknik yang digunakan untuk kuantitasi aktivitas sel punca neural, selanjutnya teknik ini dimodifikasi menggunakan jaringan kelenjar susu untuk membentuk mamosfir yang terbukti mengandung populasi sel punca.

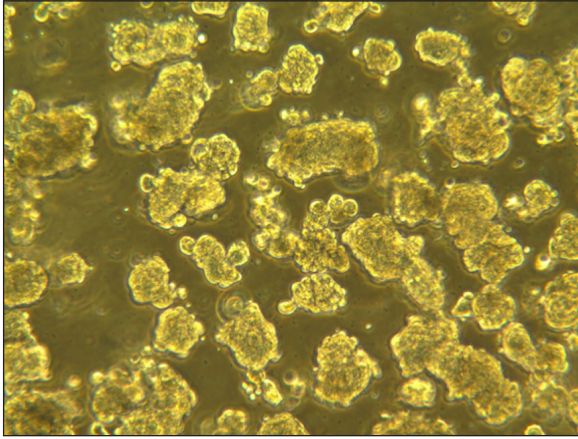
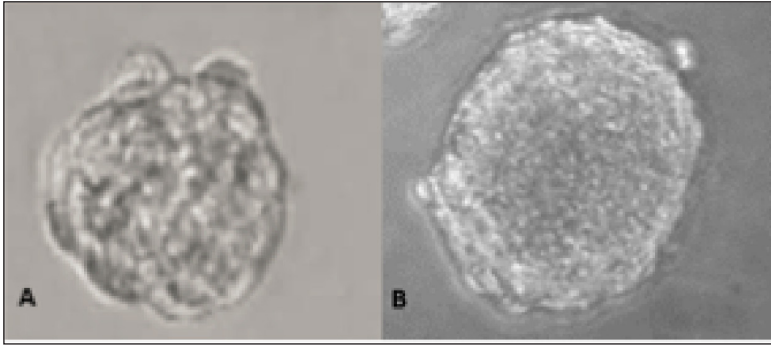


Foto: Silmi Mariya (2019)

Gambar 7.1 Kultur Tiga Dimensi Mamofir Asal Kelenjar Susu *Macaca fascicularis*

Morfologi mamofir yang dikembangkan dari populasi sel ini mempunyai morfologi yang sama dengan mamofir asal satwa primata dari spesies marmoset (*Callithrix jacchus*) (Wu et al., 2016), yaitu membentuk koloni multiseluler dan tumbuh melayang dalam suspensi media yang ditumbuhkan menggunakan lempeng *ultralow attachment surfaces*, suatu botol kultur tempat pertumbuhan sel yang bermuatan netral sehingga sel tidak dapat menempel pada permukaan tempat tumbuhnya. Populasi mamofir asal marmoset mengekspresikan *ITGA6* (Gambar 7.2)



Keterangan: (A) Morfologi Mamosfir Asal Marmoset dan (B) Morfologi Mamosfir Asal Monyet Ekor Panjang

Sumber: (A) Wu et al. (2016) dan (B) Mariya et al. (2019)

Gambar 7.2 Morfologi Mamosfir dari Spesies Primata yang Berbeda, tetapi Morfologi *Sphere* Sama dan Multiseluler

Mamosfir asal genus *Macaca* lain telah dikembangkan dari monyet resus (*Macaca mullata*), merupakan satwa primata yang berasal dari India oleh Wilkerson et al. (2015) (data belum dipublikasikan). Koleksi kelenjar susu untuk pengembangan mamosfir ini diperoleh dari hasil nekropsi. Teknik mamosfir banyak digunakan untuk melihat jumlah sel punca atau sel progenitor yang berasal dari sel epitel kelenjar susu dan mengukur jumlah sel punca kanker atau *tumor initiating cell* (TIC) yang berasal dari jaringan tumor kelenjar susu. Mamosfir yang mengalami subkultur mampu memperkaya populasi sel punca yang bersifat multipoten.

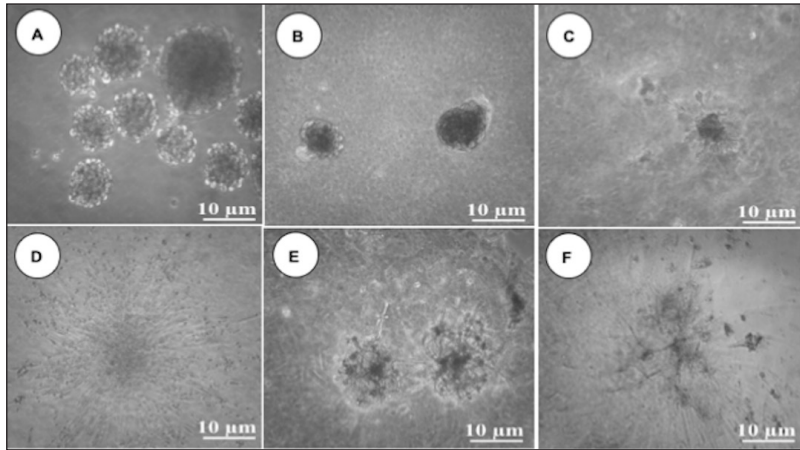
Populasi mamosfir MEP mengekspresikan *CK18* dan *CD24* sebagai markah sel epitel, Tingkat ekspresi menurun sesuai dengan bertambahnya pasase karena sel ditumbuhkan pada media spesifik untuk mamosfir bukan sel epitel. Ekspresi markah sel punca kelenjar susu *ITGB1* dan *ITGA6* meningkat seiring dengan meningkatnya pasase. Markah penanda pluripoten (*NANOG*, *OCT4* dan *SOX2*), diekspresikan dan mengalami penurunan tingkat ekspresi, hal ini diduga karena sel punca kelenjar susu adalah sel punca dewasa yang mempunyai sifat multipoten tidak mengarah ke pluripoten, yang

ditunjukkan dengan meningkatnya tingkat ekspresi dari penanda sel punca kelenjar susu (*ITGB1* dan *ITGA6*) dan menurunnya tingkat ekspresi penanda pluripoten.

B. Diferensiasi Mamosfir

Karakterisasi sel punca adalah mampu mempertahankan sifatnya untuk tetap *self-renewal* dan berdiferensiasi menjadi sel yang spesifik sesuai yang diarahkan dengan penambahan beberapa faktor penunjangnya. Mamosfir juga dapat bertahan tidak berdiferensiasi setelah melalui beberapa kali subkultur. Dalam hal lain, mamosfir yang berasal dari sel tunggal dapat berdiferensiasi menjadi beberapa jalur sel. Pertumbuhan mamosfir dalam matrigel mampu berkembang menjadi struktur fungsional yang kompleks, dan membantuk sel duktus dan alveolar yang sama dengan kelenjar susu, sebagai contoh apabila sel yang berasal dari mamosfir diberi perlakuan prolaktin, sel-sel tersebut akan menyekresikan kasein ke dalam lumen.

Sel yang berasal dari kultur 3D ketika ditumbuhkan menggunakan lempeng kultur mampu membentuk morfologi *epithelial like*, yang mempresentasikan adanya populasi sel epitel dan membentuk morfologi memanjang (*spindle*) yang mempresentasikan populasi mioepitelial. Secara *in vivo*, populasi sel ini akan membentuk kelenjar susu dengan struktur lobulo-alveolar, yang terdiri dari sel mioepitel yang membentuk lapisan basal saluran dan alveoli, serta duktus sel-sel epitel yang melapisi lumen saluran, dan alveolar sel-sel epitel yang menyintesis air susu (Visvader & Stingl, 2014). Morfologi organoid yang berbeda teramati pada diferensiasi tiga dimensi (Mariya et al., 2019) (Gambar 7.3). Penemuan ini menunjukkan bahwa populasi sel asal mamosfir mampu berdiferensiasi yang ditunjukkan dengan morfologi yang berbeda dari sel asalnya.



Keterangan: (A) Mammosfir, (B) *Non-Budding*, (C) *Elongated Duct Structure*, (D) *Coronal Budding*, (E) *Sub-coronal Budding*, (F). *Star-like Budding*

Sumber: Mariya et al. (2019)

Gambar 7.3 Morfologi *Organoid* Hasil Diferensiasi Tiga Dimensi Menunjukkan Morfologi Berbeda dari Mammosfir Setelah Periode Kultur Selama 7 Hari dalam Matrigel

Kajian lebih lanjut masih diperlukan untuk mengetahui mekanisme genistein pada mammosfir sebagai model *in-vitro*. Walaupun demikian, model kultur mammosfir ini dapat digunakan dalam pengujian senyawa bioaktif yang berkaitan dengan kesehatan kelenjar susu, juga dapat digunakan untuk mempelajari mekanisme karsinogenesis pada sel kelenjar susu.

C. Simpulan

Mammosfir MEP merupakan mammosfir pertama yang dikembangkan dari satwa primata asli Indonesia. Populasi ini mengandung sel punca dewasa yang mempunyai karakteristik seperti sel punca lainnya yaitu *self-renewal* dan mampu berdiferensiasi. Penggunaan mammosfir sebagai model *in-vitro* akan membantu kita untuk mempelajari proses karsinogenesis pada payudara, dapat digunakan untuk mengevaluasi pengaruh obat atau senyawa lain terhadap diferensiasi dan mem-

pelajari mekanismenya, baik seluler maupun molekuler pada tujuan pengobatan regeneratif. Sel punca satwa primata berfungsi sebagai model yang relevan secara klinis yang sangat berharga untuk penelitian yang tidak dapat dilakukan pada manusia karena keterbatasan aplikasinya atau etika, atau pada rodensial karena perbedaan fisiologi dan anatomi. Penggunaan satwa primata untuk penelitian sel punca tidak harus dilakukan sebagai studi utama, tetapi bisa hanya menggunakan jaringan yang tidak digunakan dari studi lain.

Kemiripan satwa primata dengan manusia adalah dalam anatomi dan fisiologi sehingga dapat memberikan keuntungan dalam penelitian biomedis, antara lain, sebagai hewan model. Hewan model tersebut di antaranya dapat dijadikan sebagai sumber sel punca. Penggunaan sel punca satwa primata sangat penting untuk menjembatani kesenjangan pengetahuan yang dihasilkan dari penelitian sel punca menggunakan rodensial serta memberikan informasi penting yang diperlukan untuk uji klinis pada manusia. *Macaca fascicularis* atau monyet ekor panjang (MEP) merupakan salah satu jenis satwa primata yang banyak digunakan untuk pengujian dan sebagai hewan model penyakit manusia.

Daftar Pustaka

- Cline, J. M., & Wood, C. E. (2008). The mammary glands of Macaques. *Toxic. path.*, 36, 134–141. <https://doi.org/10.1177/0192623308327411>
- Dewi, F. N., Wood, C. E., Willson, C. J., Register, T. C., Lees, C. J., Howard, T. D., Huang, Z., Murphy, S. K., Tooze, J. A., Chou, J. W., Miller, L. D., & Cline, J. M. (2016). Effects of pubertal exposure to dietary soy on estrogen receptor activity in the breast of *Cynomolgus* Macaques. *Cancer Prev Res (Phila)* 9(5), 385–395. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-15-0165>
- Dontu, G., Abdallah, W. M., Foley, J. M., Jackson, K. W., Clarke, M. F., Kawamura, M. J., & Wicha, M.S. (2003). In-vitro propagation and transcriptional profiling of human mammary stem/progenitor cells. *Genes Dev.* 17, 1253–1270. <https://doi.org/10.1101/gad.1061803>. potential
- Mariya, S., Dewi, F. N. A., Suparto, I. H., Wilkerson, G. K., Cline, J. M., Permanawati, Iskandriati, D., Budiarsa, I. N., & Sajuthi, D. (2017).

- Mammary gland cell culture of *Macaca fascicularis* as a Reservoir for Stem Cells. *HAYATI Journal of Biosciences*, 24, 136 -141
- Mariya, S., Dewi, F. N. A., Suparto, I. H., Wilkerson, G. K., Cline, J. M., Permanawati, Iskandriati, D., Budiarsa, I. N., & Sajuthi, D. (2019). Mammosphere culture of mammary cells from cynomolgus macaque (*Macaca fascicularis*). *Comparative Medicine*, 69(2), 144–150.
- Stute, P., Wood, C. E., Kaplan, J. R., & Cline, J. M. (2004). Cyclic changes in the mammary gland of cynomolgus macaques. *Fertil. Steril.* 82, 1160–1170. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.04.035>
- Visvader, J. E., & Stingl, J. (2014). Mammary stem cells and the differentiation hierarchy: Current status and perspectives. *Gene & Development*, 28, 1143–1158. <https://doi.org/10.1101/gad.242511.114>
- Wu, A., Dong, Q., Gao, H., Shi, Y., Chen, Y., Zhang, F., Bandyopadhyay, A., Wang, D., Gorena, K. M., Huang, C., Tardif, S., Nathanielsz, P. W., & Sun, L-Z. (2016). Characterization of mammary epithelial stem/progenitor cells and their changes with aging in common marmosets. *Sci. Rep.*, 6, 32190. <https://doi.org/10.1038/srep32190>