



## **Peran *Bone Marrow Mesenchymal Stem cells* (BMMSC) dalam Perubahan Seluler *Hyperplasia* Kelenjar Adrenal Tikus Hipertensi**

**Yanse Yane Rumlaklak<sup>1\*</sup>, Erni Sulistiawati<sup>2</sup>, Dondin Sajuthi<sup>3</sup>, Sus Derthi Widhyari<sup>3</sup>, Setyo Widi Nugroho<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Program Studi Kesehatan Hewan, Jurusan Peternakan, Politeknik Pertanian Negeri Kupang, Jln Prof.Dr. Herman Yohanes, Kel. Lasiana, Kupang;

<sup>2</sup> Program DIII Institut Pertanian Bogor, Kampus Barangsiang, Bogor

<sup>3</sup> Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

<sup>4</sup> Departemen Bedah Saraf, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia

\*Korespondensi : yanne\_drh@yahoo.co.id

### **ABSTRAK**

Dalam keadaan hipertensi, *hyperplasia* merupakan salah satu abnormalitas jaringan yang terlihat yang ditunjukkan dengan peningkatan jumlah sel dalam jaringan atau organ sehingga jaringan atau organ menjadi lebih besar ukurannya dari normal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas *bone marrow mesenchymal stem cells* (BMMSC) terhadap perubahan seluler *hyperplasia* pada organ kelenjar adrenal tikus hipertensi. Penelitian ini menggunakan sepuluh ekor tikus jantan strain Wistar dengan umur  $\pm$  10-12 minggu dan berat badan  $\pm$  200-250 gram, dan dibagi menjadi 2 kelompok berbeda yaitu hipertensi BMMSC (+) dan hipertensi BMMSC (-). Tikus dikondisikan hipertensi menggunakan Metode Hashimoto. Nefrektomi kanan dan ligase arteri carotid communis dilakukan pada semua tikus. Tikus disuntik dengan deoxycorticosterone acetate (DOCA), kemudian 0,12% aminopropionitrile fumarate (BAPN) ditambahkan ke dalam air minum. Larutan NaCl 1% diberikan sebagai air minum selama penelitian. Evaluasi tekanan darah hipertensi dilakukan, kemudian tikus-tikus di euthanasia untuk koleksi organ kelenjar adrenal. Organ Kelenjar adrenal di fiksasi dengan formalin 10% dan kemudian diwarnai dengan pewarnaan *Periodic Acid Schiff* (PAS). Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif kualitatif. Hasil penelitian ini membuktikan terapi hipertensi dengan menggunakan BMMSC menunjukkan perubahan hiperplasia kearah normal.

**Kata kunci:** *deoxycorticosterone acetate*; tikus hipertensi; kelenjar adrenal; PAS; *stem cells*

### **PENDAHULUAN**

Kelenjar adrenal merupakan salah satu organ yang penting dalam pengaturan fisiologi tubuh yaitu dalam keseimbangan cairan dan elektrolit dalam tubuh. Kelenjar adrenal juga berperan dalam mengatur tekanan darah,



sehingga gangguan pada kelenjar adrenal dapat menyebabkan hipertensi (Babot *et al.* 2015). *Hyperplasia* merupakan salah satu perubahan seluler yang ditemukan dalam pemeriksaan mikroskopik pada kelenjar adrenal. *Hyperplasia* adalah keadaan dimana jaringan membesar karena jumlah sel yang terus bertambah. Penelitian Boulkroun *et al.* (2010) dan Kacem *et al.* (2009) mengungkapkan adanya eskalasi sel-sel pada zona glomerulosa kelenjar adrenal pada pasien hipertensi.

Dewasa ini perkembangan dalam dunia kedokteran sangat pesat. Salah satunya adalah kemajuan dalam menggunakan sel punca dalam pengobatan atau terapi. Sel punca mesenkimal dari sumsum tulang (*Bone marrow mesenchymal stem cells/ BMMSC*) merupakan salah satu sel punca yang sudah diteliti dan memberikan banyak manfaat bagi dunia kedokteran. BMMSC memiliki keefektifan dalam meregenerasi jaringan yang abnormal serta mempunyai kemampuan sebagai imunomodulator (Han *et al.* 2012). *Stem cells* atau sel punca memiliki daya dan kemampuan yang sangat menjanjikan dalam mengobati penyakit yang tidak dapat disembuhkan dengan menggunakan metode pengobatan biasa. Pengobatan *stem cells* ini memiliki potensi untuk menyembuhkan penyakit dengan mengganti komponen sel yang rusak (Halim *et al.* 2010).

Hipertensi merupakan salah satu penyakit degeneratif, dimana abnormalitas sel pada kelenjar adrenal akibat hipertensi bersifat irreversible sehingga penggunaan obat-obatan konvensional hanya mampu memperlambat atau mencegah kerusakan jaringan yang lebih luas. *Stem cells* memberikan alternatif terapi yang dapat memperbaiki kerusakan sel tersebut dengan mengganti sel dan komponen yang rusak. Berdasarkan kerangka pemikiran inilah, diharapkan *stem cells* dapat mengembalikan keadaan sel kelenjar adrenal seperti semula, dengan peningkatan sel dalam jaringan atau *hyperplasia*. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran dan efektifitas *bone marrow mesenchymal stem cells* tikus dalam meregenasi abnormalitas sel kelenjar adrenal, sehingga dapat dilaporkan potensi terapi tersebut terhadap tikus hipertensi.

## METODOLOGI

Penelitian ini didesain secara *experimental laboratorik* yang dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik, Fakultas kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, yang mana seluruh prosedur dan tahapan penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor dengan nomor 07-015 RSHP FKH-IPB. Penelitian ini menggunakan sepuluh ekor tikus jantan dengan umur  $\pm$  10-12 minggu dengan berat badan tikus  $\pm$  200-250 gram, diaklimatisasi selama 14 hari. Tikus dibagi dalam dua perlakuan secara acak, yaitu Kelompok A (hipertensi tanpa terapi BMMSC) yang selanjutnya di sebut hipertensi kontrol dan kelompok B (hipertensi dengan treatment BMMSC). Tahapan induksi hipertensi pada hewan coba, Menilai Keberhasilan Induksi Hipertensi pada Hewan Coba, Penyuntikan *Bone Marrow*



*Mesenchymal Stem Cells* (BMMSC) in Vivo, Tindakan akhir penelitian dan Evaluasi histopatologi mengikuti modifikasi metode Hashimoto *et al.* 1980 dalam Rumlaklak *et al.* 2018.

Hasil penelitian ini diperoleh dari data primer dan data sekunder. Data primer penelitian ini meliputi evaluasi preparat histopatologi kelenjar adrenal secara deskripsi, dengan mengevaluasi parameter perubahan tingkat seluler *hyperplasia* yang teramati pada preparat histopatologi kelenjar adrenal, sedangkan data sekunder dalam penelitian ini adalah data hipertensi. Semua data dikumpulkan dan dianalisis secara deskriptif kualitatif (Mordue *et al.* 2001).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini berhasil mengkondisikan hipertensi pada tikus pada kelompok kontrol maupun kelompok hipertensi dengan terapi dengan terapi *Bone marrow mesenchymal stem cells* (BMMSC). Tekanan darah tikus di akhir perlakuan induksi hipertensi pada tikus adalah 171/128 mmHg dan 171/130 mmHg, dengan rata-rata tekanan arteri 143 mmHg dan 144 mmHg (Nugroho 2017 dalam Rumlaklak *et al.* 2018).

Pemeriksaan mikroskopik kelenjar adrenal kelompok hipertensi kontrol dan kelompok hipertensi BMMSC ditemukan perubahan paling dominan adalah *hyperplasia*, yang ditemukan pada semua zona pada korteks dan medulla kelenjar adrenal. Pada kelompok hipertensi BMMSC, *hyperplasia* ditemukan lebih banyak dan menyebar pada semua zona dan medulla kelenjar adrenal, dibandingkan pada kelompok kontrol ditemukan lebih sedikit. Hal ini terkait peran dari *bone marrow mesenchymal stem cells* dalam meregenerasi kerusakan jaringan.

*Hyperplasia* merupakan respon awal sel terhadap stress fisiologi yang berlebihan yang mana dalam saat yang bersamaan sel berusaha mempertahankan kelangsungan hidup sel (Guyton dan Hall, 2006). Dalam beberapa lapang pandang preparat histopatologi, *hyperplasia* digambarkan terlihat ada penumpukan dan pepadatan sel-sel di korteks pada zona glomerulosa, fasikulata dan retikularis. Hal ini menyebabkan zona-zona tersebut terlihat lebih tebal dari normalnya. Dalam kondisi hipertensi, *hyperplasia* terjadi karena adanya perangsangan sel dengan peningkatan beban kerja pensinyalan hormon, ataupun sinyal yang diperoleh secara local sebagai respon dari penurunan kepada jaringan (Guyton dan Hall 2006). Dalam Rumlaklak *et al.* 2018, *hyperplasia* terjadi karena adanya produksi aldosterone dan adrenokortikotropik (ACTH) yang berlebihan. Aldosteronisme atau aldosterone yang berlebihan dalam darah mempengaruhi kadar kalium, natrium, bikarbonat dan klorida, sehingga cairan tubuh menjadi tidak seimbang dan dapat menyebabkan tekanan darah tinggi (Price dan Wilson, 2006). Peningkatan hormon ACTH terkondisikan karena tidak tercukupinya sintesis kortisol karena defisiensi 21-hydroxylase sehingga hipotalamus dan



hipofisis mensekresi ACTH berlebih, hal ini yang menyebabkan terjadi *hyperplasia* pada korteks adrenal.

Berdasarkan evaluasi terhadap preparat patologi seluler pada kedua kelompok perlakuan ditemukan adanya proses *recovery* atau *repair* pada sel-sel atau jaringan yang mengalami kerusakan. Terapi *bone marrow mesenchymal stem cells* dapat memperbaiki sel dengan membelah dan berdiferensiasi sehingga terjadi penumpukan sel-sel baru pada korteks adrenal (Widjiati *et al.*, 2015; Rantam *et al.*, 2014).

Dalam meregenerasi sel, stem cells akan melewati proses homing dan proliferasi pada organ spesifik yang melibatkan beberapa tahap seperti *cell attachment*, proses rolling stem cells pada pembuluh darah, proses adhesi dan proses ekstravasasi sel punca pembuluh darah dan proses migrasi. Kemampuan migrasi stem cells dipengaruhi oleh sinyal/ rangsangan dari area yang mengalami injuri, *reception system* dan kemampuan sel dalam melakukan kemotaksis (Kholodenko *et al.* 2012). Dalam treatment hipertensi ini, *bone marrow mesenchymal stem cells* dapat mengekspresikan banyak reseptor dan molekul adhesi yang berperan dalam proses migrasi dan homing pada sel target (Sohni dan Vertaillie 213). Sitokin dan factor pertumbuhan (*growth factor*) sangat berperan dalam homing stem cells. Saat sel atau jaringan mengeluarkan respon awal berupa reaksi inflamasi pada kelenjar adrenal, jaringan yang mengalami kerusakan akan mengeluarkan sitokin dalam jumlah besar seperti IL-6, platelet derived growth factor – BB (PDGF – BB) dan IGF<sub>1</sub> (Kholodenko *et al.* 2012). PDGF-BB mempunyai kemampuan yang lebih besar dalam menarik *bone marrow mesenchymal stem cells* dibandingkan dengan sitokin lainnya. Saat stem cells atau sel punca mengalami proliferasi dan diferensiasi menghasilkan faktor pertumbuhan dan sitokin. Dalam proses penyembuhan, sitokin berperan dalam berkomunikasi dan merangsang sel itu sendiri dan sel lainnya untuk meregenerasi sel. Pada sitokin inflamasi yang lain seperti TGF- $\alpha$ 1, interleukin (IL)-1 $\alpha$  dan TNF- $\alpha$  menstimuli produksi matriks metalloproteinase (MMPs) sehingga akan menjadi stimulasi yang kuat dalam migrasi kemotaktik melalui matriks ekstraseluler (Kholodenko *et al.* 2012), yang mana MMPs juga berperan dalam remodeling jaringan (Kang *et al.*, 2012).

## SIMPULAN

Peran *bone marrow mesenchymal stem cells* (BMMSC) terhadap perubahan seluler *hyperplasia* pada organ kelenjar adrenal tikus hipertensi adalah meregenerasi sel yang mengalami kerusakan akibat respon awal sel terhadap stress fisiologi yang berlebihan. BMMSC akan merangsang jaringan yang mengalami kerusakan untuk mengeluarkan sitokin dalam jumlah besar, termasuk didalamnya platelet derived growth factor – BB (PDGF – BB) yang berperan dalam menarik *bone marrow mesenchymal stem cells* memperbaiki sel yang rusak pada organ target.



## DAFTAR PUSTAKA

- Babot GR, Hadjimetriou I, King PJ, Guasti L. 2015. New Directions for the Treatment of Adrenal Insufficiency. *Frontiers in Endocrinology*. 6(70):1-8.
- Boukroun S, Samson-Couterie B, Dzib JG, Lefebvre H, Louiset E, Amar L, Plouin PO, Lalli E, Jeunemaitre X, Benecke A, Meatchi T, Zennaro MC. 2010. Adrenal Cortex Remodeling and Functional Zona Glomerulosa Hyperplasia in Primary Aldosteronism. *Hypertension* 56: 885-892
- Guyton AC, Hall JE. 2006. *Textbook of Medical Physiology*. 11 Edition. Pennsylvania. Elsevier Inc.
- Halim D, Murti H, Sandra F, Boediono A, Djuwantono T, Setiawan B. 2010. *Stem Cell: Dasar teori dan Aplikasi Klinis*. Edisi:1. Jakarta. Penerbit Erlangga. Hal:1- 30.
- Han Z, Jing Y, Zhang S, Liu Y, Shi Y, Wei L. 2012. The role of immunosuppression of mesenchymal stem cells in tissue repair and tumor growth. *Journal Cell & Bioscience* 2(1): 8. doi:10.1186/2045-3701-2-8
- Hashimoto N, Handa H, Nagata I, Hazama F. 1980. Experimental inducement of saccular cerebral aneurysms in rats. *No Shinkei Geka*. 8(1); 31-34.
- Kacem M, Moussa A, Khohtali I, Nabouli R, Morel Y, Zakhama A. 2009. Bilateral adrenalectomy for severe hypertension in congenital adrenal hyperplasia due to 11-hydroxylase deficiency: Long term follow-up. *Annales d'Endocrinologie*. 70: 113-118.
- Kang SK, Il SS, Myung SK, Jung YJ, Jeong CR. 2012. Journey of mesenchymal stem cells for homing: strategies to enhance efficacy and safety of stem cell therapy. *Journal Stem Cells Inter* 1-11 .
- Kholodenko IV, Konieva AA, Lupatov AY, Yegorov YE, Yarygin KN. 2012. Transplantation of human mesenchymal stem cells and syngeneic macrophages into mice with contusive spinal cord injury. *Journal Tissue Eng Regen Med* 6(1): 86-87.
- Price SA, Wilson LM. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses Penyakit*. EGC:Jakarta.
- Rantam F, Ferdiansyah, Purwati. 2014. *Stem Cells : Mesenchymal, Hematopoetik dan Model Aplikasi*. Edisi Kedua. Surabaya. Airlangga University Press.
- Rumlaklak YY, Sulistiawati E, Sajuthi D, Widhyari SD, Nugroho SW. 2018. Perubahan Patologi Seluler Kelenjar Adrenal Tikus Hipertensi dengan Terapi Sel Punca Mesenkimal Sumsum Tulang. *Jurnal Veteriner* Vol. 19 (2) 215-221.
- Widjiati, Madyawati SP, Rimayanti, Achmad AB. 2015. Terapi Sel Punca Mesenkimal Sumsum Tulang Tikus dalam Meregenerasi Sel Sitotrofoblas Nekrosis yang dipapar Carbon Black. *Jurnal Veteriner*. 16(2): 265-273.