

TERAPI STROKE DENGAN SEL PUNCA

STEM CELL THERAPY FOR STROKE

Fenny Lanawati Yudiarto*

ABSTRACT

Stroke remains the leading cause of death in Indonesia and the main cause of disability around the world. Very few stroke patients can be rescued by systemic thrombolytic therapy, while most will be handicapped for the rest of their lives.

Stem cells have the capacity for endless self-renewal and the potential to differentiate, depending on their origins. Stem-cell based therapies have been developed for various CNS diseases, including stroke, traumatic brain injury and neurodegenerative diseases such as Parkinson's disease and Alzheimer's disease. Several different types of stem cells, such as peripheral blood, bone marrow, and embryonic stem cells, have been used successfully to induce neurogenesis and functional recovery in various experimental models of ischemia. In the United States, a guideline to facilitate the development of cell-based therapy from animal models to human clinical trials has been made, named *Stem Cell Therapies as an Emerging Paradigm in Stroke (STEPS)*.

STEPS I (2007) focused on preclinical safety, efficacy profile, cell characterization, delivery route, in vivo biodistribution, mechanism of action, and medicolegal for the safety and efficacy of cell therapies for stroke. *STEPS II (2010)* identified critical gaps in knowledge and research areas that required further studies, updated prior guidelines, and drafted new recommendations to create a framework for future investigations in cell-based therapies for stroke. *STEPS III (2013)* discussed emerging data on the mechanisms of action of cell therapy, the barriers to successful translation from animal models to patients, and the design of clinical trials for acute and chronic stroke.

Keywords: STEPS trial, stem cells, stroke

ABSTRAK

Stroke merupakan penyakit penyebab kematian utama di Indonesia dan penyebab kecacatan yang utama di dunia (RISKESDAS 2010 dan 2013). Hanya sebagian kecil dari pasien stroke yang berhasil dengan trombolisis sistemik, sedangkan sebagian besar pasien stroke hidup dengan kecacatan di sisa hidupnya.

Sel punca memiliki kemampuan untuk pembaruan yang terus menerus dan berpotensi untuk berdiferensiasi, tergantung dari asal mula sel itu sendiri. Pengobatan dengan sel punca telah banyak dikembangkan pada berbagai penyakit susunan saraf pusat termasuk di antaranya stroke, cedera kepala, dan penyakit degeneratif seperti penyakit Parkinson dan Alzheimer. Berbagai tipe sel seperti darah perifer, sumsum tulang, dan embrionik telah banyak diteliti pada hewan coba untuk merangsang pertumbuhan sel dan memperbaiki fungsi luaran. Di Amerika telah dibentuk panduan untuk mengembangkan terapi sel untuk stroke dari penelitian hewan menuju ke uji klinik pada manusia, yaitu *Stem Cell Therapies as an Emerging Paradigm in Stroke (STEPS)*.

STEPS I (2007) difokuskan pada faktor keamanan preklinik, efektivitas, karakteristik sel, cara pemberian, biodistribusi, mekanisme aksi, dan efek medikolegal dari terapi sel untuk stroke. *STEPS II (2010)* terutama mengidentifikasi celah kritis antara pengetahuan dan penelitian, serta membentuk *framework*. *STEPS III (2013)* membicarakan data mekanisme aksi terapi dari sel punca, translasi yang berhasil dari penelitian hewan ke manusia, serta mendisain uji klinis sel terapi untuk stroke akut dan kronik.

Kata kunci: Sel punca, STEPS trial, stroke

*Departemen Neurologi FK Universitas Diponegoro, Semarang. **Korespondensi:** fennyly@gmail.com

PENDAHULUAN

Data WHO mengindikasikan bahwa stroke dan penyakit serebrovaskular dapat membunuh sekitar 5,7 juta orang pertahun. Di Amerika, insidens stroke mencapai 800.000 penderita/tahun diikuti dengan 11 juta stroke yang asimtomatik.¹ Hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Indonesia tahun 2007 dan 2010, menunjukkan bahwa stroke merupakan penyebab kematian yang pertama, di atas infeksi dan kardiovaskular.^{2,3} Akan tetapi bagaimanapun juga stroke tetap penyebab kecacatan yang utama di seluruh dunia.

Gangguan aliran darah otak dapat mengakibatkan kerusakan jaringan otak yang sangat cepat, hanya dalam waktu beberapa jam berjuta-juta neuron serta sinaps rusak. Pemberian (*recombinant tissue plasminogen activator* (rtPa)) secara intravena dalam 3 sampai 4,5 jam dari awitan maupun mengundur masa *window period* hingga 6 jam seperti dalam beberapa penelitian, terkadang tidak menimbulkan perbaikan yang bermakna, sehingga perlu dilanjutkan dengan pemberian intraarteri. Pada beberapa penelitian, awitan yang diundur menjadi 9 jam pascastroke dengan menggunakan desmoteplase, menunjukkan tidak cukup efektif untuk memperbaiki luaran secara fungsional pada fase pascaiskemik.⁴

Percobaan terapi sel punca (*stem cell*) pada binatang memberikan hasil yang menjanjikan untuk penyembuhan defisit neurologik setelah beberapa bulan bahkan beberapa tahun pascastroke. Hal ini didasarkan atas sifat plastisitas dari sel dan neurogenesis. Terapi ini sudah banyak dikembangkan pada penyakit-penyakit neurologilain, seperti penyakit Parkinson, Alzheimer, trauma kepala, dan kelainan medula spinalis. Pada penderita stroke selain sel neuron juga diperlukan penyelamatan terhadap sel glial, untuk mendapatkan perbaikan secara holistik. Kemampuan sel punca dalam berdiferensiasi secara *in vitro* maupun *in vivo* menjadi neuron, astrosit maupun oligodendrosit, memberi peluang ataupun harapan untuk penderita stroke.

Keunggulan dan harapan besar keberhasilan sel punca telah beredar di kalangan medis maupun awam. Namun perlu diketahui faktor-faktor penting, seperti kandidat yang tepat untuk menerima sel punca

dengan mempertimbangkan umur dan penyakit-penyakit yang menyertai; jenis sel punca yang akan digunakan; jenis kemasan (*segar/fresh stem cells* atau *kering/dry stem cells*), asal donor (*auto/allo/xeno*), jenis selnya (*embrionik/mesenkimal/sel saraf*), dan kemurnian sel punca. Setelah mendapatkan sel punca, perlu ditentukan cara pemberian sel punca, (*intravena, intraarteri, subkutan, atau melalui pungsi lumbal*) serta waktu pemberian yang tepat. Selain itu, perlu pula diketahui mekanisme sel punca dalam melakukan regenerasi dan *tracing*—untuk mengetahui sel punca tepat sasaran atau menempel di tempat lain-, dan monitor efek sampingnya.

Paradigma lama menyatakan bahwa neurogenesis hanya terjadi selama perkembangan embrionik dan susunan saraf pusat dewasa sudah tidak mampu lagi untuk membuat sel saraf baru.⁵ Beberapa tahun terakhir berbagai penelitian membuktikan bahwa paradigma di atas tidak benar. Neurogenesis masih dapat terjadi pada usia dewasa, yaitu berasal dari dua daerah di zona subventrikular (ZSV) dan zona subgranular (ZSG). Progenitor sel yang berasal dari kedua zone tersebut dapat berproliferasi, migrasi, dan berdiferensiasi menjadi sel neuron, astrosit, dan oligodendrosit.⁶

Penelitian *activity-dependent plasticity* menunjukkan akson dan dendrit dapat tumbuh berkembang serta berduplikasi menuju target yang akan dicapai. Sel punca neuron dapat berkembang menjadi neuron maupun menjadi sel penyangga seperti astrosit, mikroglia, dan oligodendrosit. Hal inilah yang membuka peluang untuk penyembuhan penyakit-penyakit degeneratif maupun meningkatkan aktivitas motorik pada strategik neurorestorasi dan pada akhirnya dapat memperbaiki kecacatan yang terjadi akibat stroke.⁷

Sel terapi atau sel implan bukan berarti menggantikan sel yang telah rusak, namun sebagai *mini pump* untuk merangsang serta memobilisasi *growth factor* dari dalam tubuh resipien atau yang disebut sebagai *endogenous neurotrophic factor*, antara lain: *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), *nerve growth factor* (NGF), *glial cell line-derived neurotrophic factor* (GDNF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), dan lain-lain. Berbagai neurotropik inilah yang efektif

untuk merangsang regenerasi dan plastisitas, yang dinamakan neurogenesis endogen.⁸

Sel implan juga dapat merangsang lepasnya neurotransmitter agar kerja sinaps semakin baik, serta menyebabkan *plasticity environment* atau *supportive niche* yang memungkinkan sel tersebut dapat tumbuh dan matur untuk berintegrasi dengan sel pejamu.⁹ Kenyataan yang didapatkan bahwa penyembuhan neural selalu berkaitan dengan perbaikan fungsi imunitas, karena luaran neural seperti lepasnya neurotransmitter akan memengaruhi atau mengaktivasi kerja sumsum tulang, limpa, sehingga terdapat peningkatan sitokin, dan protein-protein yang terkait seperti BDNF, VEGF, dan lain-lain yang penting untuk regenerasi. Hal ini dikenal sebagai *neuroimmune communication*.¹⁰

Sel punca yang digunakan untuk terapi harus memiliki sifat-sifat totipoten, pluripoten, atau multipoten. Totipoten yaitu satu sel dapat berubah menjadi organisme yang lengkap, bahkan menjadi sel diluar jaringan embrionik. Pluripoten bila sel yang berpotensi untuk berdiferensiasi menjadi 3 lapisan germinal, yaitu organ-organ ektoderm (jaringan saraf dan epidermal), mesoderm (otot, tulang, pembuluh darah, dan saluran kemih), dan endoderm (paru, usus, sistim saraf), tetapi tidak mampu berkembang menjadi jaringan ekstraembrionik, misalnya plasenta. Multipoten bila hanya mampu menjadi satu jenis sel tertentu, misalnya sel darah atau sel tulang.

Berikut adalah jenis terapi sel punca yang pernah dilakukan untuk stroke:

Human fetal brain cells; merupakan jenis sel yang mula-mula dipakai, merupakan pionir terapi sel. Pada awalnya digunakan untuk penyakit Parkinson, tetapi pada tahun 1986, Polezhaev dan Alexandrova mencobanya pada otak tikus yang dibuat iskemik. Hasil yang dilaporkan pascaterapi adalah pengurangan sel yang mengalami nekrosis, perbaikan kadar neurotransmitter, dan fasilitasi penyembuhan kognisi. Namun terapi ini sangat berbahaya dan tidak diperbolehkan lagi secara etik di Amerika maupun Eropa.¹¹

Human teratocarcinoma cells. Pada tahun 1984 telah berhasil dibuat galur sel *teratocarcinoma*, yaitu NT2 yang merupakan *post mitotic neural like*

cells setelah terpapar asam retinoat. Selanjutnya pada tahun 2000 dilakukan fase uji klinis pada kasus stroke, sel diimplankan secara stereotaktik ke pasien dengan infark ganglia basal, diikuti dengan injeksi imunosupresan selama 2 bulan. Secara keseluruhan tidak ditemukan adanya neoplasma setelah diikuti 27 bulan, akan tetapi pada fase 2 *clinical trial* yang meliputi 14 kasus dan 4 kontrol, menunjukkan tidak ada kemajuan yang berarti secara fungsional berdasarkan *European Stroke Scale* pada 6 bulan pascaterapi (tidak bermakna), dan adanya *adverse outcome* berupa 1 kasus kejang dan 1 hematomsudural yang butuh evakuasi hematomnya.^{12,13}

Porcine fetal neural stem cells. Penelitian menggunakan *porcine fetal neural* ini dilakukan oleh Savitz dkk (2005) pada 5 pasien stroke basal ganglia yang telah stabil, yang diberikan 50 juta anti-MHC1 *antibody treated fetal porcine cells* secara stereotaktik. Satu pasien menunjukkan gejala semakin memburuk dan 1 pasien mengalami kejang, namun yang lain menunjukkan perbaikan hingga tahun keempat.¹⁴

Bone marrow mononuclear cells (BMMCs). Penelitian-penelitian klinik kecil menggunakan BMMCs yang diberikan secara intravena menunjukkan hasil yang memuaskan. Demikian pula pada kasus infark miokard, yang memberikan hasil perbaikan sebesar 4,77% yaitu dengan peningkatan dari *ejection fraction* setelah 3 bulan pemberian. Suarez-Montefudo dkk (2009) melaporkan pemberian BMMCs pada kasus stroke tidak ada efek samping kejang dan *longterm* EEG tidak menunjukkan perubahan yang berarti.¹⁵

Mesenchymal stem cells (MSCs) disebut pula sebagai *marrow stromal cells* adalah kultur *bone marrow derived cells* ke dalam media serum. Penelitian metaanalisis menunjukkan bahwa MSCs intravena pada stroke memberikan luaran kognitif 2 kali lebih baik dari pada BMMCs. Hal ini disebabkan karena MSCs lebih homogen dan dapat dilakukan manipulasi genetik untuk *target delivery* sehingga lebih mudah menjangkau target daerah yang iskemik. Namun ditemukan beberapa pelaporan terjadinya *MSC-derived sarcoma* pasca penggunaan MSCs, sehingga diperlukan standar kontrol kualitas

sitogenetik.¹⁶

Baik BMSCs dan MSCs keduanya memiliki *survival* yang terbatas di dalam otak, baik secara lokal maupun sistemik. Efek perbaikan yang ditimbulkan terutama akibat dari *trophic signal* yang ditimbulkan, bukan dari tumbuhnya transplantasi sel itu sendiri.

Lee dkk (2010) melaporkan penggunaan intravena 2 dosis dari 50 juta autologus MSCs pada pasien stroke, didapatkan perbaikan skor *modified Ranking Score* (mRS) dalam 5 tahun ($p=0,46$) dan peningkatan konsentrasi *stromal cell-derived factor-1* (SDF-1). Hal ini menunjukkan perbaikan sistem *homing* dan peningkatan aktivitas ZSV. Penelitian ini ditunda karena penggunaan *xenogenic bovine calf serum* dalam mengkultur sel graft.

Neural stem cells (NSCs). Teknik untuk kultur NSC pertama kali ditemukan oleh Reynolds dan Weiss (1992) memberikan rangsangan tropik yang bagus dan efek tumorigenitas yang minimal. Metaanalisis studi menunjukkan NSCs memberikan perbaikan behavior yang lebih besar dibanding BMSCs maupun MSCs. Biasanya dibuat dari mukosa olfaktorius. Saat ini berlangsung penelitian *open label neural stem cell line CTX0E03*, suatu *human neural stem cell line* dari sel punca somatik manusia dengan modifikasi genetik. Percobaan ini dimulai Juni 2010 terhadap 12 pasien pascastroke iskemik yang masih mengalami kecacatan 6 bulan sampai 5 tahun. Sel CTX akan diinjeksikan ke daerah putamen pasien dengan evaluasi terhadap keamanan dan efek samping.^{17,18}

Embryonic stem cells (ESCs). Jenis sel punca ini mempunyai kapasitas untuk menjadi sel apa saja karena sifatnya yang totipoten, sehingga bahaya untuk terjadinya teratoma. Penelitian ESCs menimbulkan suatu kontroversi perdebatan etik termasuk lintas agama, sehingga dana risetnya sempat dihentikan di Amerika. Namun sejak tahun 2009, studi ini dikembangkan lagi dan dibuat pedoman tentang penggunaannya oleh *National Institute of Health* (NIH).

Inducible pluripoten stem cells (iPSCs) adalah sel punca pluripoten buatan, berasal dari sel somatik dewasa yang tidak memiliki sifat pluripoten, kemudian di program ulang menjadi berkemampuan

pluripoten seperti pada ESCs. Hal ini penting untuk mengurangi kontroversi penggunaan embrio. iPSCs pertama kali ditemukan dari John B Gurdon (Inggris) dengan mengambil nukleus dari sel kulit katak dan dimasukkan ke sel oosit, yang kemudian dikembangkan untuk membuat domba kloning 'Dolly'. Teknik *reprogramming* ini dimatangkan oleh Shinya Yamanaka, sehingga keduanya memenangkan *Wolf Prize in Medicine* dan *Nobel Prize in Medicine* tahun 2012.¹⁹⁻²²

Sifat dari iPSCs ini, baik pola kromatin metilasi, pembentukan badan embrioid, dan kemampuan diferensiasi persis sama dengan ESCs, namun menggunakan c-Myc retrovirus yang dapat meningkatkan tumorigenitas pada tikus maupun chimera, yaitu dengan terbentuknya *retrovirus derived cancer*. Akan tetapi Nakagawa dkk (2008) memodifikasi protokol pembuatan iPSC hingga memiliki kualitas yang baik dengan efek samping tumor minimal, tanpa memakai c-Myc retrovirus.²¹ Junying Yu dkk (2009) juga membuat iPSCs tanpa melalui retrovirus, melalui plasmid yang berisi beberapa gen *reprogramming*, kemudian melalui kultur di beberapa media selama beberapa minggu dapat menghilangkan plasmidnya, sehingga sel yang didapat tetap bersifat pluripoten tanpa risiko kanker. Hal ini membawa harapan baru untuk dikembangkannya iPSCs pada manusia.²²

Kebanyakan penelitian sel punca menggunakan pasien dengan infark ganglia basal, oleh karena lesi sekecil apapun di ganglia basal akan mengakibatkan defisit motorik yang nyata. Demikian pula lesi ganglia basal merupakan target yang paling mudah dicapai secara stereotaktik.²³ Berdasarkan tipe stroke, beberapa studi menunjukkan bahwa *dose-response* sel terapi berbeda antara stroke infark dan hemoragik, diperlukan dosis obat yang lebih besar pada hemoragik dibandingkan infark. Hal ini disebabkan karena pada stroke hemoragik biasanya reaksi inflamasinya lebih besar dibandingkan infark.²⁴

Ada beberapa cara pemberian yang telah dilakukan dalam penelitian sel punca, antara lain intraparenkim dan intraarteri (IA).²⁵ Intraparenkim/ stereotaktik paling bagus untuk mencapai sasaran, akan tetapi sangat invasif terkadang menimbulkan komplikasi seperti hematoma subdural, sehingga

diperlukan evakuasi. Pemberian secara intraarteri dapat meminimalkan sekuestrasi di jaringan seperti liver, paru, dan limpa, akan tetapi dapat menyebabkan terjadinya emboli sel. Sel punca dapat pula diberikan secara intravena dengan harapan terjadi reaksi 'homing', akan tetapi pada *tracing* ternyata jumlah sel yang menuju ke tempat sasaran terbatas karena beberapa sel ter-sekuestrasi di beberapa organ yang dilewati. Demikian pula dengan pemberian secara intramuskular.

Pemikiran semakin besar dosis akan memungkinkan sel yang berhasil hidup dan berintegrasi dengan pejamu lebih besar. Namun laporan Darsalia dkk menyebutkan bahwa dosis besar melebihi yang ditetapkan tidak akan menambah jumlah sel donor yang akan hidup. Terdapat *optimal threshold* dari jumlah sel *graft*. Apabila sel yang diberikan sangat besar sedangkan nutrisi dari lingkungan tidak memadai, maka akan terjadi kematian sel *graft* itu sendiri. Demikian pula apabila sel yang diberikan dalam jumlah besar maka akan berpotensi efek massa, yang secara teoritis meningkatkan risiko terjadinya tumor.²⁵

Beberapa penelitian menganjurkan pemberian sedini mungkin, yaitu 48 jam setelah awitan stroke. Namun metanalisis pada binatang percobaan menunjukkan pemberian sedini mungkin pascastroke sebelum aktivasi maksimal dari mikroglia -sekitar 17-18 hari setelah awitan- akan lebih memberikan hasil yang lebih baik.²⁶

Mekanisme yang Terjadi Pasca Sel Terapi Integrasi

Terjadi dengan derajat yang bervariasi. Sel *graft* hidup dan matur akan membentuk koneksi sinaptik ke sel pejamu (sinaptogenesis), *long-term potentiation*, memperbaiki memori dan proses pembelajaran, resolusi diakisis, dan neurogenesis. Integrasi bisa terjadi apabila keadaan *niche* menunjang. NSCs dapat berdiferensiasi menjadi sel-sel penyangga seperti astrosit ataupun oligodendrosit, sehingga nutrisi sel saraf lebih terjamin. Sebagian besar dari penelitian sel punca untuk stroke tidak menunjukkan pengurangan besar infark, akan tetapi terdapat perbaikan dari *European Stroke Scale*

maupun mRS score.²⁷

Mediator Inflamasi

Studi metaanalisis yang dilakukan oleh Janowski dkk (2010) mengatakan bahwa tidak ada korelasi antar luaran secara fungsional pascaterapi sel dengan mediator inflamasi, yang dibuktikan dengan penurunan protein inflamasi dan reaksi apoptosis.²⁸ Akan tetapi interaksi antara signal inflamasi dan sel punca adalah suatu mekanisme yang sangat kompleks. Kegagalan *tracing* atau tempat pengambilan sampel yang tidak sesuai, dapat membuat kesimpulan yang tidak benar. Hal ini dapat dilihat dari penelitian Horie dkk (2011) yang berasumsi bahwa protein pada vaskulatur akan berubah terlebih dahulu sebelum terlihat adanya perbaikan dalam keluaran fungsional pada minggu I pascasel punca, akan tetapi mereka mendapatkan kadar VEGF tidak berubah, justru perbaikan dari *tight junction* pada sawar darah otak (SDO) yang terlihat terlebih dahulu.^{27,28}

Neurogenesis

Beberapa hal yang dapat mempengaruhi ZSV dan ZSG untuk neurogenesis endogen antara lain berasal dari dalam tubuh pasien itu sendiri, yaitu usia, gizi, jumlah *growth factor* maupun antioksidan *scavenger* yang dimiliki, lama sakit yang diderita, serta komorbiditas yang dimiliki; serta faktor luar berupa luasnya kerusakan yang terjadi, lama sakit, jenis sel punca, serta jumlah sel yang dimasukkan.^{29,30}

Untuk merangsang mobilisasi sel punca endogen dapat digunakan *granulocyte colony-stimulating factor* (G-CSF), yang sudah disetujui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) dengan nama Neupogen® (Filgrastim) di Amerika dan Kanada, atau Emgrast® di India. Obat ini merangsang pergerakan progenitor yang berasal dari sumsum tulang menuju ke darah perifer, juga mempunyai efek angiogenik, anti-inflamasi, serta neuroproteksi. Pada hewan coba disebutkan dapat mengurangi ukuran infark sebanyak 4%. Saat ini sudah dilakukan penggunaan G-CSF untuk stroke dalam fase II *randomized and blinded clinical trial* oleh Schäbitz dkk (Jerman)³¹ dan Bath dkk (Inggris).³² Shyu dkk (2006) di Taiwan telah pula menggunakan G-CSF untuk stroke infark NIHSS 7-20 diberikan setelah hari ke 7 yaitu

15ug/kg subkutan 1x/hari selama 5 hari. Hasilnya diikuti hingga 1 tahun dengan MRI maupun PET *scan* berupa luaran fungsional yang cukup bermakna dan aman.³³ Penting untuk menentukan *time window* yang tepat dalam pemberian G-SCF, sehingga menjadi peluang yang bagus untuk pasien-pasien yang tidak dapat diberikan rtPA.³⁴

Perbaikan vaskular

Perbaikan neuron tidak mungkin terjadi tanpa nutrisi yang tepat, dari perbaikan sistem vaskulatur di daerah infark. Jadi harus terjadi perbaikan secara integral. Perbaikan dari sistem ini bisa ditelusuri dengan ditemukan CD43 pada daerah periinfark pascaterapi sel, serta protein proangiogenik seperti VEGF, EGF, IGF-1, dan lain-lain.^{25,35}

Plastisitas

Otak dewasa tetap mempunyai kemampuan plastisitas meskipun sifat ini menurun dengan bertambahnya usia. Terdapat dua protein penting untuk plastisitas yaitu trombospondin 1 dan 2, yang berperan dalam formasi sinaps dan regenerasi. Hal ini dibuktikan dengan penelitian pada tikus yang dibuat stroke dan dihilangkan trombospondin 1 dan 2 terjadi penyembuhan fungsional yang buruk dibandingkan dengan tikus kontrol.³⁶

Pemberian sel punca pada pasien stroke dapat melalui beberapa mekanisme, yaitu merangsang produksi neuroblas dari *endogenous neural stem cells*, transplantasi langsung dengan *neural stem cells*, atau transplantasi dari sel yang non neural stem cells, tetapi dapat merangsang plastisitas aksonal dan remyelinisasi serta merangsang protein tropik.^{37,38}

Setelah melalui perjalanan panjang selama 20 tahun percobaan demi percobaan dilakukan untuk membantu mengurangi kecacatan yang ditimbulkan pada pasien stroke yang terlambat atau tidak berhasil dengan rtPA, maka FDA tahun 2007 melalui *Stroke Therapy Academic Industry Roundtable* (STAIR) membuat studi *guideline* sel punca untuk stroke, *Stem Cell Therapy as an Emerging Paradigm for Stroke* (STEPS). Studi ini telah dipublikasikan tentang keamanan, dosis, cara pemberian, dan waktu yang tepat untuk terapisel.³⁹ Disebutkan pula bahwa cara pemberian terapi sel berkaitan dengan awitan.

Pemberian secara intravena pada awitan minggu pertama stroke cukup memberikan hasil yang baik. Akan tetapi FDA masih menekankan untuk meneliti toksisitas pada hati, ginjal, limpa, dan paru pada pemberian secara intravena ini.

Pedoman Terapi Sel Punca pada Stroke (STEPS II)⁴⁰

- Karakteristik sel: identitas sel, *imunofenotiping*, dan proses pembuatannya perlu dirinci dalam hal *purity, viability, potency, stability*, dan dosis.
- Spesies binatang percobaan: disarankan untuk *rodent*. Perlu dilakukan evaluasi usia binatang (muda dan tua), jenis kelamin, komorbiditas
- Stroke model: iskemik dan perdarahan intraserebral pada daerah kortikal atau subkortikal
- Keamanan: tentang tumorigenesitas, imunosensitisasi, biodistribusi, persistensi, dan nasib sel yang telah dimasukkan
- Pemantauan luaran: memakai barthel index dan mRS, akan tetapi perlu ditetapkan pengukuran terhadap *behavioral outcome*
- Dosis dan waktu yang tepat
- Mekanisme yang terjadi

Chopp dkk (2009) mengungkapkan perlu adanya ketegasan jenis *rodent*, karena mekanisme translasional antara *rat* dan *mice* bisa berbeda, sehingga protein yang ditimbulkan juga bisa berbeda. Chopp dkk juga menyarankan adanya batasan-batasan tegas, seperti pada infark di arteri serebri media akan dilakukan total oklusi atau partial oklusi.⁴¹

KESIMPULAN

Pengelolaan stroke tetap perpegang pada prinsip '*time is brain*'. Pemakaian rtPA tetap menjadi pilihan utama apabila pasien datang dalam *time window* yang tepat. Terapi sel tetap menjadi pilihan terakhir jika terapi yang telah direkomendasikan di dalam standar *guideline* tidak mendapatkan hasil maksimal atau terdapat kecacatan yang berat dan menetap.

Prinsip membantu mengurangi kecacatan yang berat tetap harus dipegang sebagai indikasi

terapi sel punca pada stroke, agar terapi ini tidak disalahgunakan. Terutama adalah hal pemilihan jenis sel untuk mencegah efek samping, juga cara pemberian, dosis, serta mekanisme yang terjadi harus diketahui secara mendalam. Perlu dilakukan monitor hasil yang dicapai baik dengan NIHSS, indeks Barthel, mRS, dan pemeriksaan kognitif lainnya. Cara pemberian juga perlu dipertimbangkan jangan terlalu invasif karena dapat menimbulkan efek samping.

Pilihan autotransplan tetap harus dipegang sejauh pejamunya memadai. Pertimbangkan usia, lama sakit, gizi, dan komorbiditas, karena hal tersebut di atas akan mempengaruhi kualitas dari *endogenous trophic factor*. *Allotransplant* dapat menjadi pilihan, tetapi perlu dipertimbangkan penyakit-penyakit herediter, transfer onkogenik, serta masalah etik. Sel punca embrionik paling bagus, memiliki sifat totipoten (apabila saat permulaan terjadinya) akan tetapi hati-hati terjadi *cell factory*, yaitu terbentuknya teratoma. NSCs menjadi pilihan tepat untuk stroke karena tumorigenitas yang rendah, dengan efektifitas cukup tinggi karena dapat berdiferensiasi menjadi sel saraf maupun sel glia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Leary MC, Saver JL. Annual incidence of first silent stroke in the United States: a preliminary estimate. *Cerebrovasc Dis*. 2003;16(3): 280–5.
2. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2007. Jakarta: Depkes RI. 2008.
3. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2010. Jakarta: Depkes RI. 2010.
4. Meretoja A, Tatlisumak T. Novel thrombolytic drugs: will they make a difference in the treatment of ischaemic Stroke? *CNS Drugs*. 2008;2(8):619-29.
5. Saver JL. Time is brain--quantified. *Stroke*. 2006;37(1):263–6.
6. Hadani M, Freeman T, Munsiff A, Young W, Flamm E. Fetal cortical cells survive in focal cerebral infarct after permanent occlusion of the middle cerebral artery in adult rats. *J Neurotrauma*. 1992;9(2):107–12.
7. Abe K. Therapeutic potential of neurotrophic factors and neural stem cells against ischemic brain injury. *J Cerebral Blood Flow Metab*. 2000;20(10):1393-408.
8. Shen LH, Li Y, Chen J, Zacharek A, Gao Q, Kapke A, dkk. Therapeutic benefit of bone marrow stromal cells administered 1 month after stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2007;27(1):6–13.
9. Park KI, Teng YD, Snyder EY. The injured brain interacts reciprocally with neural stem cells supported by scaffolds to reconstitute lost tissue. *Nat Biotechnol*. 2002;20(11):1111-7.
10. Daadi MM, Lee SH, Arac A, Grueter BA, Bhatnagar R, Maag AL, dkk. Functional engraftment of the medial ganglionic eminence cells in experimental stroke model. *Cell Transplant*. 2009;18(7):815–26.
11. Polezhaev LV, Alexandrova MA, Girman SV. Normalization of dystrophic brain cortex neurons after hypoxia and transplantation of embryonic nervous tissue in rats. *J Hirnforsch*. 1986;27(5):501–13.
12. Kondziolka D, Wechsler L, Goldstein S, Meltzer C, Thulborn KR, Gebel J, dkk. Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke. *Neurology*. 2000;55(4):565–9.
13. Kondziolka D, Steinberg GK, Wechsler L, Meltzer CC, Elder E, Gebel J, dkk. Neurotransplantation for patients with subcortical motor stroke: a phase 2 randomized trial. *J Neurosurg*. 2005;103(1):38–45.
14. Savitz SI, Dinsmore J, Wu J, Henderson GV, Stieg P, Caplan LR. Neurotransplantation of fetal porcine cells in patients with basal ganglia infarcts: a preliminary safety and feasibility study. *Cerebrovasc Dis*. 2005;20(2):101–7.
15. Suarez-Monteagudo C, Hernandez-Ramirez P, Alvarez-Gonzalez L, Garcia-Maeso I, de la Cuetara-Bernal K, Castillo-Diaz L, dkk. Autologous bone marrow stem cell neurotransplantation in stroke patients. an open study. *Restor Neurol Neurosci*. 2009;27(3):151–61.
16. Lee JS, Hong JM, Moon GJ, Lee PH, Ahn YH, Bang OY. A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke. *Stem Cells*. 2010;28(6):1099–106.
17. Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science*. 1992;255(5052):1707–10.
18. U.S. National Institutes of Health. Pilot Investigation of Stem Cells in Stroke (PISCES). *ClinicalTrials.gov* [serial online]. 2010 [diunduh 13 November 2015]. Tersedia dari: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01151124>.
19. Gurdon JB, De Robertis EM, Partington G. Injected nuclei in frog oocytes provide a living cell system for the study of transcriptional control. *Nature*. 1976;260:116-20.

20. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131(5):861–72.
21. Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, Takahashi K, Ichisaka T, Aoi T, dkk. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nat Biotechnol*. 2008;26(1):101–6.
22. Yu J, Hu K, Otto KS, Tian S, Stewart R, Slukvin II, dkk. Human induced pluripotent stem cells free of vector and transgene sequences. 2009;324(5928):797–801.
23. Wechsler LR. Clinical trials of stroke therapy: which cells, which patients? *Stroke*. 2009;40(suppl 1):S149–S51.
24. Jensen MB, Al Sawaf A, Zhang SC. A systematic review of human neural stem cell transplantation in animal stroke models. *ENJ*. 2011;22(4).
25. Burns TC, Steinberg GK. Stem cells and stroke: opportunities, challenges, and strategies. *Expert Opin Biol Ther*. 2011;11(4):447–61.
26. Darsalia V, Allison SJ, Cusulin C, Monni E, Kuzdas D, Kallur T, dkk. Cell number and timing of transplantation determine survival of human neural stem cell grafts in stroke-damaged rat brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2011;31(1):235–42.
27. Horie N, Pereira MP, Nuzuma K, Sun G, Karen-Gill H, Encarnacion A, dkk, 2011. Transplanted stem cell-secreted vascular endothelial growth factor effects poststroke recovery, inflammation, and vascular repair. *Stem Cells*. 2011;29(2):274–85.
28. Janowski M, Walczak P, Date I. Intravenous route of cell delivery for treatment of neurological disorders: a meta-analysis of preclinical results. *Stem Cells Dev*. 2009;19(1):5–16.
29. Andreas RH, Choi R, Steinberg GK, Guzman R. Potential of adult neural stem cells in stroke therapy. *Regen Med*. 2008;3(6):893–905.
30. Qu R, Li Y, Gao Q, Shen L, Zhang J, Liu Z, dkk. Neurotrophic and growth factor gene expression profiling of mouse bone marrow stromal cells induced by ischemic brain extracts. *Neuropathology*. 2007;27(4):355–63.
31. Liu YP, Lang BT, Baskaya MK, Dempsey RJ, Vemuganti R. The potential of neural stem cells to repair stroke-induced brain damage. *Acta Neuropathol*. 2009;117:469–80.
32. Schabitz WR, Kollmar R, Schwaninger M, Juettler E, Bardutzky J, Schölzke MN, dkk. Neuroprotective effect of granulocyte colony-stimulating factor after focal cerebral ischemia. *Stroke*. 2003;34:745–51.
33. Bath PMW, Sprigg N, England T. Colony stimulating factors (including erythropoietin, granulocyte colony stimulating factor and analogues) for stroke. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;6:CD005207.
34. Shyu WC, Lin SZ, Lee CC, Liu DD, LI H. 2006. Granulocyte colony-stimulating factor for acute ischemic stroke: a randomized controlled trial. *CMAJ*. 2006;174(7):927–33.
35. Borlongan CV, Hess DC. New hope for stroke patients: mobilization of endogenous stem cells. *CMAJ*. 2006;174(7):954–5.
36. Doi A N, Nakagomi T, Fujikawa M, Nakagomi N, Kubo L, Lu S, dkk. Bone marrow mononuclear cells promote proliferation of endogenous neural stem cells through vascular niches after cerebral infarction. *Stem Cells*. 2010;28(7):1292–302.
37. Liu Z, Li Y, Zhang ZG, Cui X, Cui Y, Lu M, dkk. Bone marrow stromal cells enhance inter- and intracortical axonal connections after ischemic stroke in adult rats. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2010;30(7):1288–95.
38. Lindvall O, Kokaia Z. Stem cells research in stroke: how far from the clinic? *Stroke*. 2011;42(8):2369–75.
39. Reynolds BA, The STEPS Participants. Stem cell therapies as an emerging paradigm in stroke participants. *Stem Cell Therapies as an Emerging Paradigm in Stroke (STEPS): bridging basic and clinical science for cellular and neurogenic factor therapy in treating stroke*. *Stroke*. 2009;40:510–5.
40. Savitz DI, Chopp M, Deans R, Carmichael ST, Phinney D, Wechsler L. Stem cell therapy as an emerging paradigm for stroke (STEPS) II. *Stroke*. 2011;42(3):825–9.
41. Chopp M, Steinberg GK, Kondziolka D, Lu M, Bliss TM, Li Y. Who's in Favor of Translational Cell Therapy for Stroke: STEPS Forward Please? *Cell Transplantation*. 2009;18(7):691–3.