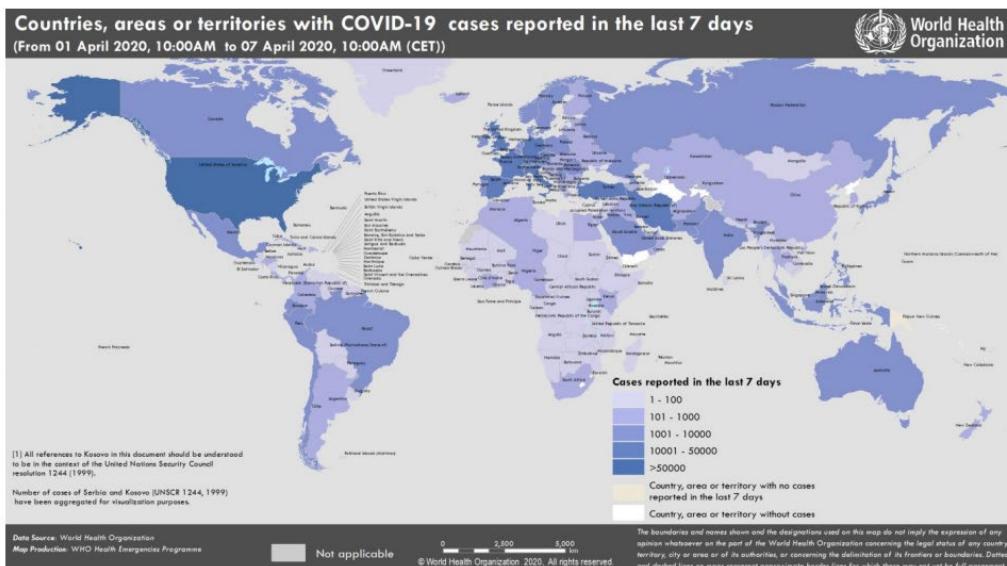


Literatur Review: Peran Mesenchimal Stem Cell dalam Memodulasi Sistem Imun terhadap Cytokine Storm pada Pasien COVID19

Ayu Eka Fatri
ayuekaf@apps.ipb.ac.id

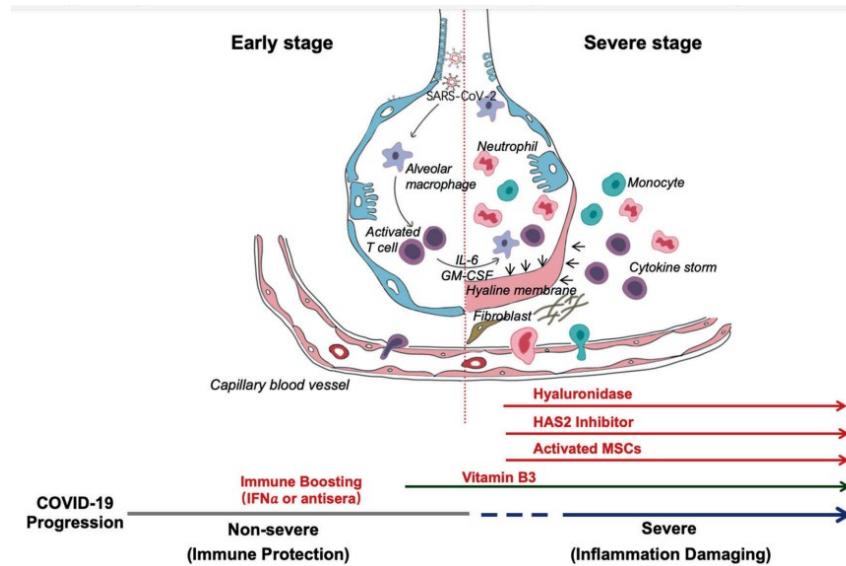
COVID19 adalah virus jenis β-coronavirus yang pertama kali muncul di Wuhan, China. Virus tersebut teridentifikasi pada Desember 2019 pada kasus pneumonia. WHO secara resmi memberikan nama pada virus tersebut sebagai coronavirus disease 2019 (COVID19) dan Coronavirus Study Group (GSG) memberikan nama sebagai SARS-CoV-2. COVID19 β-coronavirus yang dikelilingi non-segmented positive-sense RNA virus (subgenus betacovirus, subfamily Orthocoronavirinae).¹ COVID19 sudah menyebar hingga seluruh dunia, dengan data hingga 7 April, terdapat 1279010 kasus dengan kematian sebanyak 72603 orang.²



Gambar 1. Negara dan wilayah yang terkonfirmasi atas kasus COVID19 pada 7 april 2020

Gejala infeksi COVID19 muncul setelah periode inkubasi selama 5,2 hari dengan periode awal gejala kematian berkisar 6-41 hari dengan rata rata selama 14 hari. Perbedaan periode tersebut dengan usia dan status sistem imun pasien. Gejala awal yang paling umum pada penderita COVID yakni demam, batuk, kelelahan, produksi dahak, sakit kepala, hemoptisis, diare, dyspnoea dan limfopenia dengan hasil CT scan dada sebagai pneumonia. Pasien COVID19 mengalami masalah pada gastrointestinal seperti diare. Hal tersebut yang membedakan penderita COVID19 dengan penderita MERS-CoV dan SARS-CoV.³ Pada penderita COVID19 sering ditemukan pasien yang mengalami lymphocytopenia yang disebabkan terjadinya Cytokine Realese Syndrom (CRT) yang

dimediasi oleh leukosit selain sel T. Penyakit tersebut dapat diredukan dengan memblokir kerja dari sitokin IL6, IL1 dan TNF.⁴



Gambar 2. Representasi skematis dari perkembangan infeksi COVID-19 dan potensi intervensi tambahan.⁴

COVID19 masuk kedalam tubuh penderita dengan alur yakni;

1. Virus masuk kedalam sel yang memiliki reseptor ACE2⁺. Reseptor ini banyak ditemukan pada sel-sel di paru, kardiovaskular, hati, ginjal dan saluran pencernaan.⁵ Dikarenakan hal tersebut COVI19 dapat menyebabkan terjadinya pneumonia.
2. Saat virus masuk kedalam sel, virus akan menyebabkan Cytokine storm. COVID19 dapat merangsang badai sitokin pada paru-paru yang semakin memperburuk pneumonia yang diderita pasien. Badai sitokin ini disebabkan karena adanya peningkatan dari IL2, IL6, IL7, GSCE, interferon- γ yang diinduksi IP10, MCP1, MIP1A dan TNFa.^{6,7}
3. Pada penderita COVID19, adanya HLA pada paru dapat memperburuk kerusakan paru (pneumonia). Adanya HLA dapat digunakan sebagai prototipe untuk genetic susceptibility pada penyakit infeksi. Untuk mengatasi hal tersebut bisa dengan menaggulangi atau menghambat HLA dengan pemberian hyaluronidase.⁴

Respon imun yang di induksi oleh COVID19 ada dua fase yakni

1. Inkubasi dan non severe stag.

Pada tahap tersebut, respon imun adaptif spesifik diperlukan untuk menghilangkan virus dan untuk mencegah perkembangan penyakit ketahapan yang lebih parah. Pencegahan yang dilakukan yakni dengan peningkatan respon imun seperti antisera/pegilated/Fna.

2. Pengembangan dari endogenus protektif imun respon pada saat inkubasi dan non severa tag, host harus memiliki kesehatan yang baik dan genetik yang sesuai HLA dari antivirus khusus.⁴

Pada pasien yang terkena COVID19 parah, ditemukan Lymphopenia, dan pengurangan secara drastis dari CD4+, sel T CD8+, Sel B, NK 1-4, penurunan monosit, eosinofil dan basofil serta adanya peningkatan neutrofil dalam lifosit. Selain hal tersebut juga temukan exhausted marker seperti NKG2A pada sitotoksik limfosit. Sedangkan pada pasien yang sembuh semua jumlah tersebut kembali normla dan ditemukan adanya antibodi SARS-COV2 yang spesifik.⁸

Pada penderita COVID19 parah ditemukan adanya cytokine strom yang terjadi dan memperburuk keadaan pasien. Cytokine strom adalah reaksi kekebaran yang parah dimana tubuh melepaskan terlalu banyak sitokin kedalam darah dengan cepat. Hal tersebut dapat disebabkan adanya infeksi, kondisi autoimun dan penyakit lain serta imunoterapi. Sitokin adalah protein yang dikeluarkan oleh sel sebagai persignalan antar sel dan komunikasi sel. Type tipe sitokin yakni interferon, interleukin, chemokin, coloni stimulatingn ffactor, dan TNF.⁹

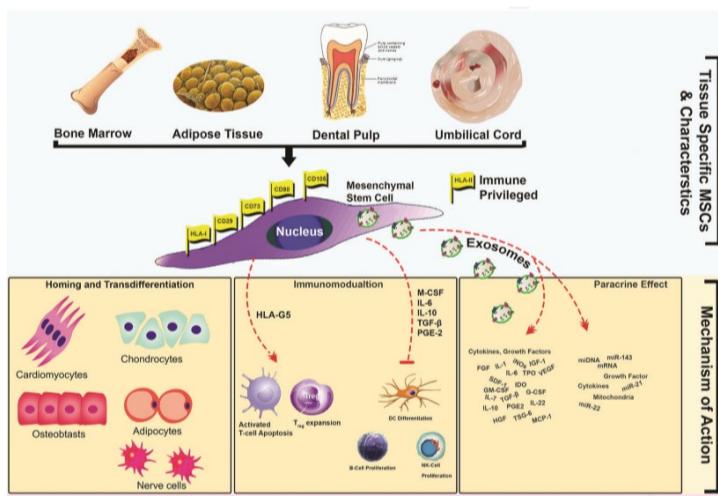
Cytokine strom awalnya terjadi lokal kemudian menyebar keseluruhan tubuh melalui sirkulasi sistemik Karakteristik dari cytokine strom yakni dengan terjadinya Rubor, tumor, kolor, dolor, functio laesa yang semuanya merujuk ke peradangan akut.¹⁰

Salah satu terapi dalam mengatasi cytokine strom adalah dengan menggunakan Mesenchymal stem cell. Mesenchymal stem cells (MSCs) adalah salah satu stem cell yang tergolong Adult stem cell. Adult stem cell atau disebut juga somatic stem cell adalah stem cell yang memiliki kemampuan untuk mempertahankan dan memperbaiki jaringan yang dimana mereka ditemukan. Stem cell tersebut dapat ditemukan diberbagai organ tubuh dengan jumlah yang terbatas bahkan kadang dapat dihilangkan oleh tubuh. Jadi stem cell ini diperoleh dari sel yang telah terdiferensiasi namun juga kadang memiliki sifat transdifferensiasi.¹¹

Suatu sel dapat dikatakan sebagai stem cell bila memiliki karakteristik berikut ini:

1. Bersifat plastic adherent
2. Mampu bersifat sebagai osteogenic, adipogenic dan kondrogenic

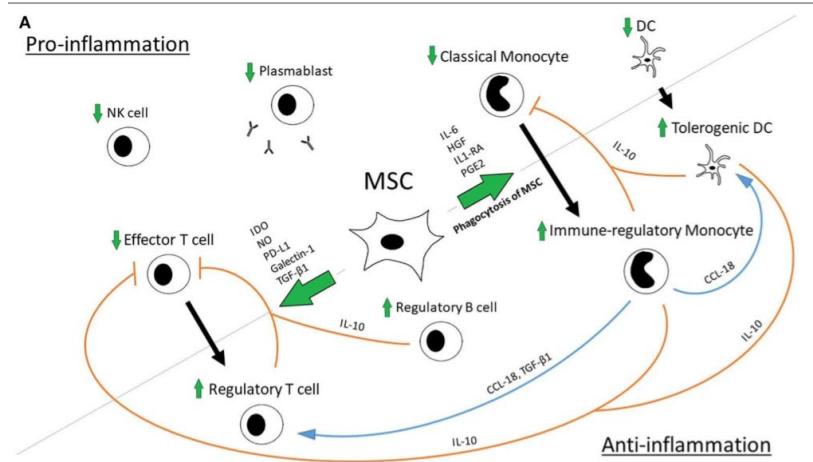
3. memiliki sifat sebagai triangle potensi differentiation
 4. being positif >95% dan negatif < 2%
 5. serta memiliki panel sel di antigen permukaan sel serta epitop yang memiliki lebih dari satu epitop spesifik.



Gambar 3. Sumber dan cara kerja MSC.¹²

Mesenchymal stem cells dapat diperoleh dari beberapa jaringan seperti pada gambar 1. Pada gambar terlihat MSC dapat diperoleh dari jaringan tulang, adipose, lapisan gigi serta tali pusar (umbilical cord). MSC bekerja dengan tiga aksi yakni dengan membentuk jaringan baru yang sesuai dengan asal jaringan MSC dan mampu transdifferensiasi juga. Transdiferensiasi adalah kemampuan MSC menjadi jaringan lain. Kemampuan lainnya adalah kemampuan untuk memodulasi sistem imun (imunomodulasi), yakni kemampuan untuk memodulasi sistem imun untuk mengeluarkan sitokin, merangsang aktivasi sel T apoptosis dan perkembangan Treg dengan reseptor HLA-G5. Selain merangsang, MSC mampu menghambat perkembangan DC dan poriferasi dari sel B dan NK dengan mengeluarkan M-SCF, IL6, IL10, TGFb, dan PGE-2. Kemampuan berikutnya adalah kemampuan untuk menimbulkan efek paracrine. Pada kemampuan tersebut MSC akan merangsang pengeluaran sitokin sitokin dan growth factor.

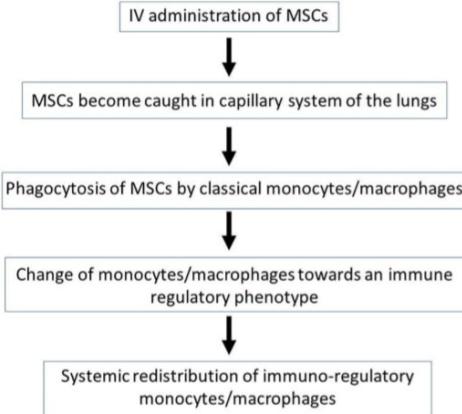
Mesenchymal stem cell memiliki karakteristik tertentu sebagai stem cell terutama MSCs pada sel manusia yakni dengan ditemukannya CD73, CD90, CD105, CD29 dan bila sel tersebut bukan MSCs maka akan ditemukan CD34, CD45, CD14/CD 11b, CD79 a/CD19 dan HLA-DR pada permukaan sel nya.^{13,14}



Gambar 4. kerja MSCs sebagai imunomodulator.

Mesenchymal stem cell memiliki berbagai kepasitas sebagai stem cell yakni

1. Memiliki kapasitas untuk imunomodulasi yang menghambat aktivitas sel T efektor (CD4+ dan CD8+) dan proliferasi baik secara langsung melalui berbagai sitokin dan secara tidak langsung memodulasi regulasi sel T dengan mengeluarkan TGF- β 1. (Gambar 4.)
2. Memodulasi perilaku sel dari NK cell (menghambat proliferasi dari sel NK dengan melibatkan prostaglandin E2 (PGE2) yang dikeluarkan MSCs), dendritic, sel B dengan mengurangi pembentukan plasmblast serta mempromosikan induksi dari sel B regulator (Breg memiliki sifat imunosupresif sehingga dapat memberikan toleransi imunologis dan memproduksi IL10 yang dapat mengubah sel T CD4 menjadi Foxp3 dan Treg), netrofil, monosit/makrofag melalui aksi dari sejumlah molekul termasuk prostaglandin E2(PGE2), indoleamin 2,3-dioxygenase (IDO), NO, dan lainnya. (Gambar 4.)
3. MSC mampu melakukan perbaikan jaringan secara lokal, dengan cara merangsang aktifasi alternatif dari makrofag untuk melakukan regenerasi dan proangiogenik dari M2 phenotipik yang bertentangan dengan kerja proinflamatori M1 phenotipik. (Gambar 5.)



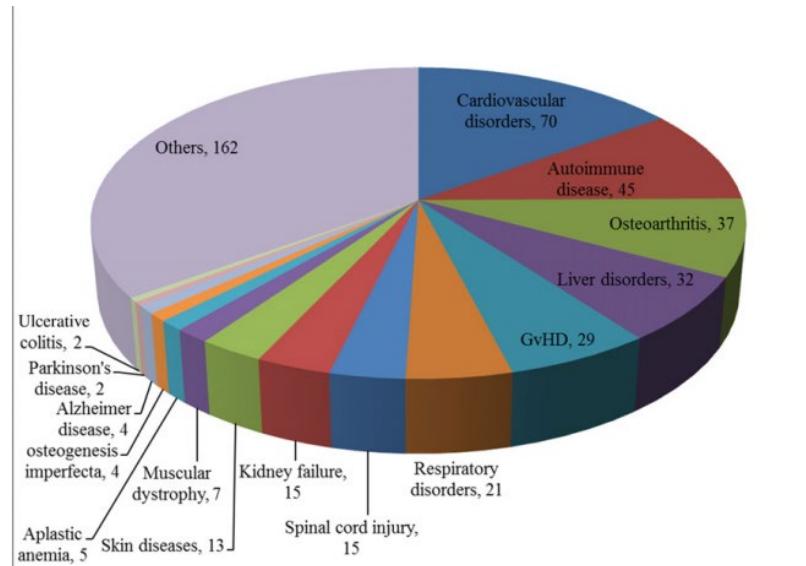
Gambar 5. kerja MSCs sebagai anti inflamasi.

4. MSC tidak hanya sebagai antiradang, namun dalam kondisi tertentu MSC dapat memberikan respon inflamasi dengan menghadirkan antigen untuk menginduksi sel T CD8+ untuk menimbulkan respon peradangan.^{13,15}

Banyaknya kemampuan yang dimiliki MSC tersebut mendukung penggunaan MSC sebagai salah satu terapi dalam pengobatan pasien termasuk COVID19 (Gambar 4). Menurut peraturan FDA, terapi menggunakan MSC didominasi dari MSC yang berasal dari autoogous bone marrow stem cell. Setm cell tersebut berdasarkan uji klinis, aman terhadap pengobatan pada nyeri tulang belakang dan sendi, namun hal ini berbeda dengan pengobatan terhadap pasien covid, dikarenakan penyakit yang disebabkan nya bersifat sistemik. Oleh karena itu MSC yang berasal dari tali pusar (UC-MSC) lebih memungkinkan untuk hal tersebut. Ha itu disebabkan beberapa alas an yakni:

1. Tali pusar (terutama Wharton jelly) tidak seperti sumsum tulang, bagian ini memiliki konsentrasi stem cell yang tinggi.
2. Tali pusat merupakan sumber stem cell yang luas.
3. UC-MSC memiliki waktu penggandaan cepat dan dapat diperluas secara efisien di lab.
4. UC-MSC bersifat scalable.
5. UC-MSCs dapat diekstraksi secara non-invasif dan tidak memerlukan prosedur seperti sumsum tulang atau sel batang adiposa.
6. Tidak seperti sel induk embrionik (ESC), tali pusar adalah jaringan setelah kelahiran dan dianggap sebagai limbah medis.

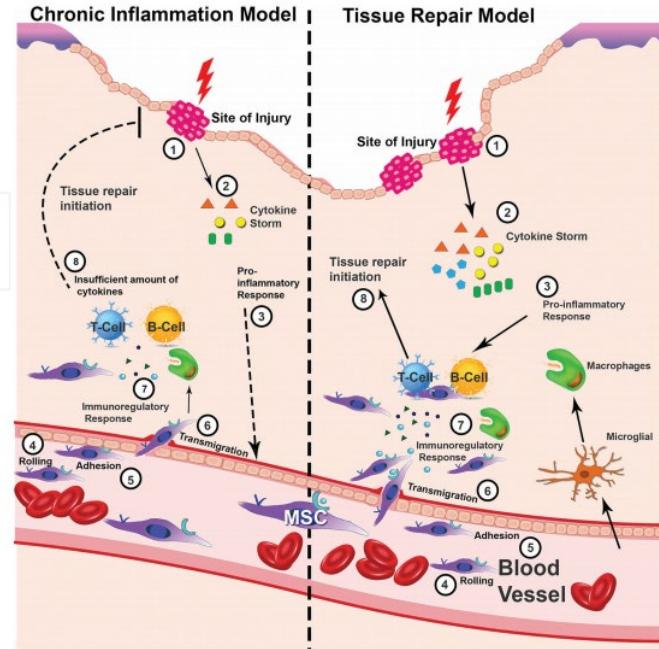
7. Tidak seperti sumsum tulang dan sel batang adiposa, UCSCs menunjukkan profil ekspresi gen yang lebih mirip dengan ESC yang berarti mereka memiliki waktu penggandaan yang lebih cepat, lebih plastisitas dan mungkin lebih potensial dan tidak bersifat tumorigenik
8. Meskipun sel-sel UC-MSC bersifat alogenik, namun bersifat immuno-evasive karena mampu mengekspresikan MHC kompleks histokompatibilitas utama (MHC) kelas I.¹⁶



Gambar 4. Penggunaan dan banyaknya MSCs digunakan sebagai terapi pada beberapa penyakit¹⁴

MSCs bekerja dengan adanya efek imunomodulator dan differensiasi kemampuan sel. MSCs dapat mengeluarkan sitokin dari sekresi paracrine yang digunakan untuk mengarahkan modulasi yang terjadi. Efek MSC dipicu lebih lanjut dengan aktifasi reseptor TLR di MSCs yakni dengan dirangsang oleh molekul yang berhubungan langsung dengan RNA untai ganda pada COVID19. ⁶MSC memberikan efek sebagai anti-inflamasi, anti-apoptotic, memperbaiki sel epitel paru yang rusak dan mempromote untuk membersihkan cairan alveolar.⁸ MSC menjadi salah satu terapi untuk wabah COVID19 pneumonia, karena memiliki efek farmakologi yakni sebagai anti inflamatori, imuno-modulator, regeneratif, proangiogenetik dan fibrotic proporsis.^{5,12}

Selain hal tersebut, pada penderita pneumonia yang disebabkan oleh COVID19, pemberian MSC sebagai terapi dapat menghambat over aktivasi dari sistem imun serta mendorong perbaikan dari endogen dengan perbaikan pada microenvironment di paru paru. Pada pasien yang diberikan terapi MSCs, ditemukan adanya peningkatan dari CD14+CD11c+CD11bmid regulatory dendritic cell (DC) serta adanya penurunan dari TNF α , a major pro inflammatory cytokine dengan peningkatan yang bersamaan dengan konsentrasi dari protein interleukin 10. Terapi yang menggunakan MSC ACE2 negatif terbukti bahwa MSCs tersebut terbebas dari infeksi COVID19. ¹⁷



Gambar 5. Tindakan imunoregulasi MSC pada peradangan kronis dengan peradangan akut¹²

MSCs adalah host bagi lokasi cedera karena cytokine strom lokal yang disekresikan oleh sel-sel kekebalan yang diaktifkan. Pengaktifan dan migrasi MSC menyebabkan sekresi berbagai faktor imunomodulator dan pertumbuhan. Tergantung pada sinyal sitokin (peradangan akut versus kronis), MSC memulai respons dan perbaikan imunoregulasi tempat cedera atau tidak mampu menghambat sinyal inflamasi kronis yang bertahan yang mengakibatkan fibrosis seluler.

Berikut beberapa kasus infeksi COVID19 yang berhasil diterapi dengan menggunakan MSCs.

Aspek	Kasus 1 ¹⁸	Kasus 2 ⁶
Jumlah pasien	Satu orang (wanita)	tujuh orang pasien.
Dosis	Banyak sel yang diberikan melalui intervensi sebanyak tiga kali yakni 5×10^7 sel per pemberian setiap tiga hari.	Jumlah sel MSC yang ditransplantasikan dihitung dengan 1×10^6 sel/Kg BB. Pemberian ini diberikan melalui intervensi sekitar 40 menit dengan kecepatan 40 tetes/menit.

Dampak	Pemberian MSC UC yang efektif memodulasi respon imun dan memperbaiki jaringan yang rusak.	Hal terjadi setelah pemberian MSC yakni peningkatan fungsi paru, penurunan gejala, dan tanpa tampaknya efek samping setelah dua hari pemberian MSC. Hasil yang diperoleh setelah pemberian MSC yakni tampak adanya peningkatan jumlah limfosit perifer, protein C reaktif menurun, serta menurunkan aktivasi dari sitokin sitokin yang aktif mensekresi sel imun (CXR3+, sel T CD4+, sel T CXCR3+, CD8+, CXCR3+ NK) hilang dalam tiga sampai enam hari setelah pemberian MSC.
Lama waktu penyembuhan	Pasien tersebut berhasil sembuh dari COVID dan dipulangkan dalam 20 hari setelah perawatan	Pasien tersebut berhasil sembuh dari COVID dan dipulangkan dalam 10 hari setelah perawatan

Hal yang harus diperhatikan dalam pasien COVID19

- a. MSC perlu diaktifkan oleh IFN γ untuk mengerahkan efek anti-inflamasi yang mungkin tidak ada pada pasien yang sel T nya tidak dipengaruhi oleh aktivasi SARS-COV-2. Oleh karena itu untuk meningkatkan efektivitas dari terapi meggunaan MSC, sebaiknya menggunakan MSC “licensing approach” pretreatmen MSC dengan IFNg dengan atau tanpa TNF/IL1, sehingga akan lebih efektif dalam menekan respon imun yang hiperaktif dan akan membantu dalam mengatasi kerusakan paru.⁴

Cara untuk mendapatkan MSCs yang telah dialtifkan dengan IFN γ yakni dengan menginduksi tikus hingga mengalami inflamasi akut di liver, kemudian tikus di treated dengan tanpa IFN γ dan TNF α .¹⁹

- b. Kemudian untuk meningkatkan terapi, bisa ditambahkan dengan pemberian bleo mycin dan vitamin B3(niacin/niconamide) sebagai suplemen makanan penderita. Pemberian vitamin ini akan membantu dalam mencegah terjadinya kerusakan paru. Metode ini telah diuji pada hewan mode yang mengalami cedera paru.⁴
- c. MSC yang digunakan sebaiknya MSC-secretome

MSCs secretome berasal dari mekanisme paracrine dari MSCs. MSCs sec terbuat dari beberapa solouble protein termasuk sitokin, kemokin dan growth factor, extracellular vesikel (EV) dari mikro dan nano site. EV dan soluble protein akan mengaktifkan endogenous stem cell dan progenitor cell, sepres apoptosis, regulasi dari respon imun, stimulasi dari remodeling ekstraseluler matriks dan angiogenesis, reduce fibrosis dan remediasi dari kemoatraction.

Dalam beberapa review, MSC secre menjanjikan dalam pengobatan paru akut dan kronik. Hal tersebut karena mampu menampilkan anti-inflamatory, immunomodulatory, regenerative, pro angiogenic, dan anti protease yang mirip dengan MSCs parental. MSCs secre tidak sama dengan antibody monoclonal, hal tersebut karena MSCs secre bekerja pada beberapa sitokin secara simultan dan sinergis.

Setelah pemberian melalui IV, MSCs secre dapt berada stabil di aliran darah dan di distribusikan denga baik di paru paru. Penyebaran secretom yang merata di jaringan ini akan memberikan efek imunomodulasi, resolution of inflammation, pemulihan dari fungsi barier kapilari serta meningkatkan efek dalam pembersihan bakteri. MSCs Secre terbukti lebih aman di bandingkan penggunaan MSCs karena tidak memiliki potensi untuk tumor endogen, tidak mereplikasi diri, imunogenitas rendah, dan pembentukan emboli lebih rendah. Secretome ini terbuat dari beberapa protein yang larut dan memiliki spektrum sitokin yang luas, chemokin dan growth faktor dan ekstraseluler vesicel (Evs) dari mikro dan nano size. MSCs secre juga lebih mudah dimanipulasi dan disimpan pada sel MSC, sehingga biaya uang dikeluarkan lebih sedikit dan hasil nya dapat digunakan dengan cepat saat darurat. MSC secretome lebih baik digunakan dalam terapi disebabkan tidak.⁵

Perbandingan yang dilakukan untuk melihat terapi yang lebih baik antara MSCs dengan MSCs secretom terhadap kerusakan paru, dimana terlihat

- a. MSCs secretome kurang aktif dalam pemulihan kerusakan paru.
- b. MSCs lebih cepat mengatangi kenaikan jumlah sitokin proinflamasi sehingga lebih baik dalam mengatasi cytokine strom

- c. MSCs kurang effective dibandingkan MSCs dalam mengembalikan fungsi paru paru/susunan/ modulasi system imun
- d. MSCs secretome tidak sepenuhnya dapat menggantikan efek dari MSCs.²⁰

Efek negative dari penggunaan MSCs

1. MSCs memiliki efek modulasi Tumor (Tumor Modulatory Effect)

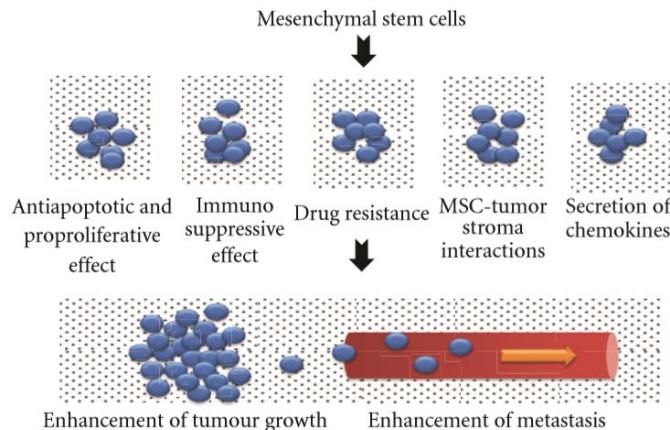


FIGURE 1: Indirect involvement of mesenchymal stem cells in cancer through tumour modulatory and other effects.

MSCs dapat berkontribusi dalam perlindungan tumor melalui efek anti apoptotic, tumor progression, metastasis, dan drug resistant pada sel kanker. Kemokin yang disekresikan MSCs terbukti muncunya metastasis paru dan menimbulkan interaksi yang kuat antara MSC dengan sel kanker payudara. MSCs juga melindungi limfotik kronis sel leukemia dari fludarabine, dexamethasone, apoptosis yang diinduksi oleh cyclophosphamide

2. MSCs memiliki efek untuk meningkatkan keganasan (Malignant Transformation)

Malignant transformation pada MSCs terlihat secara tidak langsung pada kondisi *in vitro* dimana pada kultur sel MSCs, hal ini menunjukkan bahwa MSC bias menjadi asal usul dari berbagai kanker.²¹

Daftar referensi

1. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, Tan YY, Chen SD, Jin HJ. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak- an update on the status. *Military Medical Research* 2020;7(11):1-10
2. Coronavirus disease 2019 (COVID19) situation report-78 WHO
3. Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID19) outbreak. *Journal of Autoimmunity* 2020; 1-4.
4. Shi Y, Wang Y, Shao C, Huang J, Gan J, Huang X. COVID-19 infection: the perfectives on immune responses. *Cell Death & Differentiation* 2020;1-4.
5. Bari E, Ferrarotti I, Saracino L, Parteghella S, Torre ML, Corsico AG. Mesenchymal stromal cell secretome for severe COVID19 infection: premises for the therapeutic use. *Cells* 2020;9:924-929.
6. Leng Z, Zhu R, Hou W, Feng Y, Yang Y, Han Q et al,. Transplantation of ACE2 mesenchymal stem cells improves the outcome of patients with COVID19 Pneumonia. *Aging and Disease* 2020;11:216-228.
7. Anonim. COVID-19: consider cytokine strom syndromes and immunosuppression. *Correspondence* 2020;395:1033-1034.
8. Cao X. COVID-19: immunopathology and its implications for therapy. *Natural Reviews Imunology* 2020;1-2.
9. <http://www.cancer.gov/publication/dictionaries/cancer-terms/def/797584>
10. Tisoncik JR, Korth MJ, Simmons CP, Farrar J, Martin TR, Katze MG. Into the Eye of the cytokine strom. *MMBR* 2012;76(1):16-32.
11. <http://stemcells.nih.gov/info/basics/1.htm>
12. Rawat S, Gupta S, Mohanty S. Mesencymal stem cells modulate the immune system in developing therapeutic interventions. *Intechopen*
13. Fitzsimmons REB, Mazurek MS, Soos A, Simmons C. Mesenchymal stromal/stem cells in regenerative medicine and tissue engineering. *Hindawi Stem Cells International* 2018;1-16.
14. Ullah I, Subbarao RB, Rho GJ. Human mesenchymal stem cells- current trends and future prospective. *Biosci Rep* 2015;35:1-18.
15. Savarin C, Bergmann CC. Fine tuning the cytokine strom by IFN and IL-10 following neutropic coronavirus encephalomyelitis. *Frontiers in Immunology* 2018;9:3022-3029.

16. Atluri S, Manchikanti L, Hirsch JA. Expanded umbilical cord mesenchymal stem cells (UC-MSCs) as a therapeutic strategy in managing critically ill COVID19 patients: the case for compassionate use. *Pain Physician* 2020;23:71-83.
17. Shetty AK. Mesenchymal stem cell infusion shows promise for combating coronavirus (COVID19)- induced pneumonia. 2020;11(2):462-464.
18. Liang B, Chen J, Li T, Wu H, Yang W, Li Y et al,. Clinical remission of critically ill COVID19 patient treated by human umbilical cord mesenchymal stem cells. *chinaXiv*:202002.0084v1
19. Han X, Yang Q, Lin L, Xu C, Zheng C, Chen X et al,. Interleukin-17 enhances immunosuppression by mesenchymal stem cells. *Cell Death and Differentiation* 2014;21:1758-1768.
20. Hayes M, Curley GF, Mastersin C, Devaney J, O'toole D, Laffey G. Mesenchymal stromal cells are more effective than the MSC secretome in diminishing injury and enhancing recovery following ventilator-induced lung injury. *Intensive Care Medicine Experimental* 2015;3:29
21. Wong RSY. Mesenchymal stem cells: Angels or Demons?. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2011:1-8.