

## Necrotizing Enterocolitis: Stem Cell as Future Potential Therapy

**Bq. Annisa Salmaadani Syafitri<sup>1\*</sup>, Carolina Janicca Winda Manafe<sup>1</sup>, Lale Nandita Hulfifa<sup>1</sup>, Zirly Vera Aziri<sup>1</sup>, Fiza Afifah<sup>1</sup>, Syahla Marsellita Wahyudi<sup>1</sup>, Disa Fadil Musyarof<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;

### Article History

Received : Agustus 28<sup>th</sup>, 2024

Revised : September 19<sup>th</sup>, 2024

Accepted : October 01<sup>th</sup>, 2024

\*Corresponding Author:

**Bq. Annisa Salmaadani Syafitri**, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;

Email:

[annisaalma.2808@gmail.com](mailto:annisaalma.2808@gmail.com)

**Abstract:** Necrotizing enterocolitis (NEC) is an inflammatory bowel condition in infants and considered as one of the leading causes of death in infants, especially premature infants. The high mortality rate due to NEC in recent decades has become a problem because there is no current therapy that can optimally treat NEC. Currently, NEC is treated using Bell's Staging as a guide and surgery is a common procedure, especially if necrosis has occurred. However, complications arising from surgery not only reduce the patient's quality of life but can also result in death. Therefore, it is necessary to find new therapy in order to treat NEC effectively and minimize the possibility of side effects in NEC patients. Stem cells are known for their regenerative abilities which is potential to overcome tissue damage due to excessive inflammation in NEC. Previous studies also show that stem cells have become new therapy to treat other intestinal diseases which have similar features with NEC. This study aims to explain mainly on stem cells's promising mechanism of action in treating NEC. The method used for this study is a literature review design by selecting and reviewing relevant previous literature using databases such as Google Scholar, PubMed and Science Direct. This paper summarizes pathophysiology, clinical manifestation, current therapy and mechanism of action of stem cells and their derivatives as future potential therapy for NEC. Based on evidence found, stem cells and their derivatives are potential to be used as NEC therapy in the future. However, the data obtained is not sufficient to support its use in humans. Given the urgency in finding an effective NEC management and the potency of stem cells, further research is needed to support the use of stem cells as NEC therapy.

**Keywords:** Future therapy, necrotizing enterocolitis, stem cell.

### Pendahuluan

*Necrotizing enterocolitis* (NEC) atau radang usus pada bayi merupakan salah satu penyakit yang paling sering terjadi dan merupakan penyebab kematian tertinggi pada bayi prematur terutama dengan berat badan lahir sangat rendah (<1500 g) (Bellodas Sanchez and Kadrofske, 2019; Meister, Doheny and Travagli, 2020; Maheshwari, 2021; de Kroon *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2022; Kaplina *et al.*, 2023). Pada tahun 2009, didapatkan 31 kasus NEC dari 737 bayi yang lahir kurang bulan di Divisi Perinatologi

Departemen Ilmu Kesehatan Anak (IKA) Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo (RSCM) (Sidauruk *et al.*, 2014).

Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa etiologi dari NEC bersifat multifaktorial, diantaranya yaitu pemberian transfusi darah, penggunaan H2 blocker, antibiotik *broad-spectrum*, korioamnionitis dan penyakit jantung bawaan (Lopez *et al.*, 2023). Selain itu, kolonisasi bakteri pada saluran pencernaan juga bisa menyebabkan NEC. *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium amycolatum*, *Clostridium butyricum* dan *Propionibacterium acnei*

merupakan beberapa bakteri utama penyebab kolonisasi pada saluran pencernaan yang dapat menyebabkan terjadinya NEC (Moschino *et al.*, 2021).

Kelahiran prematur, berat badan lahir rendah dan pemberian susu formula diidentifikasi sebagai faktor risiko utama terjadinya NEC. Pada bayi prematur, sistem pencernaannya belum berkembang dengan sempurna sehingga meningkatkan risiko inflamasi yang berujung pada invasi bakteri sehingga terjadi kerusakan dan kematian sel hingga nekrosis usus besar (de Kroon *et al.*, 2022). Secara khusus, bayi yang lahir prematur memiliki kemungkinan lebih besar mengalami NEC jika memiliki faktor risiko lain seperti retardasi pertumbuhan intrauterin, polisitemia vera, hipoglikemia, sepsis, diabetes gestasional dan bayi yang dilahirkan dari ibu dengan amnionitis (Kaplina *et al.*, 2023). NEC dapat menyebabkan berbagai komplikasi *gastrointestinal* seperti *intestinal strictures*, *short bowel syndrome* serta gangguan perkembangan saraf dan pertumbuhan (Federici and De Biagi, 2018). Prognosis untuk NEC tergantung pada tingkat keparahan kondisi pasien pada saat terdiagnosis dan pengobatan yang diberikan (Siahaan *et al.*, 2021).

Saat ini, terapi untuk NEC merupakan kombinasi dari terapi suportif, antibiotik dan operasi yang mana penggunaannya disesuaikan dengan derajat NEC yang dialami pasien. Meskipun begitu, terapi-terapi tersebut belum berhasil mengatasi NEC secara efektif dikarenakan sering mengarah pada komplikasi yang dapat mengurangi kualitas hidup pasien hingga kematian. Hal ini dikombinasikan dengan kompleksitas dalam mendeteksi tanda klinis dan kurangnya tanda diagnostik awal yang spesifik sehingga membuat NEC sulit didiagnosis di awal (Zani *et al.*, 2014; de Kroon *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2022; Kaplina *et al.*, 2023). Fakta bahwa NEC merupakan penyakit dengan morbiditas dan mortalitas yang tinggi meskipun dalam beberapa dekade terakhir ini telah dilakukan berbagai usaha untuk menemukan terapi yang sesuai menunjukkan perlunya studi lebih lanjut mengenai penyakit ini terutama dalam menemukan terapi yang efektif (Zani *et al.*, 2014; Lopez *et al.*, 2023).

Terapi dengan sel punca merupakan jenis terapi yang sedang banyak diteliti untuk

mengatasi berbagai penyakit karena kemampuan regenerasinya. Saat ini, sel punca telah digunakan untuk mengobati *inflammatory bowel disease* yang memiliki gambaran yang serupa dengan NEC (Villamor-Martinez *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2022). Penemuan tersebut mengundang minat para peneliti di dunia untuk meneliti lebih dalam terkait kemampuan regenerasi yang dimiliki sel punca sebagai terapi untuk NEC karena diduga akan bermanfaat dalam mengatasi kerusakan usus yang terjadi akibat proses inflamasi yang sangat hebat. Oleh sebab itu, literatur ini bertujuan untuk menggali potensi dari sel punca sebagai terapi untuk NEC. Literatur ini diharapkan dapat memberikan manfaat dan pengetahuan mengenai sel punca sebagai terapi yang potensial untuk NEC dan diharapkan dengan dituliskannya literatur ini dapat mendorong dilakukannya penelitian lebih lanjut terkait penggunaan sel punca sebagai terapi bagi NEC.

## Bahan dan Metode

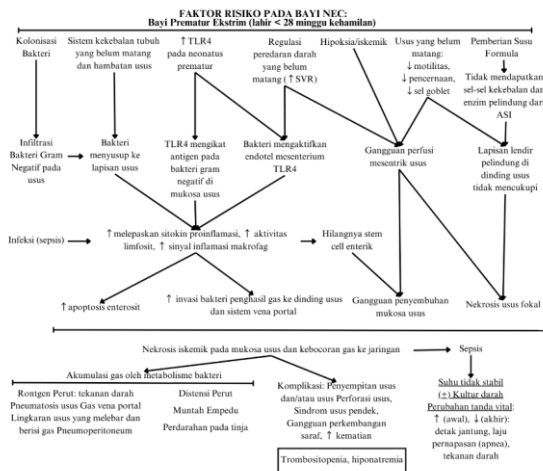
Penelitian ini ditulis dengan menggunakan desain tinjauan pustaka dengan memilih dan meninjau literatur-literatur terdahulu yang relevan secara sistematis. Pencarian literatur dilakukan dengan menggunakan *database* seperti *Google Scholar*, *PubMed* dan *Science Direct* dengan menggunakan kombinasi dari kata kunci *Necrotizing Enterocolitis*, *Stem Cells and Necrotizing Enterocolitis*, *Pathophysiology of Necrotizing Enterocolitis*, *Therapy for Necrotizing Enterocolitis*, *Clinical Manifestation of Necrotizing Enterocolitis*. Kriteria inklusi berupa artikel mengenai *necrotizing enterocolitis* dan potensi penggunaan *stem cell* sebagai terapi *necrotizing enterocolitis*. Kriteria eksklusi berupa artikel yang tidak dapat diakses secara lengkap. Hasil pencarian kemudian ditelaah sehingga didapatkan literatur yang relevan dengan tujuan penelitian.

## Hasil dan Pembahasan

### Patofisiologi

Terjadinya NEC merupakan suatu proses multifaktorial yang berhubungan dengan faktor risiko dan etiologinya (Markel *et al.*, 2020). Penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa

pada bayi prematur, terdapat peningkatan ekspresi *toll-like receptor 4* (TLR4) di sel epitel usus yang akan berikatan dengan endotoksin bakteri (*lipopolysaccharides* atau LPS), mengaktivasi reseptor *pathogen-associated molecular pattern* (PAMP) yang kemudian memfasilitasi kerusakan *gut barrier* sehingga bakteri dapat melakukan translokasi dilihat dari menurunnya jumlah *claudin 2* dan *claudin 7* yang merupakan *tight junction* yang mencegah translokasi bakteri. Proses ini mengakibatkan respon inflamasi berlebihan pada lamina propria yang dimediasi *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- $\alpha$ ), *interleukin-1B* (IL-1B) dan sitokin proinflamasi lainnya. Terjadi juga pelepasan substansi vasoaktif seperti *platelet-activating factor* (PAF), *endothelin-1* (ET-1) dan *nitric oxide* (NO).

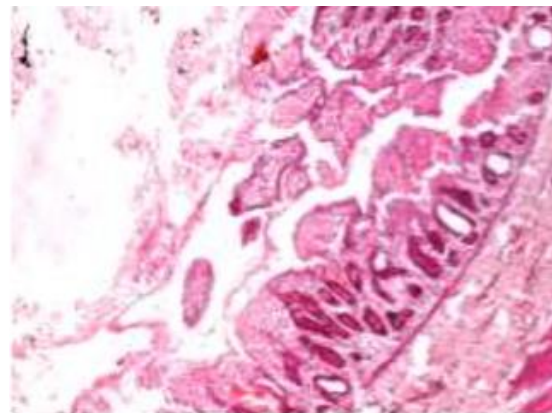


**Gambar 1.** Patofisiologi NEC (Dimodifikasi dari Bethune, Adderley and Yusuf, 2019)

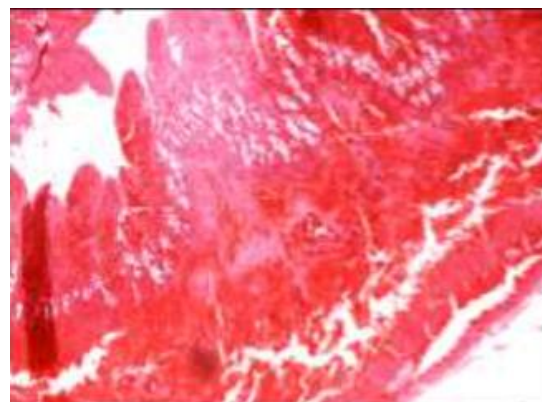
Inflamasi usus ini juga akan mengaktivasi komplemen dan sistem koagulasi yang menyebabkan perlekatan leukosit dan platelet pada *endothelium* dan mencegah aliran darah pada usus halus sehingga mengakibatkan terjadinya kerusakan jaringan. Faktor resiko lain NEC seperti *dysbiosis* juga mendukung terjadinya NEC. Pada kondisi ini, terdapat gangguan homeostasis dan perkembangan mikroba usus berupa berkurangnya jumlah mikroba komensal dan rendahnya keragaman bakteri sehingga terjadi *overgrowth* dari bakteri patogen yang kemudian menginduksi respon inflamasi (Alganabi *et al.*, 2019; Bellodas Sanchez and

Kadrofske, 2019; Venkatraman *et al.*, 2021; Balsamo *et al.*, 2022).

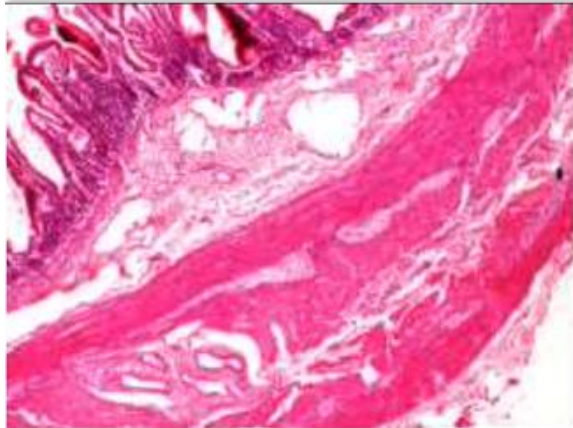
Secara histopatologis, akan ditemukan gambaran berupa nekrosis transmural, jaringan granulasi, distorsi kriptas, pembentukan pseudomembran dan atrofi vili (Krishna *al.*, 2021). Hal ini dikaitkan dengan respons imun terhadap mikrobiota usus di saluran pencernaan yang mengakibatkan peradangan dan lesi sehingga menyebabkan infark pada bayi prematur. Rentang kerusakan usus dapat bervariasi mulai dari perubahan mukosa usus hingga nekrosis dan perforasi. Kerusakan ini dapat terjadi pada ileum dan usus besar. Pada kasus yang paling parah, kerusakan dapat mengakibatkan penebalan dinding usus, edema pada mukosa intestinal, terbentuknya adhesi fibrinous, pendarahan, stenosis dan nekrosis (Gomart, Vallée and Lecarpentier, 2021).



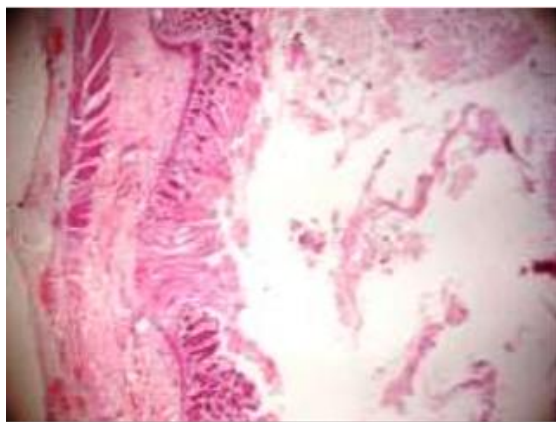
**Gambar 2.** Pseudomembrane (Krishna *et al.*, 2021)



**Gambar 3.** Nekrosis Transmural Hemoragik (Krishna *et al.*, 2021)



**Gambar 4.** *Pneumatosis Intestinalis* (Krishna *et al.*, 2021)



**Gambar 5.** *Villous Necrosis* (Krishna *et al.*, 2021)

### Manifestasi klinis dan diagnosis

NEC memiliki manifestasi klinis yang tidak spesifik seperti intoleransi makanan, tinja berdarah dan distensi abdomen yang dapat menyebabkan terjadinya perforasi usus dan hipotensi sistemik sehingga dibutuhkan penanganan medis dan bedah segera (Thänert *et al.*, 2021). Selain itu, terdapat tanda dan gejala klinis lainnya seperti perdarahan gastrointestinal, muntah, peningkatan residu lambung, *apnea*, penurunan suara usus, letargi dan ketidakstabilan suhu tubuh (Kaban *et al.*, 2022). Saat anamnesis, ditemukan keluhan seperti intoleransi makan, mual, muntah, residu lambung meningkat, tinja berdarah dan *apnea* (Thänert *et al.*, 2021; Kaban *et al.*, 2022). Pada pemeriksaan fisik dapat ditemukan ketidakstabilan suhu tubuh, hipotensi, eritema, distensi abdomen, letargi, edema dinding abdomen, nyeri tekan, bising usus menghilang dan bradikardi (Ergenekon, Tayman and Ozkan, 2021; Thänert *et al.*, 2021; Kaban *et al.*, 2022).

Ada beberapa pemeriksaan penunjang yang dapat dilakukan untuk mendiagnosis NEC, diantaranya:

1. Pemeriksaan laboratorium yang mana didapatkan peningkatan *C-reaktif protein* (CRP), asidosis metabolik, trombositopenia, peningkatan atau penurunan sel darah putih dan ketidakstabilan glukosa. Namun, pemeriksaan laboratorium tidak menunjukkan sensitivitas dan spesifisitas yang akurat pada pasien dengan NEC.
2. Pemeriksaan foto polos abdomen yang merupakan *gold standard* diagnosis NEC dilakukan untuk mengidentifikasi adanya pneumatosis usus, gas vena portal, asites dan pneumoperitoneum.
3. *Ultrasonography* (USG) abdomen juga dapat dilakukan sebagai alternatif untuk menghindari paparan radiasi terus menerus pada pemeriksaan foto polos abdomen (D'Angelo *et al.*, 2018).

Pengukuran tingkat keparahan NEC dan pemilihan terapi dilakukan menggunakan kriteria *Bell's staging* dengan melihat gejala klinis dan *imaging* yang khas.

**Tabel 1.** Modifikasi *Bell's Staging* NEC (Ergenekon, Tayman and Ozkan, 2021)

Stage	Klinis	Abdomen	Radiografi
<i>Suspected</i>			
IA	<i>Apnea</i> , bradikardi, ketidakstabilan, temperatur	Residu lambung, darah pada feses, distensi abdomen	Pola gas normal, ileus normal
IB	Tanda-tanda <i>stage</i> IA	Feses berdarah	Tanda-tanda <i>stage</i> IA
<i>Definite</i>			
IIA	Tanda-tanda <i>stage</i> IA	Distensi abdomen, hilangnya bising usus	Pola gas ileus dengan lebih atau sama dengan 1 <i>loop</i> melebar dan pneumatosis fokal
IIB	Trombositopenia, asidosis metabolik ringan	Edema dinding abdomen, nyeri tekan, <i>palpable loops</i>	Pneumatosis yang menyebar, asites, gas vena porta

<i>Stage</i>	<i>Klinis</i>	<i>Abdomen</i>	<i>Radiografi</i>	<i>Supportive Care</i>	<i>Terapi Antibiotik</i>	<i>Monitor setelah Terapi dan Operasi</i>
<i>Advanced</i>						
IIIA	Asidosis campuran, oliguria, hipotensi, syok koagulopati	Edema dinding abdomen memberat, eritema, indurasi	Asites memberat, tidak ada udara bebas, <i>prominent bowel loops</i>	Penghentian pemberian makan secara oral o 48-72 jam pada <i>stage 1</i> o 7 hari pada <i>stage 2</i> o 20-14 hari pada <i>stage 3</i>	Antibiotik <i>broad-spectrum</i> , termasuk gram negatif dan bakteri anaerob: <i>ampicillin</i> , <i>gentamicin</i> (atau <i>amikacin</i> ) dan <i>metronidazole</i>	Pemeriksaan fisik dan <i>follow-up</i>
IIIB	Tanda-tanda <i>stage IIIA</i>	Perforasi usus	Pneumoperitoneum	Dekompresi lambung hingga bisa diberikan makanan secara oral lagi	<i>Vancomycin</i> dapat diberikan sebagai pengganti <i>ampicillin</i> untuk <i>coagulase negative staphylococcus</i> (CNS) dan <i>methicillin resistance staphylococcus aureus</i> (MRSA) atau <i>ampicillin-resistant enterococci</i> (+)	Pemeriksaan laboratorium
				<i>Total parenteral nutrition</i> (TPN)	Apabila kultur darah positif, terapi disesuaikan tergantung organisme yang terisolasi	Radiologi dari abdomen (radiografi dan ultrasonografi)
				Pemberian cairan dan elektrolit	Untuk NEC <i>stage 1</i> , penghentian antibiotik ketika pasien sudah dapat diberikan makanan secara oral dapat dilakukan	Operasi dapat dengan <i>laparotomy</i> ataupun <i>primary peritoneal drainage</i> (PDD)
				Penanganan terkait kardiovaskular dan pernapasan	Untuk NEC <i>stage 2</i> atau lebih, antibiotik diberikan selama 10-14 hari meskipun hasil kultur negatif	
				Lainnya		

### Terapi

Penanganan NEC terdiri atas penanganan medis dan tindakan operasi. Penanganan medis seperti *supportive care*, terapi antibiotik empirik, pemeriksaan fisik, pemeriksaan laboratorium dan radiologi harus dilakukan segera setelah pasien diduga menderita NEC. Khusus untuk *supportive care* dan terapi antibiotik harus diberikan pada semua pasien. *Supportive care* terdiri dari penghentian pemberian makan secara oral, dekompresi lambung, *total parenteral nutrition* (TPN), pemberian cairan dan elektrolit, penanganan terkait kardiovaskular dan pernapasan dan lainnya (Ergenekon, Tayman and Ozkan, 2021). Dalam beberapa dekade terakhir, berbagai usaha telah dilaksanakan untuk menemukan terapi yang efektif untuk mengobati NEC, namun belum terdapat kejelasan terkait terapi apa yang mampu menyembuhkan NEC secara total (Zani *et al.*, 2014).

Saat ini, terapi yang dilakukan biasanya disesuaikan dengan status keparahan NEC dengan *Bell's Staging*. Untuk kasus terduga NEC atau *Bell's stage 1*, tindakan yang dibutuhkan berupa pengobatan medis suportif. Pada kasus terbukti NEC atau *Bell's stage 2*, tindakan yang dilakukan berupa terapi dengan antibiotik, dekompresi usus dan asupan nutrisi parenteral. Namun, apabila pasien tidak merespons terhadap terapi ini, dapat dipertimbangkan tindakan operasi. Pada kasus yang lebih parah atau *Bell's stage 3*, pasien diberikan pengobatan medis dan dukungan inotropik. Namun, apabila terjadi perforasi usus, diduga mengalami nekrosis atau gagal merespons terhadap terapi, perlu dilakukan tindakan operasi (Alganabi *et al.*, 2019).

**Tabel 2.** Penanganan NEC (Ergenekon, Tayman and Ozkan, 2021)

Tindakan operasi merupakan salah satu jenis terapi utama yang digunakan saat ini.

Namun, terapi jenis ini dinilai belum efektif untuk mengobati NEC karena dapat menimbulkan efek samping seperti *short bowel syndrome* (SBS) yang dapat mengakibatkan ketergantungan jangka panjang terhadap nutrisi parenteral dan dapat mengarah kepada kematian (Zani *et al.*, 2014; de Kroon *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2022). Fakta ini menunjukkan adanya urgensi untuk menemukan terapi yang efektif dikarenakan angka kematian yang ditimbulkan oleh NEC masih sangat tinggi bahkan setelah mendapatkan terapi. Penelitian-penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa transplantasi sel punca pada pasien NEC berpotensi tinggi untuk dijadikan sebagai terapi (Nitkin *et al.*, 2020; de Kroon *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2022).

Terapi sel punca merupakan salah satu terapi yang sedang diinvestigasi untuk menjadi terapi berbagai macam penyakit salah satunya NEC (Villamor-Martinez *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2022). Terapi dengan sel punca berhasil mengobati penyakit *gastrointestinal* lain contohnya *inflammatory bowel disease* (Zani *et al.*, 2014). Terapi ini diduga bermanfaat karena dapat membantu proses regenerasi kerusakan yang terjadi (OConnell *et al.*, 2021). Hal ini terkait dengan kerusakan pada epitel usus akibat respon inflamasi berlebihan sehingga diperlukan adanya regenerasi dan perbaikan dari sel epitel. Sudah banyak penelitian yang meneliti terkait efek berbagai jenis sel punca terhadap NEC. Hasil yang didapatkan menunjukkan terdapatnya efek menguntungkan dari administrasi sel punca berupa penurunan keparahan dari NEC (McCulloh, Olson, Wang, *et al.*, 2017).

Sebuah studi *meta-analysis* yang dilakukan Villamor-Martinez *et al.* (2020) juga menunjukkan bahwa sudah banyak penelitian yang membuktikan bahwa terapi sel punca memiliki potensi tinggi karena berhasil menurunkan keparahan dari NEC pada model hewan. Dari berbagai penelitian terapi sel punca, terapi dengan *amniotic fluid stem cell* (AFSC) merupakan yang paling populer tidak hanya karena efek yang ditimbulkannya namun juga karena AFSC lebih superior dalam hal akses mendapatkannya, lebih mudah dikultur dan tidak terlihat adanya potensi imunogenisitas dan tumorigenik tidak seperti *embryonic stem cell* (ESC) maupun tipe yang lain (McCulloh, Olson, Zhou, *et al.*, 2017; Drucker *et al.*, 2018; Nitkin *et al.*, 2020; OConnell *et al.*, 2021; Balsamo *et al.*,

2022; Bowen *et al.*, 2022; de Kroon *et al.*, 2022; Di *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2022).

*Amniotic fluid* (AF) merupakan suatu bahan yang sering digunakan untuk keperluan diagnostik dan sering dianggap sebagai *biological waste*. Cairan amnion didapatkan melalui *amniocentesis* atau ketika melakukan operasi sesar (Wu *et al.*, 2022). AFSC merupakan jenis perpaduan dari *embryonic stem cell* (ESC) dan *mesenchymal stem cell* (MSC) sehingga AFSC mengekspresikan baik sifat pluripoten ESC maupun *biomarker* dari MSC (de Kroon *et al.*, 2022). Penelitian yang dilakukan oleh Li *et al.* (2022), AFSC berhasil mengatasi kerusakan usus yang terjadi pada NEC dengan meningkatkan *intestinal growth*. AFSC bekerja dengan baik dalam meningkatkan fungsi proliferasi meskipun hanya sementara melalui sinyal Wnt, meningkatkan migrasi sel, mengekspresikan lebih banyak *growth factor* dan tidak menunjukkan tanda-tanda bersifat tumorigenik. Penelitian yang dilakukan juga menunjukkan bahwa AFSC tidak hanya bekerja pada sel yang rusak namun juga pada sel yang sehat. Pada penelitian ini juga didapatkan data yang menunjukkan bahwa AFSC juga dapat digunakan sebagai tindakan untuk mencegah NEC, tidak hanya mengobati (Li *et al.*, 2022).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Zani *et al.* (2014) menunjukkan bahwa AFSC berhasil meningkatkan fungsi usus, mengurangi inflamasi, meningkatkan proliferasi enterosit dan mengurangi apoptosis. Penelitian yang dilakukan juga menunjukkan bahwa mekanisme yang mungkin terjadi dalam perbaikan NEC dengan AFSC tidak terjadi secara langsung melainkan melalui pelepasan mediator-mediator parakrin yang kemudian akan bekerja pada sel target untuk memulai proses perbaikan (Drucker *et al.*, 2018; Pammi, De Plaen and Maheswari, 2020). Hal ini diduga terjadi karena pada saat perbaikan, jumlah AFSC pada sel yang mengalami perbaikan sangatlah sedikit. Selain itu juga, terdapat peningkatan ekspresi dari COX-2 yang merupakan faktor yang berperan dalam proliferasi epitel, mengurangi apoptosis enterosit dan infiltrasi granulosit. AFSC diduga melepaskan *growth factor* yang kemudian akan menginduksi kerja dari COX-2 (Zani *et al.*, 2014).

Penelitian-penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa terapi NEC dengan sel

punca merupakan terapi yang menjanjikan dikarenakan efek yang diberikannya. Namun, terdapat beberapa tantangan yang dapat menghambat realisasi penggunaan terapi ini pada manusia. Salah satunya adalah masalah etik terutama dikarenakan adanya potensi tumorigenik dan imunogenisitas dari sel punca (McCulloh *et al.*, 2018; Wu *et al.*, 2022). Data yang ada memang menunjukkan belum ditemukannya potensi terbentuknya tumor dengan AFSC, namun hal ini belum diketahui apakah dapat terjadi dalam jangka panjang. Selain itu, belum terdapat kejelasan mengenai mekanisme administrasi dari AFSC yang tepat untuk terapinya seperti dosis pasti yang diperlukan dan rute administrasinya (Kunisaki, 2018; OConnell *et al.*, 2021). Oleh karena adanya urgensi untuk segera menemukan terapi yang efektif bagi NEC, peneliti-peneliti kemudian beralih ke produk-produk derivat dari AFSC diantaranya eksosom (AFSC-exos), *extracellular vesicle* (AFSC-EV) dan *conditioned medium* (AFSC-CM). Hal ini dikarenakan komponen-komponen tersebut selain memberikan efek yang serupa, tantangan yang dihadapi juga lebih sedikit (McCulloh *et al.*, 2018).

Eksosom merupakan vesikel kecil yang mengandung molekul biologis aktif seperti asam nukleat, protein, *lipid* dan memiliki lapisan *lipid bilayer* yang unik sehingga terlindungi dari enzim protease. Eksosom diketahui memiliki fungsi biologis untuk inflamasi, tumor dan penyakit autoimun (McCulloh *et al.*, 2018; Hu *et al.*, 2023). Data-data yang ada menunjukkan bahwa eksosom yang berasal dari sel punca dapat memberikan efek terapi yang serupa namun tidak terdapat potensi menimbulkan tumor sehingga mendukung adanya terapi NEC berbasis eksosom (Zeng *et al.*, 2021; de Kroon *et al.*, 2022; Wu *et al.*, 2022). Penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa eksosom dari AFSC (AFSC-exos) berhasil meringankan kerusakan usus pada NEC dan memperbaiki kerusakan pada kriptas ileus. Hal ini ditunjukkan dari adanya peningkatan level *leucine rich repeat containing G protein-coupled receptor 5* (Lgr5) yang merupakan *marker* dari sel punca usus yang pada NEC mengalami penurunan dan juga adanya penurunan ekspresi dari IL-6 yang bersifat proinflamasi. Penelitian yang dilakukan juga menunjukkan bahwa AFSC-exos diduga akan berguna sebagai terapi NEC terutama terkait

komplikasi otak yang terjadi. Hal ini dikarenakan pada NEC terjadi penurunan *myelin-based protein* (MBP) di bagian *midbrain* dan aktivasi *microglia* yang menunjukkan adanya respon dari peningkatan gangguan neurologis yang kemudian berhasil diatasi AFSC-exos dengan meningkatkan regulasi dari ekspresi MBP dan menghambat proliferasi abnormal dari *microglia* (Hu *et al.*, 2023). Selain itu, tidak seperti sel punca, eksosom dapat menembus *blood brain barrier* sehingga dapat mencapai kerusakan yang terdapat di otak (McCulloh *et al.*, 2018).

*Extracellular vesicle* (EV) merupakan vesikel yang dilepaskan dari bagian luar membran plasma ke ruang ekstrasel dengan kemampuan untuk komunikasi intrasel dan pertukaran komponen termasuk protein dan asam nukleat. Penelitian yang dilakukan menunjukkan adanya peningkatan perbaikan kerusakan usus setelah administrasi dari AFSC-EV. AFSC-EV berhasil memperbaiki morfologi ileum, mengurangi inflamasi, meningkatkan proliferasi dan regenerasi ileum dengan menyelamatkan *niche* dari sel punca usus. Studi terbaru menunjukkan AFSC-EV memperbaiki kerusakan usus melalui stimulasi dari *Wnt/B-catenin pathway*. Diketahui bahwa gangguan sel punca usus terjadi akibat kurangnya sinyal Wnt. Setelah administrasi AFSC-EV terlihat adanya peningkatan proliferasi epitel melalui sinyal Wnt (Balsamo *et al.*, 2022).

*Conditioned medium* merupakan kumpulan dari faktor yang disekresi oleh sel termasuk *growth factor*, sitokin, enzim, asam nukleat dan *lipid* bioaktif (Balsamo *et al.*, 2022). Penelitian yang dilakukan OConnell *et al.* (2021) menunjukkan bahwa AFSC-CM berhasil meningkatkan *survival* dan mengurangi kerusakan usus dan inflamasi mukosa yang terlihat dari adanya penurunan ekspresi IL-6 dan TNF- $\alpha$ , apoptosis dan mengembalikan angiogenesis di ileus dilihat dari adanya peningkatan *vascular endothelial growth factor* (VEGF). Terapi yang dilakukan juga berhasil meningkatkan proliferasi dari epitel dilihat dari adanya peningkatan Lgr5 sehingga terdapat proses regenerasi usus yang kemudian terlihat dengan menggunakan *histological scoring system*.

AFSC-CM dinilai lebih berpotensi dibandingkan AFSC dikarenakan selain mengandung komponen yang menguntungkan,

belum terlihat adanya komponen yang bersifat merugikan seperti tumorigenik seperti yang terlihat pada sel punca. Selain itu, dibandingkan dengan AFSC-EV, AFSC-CM mengandung lebih banyak komponen sehingga diduga memberikan efek yang lebih luas dibandingkan AFSC-EV. Meskipun begitu, belum adanya pengetahuan mengenai mekanisme kerja pasti dari AFSC-CM menjadi suatu hal yang perlu dipertimbangkan sebelum digunakan secara klinis (OConnell *et al.*, 2021).

## Kesimpulan

NEC salah satu penyebab kematian tertinggi pada bayi prematur. Belum adanya definisi pasti terutama terkait manifestasi klinis di fase awal NEC mengakibatkan sulitnya dilakukan intervensi di awal. Efek samping yang dihasilkan dari tindakan operasi tidak hanya menyebabkan penurunan kualitas hidup pasien namun juga dapat mengakibatkan kematian. Belum mendalamnya pemahaman terkait patofisiologi dari NEC juga menyebabkan sulitnya menemukan terapi yang tepat. Saat ini, penentuan terapi dengan kriteria *Bell's staging* merupakan panduan utama yang bisa digunakan. Namun, adanya urgensi tinggi dalam menemukan terapi yang efektif mengarah pada dilakukannya berbagai penelitian terhadap beberapa hal yang diduga dapat menjadi terapi yaitu sel punca dan derivatnya. Meskipun berbagai penelitian menunjukkan terdapatnya efek menguntungkan, hasil yang didapat belum cukup untuk dapat dijadikan landasan dalam penggunaannya secara klinis terutama terkait terapi sel punca. Ke depannya, dibutuhkan lebih banyak studi terkait topik-topik ini dikarenakan besar kemungkinan dapat dijadikan sebagai terapi NEC di masa depan.

## Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam penyusunan *literature review* ini. Penulis juga berharap tulisan ini dapat memberikan kontribusi terhadap perkembangan ilmu di bidang kedokteran dan kesehatan terutama terkait pengobatan NEC di kemudian hari.

## Referensi

- Alganabi, M., Lee, C., Bindi, E., Li, B. and Pierro, A. (2019) 'Recent advances in understanding necrotizing enterocolitis', *F1000Research*, 8(107), pp. 1-8. Available at: <https://doi.org/10.12688/f1000research.17228.1>.
- Balsamo, F., Tian, Y., Pierro, A. and Li, B. (2022) 'Amniotic fluid stem cells: A novel treatment for necrotizing enterocolitis', *Frontiers in Pediatrics*, 10(1020986), pp. 1-10. Available at: <https://doi.org/10.3389/fped.2022.1020986>.
- Bellodas Sanchez, J. and Kadrofske, M. (2019) 'Necrotizing enterocolitis', *Neurogastroenterology and Motility*, 31(3), pp: 1-6. Available at: <https://doi.org/10.1111/nmo.13569>.
- Bethune, R., Adderley, N. and Yusuf, K. (2019) 'Neonatal Necrotizing Enterocolitis (NEC): Pathogenesis and Clinical Findings', *The Calgary Guide to Understanding Disease*.
- Bowen, C.M., Ditmars, F.S., Gupta, A., Reems, J. and Fagg, W.S. (2022) 'Cell-Free Amniotic Fluid and Regenerative Medicine: Current Applications and Future Opportunities', *Biomedicines*, 10(2960), pp. 1-18. Available at: <https://doi.org/10.3390/biomedicines10112960>.
- D'Angelo, G., Impellizzeri, P., Marseglia, L., Montalto, A.S., Russo, T., Salamone, I., Falsaperla, R., Corsello, G., Romeo, C. and Gitto, E. (2018) 'Current status of laboratory and imaging diagnosis of neonatal necrotizing enterocolitis', *Italian Journal of Pediatrics*, 44(84), pp: 1-6. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13052-018-0528-3>.
- Drucker, N.A., McCulloh, C.J., Li, B., Pierro, A., Besner, G.E. and Markel, T.A. (2018) 'Stem Cell Therapy in Necrotizing Enterocolitis: Current State and Future Directions', *Semin Pediatr Surg*, 27(1), pp. 57-64. Available at: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1801473>.



- Ergenekon, E., Tayman, C. and Ozkan, H. (2021). 'Turkish Neonatal Society Necrotizing Enterocolitis Diagnosis, Treatment and Prevention Guidelines', *Turkish Archives of Pediatrics*, 56(5), pp. 513–524.
- Gomart, A., Vallée, A. and Lecarpentier, Y. (2021) 'Necrotizing Enterocolitis: LPS/TLR4-Induced Crosstalk Between Canonical TGF- $\beta$ /Wnt/ $\beta$ -Catenin Pathways and PPAR $\gamma$ ', *Frontiers in Pediatrics*, 9(713344), pp: 1-14. Available at: <https://doi.org/10.3389/fped.2021.713344>.
- Hu, X., Zhang, R., Liang, H., An, J., Yang, Y., Huo, J., Chen, Z., Quan, W., Jiang, L., Li, C., Li, J., Li, F., Xu, Y. and Zhu, X. (2023) 'Comparison and Investigation of Exosomes from Human Amniotic Fluid Stem Cells and Human Breast Milk in Alleviating Neonatal Necrotizing Enterocolitis', *Stem Cell Reviews and Reports*, 19(3), pp. 754–766. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12015-022-10470-5>.
- Sidauruk, R.J.M., Amir, I., Kadim, M. and Said, M. (2014) 'Faktor Risiko yang Memengaruhi Kolonisasi Mikroflora Saluran Cerna Neonatus Kurang Bulan dengan Enterokolitis Nekrotikans', *Sari Pediatri*, 15(6), pp. 353–360.
- Kaban, R.K., Rohsiswatmo, R., Kautsar, A., Sutrisno, A.A., Hikmahrachim, H.G. and Hardiyanti, N. (2022) 'Risk factors of necrotizing enterocolitis-related mortality in preterm neonates: a preliminary prospective study', *Paediatrica Indonesiana*, 62(3), pp. 186–91. Available at: <https://doi.org/10.14238/pi62.3.2022.186-91>.
- Kaplina, A., Kononova, S., Zaikova, E., Pervunina, T., Petrova, N. and Sitkin, S. (2023) 'Necrotizing Enterocolitis: The Role of Hypoxia, Gut Microbiome, and Microbial Metabolites', *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2471), pp: 1-55. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms24032471>.
- de Kroon, R.R., de Baat, T., Senger, S. and van Weissenbruch, M.M. (2022) 'Amniotic Fluid: A Perspective on Promising Advances in the Prevention and Treatment of Necrotizing Enterocolitis', *Frontiers in Pediatrics*, 10(859805), pp: 1-8. Available at: <https://doi.org/10.3389/fped.2022.859805>.
- Kunisaki, S.M. (2018) 'Amniotic Fluid Stem Cells for the Treatment of Surgical Disorders in the Fetus and Neonate', *Stem Cells Translational Medicine*, 7(11), pp. 767–773. Available at: <https://doi.org/10.1002/sctm.18-0018>.
- Li, B., Lee, C., Cadete, M., O'Connell, J., Alganabi, M., Lee, D., Ganji, N., Miyake, H., Botts, S.R., Johnson-Henry, K.C., Maattanen, P., Sherman, P.M. and Pierro, A. (2022) 'Amniotic fluid stem cell administration can prevent epithelial injury from necrotizing enterocolitis', *Pediatric Research*, 91(1), pp. 101–106. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41390-021-01657-6>.
- Lopez, C.M., Sampah, M.E.S., Duess, J.W., Ishiyama, A., Ahmad, R., Sodhi, C.P. and Hackam, D.J. (2023) 'Models of necrotizing enterocolitis', *Seminars in Perinatology*, 47(1). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.semperi.2022.151695>.
- Maheshwari, A. (2021) 'Role of platelets in neonatal necrotizing enterocolitis', *Pediatric Research*. Springer Nature, pp. 1087–1093. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41390-020-1038-8>.
- Markel, T.A., Martin, C.A., Chaaban, H., Canvasser, J., Tanner, H., Denchik, H. and Good, M. (2020) 'New directions in necrotizing enterocolitis with early-stage investigators', *Pediatric Research*, 88(Suppl 1), pp. 35–40. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41390-020-1078-0>.
- McCulloh, C.J., Olson, J.K., Wang, Y., Vu, J., Gartner, S. and Besner, G.E. (2017) 'Evaluating the Efficacy of Different Types of Stem Cells in Preserving Gut Barrier Function in NEC', *J Surg Res*, 214, pp. 278–285. Available at: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1801473>.
- McCulloh, C.J., Olson, J.K., Zhou, Y., Wang, Y. and Besner, G.E. (2017) 'Stem Cells and

- Necrotizing Enterocolitis: A Direct Comparison of the Efficacy of Multiple Types of Stem Cells', *J Pediatr Surg*, 52(6), pp. 1–11. Available at: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1801473>.The.
- McCulloh, C.J., Olson, J.K., Wang, Y., Zhou, Y., Huibregtse, N., Deshpande, S. and Besner, G.E. (2018) 'Treatment of Experimental Necrotizing Enterocolitis with Stem Cell-Derived Exosomes', *J Pediatr Surg*, 53(6), pp. 1–14. Available at: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1801473>.The.
- Meister, A.L., Doheny, K.K. and Travagli, R.A. (2020) 'Necrotizing enterocolitis: It's not all in the gut', *Experimental Biology and Medicine*, 245, pp. 85–95. Available at: <https://doi.org/10.1177/1535370219891971>.
- Moschino, L., Duci, M., Leon, F.F., Bonadies, L., Priante, E., Baraldi, E. and Verlatto, G. (2021) 'Optimizing nutritional strategies to prevent necrotizing enterocolitis and growth failure after bowel resection', *Nutrients*, 13(340), pp. 1–22. Available at: <https://doi.org/10.3390/nu13020340>.
- Nitkin, C.R., Rajasingh, J., Pisano, C., Besner, G.E., Thebaud, B. and Sampath, V. (2020) 'Stem Cell Therapy for Preventing Neonatal Diseases in the 21st Century: Current Understanding and Challenges Christopher', *Pediatr Res*, 87(2), pp. 265–276. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41390-019-0425-5>.Stem.
- OConnell, J.S., Li, B., Zito, A., Ahmed, A., Cadete, M., Ganji, N., Lau, E., Alganabi, M., Farhat, N., Lee, C., Eaton, S., Mitchell, R., Ray, Steve., Coppi, P.D., Patel, K. and Pierro, A. (2021) 'Treatment of necrotizing enterocolitis by conditioned medium derived from human amniotic fluid stem cells', *PLoS ONE*, 16(12 December), pp. 1–15. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260522>.
- Krishna, R.O.H, Aleem, M.A., Kotaiah, M. and Kota, R.R. (2021) 'A Study of Histopathological Findings in Neonatal Necrotizing Enterocolitis in Early and Late Term Infants', *Journal of Evidence Based Medicine and Healthcare*, 8(04), pp. 184–189. Available at: <https://doi.org/10.18410/jebmh/2021/35>.
- Pammi, M., De Plaen, I.G. and Maheswari, A. (2020) 'Recent Advances in Necrotizing Enterocolitis Research Strategies for Implementation in Clinical Practice Mohan', *Clin Perinatol*, 47(2), pp. 383–397. Available at: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1801473>.The.
- Siahaan, E.S.E.D., Adriansyah, W., Sasmita, A.P., Fauzi, A.R., Dwihantoro, A. and Gunadi. (2021) 'Outcomes and Prognostic Factors for Survival of Neonates With Necrotizing Enterocolitis', *Frontiers in Pediatrics*, 9(744504), pp: 1-6. Available at: <https://doi.org/10.3389/fped.2021.744504>.
- Thänert, R., Keen, E.C., Dantas, G., Warner, B.B. and Tarr, P.I. (2021) 'Necrotizing enterocolitis and the microbiome: Current status and future directions', *Journal of Infectious Diseases*, 223(Suppl 3), pp. S257–S263. Available at: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa604>.
- Venkatraman, A., Yu, W., Nitkin, C. and Sampath, V. (2021) 'Intestinal stem cell development in the neonatal gut: Pathways regulating development and relevance to necrotizing enterocolitis', *Cells*, 10(312), pp. 1–17. Available at: <https://doi.org/10.3390/cells10020312>.
- Villamor-Martinez, E., Hundscheid, T., Kramer, B.W., Hoojiman, C.R. and Villamor, E. (2020) 'Stem Cells as Therapy for Necrotizing Enterocolitis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Preclinical Studies', *Frontiers in Pediatrics*, 8(December), pp. 1–12. Available at: <https://doi.org/10.3389/fped.2020.578984>.
- Wu, H., Guo, K., Zhuo, Z., Zeng, R., Luo, Y., Yang, Q., Li, J., Jiang, R., Huang, Z., Sha, W. and Chen, H. (2022) 'Current therapy option for necrotizing enterocolitis: Practicalities and challenge', *Frontiers in Pediatrics*, 10(954735), pp: 1-10. Available at: <https://doi.org/10.3389/fped.2022.954735>.
- Zani, A., Cananzi, M., Fascetti-Leon, F., Lauriti, G., Smith, V.V., Bollini, S., Ghionzoli, M., D'Arrigo, A., Pozzobon, M., Piccoli, M.,

Hicks, A., Wells, J., Siow, B., Sebire, N.J., Bishop, C., Leon, A., Atala, A., Lythgoe, M.F., Pierro, A., Eaton, S., Coppi, P.D. (2014) ‘Amniotic fluid stem cells improve survival and enhance repair of damaged intestine in necrotising enterocolitis via a COX-2 dependent mechanism’, *Gut*, 63(2), pp. 300–309. Available at: [303735.](https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-</a></p></div><div data-bbox=)

Zeng, R., Wang, J., Zhuo, Z., Luo, Y., Sha, W. and Chen, H. (2021) ‘Stem cells and exosomes: promising candidates for necrotizing enterocolitis therapy’, *Stem Cell Research and Therapy*, 12(323), pp. 1–14. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02389-4>.