

Penggunaan *Human Mesenchymal Stem Cells* untuk Perbaikan Tulang Rawan Sendi pada Osteoarthritis

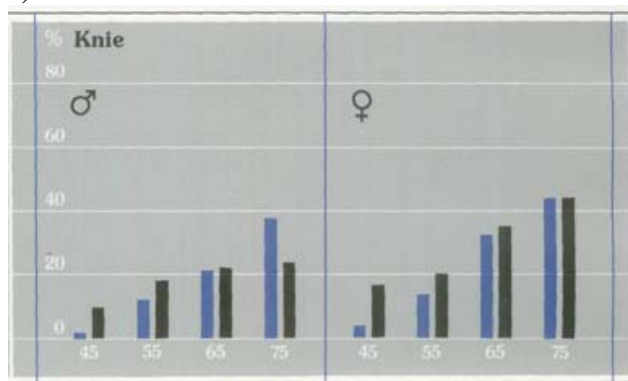
telaah literatur

Adiwirawan Mardjuadi, Rheumatologist

Medika Reuma Klinik Jakarta, Indonesia

PENDAHULUAN

OA (Osteoarthritis) adalah penyakit sendi yang paling banyak dijumpai dan merupakan penyebab sakit, nyeri dan disabilitas dengan frekuensi 15-40 % untuk usia 40-50 tahun dan lebih dari 80% menjelang usia 70 tahun⁽¹⁾. Tulang rawan sendi yang baik dengan lubrikasi normal penting sekali untuk mempertahankan fungsi dari sendi. Studi epidemiologi melaporkan bahwa kelainan radiografik yang timbul pada OA lutut tidak selalu paralel dengan keluhan penderitanya terutama sebelum usia 45 tahun, kecuali setelah usia 65 tahun (**grafik 1**).⁽²⁾

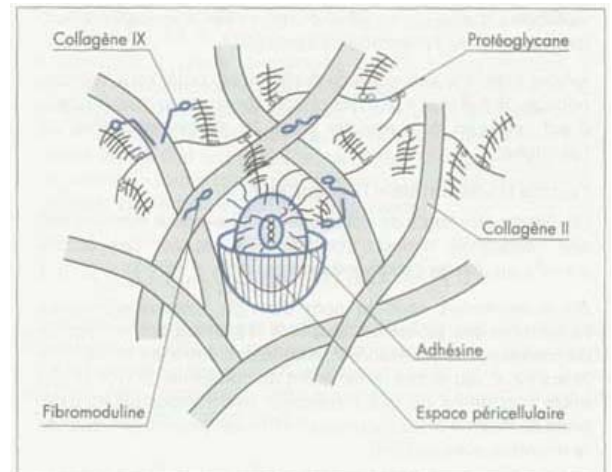


PATOGENESIS

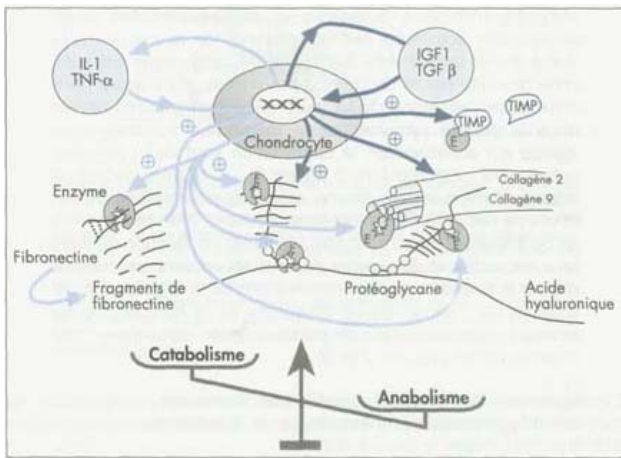
OA perdefinisi adalah destruksi tulang rawan sendi / *articular cartilage (chondrolysis)* sebagian akibat kegagalan khondrosit untuk mempertahankan keseimbangan normal antara sintesis dan degradasi matriks sehingga terjadi edema di subchondral dan timbul hipertrofi tulang rawan/osteofit dan akhirnya reaksi radang sinovial. Telah diketahui bahwa khondrosit articular yang avaskular merupakan satu-satunya sel yang ada di sendi dan mempunyai kapasitas untuk mensintesis, mengorganisasi dan mengatur komposisi matrik sekitarnya

secara baik dan efisien.⁽²⁾ Teori anabolisme dan katabolisme diperkuat dengan *low synthesis dan high degradation cartilage* dapat menerangkan terjadinya OA. *Marker* untuk sintesis/anabolisme kartilago yaitu collagen type II A meningkat di sendi OA pada stadium dini tapi menurun di serum; sedangkan Type II C telopeptide merupakan marker degradasi / katabolisme.⁽³⁾

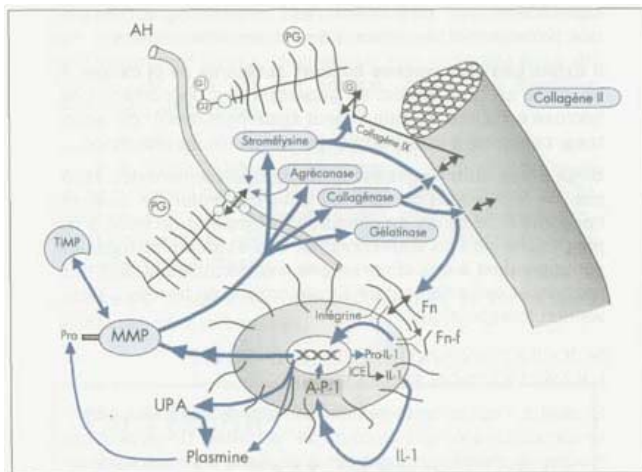
Proses patogenesis OA dijelaskan dalam 4 stadia (**gambar 1-4**).



Gb 1. Tulang rawan sendi normal. Khondrosit normalnya dikelilingi oleh ruangan yang kaya akan protein adhesi dan adhesines (fibronectine, collagene mineur seperti typeIX, collagen VI, tenascine) Ruang periseluler membatasi khondrosit dengan matrix ekstraseluler. matrix ekstraseluler yang essensial terdiri dari rantai-rantai fibre collagen type II yang terbenam di dalam proteoglycans yang kaya akan bahan untuk lubrikasi.Collagen type II bersama-sama proteoglycan diperkuat oleh protein lainnya seperti collagen type IX dan fibromoduline. bekerja menstabilisasi struktur tulang rawan⁽⁴⁾



Gb. 2. Melukiskan adanya imbalans/ketidak seimbangan antara sintesis dan katabolisme pada proses terjadinya OA Proses anabolik dimotori oleh stimulasi pembentukan collagen type II, proteoglycan dan enzim inhibitor terhadap TGFB sedangkan di sisi lainnya proses katabolisme terjadi dengan pelepasan sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 dan TNF alpha yang dihasilkan oleh autokrin dari khondrosit.. Sitokin tersebut memproduksi enzim-enzim untuk memecah komponen matriks collagen type II dan agrecan serta fibronectine menjadi fragmen-fragmen dari fibronectine.⁽⁴⁾



Gb. 3. Khondrosit juga mensekresi plasmin, plasminogen aktivator (UPA), terutama MMP (metalloproteases) yang selanjutnya mensekresi stromelysine, agrecanase, collagenase dan gelatinase. yang berfungsi memecah/degradasi matriks makromolekul. MMP pada keadaan normal dikontrol oleh inhibitor spesifik TIMP. Proses katabolisme ini mestimulasi sintesis matriks seperti proteoglycans yang pada mulanya berhasil meningkat/anabolik, akhirnya mengalami kemunduran/insufisien untuk mengimbangi katabolisme tersebut.(circle vitiosus).⁽⁴⁾

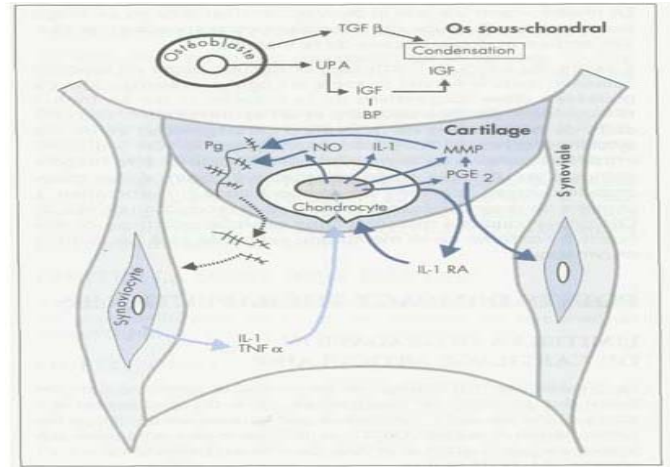
PENGobatan DAN PERANAN STEM CELLS

Pengobatan OA menggunakan NSAID, Coxib, Glukosamin, Khondroitin sulfat, Asam Hyaluronat Intra Artikular ⁽⁵⁾ serta pengurangan berat badan, latihan sendi dan fisioterapi. Pada kasus berat kadang-kadang perlu operasi koreksi dan penggantian sendi.

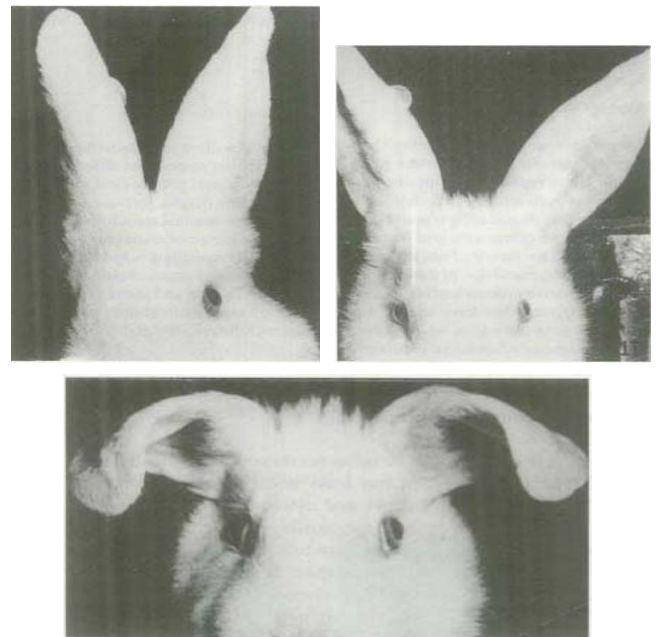
Belakangan ini selain pengobatan dengan apa yang disebut *autolog chondrocyte transplant* juga dikembangkan *tissue engineering of articular cartilage* dengan menggunakan *multipotential human adult mesenchymal stem cells (hMSCs)*

sebagai sumber sel kandidat untuk pembentukan khondrosit. HMSCs terdapat di sumsum tulang dan jaringan lain seperti periosteum dan perichondrium yang dapat berdiferensiasi menjadi *human chondrocyte in vivo* dan *in vitro*. HMSCs berdiferensiasi menjadi *multipotential mesenchymal lineage* antara lain, tulang, otot, ligamen, tendon, adiposa dan *marrow*.

Oleh karena itu hHMSCs setelah diisolasi, ekspansi, purifikasi dan dimanipulasi secara genetik cocok digunakan sebagai khondrosit yang *mature* dalam proses *cell-based cartilage repair*. Peranan khondrosit sangat vital dalam pengobatan OA.⁽⁶⁾



Gb. 4. Fase kongestif pada tulang subchondral, akhirnya dapat menimbulkan jaringan sikatrik yang ireversibel. Merupakan akibat dari berlanjutnya proses tersebut di atas sehingga kerusakan jaringan rawan sendi berlanjut, edema subkhondral dan reaksi pembentukan osteofit sebagai respon tulang subkhondral atas inflamasi melalui osteoblast.⁽⁴⁾



Gb. 5. Daun telinga kelinci setelah berbagai perlakuan

Gambar 5 memperlihatkan sel khondrosit normal mampu mengkoreksi konsentrasi proteoglikan dan mengembalikan fungsi seperti semula pada percobaan kelinci. Daun telinga kelinci yang disuntik dengan enzim *chymopapain* menjadi kolaps 4 hari kemudian; kembali tegak 5 hari berikutnya setelah penyuntikan khondrosit.⁽⁷⁾ Demikian pula penyuntikan intraartikular ke dalam lutut kelinci menyebabkan penyusutan kadar proteoglikan 50 % di ruang sendi dan kembali seperti sebelumnya setelah 2-3 minggu. Jelas peranan dari keutuhan sel khondrosit sangat penting, tetapi regulasinya hingga kini belum diketahui.⁽⁷⁾

Ada hubungan antara *human chondrocyte senescence* dengan pertambahan usia dan peningkatan timbulnya OA⁽⁹⁾ sejajar dengan umur khondrosit donor, dan pemendekan ini berhubungan dengan perubahan di fenotip asosiasi dengan *cell senescence expression* dari SA beta Gal, enzim petanda keuzuran (*senescence*) dan aktivitas mitosis yang diukur dengan inkorporasi H3-thymidin. Ternyata studi tersebut tidak memberikan kesimpulan bahwa *cell senescence* yang menyebabkan peningkatan risiko OA, akan tetapi menurunnya kapabilitas khondrosit untuk mempertahankan fungsi *articular cartilage* tersebut sehubungan dengan bertambahnya usia.⁽⁹⁾

Ada 3 tipe *cell senescence* yaitu *cell senescence (irreversible growth arrest accompanied by loss of phenotype)*, *replicate senescence (Hayflick limit, in vitro after certain doublings)* dan *progressive senescence (decline of proliferative activity and loss of differentiated phenotype)*⁽⁸⁾. OA adalah *pre-senescence* yang diumpamakan sebagai penyakit Alzheimer dari khondrosit.⁽⁹⁾

Oshima Y et al. melaporkan perangi transplantasi *bone marrow derived mesenchymal cells* yang mengandung *mesenchymal stem cells (MSCs)* berasal dari tikus transgenik. MSCs tikus transgenik yang telah dikultur (*hanging drop culture*), setelah difiksasi dengan *fibrin glue* ditranplantasi ke tikus liar. Setelah 24 minggu terjadi reparasi/perbaikan defek dan subkhondral. Adanya sel GFP positif mengindikasikan berhasilnya tranplantasi setelah diobservasi selama 24 minggu. Sel GFP positif ternyata jumlahnya menurun dengan waktu. GFP tidak menimbulkan imunoreaksi, juga bisa dianggap sebagai transplantasi autolog dengan *survivability* yang nyata. Hasil ini diharapkan bisa digunakan sebagai *tissue engineering* dalam proses regenerasi defek osteokondral menggunakan *original hyalin cartilage* dan tulang subkhondral.⁽¹¹⁾

Kemajuan peranan *cartilage tissue engineering* dari *hMSCs* untuk pengobatan OA mendapat titik terang dengan ditemukannya *Scrapie Responsive Gene 1 (SCRG 1) gene*⁽¹¹⁾. Observasi mikroskopis sering menunjukkan reparasi *cartilage* yang heterogen dan tidak akurat pada OA sehingga selain pembentukan *cartilage* sering berlanjut ke arah hipertropi.

Telah diketahui bahwa setelah *high tibial valgus osteotomy* degenerasi pada OA dapat memperbaiki/regenerasi sendiri. Reaksi reparatif ini menunjukkan bahwa khondrosit artikular dapat mensekresi factor bioaktif yang dapat menginduksi pembentukan *articular cartilage* yang berasal dari sel progenitor termasuk *hMSCs*. Proses ini juga bisa terjadi pada OA. Berdasarkan ide tersebut maka dilakukan *cDNA microarray analysis* untuk mengidentifikasi gen yang mampu

mengekspresikan secara bermakna terutama di *articular cartilage* dan mengencode sekresi SCRG 1.⁽¹²⁾

Dengan bantuan RT-PCR terlihat bahwa *articular cartilage* dan sumsum tulang mengekspresikan SCRG 1 secara bermakna dibandingkan dengan jaringan otak dan jantung. SCRG 1 merupakan salah satu gen spesifik yang memenuhi kriteria untuk pembentukan *articular cartilage* secara *in vitro*.

Eksresi SCRG 1 tergantung dari deksametason (Dex) pada saat khondrogenesis *in vitro*. Telah diketahui sebelumnya bahwa Dex dapat menginduksi *hMSCs in vitro* untuk berdiferensiasi menjadi osteoblast, myoblast dan adipocytes. Secara klinis penggunaan Dex pada OA dapat memperburuk /mempercepat degradasi kartilago. Efek samping tersebut dapat dihambat dengan aplikasi Dex melalui ekspresi SCRG1 untuk stimulasi khondrogenesis sebagai rekayasa jaringan *articular cartilage*.⁽¹²⁾

MSC engineering dapat memberikan hasil yang lebih baik. Beberapa problem yang harus dibahas adalah mengenai biologi, *survival* dan kapasitas MSCs mempopulasikan ke jaringan *host*, juga efektifitas MSCs topikal dibandingkan dengan MSCs sistemik.⁽¹²⁾

KESIMPULAN

Selain pengobatan konvensional dan pembedahan, transplantasi khondrosit autolog disertai *hMSCs* untuk regenerasi khondrosit diharapkan berperan penting dalam pengobatan OA di masa mendatang.

Email penulis: reuma@cbn.net.id

KEPUSTAKAAN

1. Bandt de Michel, Donnees epidemiologiques. Dalam : Arthrose, La prise en charge global. Labo. Pharmascience, hal. 6.
2. Dequeker J. Epidemiologie. Dalam : Osteoartrrose, hal. 17.
3. Sandell LJ. Is there a Role for Anabolism in Osteoarthritis. ACR Annual Meeting, San Diego, Nov 12-17, 2005.
4. Amor Bernart. Vie, survie et mort du cartilage au cours de l'arthrose: poits d'impact therapeutiques. Dalam : La gonarthrose. Pathology Science, Paris: John Libbey 1999, hal. 43-58.
5. Gerard D, Brocq O, Roux CH et al. Intra-articular injection of hyaluronic acid (Durolane) for hip osteoarthritis: an open study. Presented at EULAR, Berlin, June 2004.
6. Bradley J, Johnson D. Dalam: Lecture Note on Molecular Medicine. Stolz JF (ed.) Blackwell Science, 2nd ed., 2002. hal. 90-9.
7. Altman RD, Luescher. Osteoarthritis: is there potential for chondroprotective therapy. In vitro & in vivo studies. Eular Publ., Basel, Switzerland 1991, hal. 10-2.
8. Aigner T. Osteoarthritis - derangement of matrix and cells. ACR Annual Meeting, San Diego, Nov 12-17, 2005.
9. Martin JA, Buckwalter JA. Human chondrocyte senescence and osteoarthritis, *Biorheology* 39, 2002. 145-52 dikutip dari *Mechano biology: Cartilage and Chondrocyte Vol.2*. 2004
10. Yasushi O et al. Behavior of Transplanted Bone Marrow-derived GFP Mesenchymal Cells in Osteochondral Defect as a Stimulation of Autologous Transplantation. *J.Histochem Cytochem* 2005; 53: 207-216,
11. Ochi K et al. A predominantly articular cartilage-associated gene SCRG1 is induced by glucocorticoid and stimulates chondrogenesis in vitro. *Osteoarthritis and Cartilage* 2006 ;14 : 30-38.
12. Pountos I et al. Growing Bone and Cartilage : The role of mesenchymal stem cells. *J.Bone Joint Surg* . April 1, 2006 : 421-426