

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Penyakit osteolisis patologis seperti rheumatoid arthritis (RA), osteomyelitis, dan periodontitis dapat meningkatkan disabilitas fungsional dan morbiditas penderitanya (O'Brien *et al.*, 2016). Penyakit tulang ini disebabkan oleh peradangan kronis dan ditandai dengan pengeroposan tulang di sekitar sendi atau gigi yang terkena akibat peningkatan aktifitas osteoklastik (Boyce *et al.*, 2005). Prevalensi penyakit tulang di dunia mencapai 1,5 juta orang setiap tahun dan penyakit tulang ini dapat mengarah pada kondisi yang lebih parah jika tidak ditangani dengan tepat. Osteolisis patologis banyak ditemukan pada daerah kraniofasial yang dapat disebabkan oleh trauma, infeksi berat, malformasi kongenital, dan reseksi tumor, dan seringkali memerlukan rekonstruksi jaringan tulang untuk alasan medis atau estetika (Gaihre *et al.*, 2017). Studi di Amerika Serikat menunjukkan bahwa angka kejadian osteomyelitis mencapai 21,8 kasus per 100.000 orang per tahun (Kremers *et al.*, 2015). Data Riset Kesehatan Dasar Indonesia (RISKESDAS) tahun 2018 menunjukkan prevalensi periodontitis adalah 67,8%, sedangkan penyakit periodontal yang parah sehingga menyebabkan kerusakan tulang sampai hilangnya gigi, ditemukan pada 15-20% populasi usia dewasa usia >35 tahun. Kondisi ini juga akan mempengaruhi aktivitas individu yang dapat menurunkan *health-related quality of life* (HRQL) (Beudart *et al.*, 2018).

Osteolisis patologis dapat disebabkan oleh inflamasi steril dan non steril. Inflamasi non-steril dari osteolisis patologis dapat disebabkan oleh endotoksin lipopolisakarida (LPS) (Wang dan Quinn, 2010). LPS *E. Coli* telah terbukti menjadi agen potensial untuk menginduksi sitokin inflamasi dan resorpsi tulang patologis (Xing *et al.*, 2011). Sitokin inflamasi yang diinduksi LPS seperti TNF- $\alpha$  dan Interleukin-1 memainkan peran penting dalam maturasi dari

progenitor osteoklas (Islam *et al.*, 2007). Sitokin-sitokin ini diketahui terlibat dalam osteoklastogenesis yang diinduksi LPS dan resorpsi tulang *in vivo* dan *in vitro*. LPS juga berperan dalam menginduksi osteoklastogenesis, maturasi dan memfasilitasi fusi osteoklas (Mörmann *et al.*, 2008).

Berbagai macam upaya terapi untuk kerusakan tulang telah banyak dilakukan antara lain pengobatan menggunakan antibiotik jika disebabkan oleh bakteri, terapi bedah, *phyto-therapy* menggunakan senyawa yang diekstraksi dari tanaman herbal (Slots dan Ting., 2002; Joshi, 2012). Berbagai pendekatan terapi tersebut masih belum mendapatkan *output* yang maksimal (Citteria *et al.*, 2020). Beberapa tahun terakhir terdapat peningkatan studi terkait penggunaan sel punca mesenkimal atau *mesenchymal stem cells* (MSCs) sebagai salah satu upaya terapi kerusakan tulang (Jafarian *et al.*, 2008; Kodama *et al.*, 2012; Granero *et al.*, 2011; Fennema *et al.*, 2018) Fokus upaya riset ini memanfaatkan potensi terapeutik MSCs karena memiliki beberapa sifat dan kemampuan yang menguntungkan untuk terapi regenerasi yaitu dapat memperbaiki diri sendiri (*self renewal*), pluripotensi baik, dan dapat berdiferensiasi menjadi garis keturunan dan diluar keturunan mesenkimal (*multi-lineage*) (Watson *et al.*, 2014). Pada kondisi *in vitro* yang sudah ditentukan, MSCs dapat menghasilkan sel-sel asal neuro-ektodermal dan endodermal, termasuk sel-sel saraf, hepatosit, kardiomyosit, sel-sel epitel alveolar dan usus, sehingga menjadi agen terapeutik baru dalam terapi regeneratif (Urrutia *et al.*, 2019). MSCs memiliki fungsi imunomodulator seperti menekan proliferasi sel mononuklear, menghambat diferensiasi sel dendritik (Melief *et al.*, 2013), mengurangi sitokin proinflamasi dan meningkatkan sitokin antiinflamasi yang mendukung proses regenerasi tulang yang disebabkan inflamasi (Kim *et al.*, 2013).

Sumber MSCs tersebar pada seluruh jaringan tubuh sehingga dapat ditemukan pada sumsum tulang (Mulyani *et al.*, 2019), otot (Klimczak *et al.*, 2018), jaringan lemak (Rantam *et al.*, 2020), *Wharton's jelly* (Kong *et al.*, 2019), tali pusat (Kuntjoro *et al.*, 2020), membran

amnion, kulit (Ihsan *et al.*, 2021), dan folikel rambut (Rantam *et al.*, 2020). Jaringan orofasial juga memiliki sumber sel punca yang potensial yaitu seperti pulpa dental gigi permanen, pulpa dental gigi sulung, gingiva, dan ligamen periodontal (Narmada *et al.*, 2019; Suciadi *et al.*, 2019; Prahasanti *et al.*, 2020; Saskianti *et al.*, 2020). MSCs yang berasal dari daerah orofasial saat ini menjadi topik yang menarik untuk diteliti karena memiliki potensi yang sangat baik untuk aplikasi klinis terapi regenerasi. *Gingival Mesenchymal Stem Cells* (GMSCs) merupakan salah satu sel punca mesenkimal yang berasal dari gingiva di daerah orofasial. GMSCs dapat diisolasi dari jaringan free-gingiva dengan metode sederhana, minimal invasif, apabila dibandingkan dengan metode isolasi untuk memperoleh MSCs lain dari sumber lain misalnya, dari sumsum tulang atau jaringan adiposa (Nugraha *et al.*, 2018). GMSCs memiliki laju proliferasi yang tinggi dan dapat berdiferensiasi menjadi sel garis keturunan mesenkimal seperti osteogenik dan khondrogenik sehingga sangat mungkin untuk mendapatkan GMSCs dalam jumlah besar untuk penelitian dan penggunaan klinis terapi regenerasi tulang (Grawish, 2018).

Pada beberapa studi tentang terapi regeneratif menggunakan MSCs meskipun mendapatkan hasil yang baik, terdapat temuan yang diperoleh dalam studi eksperimental dan klinis yang menunjukkan beberapa keterbatasan yang harus diwaspadai terhadap penggunaan klinis MSCs yang aman dan efisien. Masalah keamanan mengenai diferensiasi yang tidak diinginkan dari MSCs yang ditransplantasikan masih menjadi perdebatan, terutama evaluasi jangka panjang dalam hal pembuatan, aplikasi, dan biaya. (Kuriyan *et al.*, 2017). Meskipun MSCs dapat ditemukan di banyak jaringan, jumlah keseluruhannya di dalam tubuh masih terbatas. Protokol terapi sel (*cell based therapy*) menggunakan MSCs umumnya membutuhkan sel dalam jumlah yang relatif besar sehingga membutuhkan waktu yang panjang dalam isolasi, kultur dan perbanyakan sebelum sel tersebut siap untuk digunakan (Duggal dan Brinchmann, 2011) Beberapa penelitian mengenai efek terapeutik MSCs menunjukkan bahwa waktu

implantasi yang relatif singkat kurang memberikan hasil yang efektif dan adekuat, jika dievaluasi berdasarkan kapasitas kultur dan diferensiasi (Toma *et al.*, 2009; Chimenti *et al.*, 2010; Timmers *et al.*, 2011) Hal ini memberikan peluang terhadap pendekatan terapi regeneratif lain yang lebih efektif dan aman. Molekul kecil yang disekresikan oleh MSCs, dikenal sebagai metabolit atau sekretom, saat ini sangat menarik untuk dikembangkan sebagai terapi bebas sel (*cell free based therapy*) dalam regenerasi jaringan dibanding terapi berbasis sel menggunakan MSCs. (Maguire, 2103).

Metabolit MSCs sebagai terapi bebas sel memiliki kelebihan dalam penyimpanan, penanganan dan umur simpan produk yang baik sebagai produk biologis yang siap pakai (Vizoso *et al.*, 2017). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa MSCs dapat mensekresi metabolit yang mengandung sitokin, kemokin, *growth factors*, protein, dan vesikula ekstraseluler pada subkultur awal yang dapat meningkatkan kemampuan regenerasi. (Eiro *et al.*, 2014; Bermudez *et al.*, 2015; Osugi *et al.*, 2012). Penggunaan metabolit MSCs bermanfaat untuk terapi regeneratif hal ini dikarenakan metabolit MSCs memiliki kemampuan imunomodulasi, anti-inflamasi, anti cancer, anti-mikrobia, pro-angiogenik, memiliki potensi osteoblastogenesis fisiologis, serta menghambat osteoklastogenesis patologis (Eleuteri dan Fierabracci, 2019). Metabolit dari MSCs diduga dapat meningkatkan aposisi tulang awal melalui aktifitas anti-inflamasi dan antioksidan. Pada penelitian Fujio *et al* tahun 2019 metabolit dari sel punca gigi sulung mempercepat penyembuhan tulang dan menghasilkan gambaran tulang dengan densitas yang lebih tinggi. Pada penyembuhan tulang, diferensiasi osteoblast dan osteoklas dikendalikan oleh transduksi sinyal dan transkripsi gen kompleks. Beberapa faktor kunci transkripsi untuk osteoblast adalah *Runt-Related Transcription Factor-2 X2 (RUNX2)* dan *Osterix (OSX)* (Pérez-Campo *et al.*, 2016). Beberapa jalur pensinyalan osteoblast ditemukan bahwa peningkatan transkripsi ekspresi *RUNX2* dan *OSX* menghasilkan langsung peningkatan pembentukan osteoblast. Penelitian oleh Diomedea *et al* tahun 2008

mengatakan bahwa vesikel ekstraseluler dari GMSCs menunjukkan sifat osteogenik yang signifikan dengan tingginya ekspresi dari *RUNX2* dan *BMP2/4*, serta banyak ditemukannya matriks ekstraseluler (ECM) dan nodul pembentukan tulang baru. *RUNX2* dan *Osterix* merupakan gen transkripsi dari osteoblastogenesis yang berperan pada fase diferensiasi osteogenik awal yang meningkat pada hari ke 7 (Komori, 2006).

Berdasarkan latar belakang diatas, dilakukan penelitian ini untuk menganalisis biomaterial metabolit sel punca mesenkimal gingiva sebagai pro-osteoblastogenesis pada osteolisis kalvaria tikus wistar (*R. norvegicus*) yang diinduksi Lipopolisakarida (LPS) *Escherichia coli* (*E. Coli*) (*in vivo*) melalui analisis ekspresi *RUNX2* dan *OSX* secara imunohistokimia.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Bagaimana kemampuan metabolit sel punca mesenkimal gingiva terhadap peningkatan *RUNX2* dan *OSX* pada model osteolisis kalvaria *R. norvegicus* yang diinduksi lipopolisakarida?

## **1.2 Tujuan**

### **1.2.1 Tujuan Umum**

Menganalisa kemampuan metabolit sel punca mesenkimal gingiva terhadap peningkatan *RUNX2* dan *OSX* pada model osteolisis kalvaria *R. norvegicus* yang diinduksi lipopolisakarida secara *in vivo*

### **1.2.2. Tujuan Khusus**

1. Menganalisa kemampuan metabolit sel punca mesenkimal gingiva pada osteolisis kalvaria *R. norvegicus* yang diinduksi lipopolisakarida secara *in vivo* melalui ekspresi positif (+) *RUNX2* pada osteoblast.
2. Menganalisa kemampuan metabolit sel punca mesenkimal gingiva pada osteolisis kalvaria *R. norvegicus* yang diinduksi lipopolisakarida secara *in vivo* melalui ekspresi positif (+) *OSX* pada osteoblast.

### **1.3 Manfaat**

#### **1.3.1 Manfaat Teoritis**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi keilmuan dan memberikan tambahan pengetahuan khususnya di bidang kedokteran gigi regeneratif menggunakan terapi bebas sel punca berbasis metabolit kepada praktisi kesehatan dan peneliti.

#### **1.3.2 Manfaat Praktis**

Mengetahui kemampuan metabolit sel punca mesenkimal gingiva sebagai salah satu preventif untuk kerusakan tulang pada bidang kesehatan khususnya kedokteran gigi.