

UJIAN DISERTASI

REGENERASI CACAT TULANG RAWAN (*CARTILAGE DEFECT*)
DENGAN KOMBINASI MIKROFRAKTUR DAN PENCANGKOKAN
SYNOVIUM - *PLATELET RICH FIBRIN* (S-PRF) PADA SENDI LUTUT
KELINCI

AHMAD TAUFIK S



PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023

**REGENERASI CACAT TULANG RAWAN (*CARTILAGE DEFECT*)
DENGAN KOMBINASI MIKROFRAKTUR DAN PENCANGKOKAN
SYNOVIUM - *PLATELET RICH FIBRIN* (S-PRF) PADA SENDI LUTUT
KELINCI**

DISERTASI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk mencapai Gelar Doctor

**Program Studi
S3 Ilmu Kedokteran**

Disusun dan Daiajukan oleh

AHMAD TAUFIK S

Kepada

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

DISERTASI

**REGENERASI CACAT TULANG RAWAN (CARTILAGE DEFECT) DENGAN
KOMBINASI MIKROFRAKTUR DAN PENCANGKOKAN SYNOVIUM –
PLATELET RICH FIBRIN (S-PRF) PADA SENDI LUTUT KELINCI**

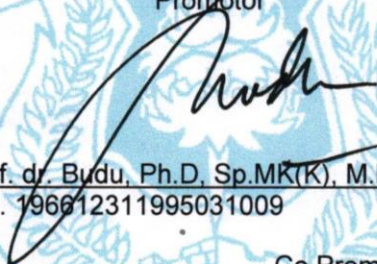
Disusun dan diajukan oleh

**AHMAD TAUFIK S
C013181004**

*Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Ujian Disertasi dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal 16 Februari 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*


Menyetujui

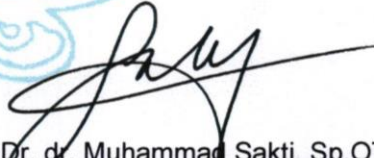
Promotor


Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.MK(K), M.MedEd
NIP. 196612311995031009

Co Promotor

Co Promotor


dr. Muhammad Andry Usman, Ph.D, Sp.OT(K)
NIP. 197504042008121001


Dr. dr. Muhammad Sakti, Sp.OT(K)
NIP. 197610012008011013

Ketua Program Studi Doktor
Ilmu Kedokteran,

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,


Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
NIP. 196711031998021001


Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, SpPD-KGH, FINASIM, SpGK
NIP. 196805301996032001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN

PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp.(0411)586010,(0411)586297

EMAIL : s3kedokteranunhas@gmail.com

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Ahmad Taufik S
NIM : C013181004
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

REGENERASI CACAT TULANG RAWAN (*CARTILAGE DEFECT*) DENGAN KOMBINASI
MIKROFRAKTUR DAN PENCANGKOKAN SYNOVIUM - *PLATELET RICH FIBRIN (S-PRF)* PADA
SENDI LUTUT KELINCI

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa
Disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini
hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 16 Februari 2023

Yang menyatakan,



Ahmad Taufik S

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum waroHmatullahi wabarokatuh.

Puji dan Syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan karunia dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi dengan judul **"Regenerasi Cacat Tulang Rawan (*Cartilage Defect*) Dengan Kombinasi Mikrofraktur dan Pencangkokan Synovium – *Platelet Rich Fibrin (S-PRF)* Pada Sendi Lutut Kelinci"**, dengan baik dan maksimal.

Di dalam proses penelitian dan penulisan disertasi ini, penulis sadar sepenuhnya, bahwa disertasi ini dapat terselesaikan berkat dorongan, bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa karya tulis ilmiah ini sangat jauh dari kesempurnaan, sehingga saran dan kritik yang sifatnya membangun sangat dibutuhkan bagi kesempurnaan disertasi ini.

Demikian sedikit pengantar dari penulis, semoga disertasi ini dapat membawa manfaat terutama bagi masyarakat, dan juga bagi pasien yang kami rawat.

Mataram, 20 Februari 2023

Ahmad Taufik S

ABSTRAK

AHMAD TAUFIK S.. *Double Membrane Platelet-Rich Fibrin (PRF) Synovium Berhasil Meregenerasi Kerusakan Kartilago Lutut: Penelitian Eksperimental pada Kelinci* (dibimbing oleh Budu, Muhammad Andry Usman, dan Muhammad Sakti).

Penelitian ini bertujuan membuktikan hasil penyembuhan (regenerasi) pada defek tulang rawan menggunakan kombinasi pengobatan fraktur mikro dan transplantasi *platelet rich* (PRF). Terjadi defek kartilago pada *trochlear groove* lutut kelinci putih Selandia Baru dewasa. Data diklasifikasikan ke dalam tiga kelompok perlakuan. Kelompok (1) adalah defek tulang rawan tanpa pengobatan, (2) dengan pengobatan fraktur mikro, dan (3) dengan fraktur mikro yang dilapisi dengan membran *synovium platelet rich fibrin* (S-PRF). Dua belas minggu setelah intervensi, hewan diperiksa secara makroskopis dan histologis dan dievaluasi oleh International Cartilage Repair Society (ICRS). Selain itu, ekspresi kolagen aggregan dan tipe 2 diperiksa dengan realtime-PCR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa skor ICSR untuk makroskopik secara signifikan lebih tinggi pada kelompok fraktur mikro dan transplantasi S-PRF dibandingkan kelompok lain. Juga, skor ICSR untuk histologi secara signifikan lebih tinggi pada kelompok ini. Ekspresi kolagen aggregan dan tipe 2 lebih tinggi pada kelompok yang mendapat perawatan lengkap. Disimpulkan bahwa *microfractures* dan transplantasi *synovium-platelet rich fibrin* (S-PRF) dapat meregenerasi cacat tulang rawan lutut yang telah terbukti meningkatkan ekspresi m-RNA *aggregan* dan m-RNA tipe 2 kolagen menghasilkan perbaikan yang sangat baik.

Kata kunci: cacat tulang rawan, fraktur mikro, fibrin kaya trombosit, *synovium*, Fibrin kaya *synovium-platelet*



ABSTRACT

AHMAD TAUFIK S. *Double Membrane Platelet Rich Fibrin (PRF) - Synovium Succeeding in Regenerating Cartilage Defect at the Knee: An Experimental Study on Rabbit* (supervised by Budu, Muhammad Andry Usman, and Muhammad Sakti)

This study aims to prove the healing results (regeneration) in cartilage defects using a combination treatment of microfractures and transplantation synovium platelet rich fibrin (PRF). A cartilage defect was made in the trochlear groove of the knee of adult New Zealand white rabbits and was classified into three treatment groups. Group one was cartilage defect without treatment, group two with microfracture treatment, and group three with microfracture covered with a synovium-platelet rich fibrin (S-PRF) membrane. Twelve weeks after the intervention, the animals were macroscopically and histologically examined and evaluated by the International Cartilage Repair Society (ICRG). Additionally, the expression of aggrecan and type 2 collagen was examined by real-time PCR. The results show that ICSR scores for macroscopic are significantly higher in the microfracture and S-PRF transplant group than in the other groups. Also, the ICSR scores for histology are significantly higher in this group. The expression of aggrecan and type 2 collagen is higher in the group that receives complete treatment. In conclusion, microfractures and transplantation of synovium-platelet rich fibrin (S-PRF) can regenerate knee cartilage defects which have been shown to increase the expression of mRNA aggrecan and mRNA type 2 collagen resulting in excellent repair.

Keywords: cartilage defect; microfracture, platelet-rich fibrin, synovium, synovium-platelet rich fibrin



DAFTAR ISI

HALAMAN Sampul	i
HALAMAN Judul	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI	iv
PRAKATA	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR SINGKATAN/SIMBOL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan penelitian.....	6
1.3.1 Tujuan umum	6
1.3.2 Tujuan Khusus	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.4.1 Manfaat Teoritis	7
1.4.2 Manfaat Praktis	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Karakteristik Tulang Rawan Sendi	9
2.2 Struktur dan Komposisi Tulang Rawan Sendi	12
2.2.1 Kerangka Tulang Rawan Sendi	12
2.2.2 Komposisi Tulang Rawan Sendi.....	17
2.2.3 Sel pada Tulang rawan.....	17
2.2.4 Matriks ekstraseluler pada tulang Rawan sendi	19
2.3 Cidera Tulang Rawan Sendi.....	21
2.4 Penyembuhan Cidera Tulang Rawan Sendi.....	23
2.4.1 Penyembuhan cacat tulang rawan secara molekuler	24
2.4.2 Regulator pada Kondrogenesis	29
2.4.3 Penyembuhan cacat tulang rawan secara alami	31
2.5 Pengobatan pada Cidera Tulang Rawan Sendi	33
2.5.1 Pengobatan Non-Operasi pada cidera Tulang Rawan	35

2.5.2	Pengobatan operasi pada cacat tulang rawan.....	37
2.5.2a.	Prosedur Paliatif dengan Debridement and Lavage.....	38
2.5.2b.	Prosedur Reparatif dengan Stimulasi Sumsum Tulang seperti Mikrofraktur	39
2.5.2c.	Pengobatan dengan cangkok jaringan lunak (<i>soft tissue graft</i>) dengan Periosteum dan Synovium pada cedera cartilage	44
2.5.2d.	Prosedur Restoratif dengan <i>Autologous Chondrocyte Implantation (ACI)</i> dan <i>Matrik induced ACI (MACI)</i>	45
2.6	Peranan Growth Faktor pada Cidera Tulang Rawan.....	48
2.6.1	<i>Platelet Rich Plasma (PRP)</i> pada cidera tulang rawan	55
2.6.2	<i>Platelet Rich Fibrin (PRF)</i> pada Cidera Tulang Rawan	56
2.7	Pengobatan dengan teknik rekayasa jaringan (Tissue Engineering)	59
2.7.1	<i>Growth Factor</i>	60
2.7.2	<i>Scaffold</i>	60
2.7.3	Sel termasuk kondrosit dan Stem Cell.....	61
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN		66
3.1	Kerangka Teori	66
3.2	Kerangka Konsep Penelitian.....	68
3.3	Hipotesis Penelitian	68
BAB IV METODE PENELITIAN		69
4.1	Rancangan Penelitian.....	69
4.2	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	70
4.1.1	Lokasi Penelitian	70
4.1.2	Waktu Penelitian	70
4.3	Populasi dan Sampel Penelitian	70
4.3.1	Populasi Penelitian.....	70
4.3.2	Sampel Penelitian	70
4.4	Variabel Penelitian	71
4.5	Cara Kerja dan Alur Penelitian	72
4.5.1	Kelompok Penelitian	72

4.5.2 Alur Penelitian	72
4.5.3 Keterangan Alur Penelitian	73
4.6 Definisi Operasional Variabel	79
4.7 Metode Pemeriksaan ELISA IL-6 dan TGF- β	81
4.8 Metode Evaluasi Makros dan Mikroskopik (Histologi)	82
4.8.1 Evaluasi Makroskopik	82
4.8.2 Evaluasi Mikroskopik dengan HE dan TB	83
4.9 Metode Pengukuran Ekspresi RNA	85
4.9.1 Ekstraksi Nucleic acid	85
4.9.2 Cara Kerja Realtime PCR	86
4.10 Kelayakan Etik Penelitian	90
4.11 Jenis dan Cara Pengumpulan Data	90
4.12 Rincian Anggaran	90
4.13 Jadwal Kegiatan	91
4.14 Analisa Data Penelitian	92
BAB V HASIL PENELITIAN	93
5.1 Hasil Pembuatan <i>platelet rich fibrin (PRF)</i>	93
5.2 Hasil makroskopik dan histologi	96
5.2.a Hasil Pemeriksaan Makroskopik	96
5.2.b Hasil Pemeriksaan Histologi	99
5.3 Hasil Pemeriksaan Faktor Inflamasi TGF- β , IL-6 dan Ekspresi Agrecan, Kolagen tipe pada jaringan penyembuhan tulang Rawan	103
5.3.a Hasil Pemeriksaan Faktor Inflamasi TGF- β dan IL-6	103
5.3.b Hasil Pemeriksaan RT-PCR untuk ekspresi mRNA dari Agrecan dan Kolagen Tipe 2	106
BAB VI PEMBAHASAN	110
6.1 Peranan Mikrofraktur Terhadap Penyembuhan Cacat Tulang Rawan	111
6.2 Peranan <i>Platelet Rich Fibrin (PRF)</i> terhadap penyembuhan cacat	

tulang rawan	113
6.3 Peranan Synovium terhadap penyembuhan cacat tulang rawan.....	113
6.4 Hasil ekspresi aggrecan dan kolagen tipe 2 jaringan penyembuhan Cartilage	114
6.5 Penyembuhan Cacat Tulang Rawan secara Makroskopik dan Histologik	116
6.6. Mekanisme Penyembuhan Cacat Tulang Rawan pada Mikrofraktur dan Transplantasi Membran Synovium-PRF	117
6.7 Peranan Faktor Inflamasi TGF- β dan IL-6 pada hasil	
6.8 Pemeriksaan	118
6.9 Kelebihan dan Kekurangan Metode Mikrofraktur dan PRF-Synovium	120
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN.....	123
7.1 Kesimpulan	123
7.2 Saran Penelitian.....	124
BAB VIII DAFTAR PUSTAKA.....	125

DAFTAR TABEL

TABEL.....	HAL
2.1 ICRS macroscopic evaluation of cartilage repair	82
2.2 CRS visual histological assessment scale	84
2.3 Hasil deskriptif pemeriksaan makroskopik (skor ICSR) penyembuhan cacat tulang rawan	97
2.4 Hasil Analisis pemeriksaan makroskopik (skor ICSR) penyembuhan cacat tulang rawan	97
2.5 Hasil deskriptif pemeriksaan Histologi (skor ICSR) pada ketiga kelompok Perlakuan.....	100
2.6 Hasil Analisis Pemeriksaan Histologi (skor ICSR) pada ketiga kelompok Perlakuan.....	101
2.7 Hasil deskriptif pemeriksaan ELISA untuk kadar TGF-p dan Il-6	103
2.8 Hasil analisis pemeriksaan ELISA untuk kadar TGF-p	104
2.9 Hasil analisis pemeriksaan ELISA untuk kadar Il-6	104
2.10 Hasil deskriptif pemeriksaan RT-PCR pada Agrecan dan kolagen tipe-2	107
2.11 Hasil Analisis pemeriksaan RT-PCR untuk ekspresi mRNA dari gen Kolagen Tipe 2	108

DAFTAR GAMBAR

2.1 Gambaran histologi tulang rawan sendi dan pembagian zonenya	14
2.4 Tahapan pada proses kondrogenesis alami	28
2.5 Regulator diferensiasi kondrogenik dari MSCs	29
2.6 Regulator pada proses Kondrogenesis.....	30
2.7 Berbagai approach untuk pengobatan cedera tulang rawan.....	34
2.8 Algoritma untuk procedure reparasi dan restorasi untuk defek pada tulang Rawan	38
2.9 A. Foto arthroscopi dan B. Menggambarkan penetrasi subkondral pada Mikrofraktur.....	39
2.10 Ilustrasi perbaikan cacat tulang rawan dengan ACI dan MACI	47
2.11 Proses pembuatan platelet rich plasma (PRP) dan v <i>platelet rich Fibrin</i> (PRF)	57
2.12 Komponen pada tehnik rekayasa jaringan	59
2.13 Proliferasi, differensiasi dan transdiferensiasi MSC menjadi berbagai jaringan.....	63
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	68
4.1. Metode pembuatan pembuatan platelet rich fibrin(PRF) dengan Sentrifugasi.....	74
4.2 Pembuatan platelet rich fibrin (PRF). A. Mesin sentrifugasi. B. Hasil sentrifugasi PRF dilapisan tengah. C. PRF pada dipisahkan dari lapisan lain.....	75
4.3 Ilustrasi cara pembuatan mikrofraktur pada cacat tulang rawan	
5.1. Proses pembuatan <i>platelet rich fibrin</i> (PRF)	94
5.2 Proses pembuatan cacat tulang rawan dan Mikrofraktur	94
5.3 Proses Pencangkokan (implantasi) synovium-platelet rich fibrin (S – PRF).....	95
5.4 Hasil makroskopik pada organ penyembuhan tulang rawan.....	96
5.5 Hasil pemeriksaan histologi pada jaringan penyembuhan	100
5.6 Proses pemeriksaan ELISA dan hasil pemeriksaan ELISA	103
5.7 Proses RT-PCR dan hasil pemeriksaan RT-PCR	106

DAFTAR SINGKATAN/SIMBOL

OA	:	Osteoarthritis
ACI	:	Autologous Chondrocytes Implantation
MSCS	:	Mesenchymal Stem Cell
MACI	:	Matrix-Induced Autologous Chondrocytes Implantation
PRP	:	Platelet Rich Plasma
PRF	:	Platelet Rich Fibrin
PDGF	:	Platelet Derived Growth Factor
TGF-B	:	Transforming Growth Factor-Beta
IGF	:	Insulin Growth Factor
BMP	:	Bone Morphogenik Protein
MSC	:	Mesenchymal Stem Sel
S-PRF	:	Synovium- Platelet Rich Fibrin
ECM	:	Ekstracellular Matrix
ACL	:	Anterior Cruciate Ligament Acl
OARSI	:	Osteoarthritis Research Society International
K-WIRE	:	Kawat Kirschner
TIMP	:	Tissue Inhibitor Of Metalloproteinase
BMP	:	Bone Morphogenic Protein
CDMP	:	Cartilage-Derived Morphogenetic Proteins
BASB-FGF	:	Fibroblast Growth Factor Basic
I (IGF-I)	:	Insulin-Like Growth Factor
WNT	:	Wingless Factors
HA	:	Hyaluronic Acid
VEGF	:	Vascular Endotelial Growth Factor
ECGF	:	Endotelial Cell Growth Factor
ICRS	:	Cartilage Repair Society Scor
RT- PCR	:	RealTime Polymerase Chain Reaction
HE	:	Haematoxylin-Eosin
TB	:	Toluidin Blue
GUSCN	:	Guanidium Thyocianate
ALLOPRF	:	allogenicplatelet rich fibrin

DAFTAR LAMPIRAN

HALAMAN	
1. Persetujuan Etik	
2. Foto Kegiatan penelitian.....	
3. Foto ELISA untuk Il-6 dan TGF-b.....	
4. Foto RT-PCR untuk aggrecan dan kolagen tipe-2	
5. Foto Makroskopik	
6. Gambaran histologi	
7. Hasil Pengolahan Data Penelitian Menggunakan SPSS.....	

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Cacat pada tulang rawan (*cartilage defect*) lutut merupakan masalah serius pada bidang musculoskeletal, ditemukan pada 60% pada pasien yang mengeluh nyeri lutut (Widuchowski et al., 2007) (Solheim et al., 2016). Pengobatan masih merupakan tantangan karena evaluasi jangka panjangnya belum mendapatkan hasil yang memuaskan (Mollon et al., 2013). Penyembuhan (*regenerasi*) pada tulang rawan sendi berkarakter buruk karena jaringannya yang tidak punya vaskuler, sel yang sedikit, tanpa membran basal dan tanpa inervasi syaraf sehingga nutrisinya hanya tergantung dari proses difusi. Cacat tulang rawan ini dapat disebabkan oleh trauma, penuaan, penyakit kongenital dan sisa pembuangan kanker. Komplikasi lebih lanjut dari kerusakan ini adalah penurunan jumlah sel tulang rawan yang hidup dan kerusakan matrik ekstraseluler tulang rawan yang bersifat *irreversible* (tidak bisa sembuh) sehingga menyebabkan terjadinya osteoarthritis (OA) (Buckwalter et al., n.d.) (Vinatier and Guicheux, 2016).

Untuk menyembuhkan cacat tulang rawan telah diupayakan dengan berbagai cara yaitu mulai dari pemberian medikamentosa sampai tindakan pembedahan, namun berbagai cara tersebut belum memenuhi kriteria solusi penyembuhan yang ideal. Sampai sekarang ini meskipun telah banyak penelitian, belum ada terafi yang mampu mengembalikan

struktur normal tulang rawan yaitu articular hyalin sekaligus mampu mengisi cacat tulang rawan sampai lengkap dan berintegrasi dengan baik dengan tulang rawan normal disekitarnya (Vinatier & Guicheux, 2016)(Zhu et al., 2013)(S Dhinsa & B Adesida, 2012). Berbagai metode telah dikembangkan untuk pengobatan terhadap kerusakan tulang rawan sendi mulai dari tehnik reparasi (*reparative techniques*) sampai tehnik restorasi (*restoration technique*). Tehnik reparasi meliputi stimulasi sumsum tulang (*bone marrow stimulation techniques*) dengan mikrofraktur sedangkan tehnik restorasi meliputi pencangkokan *auto* atau *allograft osteochondral* dan *autologous chondrocytes implantation* (ACI) (Tetteh et al., 2012).

Sekarang ini metode pengobatan yang banyak dikembangkan adalah terapi berdasar tehnik rekayasa jaringan (*tissue engineering*) dengan pencangkokan *mesenchymal stem cell* (MSCs) dan *matrix-induced autologous chondrocytes implantation* (MACI) (Liu et al., 2017) (Vinatier & Guicheux, 2016). ACI berdasarkan pada pengembangan sel kondrosit dari tulang rawan sendi, sedangkan tehnik pencangkokan MSCs berdasarkan pengembangan sel induk (*stem cell*) yang bersumber dari sumsum tulang (*bone marrow*), lemak (*adiposa*), synovium, umbilical dan lainnya untuk dicangkokkan ketempat cacat tulang rawan. *Mesenchymal stem cell* (MSC) memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai berbagai macam sel termasuk kondrosit (Ahmad Taufik et al., 2020). Pengobatan dengan tehnik rekayasa jaringan terbukti cukup efektif

dan secara klinis memberikan penyembuhan lebih baik (Mollon et al., 2013) (Wei & Dai, 2021).

Kelemahan dari penggunaan teknologi rekayasa jaringan ACI dan MSC ini adalah teknologi dan fasilitas yang dibutuhkan untuk mengembangkan sel induk (*stem cell*) yang cukup kompleks, waktu yang dibutuhkan untuk menyiapkan sel induk (*stem cell*), dibutuhkan operasi dua kali dan biaya yang dibutuhkan cukup besar (Liu et al., 2017; Mollon et al., 2013). Pada MACI diperlukan hanya satu kali prosedur operasi tapi membutuhkan membran xenocollagen untuk dicangkokkan. Untuk saat ini, terdapat kecenderungan prosedur penyembuhan cacat tulang rawan mengarah kepada prosedur yang sederhana seperti menghilangkan prosedur dua kali operasi, memanfaatkan scaffold alami yang berasal dari tubuh pasien sendiri dengan proses sederhana dan tidak perlu penjahitan pada proses penutupan defek, menghilangkan prosedur yang membutuhkan kultur atau pembiakan sel (Moran et al., 2014). Ini menjadi tantangan bagi pengobatan tulang rawan dinegara berkembang dengan peralatan, teknologi dan biaya yang terbatas. Untuk itu diperlukan metode yang lebih memadai dan praktis untuk pengobatan cacat tulang rawan sendi namun dapat memberikan hasil yang memuaskan.

Metode pengobatan cacat tulang rawan yang saat ini paling banyak digunakan karena cukup efektif dan murah adalah mikrofraktur. Mikrofraktur merupakan prosedur stimulasi sumsum tulang pada pengobatan cacat tulang rawan sendi disamping pengeboran subkondral dan tehnik abrasi (Bekkers et al., 2012; Papakostas & Hooghe, 2017).

Penelitian menunjukkan bahwa metode ini dapat memberi penyembuhan dengan jaringan fibrocartilage yang secara histologi dan biomekanik jauh dibawah jaringan tulang rawan yang normal jaringan hyalin. Berbagai upaya dilakukan untuk meningkatkan outcome mikrofraktur ini termasuk dengan menambahkan (augmentasi) bahan biologi alami sebagai adjuvant seperti intra-artikular MSC, platelet rich plasma (PRP), platelet rich fibrin (PRF), scaffold dan lain lain (Case & Scopp, 2016). Kombinasi antara mikrofraktur dan bahan biologi ini dapat meningkatkan penyembuhan menjadi tulang rawan mirip hyalin (*hyaline-like cartilage*) (Arshi et al., 2018). Scaffold sebagai pembentuk konstruksi memungkinkan sel MSC untuk bertahan pada lokasi cacat tulang rawan (Matsiko et al., 2013). Salah satu *scaffold* alami yang banyak diteliti adalah membran *platelet rich fibrin* (PRF).

Platelet rich fibrin (PRF) merupakan produk biomaterial yang banyak digunakan dalam pengobatan regeneratif. PRF banyak mengandung platelet, faktor pertumbuhan (*growth factor*), sitokin dan sel darah putih (leukosit). Faktor pertumbuhan yang dikandung antara lain *platelet derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor-beta* (TGF- β), *insulin growth factor* (IGF) dan *bone morphogenik protein* (BMP). Faktor pertumbuhan ini terbukti mampu merangsang sel induk (*stem cell*) untuk berdiferensiasi menjadi kondroblas, osteoblas dan sel preskursor lainnya (Liu et al., 2017; Silvia et al., 2019). PRF belakangan lebih banyak digunakan diklinis dibanding *platelet rich plasma* (PRP) karena bentuknya yang lebih mudah diaplikasikan dan kandungannya

yang lebih lengkap. PRF mengandung molekul kaya protein yang merupakan bagian platelet dan leukosit yang mampu menurunkan reaksi penolakan, memiliki respon antibakteri dan mempercepat penyembuhan jaringan (Silvia et al., 2019).

Salah satu sumber sel untuk tehnik rekayasa jaringan adalah synovium. Synovium merupakan jaringan tipis yang melapisi permukaan sendi yang pada lapisan bawahnya terdapat campuran sel kondroprogenitor, sel magrofag dan sel fibroblast. Sel pada synovium mempunyai potensi yang hampir sama dengan *mesenchymal stem sel* (MSC). Secara in vitro sel synovium ini terbukti bersifat kondrogenik dan mampu berdiferensiasi menjadi kondroblas (Nishimura et al., 1999; Adachi et al., 2012). Pada operasi orthopaedi arthroscopy atau knee arthroplasty pasien osteoarthritis dan reumatoid arthritis sering ditemukan adanya invasi synovium dari zone transitional ke tempat tulang rawan yang cacat. Synovium mempunyai sel yang dapat berdiferensiasi menjadi condrosit apabila diberikan faktor pertumbuhan tertentu (Miyamoto et al., 2007).

Penulis mengembangkan metode pengobatan cacat tulang rawan sendi dengan kombinasi antara mikrofraktur dan pencangkokan synovium dan membran *platelet rich fibrin* (PRF). Pada kombinasi antara mikrofraktur dan synovium- platelet rich fibrin (S-PRF), synovium berfungsi sebagai sumber sel induk mesenkimal (*mesenchymal stem cell*) dan membran *platelet rich fibrin* (PRF) sebagai sumber faktor pertumbuhan akan dapat meregenerasi (menyembuhkan) cacat tulang rawan sendi lutut. Mikrofraktur bertujuan untuk membuka jalan bagi sel progenitor

khususnya *mesenchymal stem cell* (MSC) dari sumsum tulang ke lokasi cacat tulang rawan untuk mempercepat penyembuhan. Kombinasi antara tindakan ini diharapkan akan meningkatkan penyembuhan dan kualitas tulang rawan yang terbentuk. Untuk itu perlu dibuktikan hasil penyembuhan (*regenerasi*) pada cacat tulang rawan sendi yang lakukan kombinasi antara mikrofraktur dan pencangkokan synovium- *platelet rich fibrin* (PRF) tersebut.

Berdasarkan masalah tersebut maka peneliti ingin membuktikan penyembuhan (*regenerasi*) pada cacat tulang rawan (*cartilage*) dengan melakukan kombinasi antara mikrofraktur dan pencangkokan synovium- *platelet rich fibrin* (S-PRF) pada sendi lutut. Penyembuhan tulang rawan ini akan dilihat dari ekspresi mRNA agregan dan mRNA kolagen tipe 2, kadar TGF- β dan IL-6 serta gambaran makroskopik dan histologi jaringan yang terbentuk. Oleh karena penelitian ini tidak mungkin dilakukan pada manusia, maka peneliti menggunakan model hewan coba kelinci jenis *New Zealand white rabbit*.

1.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah ekspresi mRNA Agregan dan mRNA kolagen tipe 2 pada penyembuhan cacat tulang rawan (*cartilage defect*) yang dilakukan kombinasi antara mikrofraktur dan pencangkokan synovium - *platelet rich fibrin* (S-PRF) pada sendi lutut kelinci.

2. Bagaimanakah kadar TGF- β dan IL-6 pada penyembuhan cacat tulang rawan (*cartilage defect*) yang dilakukan kombinasi antara mikrofraktur dan pencangkokan synovium - *platelet rich fibrin* (S-PRF) pada sendi lutut kelinci.
3. Bagaimanakah perbaikan secara makros dan mikroskopis pada cacat tulang rawan (*cartilage defect*) yang dilakukan kombinasi antara mikrofraktur dan pencangkokan synovium – *platelet rich fibrin* (S-PRF) pada sendi lutut kelinci.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk membuktikan regenerasi pada cacat tulang rawan (*cartilage defect*) sendi lutut yang dilakukan kombinasi antara mikrofraktur dan pencangkokkan synovium - *platelet rich fibrin* (S-PRF).

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Membuktikan regenerasi cacat tulang rawan (*cartilage defect*) yang dilakukan mikrofraktur dan pencangkokan synovium - *platelet rich fibrin* (S-PRF) pada sendi lutut dengan melihat ekspresi mRNA Agrecan.
2. Membuktikan regenerasi cacat tulang rawan (*cartilage defect*) yang dilakukan mikrofraktur dan pencangkokan synovium - *platelet rich fibrin* (S-PRF) pada sendi lutut dengan melihat ekspresi mRNA kolagen Tipe 2.

3. Membuktikan regenerasi cacat tulang rawan (*cartilage defect*) yang dilakukan mikrofraktur dan pencangkakan synovium - *platelet rich fibrin* (S-PRF) pada sendi lutut dengan menghitung kadar TGF- β .
4. Membuktikan regenerasi cacat tulang rawan (*cartilage defect*) yang dilakukan mikrofraktur dan pencangkakan synovium - *platelet rich fibrin* (S-PRF) pada sendi lutut dengan menghitung kadar IL-6.
5. Mengetahui regenerasi cacat tulang rawan sendi (*cartilage defect*) yang dilakukan mikrofraktur dan pencangkakan synovium - *platelet rich fibrin* (S-PRF) pada sendi lutut melalui evaluasi secara makroskopik.
6. Mengetahui regenerasi cacat tulang rawan sendi (*cartilage defect*) yang dilakukan mikrofraktur dan pencangkakan synovium - *platelet rich fibrin* (S-PRF) pada sendi lutut melalui evaluasi secara mikroskopik.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Sebagai informasi ilmiah tentang peranan tindakan mikrofraktur dan pencangkakan synovium - *platelet rich fibrin* (S-PRF) pada proses regenerasi cacat tulang rawan (*cartilage defect*) pada sendi lutut.

1.4.2. Manfaat Praktis

1. Memberikan alternatif pengobatan cacat tulang rawan sendi (*cartilage defect*) dengan menggunakan mikrofraktur dan pencangkakan synovium - *platelet rich fibrin* (S-PRF).

2. Memberi wawasan lain bagi peneliti yang ingin melakukan penelitian yang berkaitan dengan terapi cacat tulang rawan (*cartilage defect*).
3. Memberi alternatif *scaffold* alami, relatif murah dan sumbernya mudah diperoleh.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karakteristik Tulang Rawan Sendi

Tulang rawan sendi adalah merupakan jaringan hyalin yang menutupi permukaan sendi serta memiliki beberapa keunikan. Keunikan dari jaringan ini adalah fungsinya yang menahan beban dari tubuh selama berpuluh-puluh tahun lamanya, tetapi ia hanya memiliki ketebalan yang sangat tipis, tidak memiliki membran basalis, tidak dialiri oleh pembuluh darah maupun diinervasi oleh serabut saraf dan hanya menggantungkan dari proses difusi cairan sinovial sebagai nutrisinya (Athanasiou et al., 2001) (Hunziker, 2002).

Tulang rawan artikular sangat penting untuk fungsi sendi diarthrodial yang normal, karena kemampuannya untuk mengurangi tegangan sendi dan gesekan permukaan. Kekuatan besar diserap oleh tulang rawan artikular setiap hari. Misalnya, aktivitas normal seperti berjalan sedang atau berlari menghasilkan gaya siklik enam hingga delapan kali berat badan yang diterapkan pada sendi sinovial. Tulang rawan artikular memiliki kemampuan untuk mengubah bentuk dan memperbesar area kontak permukaannya untuk mengurangi efek beban langsung dengan mengurangi tegangan yang diberikan. Karakteristik luar biasa dari jaringan ini adalah daya tahannya yang luar biasa. Kemampuan mekanoprotektif jaringan ini sebagian besar disebabkan oleh sifat padat-

cairnya. Segera setelah tulang rawan dimuat, sebagian besar tekanan yang diberikan ditanggung oleh tekanan fluida yang dikembangkan dalam cairan interstisialnya dan tidak secara langsung oleh matriks padat. Akibatnya, matriks ekstraseluler dilindungi dari tekanan tinggi (Athanasίου et al., 2001).

Komposisi dan ketebalan kartilago artikular bervariasi dari sendi ke sendi, dan secara topografi pada sendi, sebagai fungsi usia, dan di antara spesies³. Ketebalan rata-rata kartilago artikular manusia paling banyak beberapa milimeter. Jaringan biasanya terdiri dari 75% hingga 80% air dan matriks ekstraseluler padat yang terdiri dari 50% hingga 73% kolagen I1 dan 15% hingga 30% makromolekul proteoglikan. Kolagen utama tulang rawan artikular (kolagen tipe 11) terdiri dari serat-serat yang tidak dapat larut, menghasilkan molekul kolagen dengan diameter berkisar antara 30 hingga 200 nm. Air dan proteoglikan didispersikan melalui kerangka kolagen sebagai gel larut, membuat matriks bifase. Fibril kolagen, yang, seperti potongan tali, dapat menahan tegangan tetapi tidak kompresi, menyediakan matriks dengan kekuatan tarik tinggi. Proteoglikan juga merupakan molekul penting dalam tulang rawan hialin dan membantu ketahanan terhadap kompresi. Sifat ini terutama disebabkan oleh sifat hidrofilik dari karbohidratnya yang luas, menarik dan menjebak sejumlah besar air dalam ruang intramolekul dan antarmolekul. dari beban. Air mulai mengalir karena perbedaan tekanan melalui matriks ekstraseluler permeabilitas rendah, memungkinkan untuk disipasi energi melalui interaksi gesekan antara fase padat dan cairan. Karakteristik yang luar

biasa dari tulang rawan artikular adalah aseluleritas relatifnya. Kondrosit, yang berada di lakuna, menempati kurang dari 10% dari jaringan. Kondrosit berinteraksi dengan matriks ekstraseluler melalui reseptor permukaan sel yang disebut integrin. Molekul-molekul ini dengan demikian berfungsi sebagai penghubung mekanis antara sel dan matriks ekstraseluler dan membantu dalam homeostasis sel (Athanasίου et al., 2001).

Jaringan ini memiliki keunikan, karena dengan ketebalan yang hanya beberapa milimeter saja ia mampu menahan beban biomekanik yang ditimbulkan pada saat jalan, lari dan lompat, sampai dengan beberapa dekade lamanya (Ornita, 2005). Pada keadaan fisiologis yang normal, tulang rawan sendi dapat melaksanakan fungsi biomekanik dengan sedikit kerusakan sampai dengan usia tujuh atau delapan dekade. Padahal pada saat berjalan, beban yang diterima oleh sendi panggul kurang lebih ekuivalen dengan empat kali berat badan (Gobbi et al., 2009). Untuk berjalan serta berlari derajat *moderate*, sendi sinovial menerima beban sebesar enam sampai delapan kali dari berat tubuh (Athanasίου, 2002). Selain itu keunikan tulang rawan sendi yang lain adalah, bahwa jaringan ini merupakan jaringan yang miskin oleh sel, tanpa ditandai adanya basal membran, tanpa inervasi dari pembuluh saraf, tanpa suplai darah, serta bergantung pada difusi untuk mencukupi kebutuhan nutrisinya (Burkholder et al., 2002; Reddi et al., 2005).

Tulang rawan sendi terdiri dari beberapa lapisan, dimana lapisan yang paling dalam dibatasi dengan tulang dibawahnya oleh sebuah zona

kalsifikasi kartilago (*calcified zone*) yang tipis. Pertemuan antara *calcified zone* dan lapisan di atasnya membentuk suatu batas yang disebut *tidemark*, dimana secara histologis batas ini dapat terlihat jelas karena ia menyerap pewarnaan jaringan yang lebih kuat bila dibandingkan dengan area sekitarnya. (Redman et al., 2005)

Kekuatan daya tahan beban dari jaringan ini tergantung dari struktur dan matriksnya. Integritas dari matriks tulang rawan sendi ditentukan oleh aktivitas dari kondrosit. Lebih dari 70% matriks tulang rawan sendi terdiri atas air, namun oleh karena banyak mengandung proteoglikan, maka jaringan ini hanya dapat ditembus secara difusi oleh molekul-molekul yang kecil. (Getgood et al., 2009)

Fungsi dari tulang rawan sendi adalah 1) untuk melindungi sendi dari besarnya beban yang diterima, 2) berperan sebagai bantalan mekanik, 3) untuk memelihara gerak permukaan sendi dengan gaya gesekan yang minimal, serta 4) untuk meneruskan gaya yang diterimanya ke struktur tulang di bawahnya. (Burkholder, 2002)

Seperti halnya jaringan yang lain, tulang rawan sendi dapat mengalami kerusakan, yang biasanya disebabkan oleh karena trauma atau penyakit sendi degeneratif yang kronis dan progresif. Meskipun tulang rawan sendi merupakan jaringan yang aktif mengalami metabolisme, tetapi ia memiliki kemampuan terbatas untuk memperbaiki diri. Sehingga kelainan tersebut akhirnya dapat menyebabkan kecacatan sendi yang berat dan progresif, sebagai akibat dari proses degradasi tulang rawan dan kerusakan permukaan sendi (Athaniou et al., 2002).

2.2 Struktur dan Komposisi Tulang Rawan Sendi

2.2.1 Kerangka Tulang Rawan Sendi

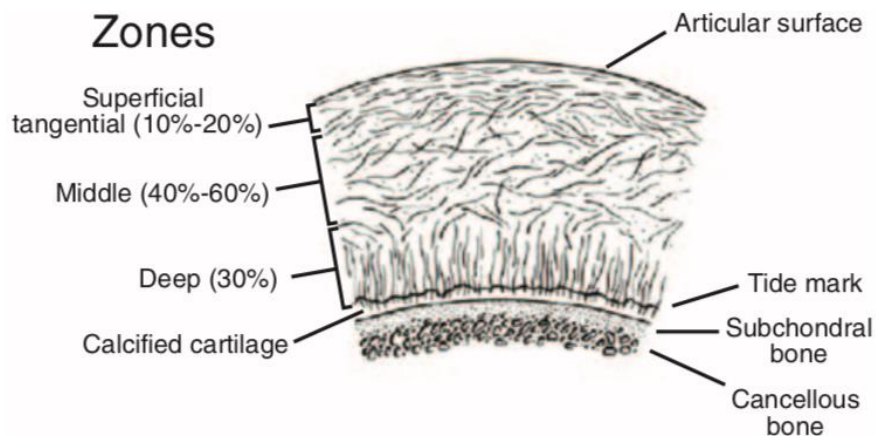
Tulang rawan artikular lutut bersifat hialin dan memiliki ketebalan 2 hingga 4 mm. Tulang rawan hialin terdiri dari fase padat dan fase cair. Interaksi dari 2 fase ini memberikan sifat material bifasik spesifik, yang digambarkan sebagai viskoelastik, yang menandakan bahwa sifat penahan beban jaringan bergantung pada posisi dan kecepatan.

Fase padat tulang rawan, terdiri dari 95% jaringan berdasarkan volume, terutama terdiri dari kolagen (10% hingga 20% dari total berat) dan, dalam jumlah yang lebih sedikit, proteoglikan (4% hingga 7% dari total berat). Ini bersama-sama membentuk matriks ekstraseluler tulang rawan artikular. Kolagen pada dasarnya adalah kolagen tipe II; namun, tipe V, VI, IX, X, XI, XII, dan XIV juga ditemukan di tulang rawan, tetapi secara kolektif masih kurang dari jumlah kolagen tipe II. Kolagen berinteraksi untuk membentuk fibril besar yang menjebak agregat proteoglikan besar.

Proteoglikan yang menarik adalah aggrecan. Tulang punggung proteinnya memiliki gugus kondroitin sulfat dan keratan sulfat yang melekat padanya. Molekul besar aggrecan terbentuk melalui interaksi aggrecan dan rantai asam hialuronat. Kompleks ini (asam hialuronat dan aggrecans) ditemukan di seluruh matriks kolagen. Karena banyaknya gugus sulfat bermuatan negatif, kompleks secara elektrostatik berinteraksi dengan kation, akhirnya membentuk interaksi ion-dipol dengan air. Air terdiri hingga 65% sampai 80% dari total berat jaringan. Interaksi air

dengan proteoglikan menghasilkan jaringan yang bengkak dan terhidrasi yang tahan terhadap kompresi.

Tulang rawan sendi pada umumnya terdiri dari *ekstracellular matrix* (ECM) yang didalamnya tersebar sejumlah sel kondrosit. Sedangkan ECM pada umumnya terdiri dari proteoglikan, kolagen, dan air, serta sedikit protein dan glikoprotein. Adanya berbagai macam komponen tersebut yang membuat tulang rawan sendi memiliki keunikan dalam struktur dan kemampuan biomekanik. Struktur dan komposisi tulang rawan sendi sangat bervariasi tergantung kedalamannya. Oleh karena itu, berdasarkan kedalamannya, tulang rawan sendi dibagi menjadi empat zona, yaitu : Zona permukaan atau *superficial zone*, *middle* atau zona transitional, zona dalam atau *deep zone*, dan zona kalsifikasi atau *calcified zone* (Buckwalter et al, 2005).



Gambar 2.1 Gambaran arsitektur tulang rawan hyalin dan pembagian zone nya (Lewis et al., 2006; Tetteh et al., 2012)

Zona superficial adalah zona cartilage yang paling atas yang membentuk permukaan sendi. Pada zona ini terdapat serat-serat kolagen

yang tipis, yang terusun paralel terhadap permukaan dan mengandung paling sedikit proteoglikan. Pada *middle* atau *transitional zone*, terdapat serat-serat kolagen dengan diameter yang lebih besar serta sel – kondrosit tampak berbentuk lebih bulat. Sedangkan pada *deep zone* terdapat kandungan proteoglikan yang terbanyak tetapi memiliki kandungan air yang terendah serta serat – serat kolagennya memiliki diameter yang besar dan tersusun vertikal terhadap permukaan sendi. Sel kondrositnya nampak berbentuk bulat. Lapisan yang paling dalam, yaitu *calcified zone*, memisahkan hyalin cartilage dengan tulang subkondral. Ditandai dengan adanya sel – sel piknotik yang tersebar di dalam matriks *cartilagenous* yang dilapisi oleh garam – garam apatit, dimana dengan pewarnaan hematoxilin dan eosin akan nampak garis bergelombang yang berwarna kebiruan yang disebut *tidemark*, dimana garis ini secara tegas memisahkan *deep zone* dan *calcified zone* (Lewis et al., 2006) (Buckwalter et al., n.d, 2005).

Secara arsitektur, tulang rawan artikular memiliki empat zona kedalaman dari permukaan artikular hingga tulang subkondral. Zona 1, juga disebut lapisan superficial, membentuk sekitar 10% dari tulang rawan, menentukan kemampuan menahan beban, dan berfungsi sebagai permukaan licur untuk sendi. Bagian atas dari lapisan superficial, juga disebut lamina *splendens*, adalah film bening yang terdiri dari selembur fibril kecil dengan sedikit polisakarida dan tanpa sel. Lebih dalam di lapisan ini, kondrosit datar dan serat kolagen tersusun secara tangensial ke permukaan artikular. Orientasi tangensial serat kolagen ini memberikan

kekuatan tarik dan kekakuan yang lebih tinggi pada zona 1. Ini juga mempengaruhi secara signifikan perilaku tekan jaringan. Penghapusannya meningkatkan permeabilitas dan memang, gangguan pada lapisan superfisial merupakan tanda awal osteoarthritis yang diinduksi secara eksperimental. Zona 2 adalah lapisan menengah atau transisi dan terdiri dari kondrosit bulat dan serat kolagen yang berorientasi acak. Dibandingkan dengan zona superfisial, zona transisional memiliki konsentrasi proteoglikan yang lebih tinggi, konsentrasi kolagen yang lebih rendah, dan konsentrasi air yang lebih rendah. Di lapisan dalam (zona 3), serat kolagen dan kondron (kelompok kondrosit dikelilingi oleh matriks) tegak lurus terhadap pelat subkondral. Lapisan terkalsifikasi, zona 4, bergabung dengan zona dalam tulang rawan yang tidak terkalsifikasi ke tulang subkondral. Ada beberapa sel dan banyak garam kalsium, menjadikannya tempat untuk pertumbuhan jaringan tulang di bawahnya. Kandungan air terbesar dan terkecil ditemukan di zona 1 dan 4, masing-masing. Kandungan proteoglikan tertinggi dan terendah masing-masing berada di zona 4 dan 1 (Athanasίου et al., 2001).

Sedikitnya jumlah pembuluh darah di tulang rawan menunjukkan kebutuhan oksigen dan nutrisi yang rendah. Tidak seperti jaringan vaskular, kartilago artikular bertukar gas, nutrisi, dan produk limbah dengan cara difusi melalui cairan jaringan atau sinovium. Nutrisi sinovial harus melewati penghalang ganda (cairan sinovial dan matriks tulang rawan) untuk mencapai sel. Di bawah beban fungsional, interaksi biomekanik antara matriks ekstraseluler padat jaringan dan cairan

interstisial mempengaruhi transportasi nutrisi dan pembuangan metabolit. Pembebanan mempengaruhi medan stres dan tekanan dalam jaringan, sehingga perbedaan tekanan dapat mendorong cairan pembawa nutrisi atau metabolit. Karena sifat biomekanik jaringan mempengaruhi interaksi padat-cair, kita dapat berharap bahwa kecuali tulang rawan menunjukkan sifat biomekanik normal, difusi nutrisi tidak akan optimal. Kerusakan tulang rawan terjadi meskipun cedera pada sendi atau degenerasi tulang rawan yang progresif, mengakibatkan cacat, perdarahan intra-artikular, osteoarthritis, dan penyakit lainnya. Gejala penurunan fungsi tulang rawan mulai dari penguncian hingga rasa sakit dan pembengkakan. Nyeri akibat arthritis sering berkurang pada orang tua melalui penggantian sendi, tetapi metode ini tidak berhasil pada pasien muda dan setengah baya karena masa pakai prostesis yang terbatas. Perbaikan cacat dengan hasil yang lebih permanen yang akan diterapkan pada pasien yang lebih muda adalah perlu penyelidikan aktif (Athanasίου et al., 2001).

2.2.2 Komposisi Tulang Rawan Sendi

Seperti yang telah dikemukakan terdahulu, bahwa komposisi tulang rawan sendi pada umumnya terdiri dari *ekstracellular matrix* (ECM) yang didalamnya tersebar sejumlah sel – kondrosit. Sedangkan komposisi ECM itu sendiri pada umumnya terdiri dari air, kolagen, dan proteoglikan, serta sedikit protein dan glikoprotein.

2.2.3. Sel pada tulang rawan

Jenis sel kartilago yang menetap adalah kondrosit. Kondrosit tersebar jarang di seluruh matriks baik secara longitudinal maupun

vertikal. Secara kolektif, mereka menyediakan hanya 2% dari total volume tulang rawan artikular. Kondrosit mempertahankan matriks ekstraseluler yang mengelilinginya sehingga penting untuk menjaga tulang rawan yang sehat, baik di jaringan asli atau yang ditransplantasikan. Kelangsungan hidup kondrosit tergantung pada tekanan fisik, gaya elektrostatik, dan efek parakrin lokal (Lewis et al., 2006).

Kondrosit

Proses sintesis dan pemeliharaan tulang rawan sendi tergantung dari sel kondrosit. Pada saat pertumbuhan, sel yang berasal dari jaringan mesenkim ini menghasilkan banyak ECM. Dan pada jaringan yang matur, dimana mereka menempati 10% dari seluruh total jaringan, sel ini bertanggung jawab terhadap pemeliharaan ECM ini. Kondrosit dapat merespon berbagai rangsangan stimulus yang datang, termasuk diantaranya adalah bahan mediator, seperti *growth factor*, interleukin dan *pharmaceutical agent*. Meskipun demikian, rangsangan beberapa faktor (misalnya Interleukin-1) dapat menyebabkan degradasi dari ECM (Buckwalter et al., 2005).

Hanya satu jenis sel, kondrosit yang sangat terspesialisasi, yang ada di dalam tulang rawan artikular normal. Kondrosit membuat hanya sekitar 1% dari volume sejumlah besar tulang rawan artikular manusia dewasa (pada spesies lain, terutama hewan kecil seperti tikus, tikus, dan kelinci dengan tulang rawan artikular tipis, kepadatan selnya berkali-kali lebih besar daripada pada manusia). Kondrosit dari zona tulang rawan yang berbeda ukurannya berbeda, bentuk dan mungkin aktivitas

metabolik, tetapi semua sel ini mengandung organel yang diperlukan untuk sintesis matriks, termasuk retikulum endoplasma dan membran Golgi. Juga, mereka sering mengandung filamen intracytoplasmic, lipid, glikogen dan vesikel sekretori. Kondrosit mengelilingi diri mereka dengan matriks ekstraseluler dan tidak membentuk kontak sel ke sel. Bentuknya yang bulat, sintesis kolagen tipe II, agregasi proteoglikan yang besar dan protein nonkolagen spesifik membedakan kondrosit dewasa dari sel lain.

Pada pandangan pertama, kondrosit tampaknya menjadi pengamat daripada peserta dalam fungsi tulang rawan artikular yang matang. Mereka tampaknya tetap tidak berubah di ukuran, lokasi, penampilan, dan aktivitas selama beberapa dekade. Sifat mekanik yang unik dari kartilago artikular bergantung pada matriks (jenis makromolekul yang membentuk kerangka matriks dan konsentrasi air dan makromolekul). Namun, matriks yang dibentuk dengan mencampur konsentrasi yang sesuai air dan makromolekul kartilago (kolagen, proteoglikan, dan protein nonkolagen) tidak akan menduplikasi sifat kartilago artikular. Untuk menghasilkan jaringan yang dapat menyediakan fungsi sendi sinovial yang normal, kondrosit pertama-tama harus mensintesis jenis dan jumlah makromolekul yang sesuai dan kemudian merakit dan mengaturnya ke dalam kerangka makromolekul yang sangat teratur. Pemeliharaan permukaan artikular membutuhkan pergantian makromolekul matriks (penggantian komponen matriks yang terdegradasi secara terus-menerus) dan kemungkinan perubahan dalam kerangka makromolekul matriks sebagai respons terhadap penggunaan bersama.

Untuk mencapai aktivitas ini, sel harus merasakan perubahan dalam komposisi matriks yang dihasilkan dari degradasi makromolekul dan tuntutan mekanis yang ditempatkan pada permukaan artikular, dan kemudian merespons dengan mensintesis jenis dan jumlah makromolekul yang sesuai.

Penuaan sangat mengubah fungsi kondrosit. Dengan bertambahnya usia, kapasitas sel untuk mensintesis beberapa jenis proteoglikan, kapasitas proliferasinya, dan responsnya terhadap rangsangan anabolik termasuk faktor pertumbuhan menurun. Perubahan ini dapat membatasi kemampuan sel untuk mempertahankan dan memulihkan jaringan dan dengan demikian berkontribusi pada pengembangan dan perkembangan degenerasi tulang rawan artikular.

2.2.4. Matrik Ekstra-seluler pada Tulang rawan

Air

Air adalah komponen terbesar dalam tulang rawan sendi normal, antara 65% sampai 80% dari berat basah jaringan. Pada fase awal osteoarthritis, kandungan air dapat meningkat hingga 90% sebelum nampak adanya total disintegrasi jaringan. Kurang lebih 30% dari air ini terdapat pada ruang intraseluler dan sisanya terdapat di ECM. Kandungan air tersebut terdistribusi dalam tulang rawan secara tidak homogen, kurang lebih 80% terdapat pada lapisan permukaan dan mengalami penurunan hingga 65% pada lapisan dalam (Buckwalter et al., 2005).

Kolagen

Morfologi Kerangka Kolagen

Pola kolagen pada lapisan permukaan tulang rawan, secara morfologis agak berbeda dengan lapisan di dalamnya. Orientasi fibril kolagen pada lapisan permukaan adalah bersifat tangensial dan selanjutnya berubah menjadi perpendikular pada lapisan yang lebih dalam, yang kemudian oleh Beninghoff digambarkan sebagai suatu arkade. Pada lapisan yang paling dalam, fibril kolagen ini melekat pada tulang subkondral dengan melalui perantara suatu lapisan kalsifikasi tulang rawan. Batas antara lapisan kalsifikasi dan non kalsifikasi, secara histologis, ditandai dengan adanya tidemark line, dimana struktur ini menunjukkan pewarnaan yang lebih jelas daripada area sekitarnya. Kandungan kolagen di permukaan lebih besar jika dibandingkan dengan kandungan di lapisan bawahnya. Sebaliknya, kandungan proteoglikan lebih besar di lapisan dalam (Redman et al., 2005) .

Proteoglikan

Proteoglikan adalah merupakan makromolekul yang kompleks yang terdiri dari protein inti (*core protein*) yang terikat pada rantai polisakarida (glikosaminoglikan). Proteoglikan disusun oleh tiga unsur, yaitu : 1) glikosaminoglikan sulfat, 2) *core protein* dan 3) hyaluronan (glikosaminoglikan non sulfat). (Akeson, 1996) 80 – 90% proteoglikan dalam tulang rawan mempunyai ukuran yang besar dan berbentuk agregat, sehingga disebut dengan *aggrecan* (gambar 2.7). *Aggrecan* ini terdiri dari protein inti yang besar dan panjang, yang berikatan dengan 100 kondroitin sulfat dan 50 keratan sulfat. Kondroitin sulfat memiliki rantai

yang lebih panjang dibanding dengan keratan sulfat. Selain itu terdapat molekul kecil, yaitu protein penghubung (*link protein*), yang berperan untuk mengikat *aggrecan* dan hyaluronat melalui suatu kompleks *aggrecan – link protein – hyaluronate* (Gobbi et al., 2009).

Selain jenis proteoglikan seperti di atas, terdapat jenis lain di dalam tulang rawan yang mengandung *core protein* yang berbeda, misalnya biglikan dan decorin yang memiliki *core protein* yang berukuran kecil (± 30 kd). Biglikan mengandung dua rantai dermatan sulfat, sedangkan decorin hanya mengandung satu rantai. Proteoglikan yang lain adalah fibromodulin (50 – 65 kd) yang mengandung molekul keratan sulfat. Proteoglikan ini tidak terdistribusi secara homogen di dalam tulang rawan. Pada zona superfisial didapatkan kolagen yang banyak dan proteoglikan yang sedikit. Semakin dalam lapisan, jumlah proteoglikan semakin banyak. Bagaimanapun distribusinya, kandungan dan tipe proteoglikan dalam tulang rawan ini akan berubah tergantung dengan usia dan penyakit (Athanasou et al, 2002).

2.3. Cidera Tulang Rawan Sendi

Komposisi tulang rawan sendi sangat dipengaruhi oleh berat beban dan pergerakan pada sendi. Bila hal ini terganggu, maka akan terjadi perubahan keseimbangan sintesa dan degradasi tulang rawan sendi. Penurunan berat beban, seperti pada imobilisasi dengan cast, menimbulkan atrofi dan degenerasi tulang rawan sendi. Sedangkan pada penekanan tulang rawan yang berlebihan, seperti pada fiksasi external,

menyebabkan kematian kondrosit pada daerah kontak. Tingkat keparahannya tergantung dari berat dan durasi beban. Keadaan yang terjadi dapat berupa fibrilasi, penurunan sintesa, morfologi dan kadar proteoglikannya. Gangguan pada proteoglikan ini lebih tinggi daripada gangguan pada kolagen. Hal ini terjadi karena hambatan pada sistim nutrisi melalui cairan sinovial. Proses ini merupakan proses yang reversibel, walaupun kemampuan pemulihannya menurun dengan semakin lamanya imobilisasi (Buckwalter et al., 2005).

Tekanan tumpul yang tinggi atau berulang dapat menimbulkan cedera pada tulang rawan sendi tanpa merusak permukaannya. Hal tersebut menimbulkan kematian kondrosit, kerusakan matriks, celah pada permukaan, cedera pada tulang di bawahnya dan timbul penebalan pada *tidemark*. Pada keadaan tertentu dapat terjadi pelepasan tulang rawan dari tulang subkondral, yang banyak menyebabkan degenerasi dari lapisan basal/*deep zone* tulang rawan sendi. Timbulnya penebalan tulang rawan sendi pada proses ini disebabkan oleh penebalan pada *tidemark* dan *calcified zone*, yang menimbulkan kaku pada sendi. Keadaan ini bila berlanjut, dapat menimbulkan osteoarthritis (Gobbi et al., 2009).

Efek katabolisme dapat timbul karena cedera tunggal atau trauma berulang yang dapat menyebabkan degenerasi yang progresif. Latihan lari menyebabkan peningkatan kadar proteoglikan, menurunkan aliran cairan selama pembebanan dan meningkatkan tebal tulang rawan. Sebaliknya latihan yang berlebihan akan menyebabkan fibrilasi matriks, penurunan kadar proteoglikan (Reddi., 2002).

Ketidakstabilan sendi, seperti pada ruptur *Anterior Cruciate Ligament* (ACL) post menisektomi dapat menyebabkan perubahan pada tulang rawan sendi, seperti fibrilasi permukaan, peningkatan hidrasi, penurunan kadar proteoglikan, penebalan kapsul sendi dan pembentukan osteofit. Hal ini terjadi karena peningkatan pada sintesa dan degradasi matriks, sekresi enzim proteolitik dan proses mitosis serta anabolik kondrosit. Walaupun terjadi peningkatan proses *repair*, tidak dapat menghambat progresifitas proses degenerasinya.

2.4. Penyembuhan Cidera Tulang Rawan Sendi

Walaupun tulang rawan sendi merupakan jaringan dengan metabolisme aktif, ia mempunyai kapasitas yang terbatas untuk reparasi. Dibanding jaringan lain, tulang rawan mempunyai rasio *cell-matrix*, *turn over* dan aktifitas mitosis yang rendah. Pada tulang rawan muda banyak mengandung TGF- β yang berperan pada sintesis ECM. Dengan semakin tua, terdapat penurunan stem sel mesenkim dan aktifitas kondrosit. Perbaikan pada tulang rawan berupa penggantian dari sel dan matriks yang rusak atau hilang dengan yang baru. Proses ini dalam keadaan normal terjadi keseimbangan antara degradasi dan sintesa matriks. Gangguan dari proses ini dapat menyebabkan penyakit pada tulang rawan sendi. Perbaikan pada tulang rawan sendi ini jarang memperbaiki struktur atau fungsi tulang rawan sebelumnya. Bentuk yang paling umum dari perbaikan ini adalah pembentukan *scar*, yang terdiri dari fibril kolagen yang padat dan fibroblast yang tersebar, pada lapisan permukaan jaringan ini disebut fibrosis, sedangkan pada lapisan yang lebih dalam jaringan ini

disebut fibrocartilage. Jaringan ini tidak dapat menahan tekanan yang tinggi dan mudah deteorisasi. Pada penyembuhan tulang rawan sendi, terjadi proliferasi kondrosit. Sel-sel yang bertanggung jawab pada proses penyembuhan pada tulang rawan sendi ini tidak mampu memproduksi makromolekul seperti proteoglikan, kolagen dalam jumlah yang cukup untuk menimbulkan matriks yang kuat dan saling melekat seperti pada tulang rawan sendi yang normal (Athanasίου, 2002).

2.4.1. Penyembuhan Cacat Tulang Rawan secara Molekuler (Chondrogenesis)

Tahapan proses khondrogenesis dan osifikasi endokondral terdiri dari tahapan sebagai berikut yaitu (A) Sel mesenkimal (MSC) pertama mengembun untuk membentuk massa sel yang padat. (B) MSC kemudian berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi kondroblas. (C) Sel-sel ini mulai mensekresi Matrik ekstraseluler (ECM) tulang rawan dan menjadi kondrosit dewasa. (D) Akhirnya, kondrosit tumbuh menjadi hipertrofik, dan jika jaringan mengalami osifikasi endokondral, (E) tulang rawan mengalami vaskularisasi, osteoblas ECM menginvasi ruang bebas di dalam jaringan.

Kondrogenesis didefinisikan sebagai proses di mana sel mesenkimal (MSCs) berdiferensiasi menjadi kondroblas yang kemudian berkembang menjadi kondrosit dewasa atau mengalami hipertrofi dan apoptosis. Dalam osifikasi endokondral, bagian dari tulang rawan embrionik ini kemudian berubah menjadi tulang.

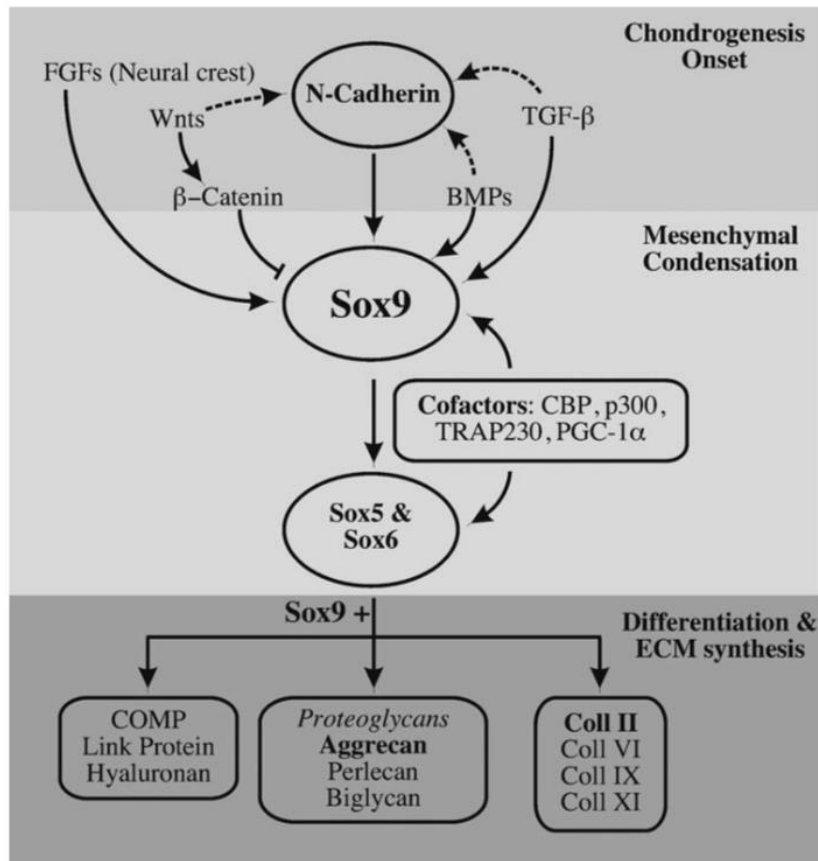
(A). Kecenderungan MSC untuk menjadi tulang rawan disebabkan oleh faktor parakrin, seperti faktor pertumbuhan fibroblast (FGF) dan jalur Hedgehog.

(B) Diferensiasi MSC kental menjadi kondrosit dalam proses dimana faktor transkripsi Sox9 memainkan peran penting dalam mengendalikan ekspresi gen hilir khusus untuk pengembangan jaringan tulang rawan.

(C) Pembelahan kondrosit yang cepat dan produksi ECM khusus tulang rawan.

(D) Menghentikan proliferasi kondrosit dan beberapa kali lipat peningkatan ukuran memasuki hipertrofi. Komposisi ECM (terutama kolagen tipe X dan fibronektin) juga berubah, dan kondrosit mulai mineralisasi lingkungan dengan garam kalsium.

(E) Terjadi invasi pembuluh darah, dan kondrosit hipertrofik mati karena apoptosis. Pada tahap ini, prekursor osteoblas menginvasi jaringan remodeling dan mulai membentuk tulang menggunakan matriks tulang rawan sebagai template dan menggantikannya dengan matriks mineral.

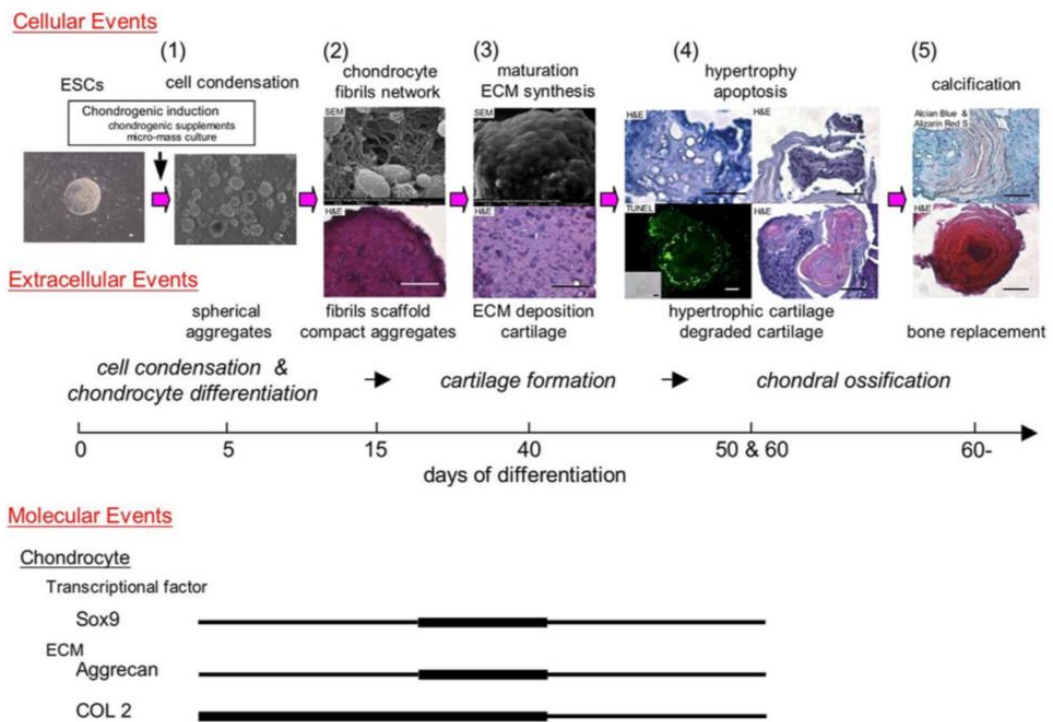


Gambar 2.2. Regulasi pada Sox9 (Quintana et al., 2009)

Kondrogenesis dimulai dari upregulasi N-cadherin dan Sox9 oleh factor Paracrin seperti TGF- β , FGFs atau BMP dimana Wnts di downregulasi oleh ekspresi Sox9. Ekspresi N-cadherins dan Sox9 disertai kondensasi dan proliferasi dari MSC2, yang disebut proses kondensasi MSCs. Sox9 mengaktifasi ekspresi Sox6 dan secara bersama membantu kofaktor seperti CBP dan merangsang diferensiasi MSC menjadi kondroblas . Kondroblas kemudian memproduksi spesifik extraceluler matrik untuk cartilage termasuk Kolagen tipe II, IV, IX dan XI, proteoglikan seperti aggrecan dan juga protein link dan COMP (gambar 2.2.) (Quintana et al., 2009).

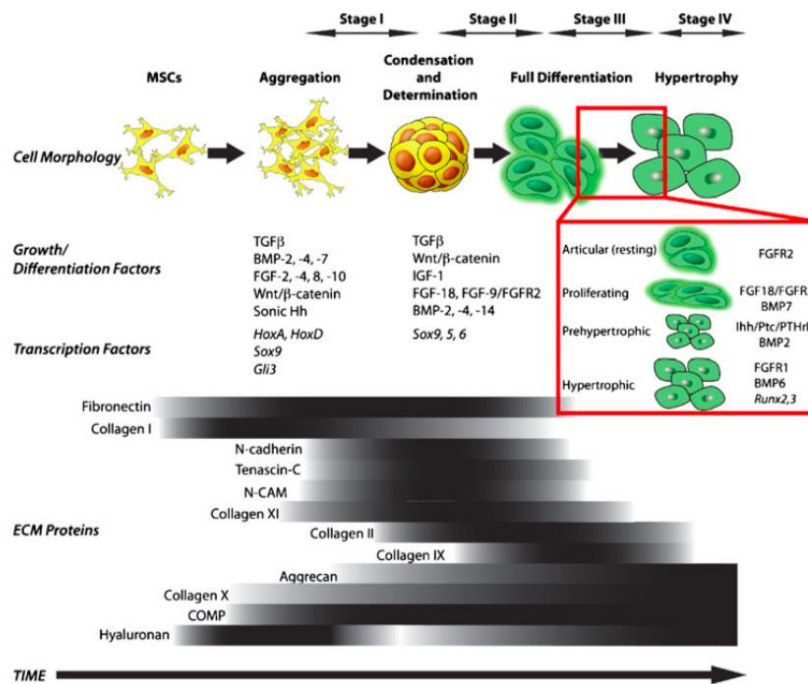
Setelah ekspresi Sox9, kondrosit mensintesis ECM tulang rawan. Dalam penelitian ini, sejumlah besar ECM diendapkan, menghasilkan pembentukan tulang rawan in vitro. Aspek temporal relatif dari setiap tahap kondrogenesis juga dilambangkan dengan proses molekuler yang terkait. Setelah kemunculan pertama penanda khondrogenik (Sox9, Aggrecan, COL 2), yang menurun setelahnya, penanda khondrogenik hipertrofik (COL 10) muncul segera dengan ekspresi berkelanjutan. Sel-sel ini tampaknya berkomitmen untuk apoptosis pada hari ke-50, seperti yang ditunjukkan oleh pewarnaan. Ekspresi penanda protease dan osteogenik (MMP13 dan Osteocalcin) menghasilkan tulang rawan yang terdegradasi dan terutama pembentukan tulang pada hari ke-50 dan hari ke-60.

Secara keseluruhan, telah ditunjukkan bahwa stem sel embrionik (ESC) menunjukkan perubahan morfologi dinamis yang meliputi diferensiasi khondrogenik. Kondrogenesis ESC dapat dicirikan oleh lima tahap utama peristiwa seluler, ekstraseluler, dan molekuler: (1) Kondensasi ESC yang berdiferensiasi, (2) Diferensiasi menjadi kondrosit dan pembentukan scaffold fibril, (3) deposisi ECM dan pembentukan tulang rawan, (4) Hipertrofi dan pembentukan tulang rawan. degradasi tulang rawan, dan (5) penggantian tulang. Pada setiap tahap, perubahan morfologi memainkan peran penting dalam perkembangan lebih lanjut karena setiap tahap bertindak sebagai perancah atau template untuk tahap selanjutnya. Proses-proses ini, yang tidak akan diasingkan secara fisik selama pengembangan, dikendalikan secara temporal-spasial.



Gambar 2.3. Proses kondrogenesis alami (Yamashita et al., 2010)

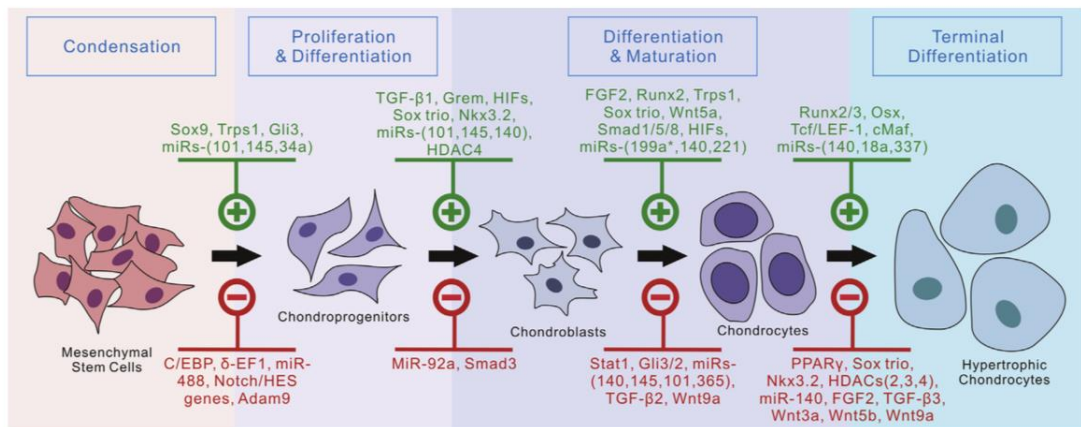
Pada kondrogenesis yang terjadi secara alami terdiri dari beberapa tahapan mulai dari tahap 1 sampai tahap ke-4. Tahapan ini meliputi pola seperti pertumbuhan, diferensiasi dan faktor transkripsi seperti perubahan pada morfologi sel. Protein matrik ekstraseluler (ECM) yang membedakan setiap tahap menggambarkan gradien dari ekspresi. Seperti pada gambar 2.3. gradien warna hitam menunjukkan derajat tingginya ekspresi (Yamashita et al., 2010)



Gambar 2.4. Tahapan pada proses kondrogenesis alami (Gadjanski et al., 2012)

Perkembangan tulang rawan hyalin sangat tergantung dari ekspresi berbagai faktor pertumbuhan dan komponen ECM, baik di lempeng pertumbuhan dan tulang rawan pertumbuhan articular-epifisis. Sendi sinovial berkembang secara bersamaan dengan elemen kerangka yang mereka artikulasikan secara bertahap. Pada langkah pertama, yang disebut penentuan bersama, sel-sel skeletogenik diarahkan ke artikular. Kondrosit artikular ini berkembang dari sel progenitor artikular, yang berasal dari kumpulan sel mesenkim yang sama dengan kondrosit pelat pertumbuhan dan osteoblas (TGFβ₂), ligan kanonik Wnt (Wnt4, Wnt9a/14, dan Wnt16), dan faktor diferensiasi pertumbuhan-5 (GDF5). Kaskade pensinyalan TGFβ₂/Wnt/GDF5 diperlukan untuk mengarahkan

artikular ke nasib artikular tertentu. Efek dari kaskade pensinyalan ini adalah pembentukan daerah sendi transisi yang disebut interzona yang terdiri dari sel-sel yang sangat padat, di antaranya prekursor jaringan non-kartilaginosa yang menurunkan regulasi ekspresi Sox5/6/9. Pada langkah selanjutnya, morfogenesis sendi, sel-sel artikular berdiferensiasi dan berkembang menjadi struktur sendi (Gadjanski et al., 2012)

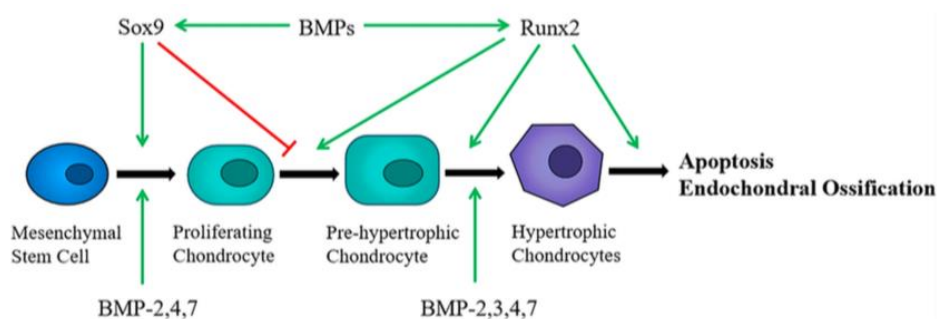


Gambar 2.5. Regulator diferensiasi kondrogenik dari MSCs (Green et al., 2015)

Pada gambar 2.5. diatas ditunjukkan signal molekul, faktor transkripsi, microRNAs dan regulator yang lain yang berpengaruh terhadap diferensiasi MSCs. Regulator yang memacu (positif) ditunjukkan pada bagian paling atas panel, sementara regulator yang menghambat (negatif) ditunjukkan pada bagian bawah panel (Green et al., 2015).

2.4.2. Regulator pada Proses Chondrogenesis

Protein SRY-box 9 (Sox9) adalah faktor transkripsi penting yang memediasi diferensiasi sel punca mesenkim sumsum tulang (MSC) menjadi kondrosit. Ini dapat dikombinasikan dengan kolagen II dan ACAN, kemudian mengaktifkan ekspresi gennya sendiri dan menginduksi proliferasi kondrosit dan sintesis ECM. Sebuah studi baru-baru ini menunjukkan bahwa glutamin dapat mengontrol ekspresi gen kondrogenik, melindungi kelangsungan hidup kondrosit, dan meningkatkan proliferasi kondrosit dan sintesis ECM. Realisasi efek ini tergantung pada metabolisme glutamin yang merangsang Sox9. Selain itu, beberapa penelitian eksperimental telah mengkonfirmasi bahwa Sox9 banyak terdapat di sel progenitor tulang rawan dan sel kondrogenik, yang merupakan kondisi yang diperlukan untuk mempertahankan fenotipe kondrosit. Secara berurutan, Sox9 menghambat diferensiasi kondrosit menjadi kondrosit pro-hipertrofik dan tidak berpartisipasi dalam diferensiasi lebih lanjut dari kondrosit hipertrofik pada tahap akhir (Gambar 1), dan kemudian ekspresi Sox9 berhenti. Setelah itu, faktor transkripsi lain Runx2 mulai diekspresikan (Chen et al., 2021).



Gambar 2.6. Regulator pada proses Kondrogenesis (Chen et al., 2021)

Kondrogenesis dimulai dari *mesenchymal stem cell* (MSC) dan mengikuti proses diferensiasi. Sox9 merangsang diferensiasi MSC dan memicu proliferasi, sedangkan Runx2 menstimulasi hipertropi kondrosit. *Bone morphogenic protein* (BMP) sendiri mempengaruhi seluruh tahapan proses diferensiasi kondrosit dan mengatur ekspresi Sox9 dan Runx2 (Chen et al., 2021).

2.4.3. Penyembuhan Cacat Tulang Rawan secara alami

Trauma tulang rawan yang menembus subkondral akan mengalami proses perbaikan osteokondral, karena sel melalui vaskuler subkondral dan memulai respon penyembuhan. Proses ini menimbulkan perdarahan, pembentukan bekuan fibrin dan inflamasi di lokasi cedera. Bekuan fibrin ini yang kemudian membentuk fibrocartilage di permukaan sendi. Proses ini lebih cepat pada usia muda dan semakin menurun dengan bertambahnya usia. Segera setelah cedera, clot fibrin mengisi lokasi cedera dan sel inflamasi bermigrasi ke *clot*. Disini terjadi perbedaan antara cedera pada tulang rawan saja dengan yang diikuti cedera pada tulang dibawahnya, dimana pada kondisi yang kedua terjadi pelepasan *growth factor* (PDGF, IGF-1, TGF- β) dan protein yang mempengaruhi fungsi sel seperti migrasi ke *clot* fibrin, proliferasi, diferensiasi dan sintesa matriks. Growth ini menstimulasi migrasi sel mesenkim atau *fibroblast like cells* ke *clot* dan merangsang proliferasi serta aktifitas sintesa sel tersebut. (Athanasίου, 2002).

Dalam 2 minggu setelah cedera osteokondral, beberapa sel mesenkimal tersebut mengelilingi kondrosit dan mulai memproduksi matriks yang mengandung kolagen tipe 2 dan proteoglikan. 6–8 minggu setelah cedera, jaringan pada lokasi cedera mengandung konsentrasi yang tinggi dari *chondrosite like cells*. Secara simultan, sel dalam tulang membentuk tulang *immature*, jaringan fibrous dan tulang rawan pada matriks hyalin. Pada teori terbaru, diketahui bahwa proteoglikan tulang rawan menghambat perlekatan stem sel mesenkim pada lokasi cedera, yang mana perlekatannya dapat dibantu oleh enzim yang memecah matriks seperti GAG, yang berkonjugasi dengan *growth factors*. Enzim ini membebaskan sel dari ECM dan mempercepat pergerakannya ke lokasi cedera. Pembentukan tulang ini mengembalikan tulang subkondral dengan beberapa bagian berupa jaringan fibrous dan tulang rawan hyalin, tetapi sebaliknya, jarang sampai memperbaiki struktur unik dari tulang rawannya sendiri secara lengkap (Athanasίου, 2002).

Apabila cedera tulang rawan hanya mengenai bagian yang superfisial saja (tidak melalui *tide mark* tulang subkondral), maka biasanya tidak terjadi proses penyembuhan, karena tidak menimbulkan perdarahan dan respon inflamasi. Kondrosit yang dekat dengan tempat cedera mungkin berproliferasi dan mensintesa matriks, tetapi gagal memperbaiki pada lokasi cedera, karena tidak bermigrasi ke lokasi yang cedera, sedangkan stem sel mesenkim tidak dapat masuk ke lokasi cedera. Suatu lapisan dari matriks yang baru mungkin timbul di permukaan, tetapi tidak terjadi proses perbaikan yang signifikan. Sehingga ada usaha untuk

mengebor tulang subkondral pada cedera tulang rawan sendi (Athanasiou, 2002).

Setelah 6 bulan perbaikan tulang rawan akan terjadi penyembuhan dengan *fibrocartilage* dan tulang rawan hyalin. Sifat jaringan *fibrocartilage* ini mempunyai kualitas yang lebih rendah daripada jaringan yang normal. Hal ini berhubungan dengan rendahnya kadar proteoglikan. Kualitas biomekaniknya pun juga lebih rendah, terutama dalam hal menahan beban, karena matriks jaringan yang dihasilkan umumnya kurang elastis, tetapi lebih padat dan lebih permeabel. Selain itu, orientasi serat kolagennya tersebar tidak teratur pada jaringan tulang rawan yang baru ini, dan tidak mengikuti *pattern* yang normal, yang menyebabkan daya tahannya berkurang. Sebagai tambahan, juga terdapat celah antara jaringan yang lama dengan yang baru, yang menyebabkan timbulnya *mickromotion*, yang memudahkan terjadinya deteorisasi jaringan 1 tahun setelah cedera. Untuk perbaikan hal tersebut, dapat juga dilakukan *grafting*, transplant, mikrofraktur subkondral, stimulasi subkondral dan laser. Untuk evaluasi perbaikan tulang rawan, dapat didasarkan kelainan morfologi dan histologinya. (Athanasiou, 2002).

Proses penyembuhan tulang rawan dapat dikatakan kurang memuaskan. Penelitian dengan pemberian fibrin clot eksogen pada cedera tulang rawan terbukti memberikan hasil yang lebih baik, terutama pada 8 minggu pertama, karena menyembuh lebih teratur. Penelitian lain dengan penggunaan periost/perikondral allograft dan pemberian *growth factors* bahan kondroinduktif lain pada penderita usia muda juga terbukti

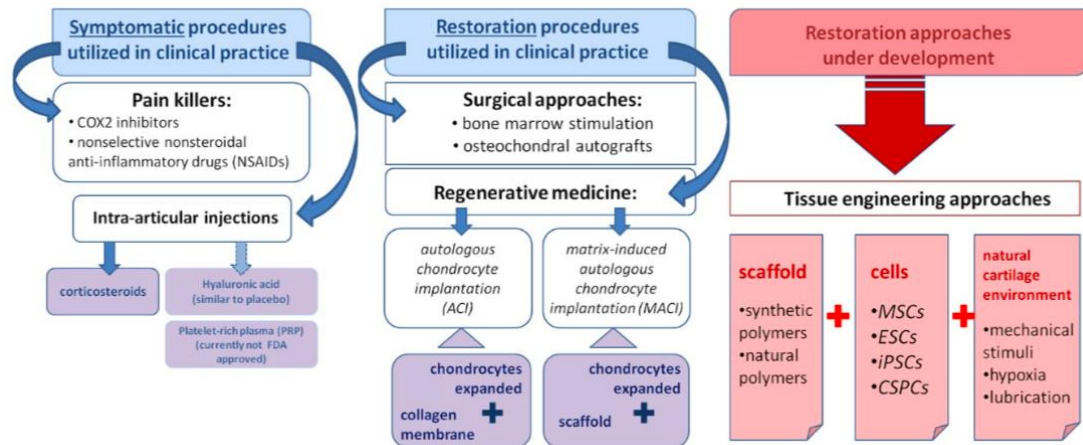
dapat memperbaiki tulang rawan. Hal ini menunjukkan bahwa defek dapat ditutup dengan jaringan yang menyerupai tulang rawan hyalin, secara histologis dan biomekanis. Pada penelitian terakhir, khususnya pada pasien muda dan defek tulang rawan yang kecil, dapat menggunakan teknik *biological resurfacing* dengan kondrosit, periosteum, perikondrium atau graft osteokondral (Athannosiou et al., 2005).

2.5. Pengobatan pada Cidera Tulang Rawan Sendi

Beberapa penulis mengkategorikan pendekatan terapeutik untuk mengobati traumatis dan degeneratif patologi tulang rawan artikular menjadi tiga kelompok besar: pengobatan simptomatik (sisi kiri), prosedur restorasi yang tersedia secara klinis (kolom tengah), dan yang sedang dikembangkan (sisi kanan). Prosedur simptomatik dapat dibagi lagi menjadi pengobatan sistemik (biasanya penghilang rasa sakit dan obat anti-inflamasi) dan suntikan intra-artikular lokal, seperti suntikan kortikosteroid atau plasma kaya trombosit.

Perbaikan tulang rawan yang tersedia secara klinis (kolom tengah) dapat dibagi menjadi menjadi dua subkategori: pendekatan bedah (misalnya, mikrofraktur dan mosaicplasty) dan yang didasarkan pada pengobatan regeneratif (misalnya, implantasi autologous yang diperluas). Berbagai macam pendekatan untuk restorasi yang sedang dikembangkan (sisi kanan) melibatkan ekspansi sel dan diferensiasi sel menjadi kondrosit dewasa dengan berbagai kombinasi scaffold, sel punca, dan lingkungan tulang rawan asli. (Medvedeva et al., 2018)

Approaches to treat traumatic and degenerative pathology of articular cartilage



Singkatan : autologous condrosite implantation (ACI), mtriks induced ACI (MACI), mesenchymal stem cells (MSCs), embryonic stem cells (ESCs), induced proripotent stem cells (iPSCs), chondrogenic stem/ progenitor cells (CSPCs)

Gambar 2.7. Berbagai approach untuk pengobatan cedera tulang rawan (Matsiko et al., 2013) (Medvedeva et al., 2018)

2.5.1. Pengobatan Non-Operasi pada cedera Tulang Rawan

2.5.1a. Obat-obatan klasik pada Cedera Tulang rawan

Injeksi intra-artikular adalah prosedur invasif minimal yang digunakan untuk mengirimkan senyawa secara langsung ke sendi tertentu. Karena injeksi intra-artikular dapat dilakukan dengan mudah dalam pengaturan rawat jalan.

Pendekatan ini digunakan untuk menguji kemanjuran banyak senyawa untuk pengobatan defek pada tulang rawan atau yang sudah menjadi osteoarthritis. Injeksi yang sering digunakan adalah hyaluronic acid dan corticosteroid.

Pedoman Osteoarthritis Research Society International (OARSI) merekomendasikan suntikan kortikosteroid sebagai agen anti inflamasi

untuk mengurangi nyeri sendi (arthralgia). Demikian pula, suntikan intra-artikular kortikosteroid sebagai agen anti-inflamasi untuk mengurangi nyeri sendi. Demikian pula, National Institute of Care Excellence (NICE) Inggris (UK) Rheumatology (ACR) mempertimbangkan suntikan kortikosteroid intra-artikular sebagai tambahan untuk menghilangkan nyeri sendi pada pasien dengan OA. Efek menguntungkan terjadi pada dosis rendah, tambahan untuk perawatan inti untuk menghilangkan nyeri sendi pada pasien dengan OA. Sedangkan dosis tinggi dan paparan yang lama dikaitkan dengan kerusakan tulang rawan yang signifikan dan toksisitas kondrosit dan bahkan terbukti mempercepat perkembangan OA. Analisis kerusakan tulang rawan menunjukkan bahwa kemanjuran suntikan kortikosteroid berkurang seiring waktu.

Asam hialuronat (atau hialuronan, HA) adalah komponen penting dari cairan sinovial normal dan kontributor penting untuk homeostasis sendi. Pada OA, konsentrasi asam Hyaluronic sering berkurang dan berat molekulnya menurun karena pengenceran. Injeksi HA intra-artikular disebut juga terapi viscosupplementation, yang didasarkan pada konsep pengisian kembali. Suntikan HA intra-artikular menerima persetujuan Badan Pengawas Obat dan Makanan Amerika Serikat (FDA) 20 tahun yang lalu. Namun, meta-analisis dari uji klinis acak tidak menemukan efek yang signifikan dari injeksi intra-artikular HA dalam pengobatan OA dibandingkan dengan injeksi intra-artikular plasebo.

(Medvedeva et al., 2018)

2.5.1b. Pengobatan terbaru pada cedera Tulang rawan dengan Faktor Pertumbuhan (growth factor), platelet rich plasma (PRP)

Platelet-rich plasma (PRP) adalah produk darah autologus yang mengandung trombosit yang sangat terkonsentrasi dan berbagai jenis faktor pertumbuhan, protease, dan sitokin, yang dianggap mengaktifkan berbagai jalur sinyal yang mempromosikan perbaikan jaringan. Analisis profil proteomik dari trombosit manusia yang terisolasi mengidentifikasi lebih dari 1500 protein unik. Sebagian besar penelitian yang melihat penggunaan injeksi intra-artikular PRP pada OA degeneratif melaporkan peningkatan nyeri dan skor hasil fungsional tanpa ada penelitian yang melaporkan skor yang memburuk. Konsentrasi plasma faktor inflamasi dan pro-angiogenik secara signifikan berkurang pada pasien yang menerima PRP dibandingkan dengan kelompok plasebo. Namun, mekanisme aksi PRP pada sendi rematik tidak diketahui. Saat ini, suntikan PRP tidak disetujui oleh FDA dan tidak direkomendasikan oleh OARSI untuk pengobatan OA karena kurangnya bukti klinis yang meyakinkan dan dapat diandalkan. Selain itu, data jangka panjang berkualitas tinggi juga kurang. (Medvedeva et al., 2018) (Andia & Maffulli, 2017)

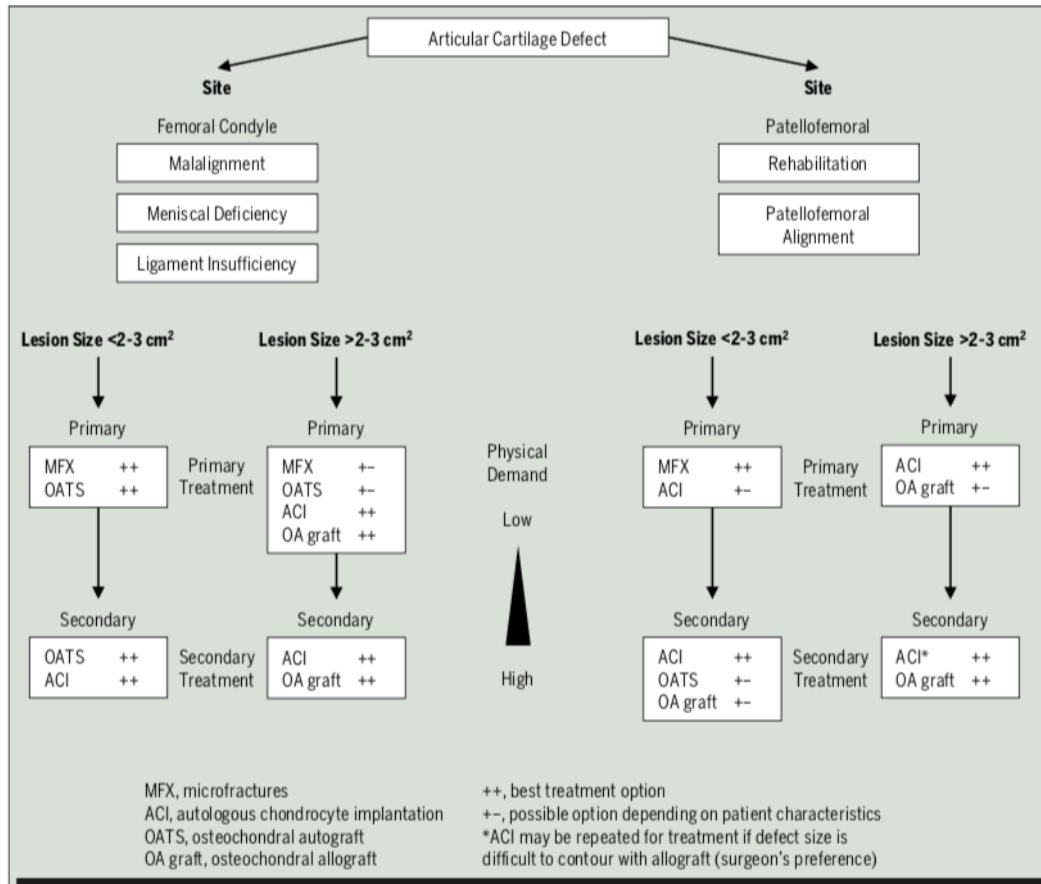
2.5.2. Pengobatan Operasi Pada Cedera Tulang rawan

Sehubungan dengan strategi pengobatan kartilago, Plewes menyoroti pada tahun 1940 bahwa, “pengamatan lebih lanjut dari etiologi dan pengobatan karena itu harus bernilai tidak hanya dengan tujuan untuk memastikan metode pengobatan terbaik tetapi juga untuk mencegah

kondisi yang melumpuhkan ini”. Dalam hal ini, defek kartilago artikular diklasifikasikan menurut kedalaman dan lebarnya.

Gangguan mekanis pada jaringan kondral yang terbatas pada permukaan artikular berbeda dari respon penyembuhan sebagai akibat dari gangguan mekanis yang mempengaruhi permukaan artikular dan tulang subkondral, yaitu, defek osteokondral. Akibatnya, pilihan teknik perbaikan klinis sangat tergantung pada klasifikasi cacat dan apakah permintaan pasien memerlukan pendekatan paliatif, reparatif atau restoratif. Algoritma keputusan berbasis bukti diadopsi untuk menentukan pendekatan mana yang harus diambil tergantung pada faktor-faktor seperti usia, ukuran lesi dan aktivitas pasien. (Medvedeva et al., 2018)

Teknik perbaikan tulang rawan tradisional berusaha untuk mengurangi rasa sakit serta mengembalikan fungsi jaringan. Keberhasilan teknik ini tergantung pada kinerja jangka panjangnya serta kesamaan jaringan perbaikan dengan kartilago artikular asli dalam hal komposisi dan sifat mekanik. Regenerasi tidak akan terjadi tanpa akses ke sel seperti sel progenitor atau kondrosit yang dapat menjalani kondrogenesis dan mensintesis jaringan de novo. Dengan pemikiran ini, sejumlah strategi perbaikan telah dikembangkan. Teknik perawatan klinis saat ini termasuk pengeboran Pridie, mikrofraktur, mosaikplasti, dan implantasi kondrosit autologus (ACI) (Matsiko et al., 2013)



Gambar 2.8. Algoritma untuk procedure reparasi dan restorasi untuk defek pada tulang rawan (Tetteh et al., 2012)

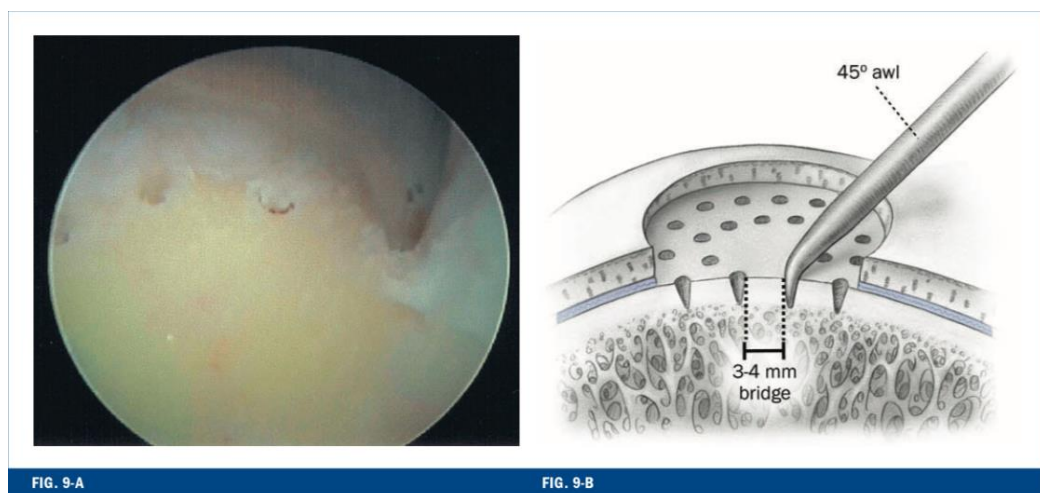
2.5.2a. Prosedur Paliative dengan Debridement and Lavage

Pasien dengan lesi chondral dengan diameter kurang dari 2 cm² telah menjadi kandidat yang berhasil untuk pilihan pengobatan primer seperti debridement dan lavage. Pendekatan ini melibatkan penghapusan fragmen tulang rawan longgar di dalam sendi. Teknik ini umumnya dicadangkan untuk pasien yang lebih tua dengan permintaan rendah dengan gejala terbatas yang akan mengalami kesulitan dengan mobilitas pasca operasi terbatas. Meskipun dianggap sebagai pilihan pengobatan paliatif, penghilangan rasa sakit dan peningkatan kualitas hidup umumnya

cepat dengan menahan beban penuh dan aktivitas tanpa batas (Matsiko et al., 2013) (Medvedeva et al., 2018).

2.5.2b. Prosedur Reparatif dengan Stimulasi Sumsum Tulang dengan Stimulasi sumsum tulang seperti Mikrofraktur

Teknik stimulasi sumsum tulang adalah pilihan pengobatan lini pertama yang paling penting untuk defek kartilago artikular kecil yang simptomatik. Prinsip mereka adalah membangun komunikasi dari defek kartilago dengan kompartemen sumsum tulang subkondral. Pertama, defek kartilago disiapkan secara pembedahan dengan cara yang cermat, termasuk pengangkatan fragmen kartilago dan pembentukan tepi kartilago perifer yang stabil dan berorientasi vertikal. Langkah selanjutnya adalah preparasi basis defek tulang. Di sini, seluruh lapisan tulang rawan yang terkalsifikasi harus diangkat, sehingga memperlihatkan bagian superfisial dari lempeng tulang subkondral tanpa merusaknya.



Gambar 2.9. A. Foto arthroscopi dan B. Menggambarkan penetrasi subkondral pada mikrofraktur (Mithoefer et al., 2006).

Stimulasi sumsum dilakukan dengan salah satu dari tiga teknik yang berbeda. Microfraktur menginduksi beberapa lubang dari lempeng tulang subkondral. Perforasi fokal ini adalah hasil dari pemaksaan ujung tajam penusuk fraktur mikro ke dalam lempeng tulang subkondral. Impaksi ujung penusuk berbentuk kerucut atau polihedral menginduksi beberapa cedera kecil pada tulang yang berdekatan. Pengeboran subkondral, diusulkan sudah pada tahun 1957, sering disebut pengeboran Pridie. Di sini, ujung alat pemotong tulang berdiameter kecil seperti mata bor atau kawat Kirschner (K-wire) ditempatkan pada dasar cacat tulang rawan yang telah disiapkan dan, dengan kecepatan tinggi, alat yang berputar memotong melalui subkondral. lempeng tulang ke dalam spongiosa subartikular. Sejumlah lubang silinder standar yang ditentukan adalah hasil dari pengeboran subkondral (Madry et al., 2017).

Abrasi artroplasti, mengacu pada abrasi umum dari lempeng tulang subkondral dengan kedalaman terbatas. Kanal tulang kecil di dalam lempeng tulang subkondral dibuka setelah abrasi dengan duri bundar dengan menghilangkan sekitar 1,0-1,5 mm ketebalannya tanpa sepenuhnya menghilangkan pelat tulang subkondral. Hal ini memperlihatkan vaskularisasi dari lempeng tulang subkondral, menyediakan link penghubung ke sumsum tulang subkondral. Meskipun telah disarankan bahwa lubang yang lebih besar memungkinkan akses yang lebih besar dari elemen reparatif dari tulang subkondral, data terbaru dari model translasi mendukung penggunaan perangkat berdiameter kecil,

kemungkinan besar karena gangguan struktural yang lebih rendah. dari mikroarsitektur lempeng tulang subkondral dan spongiosa subartikular.

Setelah komunikasi defek kartilago dengan kompartemen sumsum tulang subkondral telah terbentuk, sumsum tulang dari tulang subkondral mengisi defek, suatu bekuan terbentuk, dan sel-sel progenitor yang lebih pluripoten dari kompartemen subkondral selanjutnya bermigrasi ke dalam defek, berdiferensiasi menjadi kondrosit, dan, dari waktu ke waktu, membentuk jaringan perbaikan fibrocartilaginous. Jaringan perbaikan ini juga berfungsi untuk menstabilkan kartilago yang berdekatan dan mencegah degenerasi osteoarthritis dini (Madry et al., 2017).

Mikrofraktur merupakan prosedur pengeboran pada tulang rawan sendi yang telah rusak sebagai prosedur untuk stimulasi sumsum tulang. Mikrofraktur pertama kali dilaporkan oleh Pridie di tahun 1959 dan dikembangkan oleh Steadman. Mikrofraktur dilakukan sebagai penanganan lesi subchondral (Diaz-Flores et al., 2012).

Tergantung pada tehnik dan interpretasi, beberapa istilah digunakan untuk menggambarkan proses ini yaitu melubangi jaringan tulang rawan sampai menembus lapisan subkondral. Istilah yang digunakan adalah melubangi tulang subkondral, lesi osteokondral, stimulasi sumsum tulang, pengeboran, abrasi dan mikrofraktur. Tahapan selanjutnya pada tehnik ini adalah a) perpindahan MSC ketempat cedera. b) perlekatan sel dan proliferasi. c) diferensiasi menjadi osteoblast dan kondrosit, yang bertanggungjawab terhadap produksi matrik ekstra-sel, intergarsi dengan jaringan tulang rawan sekitar dan beradaptasi terhadap

tekanan biomekanik dan mengatur homeostatis jaringan (Diaz-Flores et al., 2012)

Pada proses stimulasi sumsum tulang dirangsang yang pada prinsipnya adalah mencapai zone vaskularisasi, membuat aliran darah baru dan memulai penyembuhan. Jaringan mikrovaskular sumsum tulang diperkirakan merupakan lokasi asal MSCs, bertepatan dengan kenyataan bahwa lokasi tersebut mempunyai vaskularisasi paling tinggi. Selain itu juga pada mikrovaskuler sumsum tulang terdapat lapisan pericytes subendothelial yang membutuhkan sel reticular. Oleh karena itu pericyte sumsum tulang diperkirakan memiliki entitas yang sama dengan sel stromal karena mereka memiliki fitur seperti: a) lokasi perisit dan sel stroma yang serupa, b) ekspresi penanda yang serupa, seperti SMA, PDGFR beta, EGFR, dan CD146, dan c) respon yang sama terhadap faktor pertumbuhan (99). Secara umum, penulis menganggap bahwa peristiwa yang dipicu dalam respon penyembuhan setelah perforasi subkondral terdiri dari perdarahan dari ruang tulang subkondral, yang menghasilkan bekuan darah, merangsang perekrutan, proliferasi, dan diferensiasi khondrogenik MSC dan jenis sel prekursor yang berbeda dari sumsum tulang, dari tulang, dan dari jaringan adiposa dan pembuluh darah. Respon penyembuhan meliputi pembentukan jaringan granulasi sehingga jaringan sementara yang dihasilkan (jaringan granulasi) serupa dengan yang muncul di daerah vaskularisasi lainnya. Memang, daerah dengan kapasitas untuk memperbaiki melalui jaringan granulasi memiliki karakteristik umum: kehadiran, di dalam atau di dekat, dari

mikrovaskulatur pericytic aktif yang sudah ada sebelumnya, di mana fenomena perbaikan berkembang. Oleh karena itu, urutan perbaikan meliputi tahapan pembentukan jaringan granulasi: hematoma (pengikatan fibrin-deposisi trombosit), rekrutmen makrofag, angiogenesis (neovaskularisasi), rekrutmen dan proliferasi sel stroma mesenkim multipoten, reabsorpsi bekuan fibrin, dan perkembangan sel stroma mesenkim multipoten. jaringan parut seperti vaskularisasi. Baik asal sel yang berpartisipasi maupun faktor pertumbuhan dan sitokin yang mengintervensi jaringan granulasi telah ditinjau sebelumnya . Selanjutnya (antara hari 10 dan 14), tulang baru dan tulang rawan baru di atasnya terbentuk (di lokasi yang sesuai di dalam jaringan perbaikan). Dalam yang terakhir, involusi neovessels, diferensiasi MSC dan TAC mereka menjadi tulang rawan, dan regulasi metabolisme dan homeostasis tulang rawan dipengaruhi oleh lingkungan lokal (faktor mekanis dan biologis, termasuk keluarga TGF- β , FGFs dan Wnt (Diaz-Flores et al., 2012).

Beberapa penulis melaporkan hasil yang baik hingga sangat baik pada hewan (tanpa adanya pengobatan khusus - 128) dan pada 60-80% pasien yang diobati dengan prosedur ini. Namun, diferensiasi dan remodeling spontan terutama menghasilkan perbaikan jaringan fibrokartilaginosa, yang dapat mengalami deformasi berlebihan dengan kegagalan mekanis dan degenerasi (setelah 20-48 minggu). Selanjutnya, kolagen baru tidak menonjol atau bercampur dengan kartilago asli, sehingga menghambat integrasi dan perlekatan kartilago yang baru terbentuk. Memang, hasil setelah fraktur mikro di lutut dan

perbandingannya dengan ACI menunjukkan masalah mengenai ketahanan jaringan perbaikan pada cacat utama dan cacat yang terletak di area selain kondilus femoralis. Penutup yang menjebak sel pada tahap awal pembentukan jaringan granulasi (mencegah keluarnya sel dan mediator sel anabolik dari tempat perbaikan, karena deposisi fibrin mengandung persentase tertinggi dari sel punca mesenkim yang bermigrasi) telah dikembangkan (misalnya matriks kolagen). Oleh karena itu, prosedur ini melindungi dan menstabilkan bekuan darah dan dapat meningkatkan diferensiasi khondrogenik dari MSC (kondrogenesis yang diinduksi matriks autologus - AMIC). Demikian pula, scaffolds (misalnya poli (DL) lactide-coglycoide atau alginate-gelatin biopolymer hydrogel), bebas sel atau diunggulkan dengan kondrosit autologus, dengan potensi regeneratif osteokondral, telah dikembangkan secara eksperimental, dengan restorasi tulang rawan dan tulang hyalin, terutama pada mereka yang diunggulkan. Saat ini, biomaterial multi-lapisan nano-komposit berpori telah digunakan dan dievaluasi dengan hasil awal yang menjanjikan. Tidak ada perbedaan dalam penyembuhan yang ditemukan antara diunggulkan (dengan kondrosit autologus) dan perancah kosong (Diaz-Flores et al., 2012).

Penebalan tulang subkondral, pembentukan kista subkondral, dan adanya osteofit intralesi telah ditunjukkan pada pasien yang diobati dengan fraktur mikro. Demikian juga, peningkatan tingkat kegagalan implantasi kondrosit autologus setelah pengobatan sebelumnya dengan teknik stimulasi sumsum telah dijelaskan (tiga kali lebih mungkin gagal

daripada pasien yang telah menjalani stimulasi sumsum), membatasi pilihan pengobatan di masa depan.

2.5.2d. Pengobatan dengan cangkok jaringan lunak (*soft tissue graft*) dengan Periosteum dan Synovium pada cedera cartilage

Manfaat dari cangkok jaringan lunak adalah menyediakan sumber sel baru dengan matriks alami dan organik, serta melindungi sel inang dan cangkok dari kelebihan beban. Berdasarkan percobaan hewan dan studi klinis, para peneliti menyimpulkan bahwa tulang rawan baru dapat dibuat dengan transplantasi jaringan lunak seperti periosteum atau perikondrium. Faktor penting dalam transplantasi jaringan lunak adalah usia pasien, yang memiliki dampak negatif pada hasil. Penelitian telah menunjukkan bahwa pasien di atas 40 tahun tidak memberikan hasil yang baik setelah artroplasti. Oleh karena itu pada pasien muda, cangkok jaringan lunak memiliki harapan hasil yang baik (Rahmani Del Bakhshayesh et al., 2020).

Namun terdapat beberapa keterbatasan penggunaan periosteum sebagai bahan penutup seperti hipertrofi transplantasi. Pengambilan periosteum juga memperpanjang waktu operasi dan membutuhkan paparan bedah yang lebih besar. Disamping itu, periosteotomi menyebabkan banyak rasa sakit dan artrofibrosis. Untuk mengatasi keterbatasan ini, penggunaan implantasi kondrosit autologus yang diinduksi matriks (MACI) menggunakan bilayer kolagen yang diunggulkan dengan kondrosit, dan kolagen tipe I/tipe III yang diturunkan dari babi sebagai penutup (ACI-C) dikembangkan, yang merupakan variasi dari metode penutup periosteum asli (Rahmani Del Bakhshayesh et al., 2020).

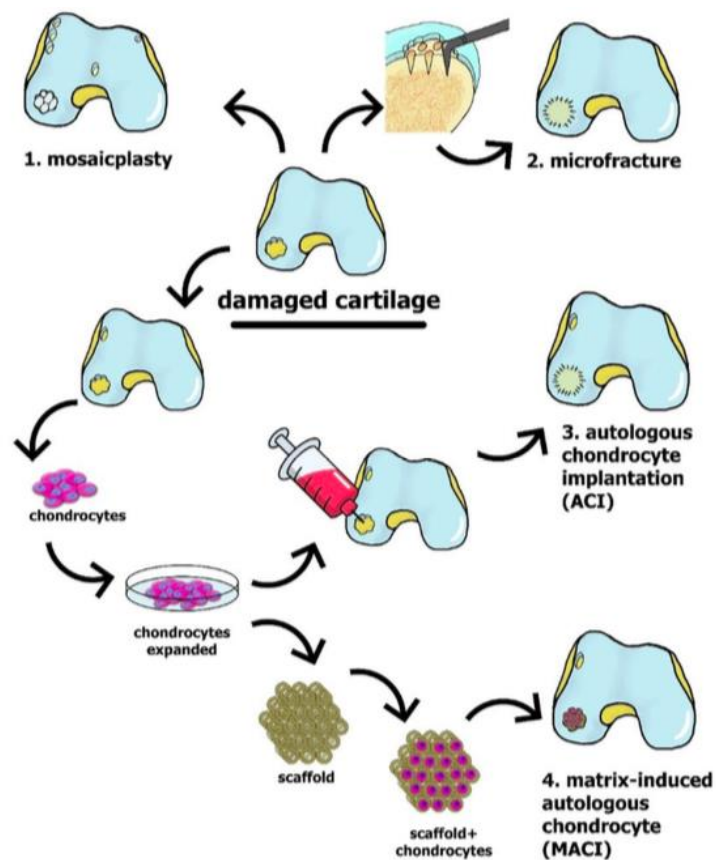
2.5.2c. Prosedur Restoratif dengan *Autologous Condrosit Implantation (ACI)* dan *Matrik Induced ACI (MACI)*.

Pendekatan pertama untuk regenerasi tulang rawan, implantasi kondrosit autologus (ACI) (Gambar 2.10), dikembangkan oleh Brittberg dan rekan pada tahun 1994. Teknik ini melibatkan pengambilan potongan kecil dari tulang rawan pasien sendiri, diikuti oleh perluasan kondrosit di laboratorium dan injeksi selanjutnya dari kondrosit yang dikultur ke dalam defek. Sel-sel yang disuntikkan awalnya ditutupi dengan patch periosteal autologous yang diambil dari tulang (awal ACI), yang mencegah aliran sel yang disuntikkan ke dalam rongga sendi dan memfasilitasi pembentukan jaringan baru.

Pada ACI generasi kedua, membran kolagen biodegradable menggantikan patch periosteal, menghindari invasi periosteal harvesting dan hipertrofi kondrosit ekstensif yang kadang-kadang terjadi terkait dengan periosteum. Dibandingkan dengan microfracture atau chondroplasty mosaik, ACI memungkinkan perbaikan cacat tulang rawan yang lebih besar. Keterbatasan utama pendekatan ini termasuk biaya tinggi, serta invasif panen, dan, khususnya, pembentukan fibrocartilage ke dalam defek tulang rawan, yang sering terjadi karena dediferensiasi kondrosit selama ekspansi sel.

Selama dua tahun pertama setelah operasi, hasil yang memuaskan diperoleh. Menariknya, dalam kasus cacat tulang rawan berukuran kecil hingga menengah, ACI dengan MACI dan fraktur mikro memberikan hasil klinis yang sebanding, tetapi peningkatan dengan MACI

secara signifikan lebih baik ketika lebih dari lima tahun pasca-operasi. Pada kasus tulang subkondral terganggu jika dilakukan pembedahan atau fraktur sebelumnya, allograft osteokondral merupakan pilihan yang lebih baik.



Gambar 2.10. Ilustrasi perbaikan cacat tulang rawan dengan ACI dan MACI (Tetteh et al., 2012)

Beberapa indikasi umum untuk ACI diterima secara luas dalam literatur. Pasien harus bersedia untuk berkomitmen pada proses pemulihan yang lumayan Panjang setelah dilakukan ACI. Prosedur ACI

secara historis telah digunakan setelah kegagalan prosedur kartilago sebelumnya seperti chondroplasty atau prosedur stimulasi sumsum; prosedur sebelumnya seperti itu sering dipilih karena biaya yang lebih rendah atau proses pemulihan yang lebih pendek. Ruta dkk. melaporkan bahwa ACI adalah teknik operasi yang paling sering digunakan setelah intervensi bedah awal yang gagal. Namun, perlu dicatat bahwa tingkat kegagalan ACI sebagai prosedur revisi lebih tinggi daripada ACI sebagai prosedur awal²⁰, dan sebagian besar perusahaan asuransi menanggung penggunaan MACI untuk lesi simtomatik terisolasi yang melibatkan 2 cm² dari kondilus femoralis atau patela. (Krill et al., 2018)

2.6. Peranan Growth Faktor pada Cidera Tulang Rawan

2.6.1. Faktor pertumbuhan (*growth factor*) untuk Cartilage Repair

Transforming Growth Factor-beta (TGF-β)

TGF-β adalah merupakan senyawa yang terdiri dari dua buah polipeptida yang saling berikatan oleh ikatan disulfida dan mempunyai BM sebesar 25 kd. Penelitian terakhir menunjukkan bahwa TGF-β disintesis secara lokal oleh kondrosit dan mempengaruhi sintesis proteoglikan. Saat ini terdapat bukti yang menyebutkan, bahwa TGF-β bertanggungjawab atas stimulasi pembentukan *tissue inhibitor of metalloproteinase* (TIMP) dan *plasminogen activator inhibitor-1*, dua buah senyawa yang dipercaya dapat menghambat kerja stromyelin dan plasmin. Terhadap sintesis proteoglikan, TGF-β lebih menunjukkan respon pada jenis proteoglikan

dengan BM yang kecil (decorin atau biglikan) dibanding dengan proteoglikan dengan BM yang besar.

TGF- β terdiri dari lima isoform (TGF- β 1-5), merupakan peptida di alam yang bertindak sebagai komponen multifungsi yang sebagian besar terbentuk di tulang rawan dan tulang. Kehadiran TGF- β terbatas di daerah hipertrofik dan proliferasi tulang rawan, sementara ekspresi tertinggi TGF- β 2 ditemukan di zona hipertrofik, mineralisasi kondrosit dan tulang rawan terkait tulang panjang manusia. Ekspresi TGF- β 3 juga terlihat di zona serupa. TGF- β 1 mendukung kondrogenesis dengan menginduksi diferensiasi MSC. Stimulasi TGF- β 1 meningkatkan ekspresi kolagen tipe II, penanda diferensiasi dalam sel C3H10T1/2 (garis sel mesenkim berpotensi majemuk). Umumnya, TGF- β 1, TGF- β 2, dan TGF- β 3 adalah stimulator efektif kolagen tipe II dan proteoglikan dalam kondrosit dan terlibat dalam diferensiasi MSC.

Penelitian sebelumnya melaporkan peran TGF- β 1 pada pembentukan tulang rawan ektopik dari MSC. Hal ini juga meningkatkan integrasi kondrosit dalam jaringan endogen dan membantu dalam memperbaiki cacat tulang rawan. Pada saat yang sama, efek samping yang berbeda dilaporkan sebagai adenovirus yang mengekspresikan TGF- β atau injeksi TGF- β yang mengakibatkan pembengkakan, hiperplasia sinovial, dan pembentukan osteofit, yang menunjukkan peran penting TGF- β . Oleh karena itu, regulasi ketat TGF- β diperlukan untuk kondrogenesis. Selain itu, pengobatan TGF- β 1 pada MSC menyebabkan 100% diferensiasi kondrogenik dan 25% pada sel kontrol (sel sumsum).

Selain itu, TGF- β 3 memiliki peran penting dalam pematangan kondrogenik dalam kultur pelet mikromassa.

Bone Morphogenic Protein (BMP)

Protein morfogenetik tulang (BMP) adalah subkelompok dari keluarga TGF- β yang terdiri dari sekitar 20 anggota yang berbeda. Ini juga polipeptida multifungsi yang memiliki peran penting dalam kondrogenesis. Selama kultur in vitro BMP mempromosikan upregulasi ekspresi kolagen agregan dan tipe II. Pada tahap awal pembentukan kondrosit, BMP menginduksi ekspresi N-cadherin yang mendorong interaksi sel-sel, yang diperlukan untuk ekspresi Sox selama kondrogenesis. Kolagen tipe II dan ekspresi Sox-9 yang menginduksi efek telah dilaporkan dalam sel monopotent chondroprogenitor (MC615) dan multipoten mesenchymal (C3H10T1/2) [51]. DNA plasmid untuk ekspresi BMP-2 dalam kombinasi dengan kolagen tipe 1 dan BMP-7 telah menunjukkan efek penyembuhan yang menjanjikan dengan memperbaiki defek tulang rawan full-thickness pada model kelinci. Studi lain melaporkan bahwa BMP-4 menginduksi kondrogenesis dan perbaikan tulang rawan pada tikus. Selain itu, jalur pensinyalan BMP mengontrol diferensiasi kondrosit dan protein ini meningkatkan aktivitas promotor kolagen tipe X menghasilkan ekspresi kolagen tipe X (penanda hipertrofik kondrosit). Beberapa BMP (BMP-2, BMP-4, dan BMP-7) memiliki kepentingan penting dalam perbaikan tulang rawan dan telah disetujui untuk aplikasi klinis, tetapi potensi perbaikannya harus divalidasi pada manusia.

Cartilage-Derived Morphogenetic Proteins (CDMP)

Satu lagi subkategori penting dari TGF- β adalah protein morfogenetik yang diturunkan dari kartilago (CDMPs) yang diyakini berfungsi dalam kondrogenesis. CDMP-1, CDMP-2, dan CDMP-3 merupakan kelompok ini dan juga dikenal sebagai faktor pertumbuhan/diferensiasi-5, faktor-6, dan faktor-7. Ekspresi CDMP terjadi selama kondensasi sel mesenkim ke inti tulang rawan tulang yang sedang tumbuh. Pengobatan gabungan CDMP-1 dan TGF- β 1 menginduksi MSC ke proses diferensiasi kondrosit [58]. Studi *in vivo* dan *in vitro* menunjukkan bahwa CDMP-1 merangsang sintesis GAG dan aggregan [59]. Demikian juga, tampaknya CDMP-2 melibatkan diferensiasi terminal kondrosit, sintesis proteoglikan, dan osifikasi tulang endokondral dalam garis sel kondrositik.

Platelet-Derived Growth Factor (PDGF)

PDGF adalah jenis *growth factor* utama untuk sel-sel jaringan penghubung. PDGF merupakan suatu glikoprotein dengan BM sebesar 30 kd. Beberapa penelitian memperkirakan bahwa PDGF memiliki efek mitogenik pada kondrosit, namun mekanismenya masih belum jelas. Demikian pula aktivitasnya pada kondisi sendi yang normal juga belum dapat dijelaskan. Akan tetapi pada kondisi osteoarthritis dan trauma laserasi, senyawa ini memegang peranan penting untuk proses penyembuhan.

Fibroblast Growth Factor (basic) (b-FGF)

FGF adalah senyawa yang identik dengan *Cartilage Growth Factor* ataupun *Cartilage-derived Growth Factor*, yang berperan sebagai mitogen yang poten pada jaringan penghubung. Penelitian menunjukkan bahwa b-FGF merupakan stimulator yang kuat untuk sintesis DNA pada kultur kondrosit orang dewasa. Senyawa ini, meskipun berperan dalam sintesis matriks, nampaknya kurang begitu aktif, kecuali bila digabungkan dengan senyawa lain, misalnya insulin. Penelitian terakhir menyebutkan bahwa b-FGF secara jelas dapat menstimulir proses perbaikan tulang rawan sendi pada percobaan dengan menggunakan kelinci .

Terdapat 22 protein terkait struktural yang berbeda yang merupakan kelompok FGF pada vertebrata. Sebagian besar protein ini disekresikan, tidak termasuk FGF1, FGF-2, FGF-11, FGF-12, FGF-13, dan FGF-14 dan semua protein ini mampu menempel pada empat reseptor FGF (FGFRs). Sejumlah penelitian telah menunjukkan pentingnya FGF dalam proliferasi kondrosit dan pembelahan sel. Stimulasi sintesis DNA dan RNA adalah fitur kunci dari mitogen ini. Peran FGF dalam sintesis ECM dan efek induksi pada pertemuan kondrosit kostal kelinci telah dilaporkan. Interaksi FGF dengan reseptor spesifik mengaktifkan jalur sinyal yang berbeda. Jalur protein kinase teraktivasi ras-mitogen termasuk jalur yang menonjol seperti phosphoinositide-3-OH kinase-protein kinase B, phospholipase C, p38 kinase, extracellular-related kinase 1 dan kinase 2, dan c-Jun N-terminal kinase. Mutasi pada

gen pengkode FGFR dapat menyebabkan deregulasi dalam perkembangan tulang yang dikaitkan dengan beberapa jenis displasia.

Menggunakan model sel yang berbeda, efek beragam dari tipe FGF telah diilustrasikan pada proliferasi kondrosit. FGF-1, FGF-2, dan FGF-18 menunjukkan lebih banyak efek stimulasi pada proliferasi kondrosit lempeng pertumbuhan manusia dibandingkan dengan FGF-4 dan FGF-9. Demikian pula, FGF-2, FGF-4, dan FGF-9 sangat merangsang proliferasi kondrosit unggas, sementara tingkat stimulasi yang lebih rendah telah ditemukan terhadap FGF-6 dan FGF-8. Jumlah penelitian yang lebih rendah telah melaporkan efek kondrogenik dari FGF. Ekspresi reseptor FGF (FGFR3) dalam sel MSC (murine C3H10T1/2) menyebabkan diferensiasi kondrosit, dan ekspresi FGF18 (ligan FGFR3) menginduksi produksi matriks tulang rawan pada diferensiasi sel mesenkim tunas tungkai. Studi lain melaporkan kemungkinan peran FGF-18 dalam perbaikan tulang rawan. Dosis yang lebih rendah dari bFGF menyebabkan downregulation dari alkaline phosphatase dan peningkatan deposisi kalsium dalam kondrosit hipertrofik yang memproduksi alkali lebih tinggi. Efek ini menunjukkan osifikasi dan peran penghambatan diferensiasi kondrosit terminal dari bFGF. FGF2 adalah yang paling penting di antara anggota lain dari kelas FGF sehubungan dengan efek menginduksi proliferasi dan diferensiasi pada kondrosit dewasa. Selain itu, FGF-2 memulihkan kartilago pada defek kartilago artikular model kelinci.

Insulin-like Growth Factor – I (IGF–I)

IGF-I yang dahulu dikenal dengan sebutan Somatomedin-C, telah diketahui dapat menstimulir sintesis DNA dan matriks *growth plate* pada tulang rawan sendi yang imatur dan juga tulang rawan sendi pada orang dewasa. Sedikit penelitian yang menjelaskan bahwa *growth factor* ini disintesis dari tulang rawan sendi dan juga belum diketahui apakah IGF diproduksi secara lokal atau di liver. IGF-I akan lebih efektif pada saat digabungkan dengan senyawa lain, termasuk b-FGF, tetapi tidak dengan insulin. Penelitian terakhir menyebutkan bahwa IGF-I dapat memelihara proses sintesis proteoglikan pada orang dewasa. Selain itu kondrosit manusia menunjukkan penurunan respon terhadap IGF-1 dengan meningkatnya usia.

Faktor Pertumbuhan Seperti Insulin (IGF). IGF-1 dan IGF-2 (ligan), IGF-1R dan IGF-2R (reseptor), protease pengikat IGF, dan protein pengikat IGF secara kolektif mengatur aktivitas IGF. Banyak jenis jaringan mengekspresikan IGF termasuk otak, jantung, paru-paru, tulang, plasenta, dan testis. Tulang rawan yang matang, tulang rawan yang sedang berkembang, dan cairan sinovial menunjukkan ekspresi IGF-1. Induksi proliferasi dan diferensiasi pada kondrosit, MSC, dan garis sel anggota gerak embrionik sebagai respons dari IGF-1 telah dilaporkan dalam penelitian yang berbeda. Diasumsikan bahwa IGF-1 terlibat dalam anabolisme ECM melalui peningkatan kolagen tipe II dan sintesis proteoglikan. Selanjutnya, IGF-1 menekan nitrogen oksida menginduksi apoptosis dan dediferensiasi di kondrosit. Terutama IGF-1 berkaitan

dengan perbaikan tulang rawan, sementara IGF-2 ditemukan memiliki peran penting selama perkembangan janin dan embrio. Isoform dari kedua IGF-1 dan IGF-2 diaktifkan melalui reseptor tirosin kinase (IGF-1R). Pengikatan IGF-1 dengan IGF-1R menghasilkan fosforilasi berbagai substrat yang terlibat dalam berbagai jalur penting seperti jalur Ras-ERK dan jalur kinase 1-Akt yang bergantung pada PI3K-fosfoinositida. Retardasi pertumbuhan dan cacat organogenesis telah terlihat pada model tikus dengan mutasi IGF-1 selama perkembangan embrio. Osteoblas, osteoklas, dan kondrosit mengekspresikan IGF-1 dan IGF-1R. IGF-1 adalah salah satu mediator penting yang terlibat dalam pemeliharaan homeostasis tulang rawan melalui peningkatan proliferasi, kelangsungan hidup kondrosit, dan sintesis proteoglikan. IGF-1 menginduksi migrasi kondrosit pada model kuda yang cacat tulang rawan; itu juga lebih meningkatkan konsistensi perbaikan jaringan pada penggunaan gabungan dengan kondrosit.

Wingless Factors (Wnt).

Lebih dari 20 anggota Wnt ditemukan pada vertebrata yang memiliki peran khusus dalam perkembangan. The Wnt mengikat dengan reseptor Frizzled dan kemudian bekerja sama dengan protein terkait lipoprotein densitas rendah 5 dan protein terkait reseptor lipoprotein densitas rendah 6. Sebagian besar Wnt mengaktifkan pensinyalan yang bergantung pada b-catenin kanonik. Glikogen-sintase kinase 3b dan kasein kinase 1a fosforilasi b-catenin tanpa adanya Wnt dan akibatnya protease menurunkan b-catenin. Wnt mengatur ekspresi berbagai gen.

Seorang anggota Wnt mengaktifkan setidaknya tiga jalur b-catenin-independen yang berbeda seperti aktivasi protein kinase C, PLC, protein kinase II yang bergantung pada kalsium/kalmodulin, dan jalur JNK. Anggota Wnt yang berbeda memiliki fungsi penting dalam kondrogenesis dan perkembangan tulang, di antaranya Wnt-1, Wnt-4, Wnt-7a, dan Wnt-8 mencegah diferensiasi khondrogenik, meskipun menunjukkan efek yang beragam selama hipertrofi, sedangkan Wnt-5a, Wnt -5b, dan Wnt-11 mengatur proliferasi dan pematangan hipertrofik kondrosit di pelat pertumbuhan selama perkembangan. Pensinyalan Wnt kanonik menghambat kondrogenesis dan menginduksi osifikasi. Wnt-3a menunjukkan hasil kontroversial dalam kondrogenesis. Pada jaringan dewasa, proses kondrogenesis dan osteogenesis membutuhkan b-catenin. Secara umum, tampak bahwa Wnt memainkan fungsi penting dalam tulang rawan karena regulasi perkembangan kondrosit dan deregulasi jaringan Wnt dapat mengakibatkan artritis, khususnya osteoarthritis.

2.6.1. *Platelet rich Plasma (PRP)* pada cedera tulang rawan

Platelet Rich Plasma (PRP) merupakan volume dari fraksi plasma yang diambil dari darah autologous dengan konsentrasi platelet diatas rata-rata (200.000 platelet/ μ l). Platelet mengandung berbagai macam protein bioaktif dan *growth factors* (GF). Peredaran faktor ini memegang peranan dalam perbaikan jaringan termasuk proliferasi cell, migrasi, *chemotaxis*, diferensiasi cell dan sintesis matrik ekstraselluler. Alasan

menggunakan PRP adalah untuk merangsang *cascade* penyembuhan alami dan regenerasi jaringan dengan pelepasan “supra-physiological” *platelet-derived factor* langsung pada tempat cedera. *Autologous* PRP dapat diperoleh dari ekstraksi darah sederhana dengan kit komersial. Setelah darah diambil dan dikumpulkan pada tabung yang mengandung antikoagulan dilakukan proses sentrifugasi untuk menghasilkan PRP (Gobbi A, 2010).

Pada proses pembuatan PRP gel, platelet diaktivasi dengan *thrombin* (autologous), *calcium chloride* atau enzim pro-coagulant seperti batroxobin yang bekerja sebagai enzim fibrinogen-cleaving yang merangsang pembentukan clot fibrin dengan cepat. Ketika larutan PRP disuntikkan langsung sebagai pengobatan topikal, platelet diaktivasi oleh endogenous thrombin dan atau kolagen intraartikular. *Growth factor* mempunyai waktu paruh dari menit sampai jam. Aktivasi thrombin sebelumnya dapat menurunkan kemampuan availabilitasnya jika dibandingkan dengan aktivasi kolagen dari platelet. Pada umumnya jumlah *growth factor* yang dibutuhkan tidak proporsional dengan jumlah platelet karena tingginya variasi platelet pada tiap individu. Konsentrasi platelet dan *platelet-derived* GF yang diperoleh berbeda sesuai dengan alat medis yang dipakai pada proses persiapan (sesuai pabrik) dan pengaruhnya pada efikasi PRP belum bisa ditentukan. Penelitian menunjukkan bahwa efikasi klinis produk PRP diperkirakan meningkat minimal menjadi dua sampai enam kali dari jumlah platelet standar (Gobbi A, 2010).

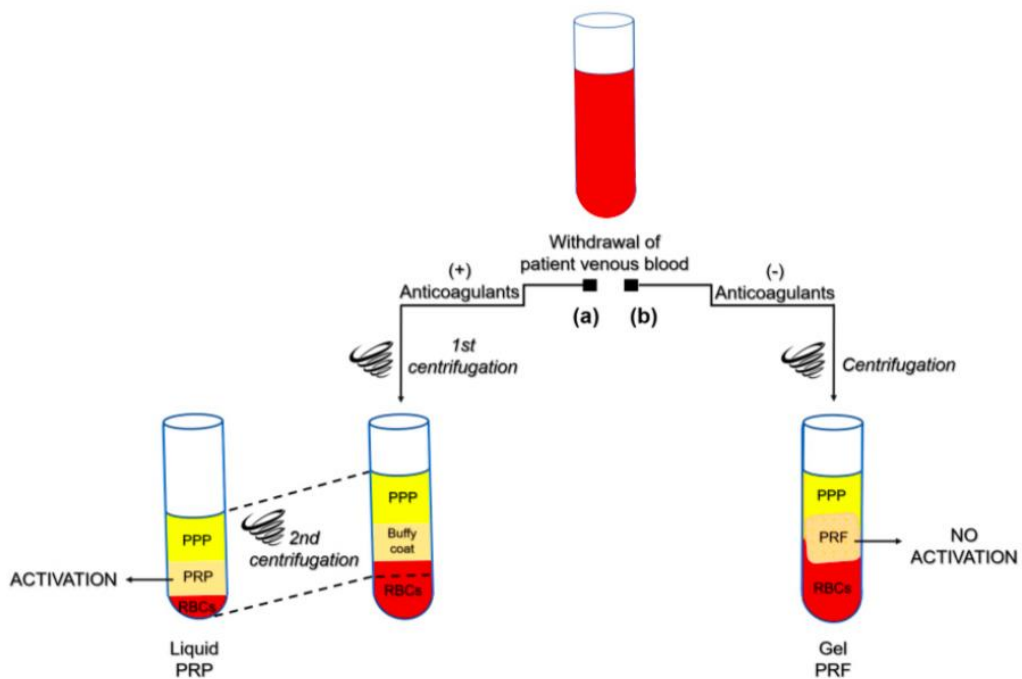
Platelet mengandung α -granul pada berbagai *growth factor* seperti *Transforming growth factor* (TGF- β), *Platelet-derived growth factor* (PDGF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *Epidermal growth factor* (EGF), *Fibroblast growth factor basic* (b-FGF), *Insulin growth factor* (IGF1). *Growth factor* ini berfungsi sebagai perantara yang diperlukan pada proses perbaikan jaringan seperti otot, tendon, ligament yang menyertai trauma akut. (Gobbi A, 2010).

2.6.2. Platelet Rich Fibrin (PRF) pada Cidera Tulang rawan

Di antara biomaterial alami, Platelet-rich fibrin (PRF) baru-baru ini membangkitkan minat luas sebagai lingkungan biofisik dan biokimia yang memberikan faktor pertumbuhan (GF), sitokin dan imun. sel untuk imunomodulasi dan tujuan penyembuhan jaringan. PRF pertama kali diperkenalkan oleh Choukroun yang diperkenalkan oleh Choukroun and Collaborators sebagai biomaterial kaya leukosit dan trombosit untuk oral aplikasi bedah mulut dan maksilofasial dan bedah maksilofasial. Protokol persiapan terdiri dari pengambilan darah dengan aplikasi. Protokol persiapan terdiri dari pengambilan darah melalui pungsi vena dan selanjutnya sentrifugasi untuk membentuk bekuan fibrin yang terpolimerisasi kuat. Teknik ini tidak membutuhkan antikoagulan atau trombin/kalsium glukonat (Gambar 1) (Dohan et al., 2006a)(Dohan et al., 2006b).

PRF Choukroun memiliki beberapa keunggulan dibandingkan PRF Choukroun memiliki beberapa keunggulan dibandingkan Platelet-rich plasma (PRP), termasuk lebih padat, yang memungkinkan penanganan

dan penjahitan lebih mudah, serta tingkat degradasi yang lebih lambat setelah aplikasi, dan akibatnya, menunda GFs yang tertunda dan profil pelepasan sel. Selain itu, membran yang diturunkan dari darah ini diperkaya dengan leukosit, yang memainkan peran kunci tidak hanya dalam kekebalan tetapi juga respon imun, respon antibakteri dan proses penyembuhan luka. Sejak PRF Choukroun pertama kali dijelaskan, banyak variasi dari protokol telah muncul, menghasilkan produksi bahan seperti PRF dengan arsitektur dan sel yang berbeda. Tantangan mendasar yang harus diatasi tetap konsentrasi trombosit, yang harus diatasi tetap konsentrasi trombosit, yang harus ditingkatkan menjadi minimal 5 kali di atas nilai dasar untuk hemokomponen untuk tetap dianggap "kaya trombosit" (Barbon et al., 2019) (Dohan et al., 2006b).



Gambar 2.11. Proses pembuatan *Platelet rich plasma* (PRP) dan *platelet rich fibrin* (PRF) (Dohan et al., 2006b).

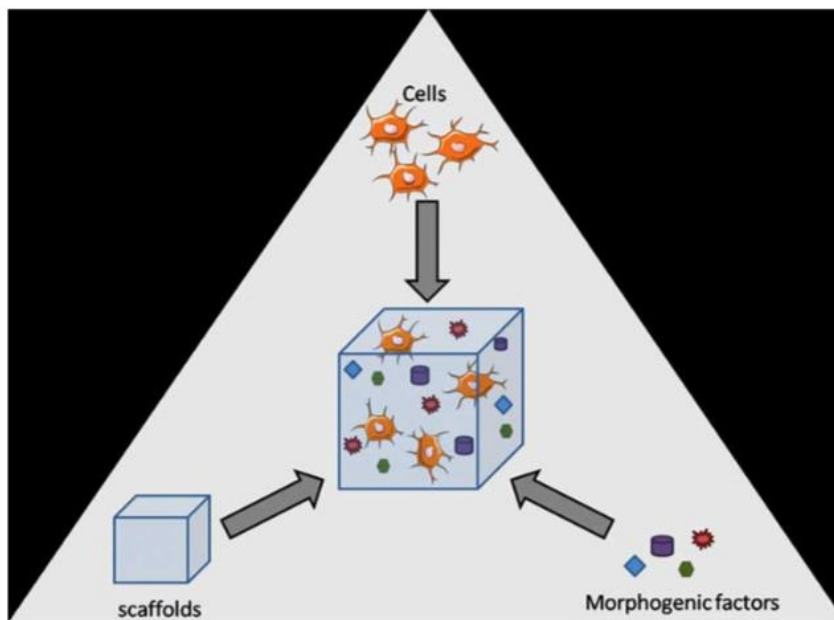
Platelet gel yang kaya akan *growth factor* akan memberikan percepatan terjadinya regenerasi terhadap penyembuhan tulang dan soft tissue yang mengalami cedera. PRP Gel juga mengandung berbagai macam *growth factors* yang sama seperti PRP pada umumnya. TGF- β berfungsi meningkatkan ekspresi *phenotype* dari *chondrocytes* dan sintesis matriks untuk regenerasi tulang rawan melalui diferensiasi *chondrogenic mesenchymal stem cell*. PDGF berperan mempertahankan *hyaline like chondrogenic phenotype*. IGF-1 menstimulasi sintesa proteoglikan dan menekan katabolismenya. b-FGF dan VEGF berperan dalam hal *chondroinductives roles* (Chen, 2009).

Pada penelitian ditemukan bahwa *growth factor* yang dikeluarkan PRF dapat merangsang proliferasi dan sintesis kolagen. PRF secara jelas terbukti dapat memacu proses penyembuhan dan mempunyai aksi anti-inflamasi. Pengaruh GF yang diturunkan dari trombosit dalam kondrogenesis telah diselidiki baik secara *in vitro* maupun *in vivo* dengan menggunakan konsentrat trombosit dalam bentuk suplemen atau gel medium yang merangkum sel (yaitu, kondrosit, sel punca mesenkim). Efek positif PRP pada regenerasi kartilago artikular telah ditunjukkan oleh beberapa studi *in vivo* berdasarkan pemberian hemokomponen pada model hewan dari defek osteokondral, mengungkapkan kapasitas yang efisien untuk mempromosikan penyembuhan kartilago. Seperti PRP, PRF juga mengandung sejumlah besar GF dan sitokin yang dilepaskan dari trombosit. Dengan demikian, dapat secara positif mempengaruhi regenerasi tulang rawan artikular melalui mekanisme yang sama yang

dijelaskan untuk PRP, memastikan kinerja mekanik yang unggul yang lebih baik memenuhi tuntutan jaringan target (Barbon et al., 2019)

2.7. Pengobatan dengan tehnik rekayasa jaringan (*tissue engineering*)

Pada perbaikan tulang rawan dengan tehnik rekayasa jaringan maka diperlukan tiga komponen ini yaitu sel, scaffold dan factor pertumbuhan (*morphogenic*).



Gambar 2.12. Komponen pada tehnik rekayasa jaringan (Vinatier et al., 2009)

2.7.1. Faktor pertumbuhan (*growth factor*)

Sejumlah faktor pertumbuhan dan diferensiasi yang mengatur perkembangan kartilago dan homeostasis kartilago artikular matur telah

diidentifikasi. Faktor yang paling ditandai yang merangsang aktivitas anabolik di tulang rawan termasuk Transforming Growth Factor (TGF)- , Bone Morphogenic Protein (BMP), Fibroblast Growth Factors (FGF), Insulin Growth Factor (IGF)-1, Hedgehog (hh) dan protein tanpa sayap (Wnt).

2.7.2. Scaffold

Sejumlah matriks telah diuji in vitro dan in vivo dalam studi praklinis dan klinis. Matriks ini dapat diklasifikasikan menurut sifatnya (proteik, polisakarida, sintetis dan alami) atau menurut bentuknya (massa, massa berpori, busa, cairan kental dan hidrogel). Sifat ideal dari matriks adalah biokompatibilitas untuk mencegah reaksi inflamasi untuk melindungi jaringan inang; bentuk tiga dimensi memungkinkan proliferasi dan diferensiasi seluler dan porositas memungkinkan migrasi sel dan difusi molekul, nutrisi dan oksigen. Matriks juga harus memungkinkan adhesi sel untuk memfasilitasi implantasi sel pada lesi dan pemeliharaan dalam implan. Ini juga dapat menjadi bioaktif dan memungkinkan pelepasan faktor pertumbuhan atau morfogen yang homogen dan terkontrol. Akhirnya, matriks harus melekat pada jaringan inang; mempertahankan integritas mekanisnya untuk menghindari alirannya setelah implantasi dan dapat terdegradasi untuk mengintegrasikan proses fisiologis remodeling jaringan. Matriks harus dapat diterapkan dengan operasi mini-invasif sehingga jika memungkinkan dapat disuntikkan (Vinatier et al., 2009).

2.7.3. Sel, termasuk sel aspirasi Kondrosit dan sel punca (*Stem Cell*)

Stem sel adalah sel yang belum mengalami differensiasi dan mempunyai kemampuan untuk membelah asimetrik dimana hasilnya adalah sel yang belum mengalami differensiasi (sama dengan sel induk) sedangkan sel lainnya telah berdiferensiasi (Muschler dkk, 2004, Caplan, 2005). Menurut sumbernya stem sel dibagi atas stem sel embrio (*embryonic stem cell*) dan stem sel dewasa (*adult stem sel*), ada juga yang membagi menjadi stem sel embrio, stem sel fetus, stem sel tali pusat dan stem sel dewasa. Stem sel embrio berasal dari masa sel bagian dalam (*inner cell mass*) blastosit embrio 4 sampai 8 hari setelah fertilisasi. Stem sel embrio bersifat pluripoten, pada ekspansi in vitro dapat berkembang tanpa batas dan peneliti mengatakan bahwa sel ini *immortal*. Stem sel dewasa terdiri dari *Hematopoietic Stem Cells* (HSC) dan *Mesenchymal Stem Cells* (MSC) yang berasal dari sumsum tulang, stem sel hati, stem sel usus, stem sel mata dan dari berbagai organ lainnya (Muschler et al, 2004).

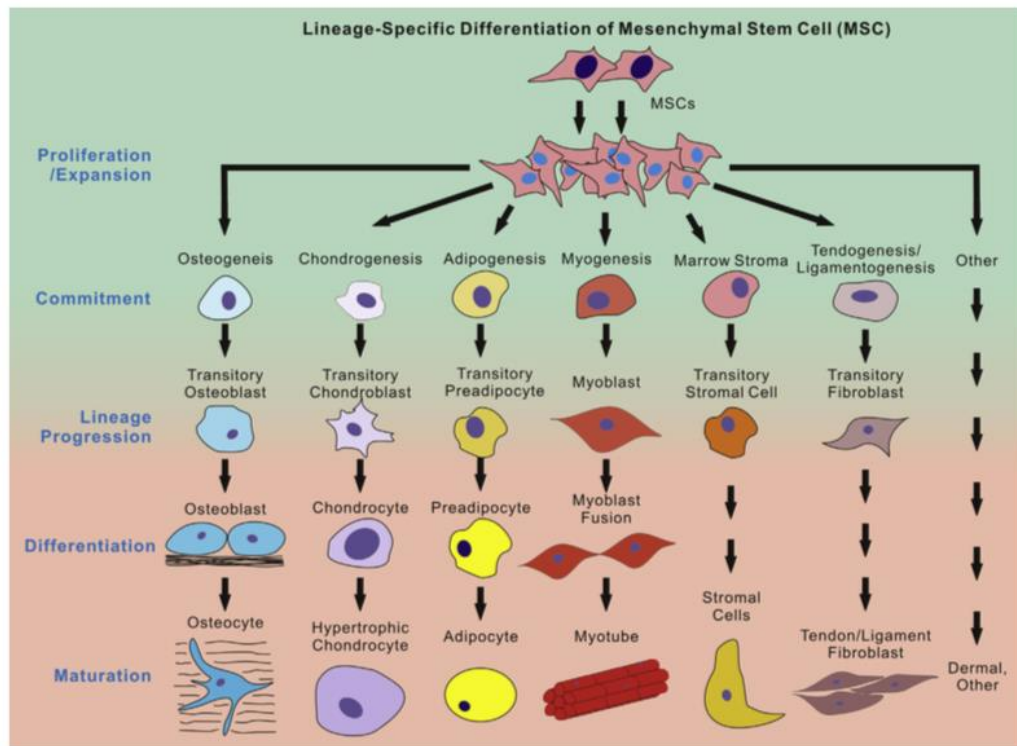
Mesenchymal Stem Cells (MSC) merupakan sel progenitor nonhematopoietik yang didapatkan dari jaringan dewasa. Sumsum tulang pada awalnya merupakan sumber utama MSC, tetapi selanjutnya MSC juga ditemukan pada berbagai jaringan lain seperti lemak, periosteum, otot, plasenta, membran sinovial, dan lain-lain. Stem sel yang berasal dari sumsum tulang (*Bone Marrow Stem Cell*//BMSC) jumlahnya sangat sedikit, hanya 0,001-0,01% dari total sel berinti. Banyak cara yang dapat digunakan untuk isolasi BMSC. BMSC dapat diisolasi dengan *simple*

direct plating. Teknik yang paling sering digunakan adalah dengan melakukan isolasi lapisan sel mononukleus yang didapat setelah sentrifugasi dengan *Ficoll-mediated discontinuous density gradient*. Lapisan sel mononukleus diambil dan dikultur. Setelah beberapa waktu medium ditukar dan sel-sel yang tidak melekat dibuang, BMSC akan terlihat sebagai sel-sel kecil, melekat, berbentuk spindle seperti fibroblas. Purifikasi lebih lanjut dapat dilakukan dengan melakukan seleksi pertanda permukaan sel menggunakan MACS (*Magnetizing Activated Cell Sorting*) atau FACS (*Fluorescence Activated Cell Sorting*). Seleksi positif berdasarkan pertanda yang di ekspresikan oleh BMSC (walaupun tidak spesifik), seperti STRO-1, CD105, CD133, and p75LNGFR. Seleksi negatif bila didapatkan pertanda sel hemtopoitik seperti CD34, CD45, dan CD11b (Wakitani et al, 1994).

Kultur BMSC biasanya menggunakan DMEM (*Dulbecco's modified eagle medium*) atau α -MEM (*Minimum essential medium*) ditambah dengan 10% FBS (*Fetal bovine serum*) pada suhu 37°C dengan 5% CO₂ pada kamar yang lembab. Setelah ekspansi awal, kultur dipertahankan pada kepadatan 50-10.000 sel/cm². Teoritis BMSC dapat di ekspansikan 500 kali dalam waktu 3 minggu, menghasilkan 1,25-3,55 x 10¹⁰ sel, tetapi hasil yang didapat biasanya 1 x 10⁸ sel (Gregory et all, 2007).

BMSC pertama sekali ditemukan oleh Alexander Friedenstein tahun 1966 sebagai populasi yang melekat, membentuk koloni, dan bentuk seperti sel-sel fibroblas yang dapat berdiferensiasi menjadi osteogenik sel. Sel ini berasal dari sumsum tulang. Saat ini telah diketahui BMSC

mempunyai kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis jaringan mesensimal seperti tulang rawan, tulang, lemak, otot, tendon, otot, selain itu juga MSC bisa berdiferensiasi menjadi beberapa jenis jaringan lain seperti jaringan syaraf dan hepatosit. (Wakitani et al, 1994)



Gambar 2.13. Proliferasi, differensiasi dan transdiferensiasi MSC menjadi berbagai jaringan (Green et al., 2015)

Setelah mendapat kunci diferensiasi yang tepat, MSCs sebagai stem sel multipotent akan mengalami beberapa tahapan diferensiasi termasuk proliferasi dan ekspansi progenitor, komunikasi garis keturunan dan kemajuannya, diferensiasi dan maturasi dan diferensiasi bertahap menjadi berbagai macam jaringan seperti tulang, tulang rawan, lemak, otot, tendon, dan lainnya. Lebih jauh lagi, masih belum dimengerti seberapa awal dimulai terjadi perubahan garis keturunan dari MSCs.

Meskipun demikian, MSC merupakan salah satu populasi progenitor yang menjanjikan untuk kedokteran regenerasi dan rekayasa jaringan (gambar 2.13).

Stem sel yang berasal dari medula tulang (*bone marrow mesenchymal stem cells/ BMSC*) merupakan stem sel yang paling banyak diteliti. BMSC mempunyai beberapa sifat. Pertama, bisa memperbarui dirinya sendiri (*self renewal*) dan mempunyai kapasitas berproliferasi, kemampuan ini tergantung kepada asal stem sel, umur donor dan kondisi kultur, kecepatan pertumbuhan (*doubling time*) BMSC berkisar 10 sampai 30 jam. (Chen FH dkk, 2007) Kedua, mampu berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, diferensiasi stem sel dikontrol oleh beberapa faktor seperti faktor-faktor pertumbuhan, matrik ekstraselular, dan hormon. Dengan memberi beberapa faktor pertumbuhan dan kultur pada struktur 3 dimensi maka BMSC dapat di diferensiasi menjadi sel tertentu, sebagai contoh induksi menggunakan deksametason, β -gliserolfosfat, asam askorbat, dan 1,25-dihydroxyvitamin D3 akan mengakibatkan BMSC berdiferensiasi menjadi osteoblas. Ketiga, mempunyai kemampuan transdiferensiasi (*plasticity*). Transdiferensiasi merupakan kemampuan sel untuk berubah menjadi sel lain, sebagai contoh sel adiposa dapat berubah menjadi osteoblas. Sampai sekarang penelitian molekular untuk mengetahui identifikasi faktor-faktor yang mengontrol transdiferensiasi masih berlanjut. Keempat, heterogen dimana masing-masing stem sel dari satu koloni mempunyai sifat yang berbeda dalam kemampuan proliferasi dan potensi untuk berdiferensiasi. Hanya sekitar 17% stem sel dari

sumsum tulang yang mempunyai kemampuan proliferasi sampai 20 kali (*doubling*) sebagian besar menunjukkan senesen (tidak berploriferasi) dan hanya sepertiga dari BMSC yang bisa berdiferensiasi menjadi osteoblast, chondroblas, atau sel lemak (Bunnel et al, 1999).