

BAB I

PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang Penelitian

Kerusakan kartilago artikular sering ditemui pada kasus degenerative yang didominasi pada sendi lutut, sendi pinggul dan sendi tulang belakang, yang terjadi akibat proses penuaan yang mempengaruhi proses fisiologis dan perubahan komposisi tubuh. Kerusakan kartilago ini menyebabkan rasa sakit, kecacatan dan gangguan kualitas hidup yang akhirnya menjadi masalah kesehatan utama pada masyarakat dunia(Poupak et al., 2021,Dragoo et al., 2012) Pilihan pengobatan *Osteoarthritis (OA)* lutut dimulai dari terapi obat- obatan sampai dengan pembedahan. Namun Sebagian besar penderita lebih memilih terapi dengan obat-obatan serta rehabilitasi dibandingkan dengantindakan operasi.

Beberapa pilihan terapi injeksi intraartikular pada kasus *Osteoarthritis (OA)* sendi lutut, yaitu: injeksi *Platelet-Rich-Plasma (PRP)*, *Hyaluronic Acid (HA)* atau *Ozone Gas* yang telah ditentukan efikasi treapeutiknya(Tahir Mutlu et al., 2016).

Injeksi intra-artikular *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* adalah injeksi plasmadarah dengan jumlah trombosit yang tinggi sehingga diharapkan dapat membantu penyembuhan tendon dan ligament dan mengurangi peradangan sertakerusakan tulang rawan artikular(Dragoo et al., 2012). Sementara efek yang menguntungkan dari injeksi intraartikular *Hyaluronic Acid (HA)* disebabkan sifat viscosupplement dan aktivitas anti-inflamasinya. Injeksi *Hyaluronic Acid (HA)* juga digunakan untuk pengobatan tendon dan ligament cedera dan setelah operasi(Kohei et al., 2016a).

Sebagaimana diketahui bahwa terjadinya suatu kerusakan kartilago mengakibatkan tubuh merespon dengan mengaktifasi proses biomekanik, beberapa sitokin dan mediator inflamasi serta sistem imun (Woodell-May and Sommerfeld, 2019, Rachel et al., 2014). Peningkatan mediator sitokin ini dapat di deteksi melalui ekspresi dan responnya baik menggunakan pemeriksaan darah ataupun menggunakan cairan sinovial dari sendi pasien yang menderita *Osteoarthritis (OA)*. Beberapa sitokin yang telah terlibat dalam proses patogenesis OA diantaranya termasuk faktor nekrosis tumor (TNF)- α , interleukin (IL)-1, IL-6, sitokin rantai-c umum lainnya seperti IL-2, IL-7, IL-15, dan IL-21 (Rachel et al., 2014).

Mediator inflamasi sitokin dan interferon yang terbentuk akan menstimulasi pengaktifan tirosin kinase (JAK-KINASE), kemudian terfosforilasi yang akhirnya mengaktifkan protein STAT. STAT ini ditranslokasikan ke dalam nucleus kemudian diterjemahkan ke dalam pola spesifik tipe sel dari respons sitokin dan ekspresi gen (Warren J, 2001, John J. O'Shea et al., 2015, Murray, 2007)

Cedera kartilago artikular menginduksi perubahan gen yang terkait dengan pensinyalan sel, respons terhadap cedera, dan penyembuhan luka (Rikang et al., 2018) (H.N and V.B, 2015) (Anne S et al., 2011). Empat microRNAs (miRNAs) (miR-146a, miR-155, miR-181a, dan miR-223), dilaporkan diekspresikan dalam sel-sel imun dan bertanggung jawab untuk mengatur peradangan, yang secara signifikan ditemukan lebih tinggi pada sel mononuklear darah perifer (PBMC) pasien dengan OA dibandingkan dengan PBMC sehat sebagai kontrol (H.N and V.B, 2015) (Rikang et al., 2018).

Dalam studi lain juga dilaporkan bahwa konsentrasi plasma miR-132 secara signifikan ditemukan lebih tinggi pada kontrol yang sehat dibandingkan dengan pasien dengan OA atau rheumatoid arthritis (RA), sementara konsentrasi cairan sinovial miR-16, miR-146a miR-155 dan miR-223 dari RA secara signifikan lebih tinggi daripada OA. MiRNA plasma atau rasio cairan synovial miRNA terhadap miRNA plasma,

termasuk miR-16 dan miR-146a, secara signifikan berkorelasi dengan jumlah sendi yang kaku dan mendapatkan skor 28 pada aktivitas penyakit sendi (Murata et al., 2010).

Gen terkait inflamasi berperan kuat dalam proses terjadinya *Osteoarthritis (OA)*, namun tidak ada yang membuktikan bahwa variasi DNA pada gen inflamasi merupakan faktor risiko terjadinya *Osteoarthritis (OA)* (H.Nand V.B, 2015, E.L et al., 2015). Profil ekspresi gen dari jaringan *Osteoarthritis (OA)* terkait dengan rendahnya aktivasi remodeling jaringan tersebut dan perubahan komponen genetik yang kuat, sehingga tidak mengikuti hukum genetik “mendelian” (Tineke C. T. M. et al., 2003).

Masih ditemukannya perdebatan efikasi penggunaan injeksi intraartikular pada pengobatan OA lutut menggunakan *Platelet-Rich- Plasma (PRP)* dan adanya pilihan penggunaan *Hyaluronic Acid (HA)* namun belum dipahami penjelasan perubahan ekspresi gen miR-132 dan kadar Sitokin (IL-1 dan IL-6) ini pada OA lutut yang melatarbelakangi untuk dilakukannya penelitian ini.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut diatas menimbulkan pertanyaan, Bagaimana perbandingan ekspresi gen miR- 132 dan kadar Sitokin (IL-1 β dan IL-6), dan keluaran fungsi setelah injeksi intraartikular antara *Platelet-Rich- Plasma (PRP)* dan *Hyaluronic Acid (HA)* pada pasien Osteoarthritis.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk menganalisis perubahan ekspresi gen miR-132 dan kadar Sitokin (IL-1 β dan IL-6), serta keluaran fungsi pada pasien OA lutut yang telah mendapat terapi injeksi intra artikular *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* dan *Hyaluronic Acid (HA)*

1.3.2. Tujuan Khusus

- 1) Menilai perubahan ekspresi gen miR-132 sebelum dan sesudah tindakan injeksi intra artikular *Platelet-Rich- Plasma (PRP)* dan *Hyaluronic Acid (HA)*
- 2) Menilai perubahan kadar Sitokin (IL-1 β dan IL-6) sebelum dan sesudah tindakan injeksi intra artikular *Platelet-Rich- Plasma (PRP)* dan *Hyaluronic Acid (HA)*
- 3) Menilai dampak perubahan fungsi klinis dengan menggunakan VAS/WOMAC Score sebelum dan sesudah tindakan injeksi intra artikular *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* dan *Hyaluronic Acid (HA)*.

1.4. Kegunaan Penelitian

1.4.1. Kegunaan Teoritis

Penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah terbaru secara komprehensif tentang konsensus penggunaan terapi pada pasien OA lutut yang disuntik menggunakan intraartikular injeksi *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* dan *Hyaluronic Acid (HA)*.

1.4.2. Kegunaan Praktis

Dapat diterapkan secara klinis dalam mempertimbangkan pemilihan terapi injeksi intraarticular apakah memilih menggunakan injeksi *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* atau *Hyaluronic Acid (HA)* pada pasien OA lutut.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA PEMIKIRAN, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

2.1.Kajian Pustaka

2.1.1. *Osteoarthritis (OA)*

Osteoarthritis (OA) adalah proses penghancuran tulang rawan sendi, tulang subkondral serta struktur sendi lainnya, yang mengarah ke kerusakan anatomi, gangguan gerakan dan nyeri. Perubahan mungkin disertai dengan sinovitis, yang disebabkan oleh produk pemecahan tulang rawan dan tulang yang rusak. Ada gangguan antara tulang rawan sintesis dan degradasi (Wisłowska, 2019).

2.1.1.1. Definisi

American College of Rheumatology (ACR) mengklasifikasikan *Osteoarthritis (OA)* sebagai: sekelompok kondisi heterogen yang mengarah pada gejala sendi dan tanda-tanda yang berhubungan dengan kerusakan integritas tulang rawan artikular, selain perubahan terkait pada tulang di bawahnya (Wisłowska, 2019).

Akademi Ahli Bedah Ortopedi Amerika (*AAOS*) memberikan definisi yang lebih rinci. (*OA*) adalah hasil dari keduanya peristiwa mekanis dan biologis yang mengacaukan fungsi normal serta degradasi sintesis kartilago artikular dan subkondral tulang. Meskipun mungkin diprakarsai oleh beberapa faktor termasuk genetik, perkembangan, metabolisme, dan trauma, (*OA*) melibatkan semua jaringan dari sendi

diarthrodial(Wisłowska, 2019).

Perubahan pada *Osteoarthritis (OA)* meliputi perubahan morfologi, biokimia, molekular dan biomekanik sel dan matrik, menyebabkan hilangnya tulang rawan dan sclerosis subkondral tulang, membentuk osteofit dan kista subkondral namun keausan dari penggunaan berlebihan belum tentu dapat menyebabkan *Osteoarthritis (OA)*. Dalam patofisiologi (*OA*), adanya kerusakan tulang rawan tidak secara khusus, bisa dianggap sebagai penyakit keseluruhan struktur sendi. Penghancuran lokal kartilago artikular, sklerosis tulang subkondral, pembentukan osteofit, kelemahan otot periartikular, ligamen yang melemah, sinovitis ringan pada sendi, degenerasi meniskus dan keterlibatan sistem saraf sensorik, semua ini faktor yang mempengaruhi perkembangan penyakit *Osteoarthritis (OA)*(Wisłowska, 2019).

2.1.1.2. Klasifikasi *Osteoarthritis (OA)*.

Pendeteksian OA lutut terdiri dari pengklasifikasian menggunakan radiografi lutut dari sendi lutut sehat atau (*OA*). Penilaian klinis gambar sinar-X saat ini dilakukan oleh: dokter berpengalaman menggunakan beberapa metode, seperti Kellgren- Lawrence (KL) skor(Brahim et al., 2019).

Di bawah ini adalah klasifikasi Kellgren-Lawrence(J.. H and J. S., 1957):

- Grade 0 (tidak ada): tidak adanya perubahan x-ray dari osteoarthritis.
- Grade 1 (diragukan): penyempitan celah sendi yang meragukan dan kemungkinan *lippingosteofit*.

- Grade 2 (minimal): *osteofit* pasti dan kemungkinan penyempitan celah sendi.
- Grade 3 (sedang): *osteofit* multipel sedang, penyempitan ruang sendi yang pasti dan beberapa sklerosis dan kemungkinan deformitasujung tulang.
- Grade 4 (parah): *osteofit* besar, penyempitan celah sendi yang nyata, sklerosis berat dan deformitas ujung tulang yang pasti

2.1.1.3. Prevalensi dan Insidensi

Kasus *Osteoarthritis (OA)* ini sangat terkait dengan usia, dan sangat umum pada orang tua. Beberapa penelitian memperkirakan bahwa lebih dari 80% orang berusia di atas 55 tahun menderita osteoarthritis setidaknya satu sendi. Hasil akhir dari kesusakan sendi itu disebabkan kerusakan biokimia dan mekani yang melebihi kemampuan sendi untuk memperbaiki dirinya sendiri. Ini terutama mempengaruhi pinggul, lutut, tulang belakang, tangan dan kaki. Keluhan nyeri pada kasus *Osteoarthritis (OA)* pinggul lebih cenderung dialami orang dewasa dan usia tua, dalam perawatannya menghabiskan cukup besar anggaran perawatan karena membutuhkan operasi penggantian sendi.(Apley and Solomon, 2018).

2.1.1.4. Progresivitas *Osteoarthritis (OA)*

Di dalam perkembangan kondisi *Osteoarthritis (OA)* ini, pasien dapat bertahan dengan sakit parah dan mengalami kehilangan mobilitas. Hasilnya menyebabkan produktivitas kerja berkurang seiring

dengan meningkatnya biaya terhadap sistem perawatan kesehatan. Progresivitas dari *Osteoarthritis (OA)* sebagai kondisi multifaktorial didorong oleh serangkaian komponen seperti biomekanik sendi yang gagal, kaskade biokimia, dan respons kekebalan seluler ke lingkungan inflamasi (Woodell-May and Sommerfeld, 2019).

Perkembangan OA merangsang produksi matriks metalloproteinase (MMPs), yang pada gilirannya, meningkatkan degradasi matriks. Tubuh akan memberi respon penyembuhan luka alami memanifestasikan dirinya menjadi peradangan sendi dan mengarah pada peningkatan bagaimana respon imun tubuh dapat mempengaruhi progresivitas dari (OA) ini (Woodell-May and Sommerfeld, 2019).

Neovaskularisasi pada proses penyembuhan luka juga mempengaruhi synovium menjadi radang “synovitis” serta menyebabkan kerusakan kartilago walaupun kartilago ini bersifat avaskular. Pertanyaan kemudian muncul, apakah proses penyembuhan luka pada OA ini berjalan utuh seluruhnya atau berjalan Sebagian atau malah macet sehingga memperberat proses terjadinya OA ini (Woodell-May and Sommerfeld, 2019).

Proses kerusakan yang terjadi pada OA juga terkait pada imun/kekebalan adaptif dan kekebalan bawaan yang merupakan dua jenis sistem kekebalan tubuh untuk menjaga kondisi cedera, dan juga infeksi mikroorganisme ataupun proses keganasan didalam tubuh (Woodell-May and Sommerfeld, 2019).

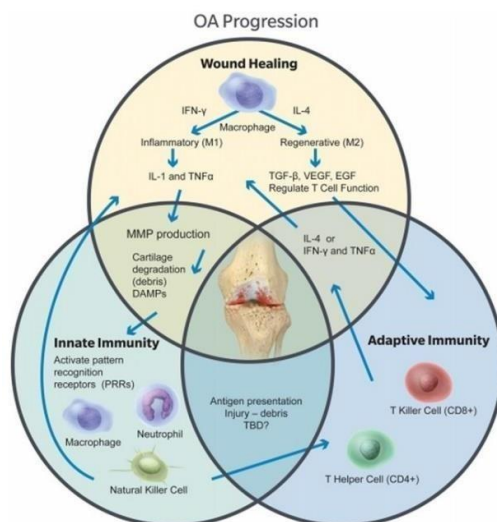
Peran sistem imun bawaan dirancang untuk mempertahankan dan melindungi organisme ketika dipicu oleh sinyal seperti pola molekul terkait kerusakan (DAMPs), sitokin inflamasi, atau faktor pelengkap. Misalnya, sementara didominasi dalam hal pertahanan terhadap patogen, bawaan sinyal sering tergantung pada aktivasi "*toll-like-reseptor*" telah ditemukan pada lesi tulang rawan OA dan OA cairan sinovial. Dapat mengidentifikasi cedera dengan sistem imun bawaan dan/atau adaptif juga secara tidak sengaja terkait dengan perkembangan penyakit OA seperti pada proses cedera luka normal(Woodell-May and Sommerfeld, 2019).

Memahami sel dan sinyal di kedua luka penyembuhan/peradangan dan proses kekebalan mungkin memberikan pemahaman tentang perkembangan penyakit OA. Selanjutnya, proses ini dapat mengungkapkan target terapeutik potensial untuk memperlambat laju perkembangan penyakit atau meningkatkan mekanisme perbaikan yang terjadi (Woodell-May and Sommerfeld, 2019).

Perkembangan OA, pada kenyataannya, didorong oleh peradangan kronis sebagai upaya untuk memperbaiki jaringan yang rusak. Namun aktivitas makrofag tidak dapat dilupakan. Makrofag ini mempengaruhi lingkungan mikro inflamasi dengan pelepasan protease, oksigen radikal spesies, dan sitokin inflamasi, di antara faktor lainnya. Makrofag juga merekrut fibroblas dan sel vaskular endotel melalui pelepasan kemokin(Woodell-May and Sommerfeld, 2019).

Secara historis, selama tahap inflamasi penyembuhan luka, makrofag telah dicirikan sebagai makrofag M1, 11 atau makrofag yang diaktifkan secara klasik, dan ditandai oleh mediator inflamasi seperti jaringan faktor nekrosis- α (TNF α), interferon- γ (IFN γ), atau pola molekuler terkait patogen (PAMP). Satu kali diaktifkan, makrofag ini sendiri melepaskan sitokin pro- inflamasi (interleukin-1 [IL-1], IL-6, IL-12, TNF α) dan pensinyalan cedera jaringan lainnya. Tujuan dari pensinyalan pro-inflamasi adalah untuk mengaktifkan pembersihan dan pembuangan mikroba dan kotoran sebelum remodelling dapat terjadi(Woodell-May and Sommerfeld, 2019).

Interaksi antara kaskade penyembuhan luka, kekebalan bawaan, dan kekebalan adaptif dapat menyebabkan perkembangan osteoarthritis. Setiap dari proses ini tumpang tindih dan juga tergantung pada lingkungan lokal termasuk: trauma, stres mekanis, dan jaringan kerusakan(Woodell-May and Sommerfeld, 2019).



Gambar.1. Interaksi antara kaskade penyembuhan luka, kekebalan bawaan, dan kekebalan adaptif terkait dan dapat menyebabkan perkembangan osteoarthritis. Setiap dari proses ini tumpang tindih dan juga tergantung pada lingkungan lokal termasuk: trauma, stres mekanis, dan jaringan kerusakan. [Gambar warna dapat dilihat di [wi leyonlinelibrary.com](http://www.leyonlinelibrary.com)](Woodell- May and Sommerfeld,2019)

2.1.1.5. Inflamasi pada *Osteoarthritis (OA)*

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa peradangan yang dipicu oleh faktor-faktor seperti stres biomekanik terlibat dalam perkembangan osteoarthritis. Ini merangsang pelepasan sitokin inflamasi tahap awal seperti interleukin-1 beta (IL-1 β), yang pada gilirannya menginduksi aktivasi jalur pensinyalan, seperti faktor nuklir kappa-light-chain-enhancer B teraktivasi sel (NF- κ B), phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B (PI3K/AKT), dan mitogen-activated protein kinase (MAPK). Peristiwa ini, pada gilirannya, menghasilkan lebih banyak molekul inflamasi. Selanjutnya, kolagenase seperti matriks metalloproteinase-13 (MMP-13) akan mendegradasi matriks ekstraseluler. Akibatnya, fungsi anatomi dan fisiologis sendi berubah(Yoke Yue and Kok-Yong, 2020).

Secara ringkas, dengan adanya peningkatan sel yang bermanifestasi sekretorik fenotipe mengarah pada peningkatan produksi sitokin dan matriks metalloproteinase (MMPs) pada lingkungan sendi, Selain itu, faktor pertumbuhan berkurang dan responsivitas kondrosit akan menyebabkan lebih sedikit matriks sintesis dan perbaikan (Yoke Yue and Kok-Yong,2020).

Osteoarthritis mempengaruhi seluruh struktur sendi, termasuk tulang rawan artikular, tulang subkondral, meniskus, membran sinovial, dan bantalan

lemak *infra patella pad (IFP)*(Yoke Yue and Kok-Yong, 2020).

Komponen inflamasi, seperti sitokin dan kemokin, diproduksi oleh kondrosit dan sel synovium pada sendi pasien dengan osteoarthritis. Fibroblas sinovial juga merupakan sumber proinflamasi sitokin dan enzim pendegradasi matriks di bawah kondisi osteoarthritis(Warren J, 2001). Selain itu, *infra patella pad (IFP)* telah terbukti mengandung sejumlah besar sel imun seperti makrofag dan sel T. Akibatnya, *infra patella pad (IFP)* bertindak sebagai tempat mediator inflamasi pada lutut osteoarthritis(Yoke Yue and Kok-Yong, 2020).

Mediator inflamasi ini mengubah jalur pensinyalan sel, ekspresi gen, dan perilaku dari jaringan sendi.

Perubahan transduksi sinyal seluler menyebabkan peningkatan aktivasi jalur inflamasi.

Dengan demikian, lebih banyak senyawa dan enzim inflamasi dilepaskan. Akibatnya, fungsi anatomi dan fisiologis sendi berubah(Yoke Yue and Kok-Yong, 2020).

Sitokin yang disekresikan oleh sel imun adalah yang pemain utama dari setiap kondisi inflamasi, termasuk osteoarthritis. Sitokin proinflamasi, seperti IL-1 β dan TNF- α , adalah salah satu mediator yang disekresikan pada awal osteoarthritis. IL-1 β dan TNF- α mendorong inflamasi kaskade secara mandiri atau bekerja sama dengan sitokin lain. Mereka diproduksi oleh kondrosit yang diaktifkan, sinoviosit, dan sel mononuklear. TNF- α dan IL-1 β telah digunakan untuk memicu inflamasi pada kondrosit dan kultur sinoviosit. Setelah stimulasi, sel-sel melepaskan IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 β , dan TNF- α . Profil sitokin serupa meningkat pada

hewan model osteoarthritis(Yoke Yue and Kok-Yong, 2020).

IL-1 β terlibat dalam serangkaian aktivitas seluler, seperti proliferasi sel, diferensiasi, dan apoptosis. Itu mengganggu produksi protein struktural penting, termasuk kolagen tipe II dan aggrecan, dengan mempengaruhi aktivitas kondrosit pada sendi(Yoke Yue and Kok-Yong, 2020).

Selain itu, IL-1 β mempengaruhi MMPs' sintesis oleh kondrosit, termasuk MMP-1 dan MMP-13, yang, pada gilirannya, menghancurkan tulang rawan artikular. IL-1 β juga terbukti menginduksi produksi oksigen reaktif spesies, misalnya, oksida nitrat (NO). Sejak IL-1 β telah terbukti memainkan peran penting dalam pathogenesis osteoarthritis, biasanya digunakan untuk menginduksi in vitro model osteoarthritis di kondrosit(Yoke Yue and Kok- Yong, 2020).

Sebuah studi yang dilakukan di antara pasien dengan osteoarthritis menunjukkan bahwa IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-18, IL-17, IL-22, dan transforming growth factor- beta 1 (TGF β 1) meningkat pada jaringan sinovium yang meradang dibandingkan dengan jaringan yang tidak meradang. IL-17 menginduksi pelepasan IL-6, IL-8, dan TNF- α oleh fibroblas sinovial dan kondrosit, yang menyebabkan peradangan dan kerusakan tulang rawan. Ini disekresikan oleh T sel pembantu

17 (Th17), sel mast, dan sel mieloid. Selain itu, IL-17 mempromosikan perekrutan dan aktivasi neutrofil, yang merupakan tipe sel awal yang direkrut ke situs peradangan(Yoke Yue and Kok-Yong, 2020). Sintesis neutrofil yang diaktifkan beberapa faktor inflamasi, yang

mengatur proses inflamasi pada osteoarthritis. IL-17 telah terbukti hadir dalam cairan sinovial dari subset pasien dengan osteoarthritis stadium akhir(Yoke Yue and Kok- Yong, 2020).

2.1.2. Ekspresi gen inflamasi pada *Osteoarthritis (OA)*

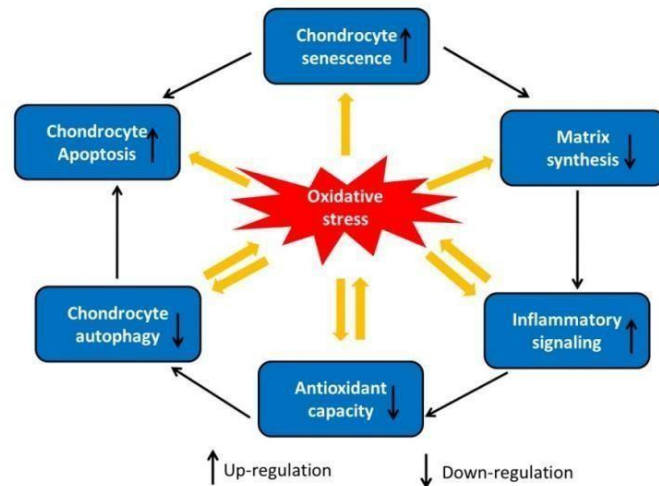
Pada *Osteoarthritis (OA)* dilaporkan adanya peningkatan bukti respon inflamasi dan destruktif dari sinovium yang memainkan peranan utama dalam OA, namun masih belum jelas sejauh mana peradangan merupakan inisiator utama untuk terjadinya proses kerusakan sendi. Sebagian menaruh perhatian khusus untuk membuktikan sejauh mana kekebalan dan respon terhadap penyembuhan luka dapat diaktifkan untuk mengontrol kecenderungan individu terhadap penyakit kronis seperti *Osteoarthritis (OA)* ini(H.N and V.B, 2015).

Sejumlah penanda genetik/genomik muncul pada *Osteoarthritis (OA)* yang berhubungan dengan fenotipe inflamasi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sebagian dari kerentanan genetik terhadap OA dapat dikodekan oleh variasi bawaan aktivitas sitokin. Menariknya, ada kemungkinan akibat gampangya penggunaan antibiotik telah menggeser peran sistem imun bawaan menjadi pelindung terhadap penyakit menular dan juga penyakit kronis terkait usia(H.N and V.B, 2015).

Fakta ini mungkin ditunjukkan oleh proses munculnya gen forkhead-box kelas O (FOXO), yang telah memediasi respon inflamasi, apoptosis, dan fungsi penghalang dari keratinosit yang terpapar bakteri. Secara khusus, FOXO1 mempromosikan penyembuhan luka dengan mengatur ekspresi transforming growth factor-beta (TGF- β) dan memainkan peran protektif melawan stres oksidatif(H.N and V.B, 2015).

FOXO1 dan FOXO3 juga ditemukan diekspresikan dalam

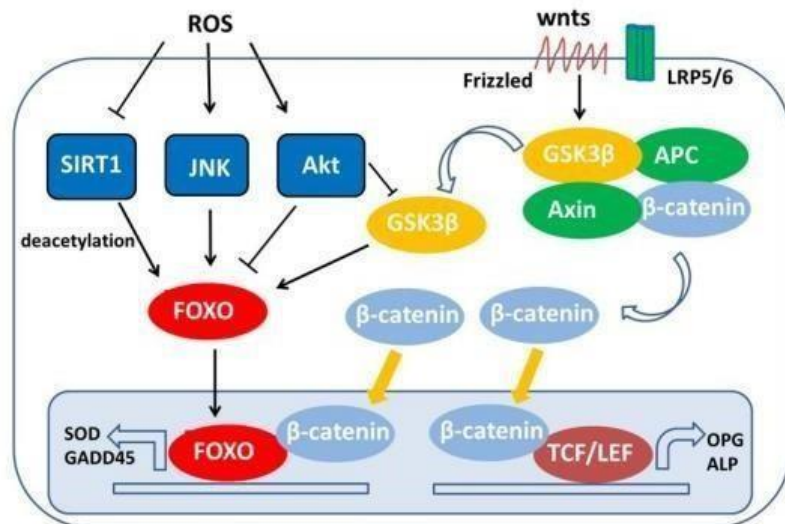
tulang rawan manusia, dan paparan pro-inflamasi sitokin menekan aktivitas FOXO1 di kondrosit. Selain itu, kondrosit dengan penurunan ekspresi faktor transkripsi FOXO lebih rentan terhadap apoptosis saat terpapar terhadap stres oksidatif. (Rikang et al., 2018)(H.N and V.B, 2015)(AnneS et al., 2011).



Gambar.2. Penginduksi stres oksidatif di kondrosit. Penginduksi stres oksidatif meningkatkan kondrosit penuaan, apoptosis kondrosit, dan pensinyalan inflamasi dan penurunan autophagy kondrosit, kapasitas antioksidan, dan sintesis matriks (Rikang et al., 2018).

Baru-baru ini, gen pro-apoptosis, PUMA, telah terbukti diaktifkan oleh jalur c-Jun N-terminal kinase (JNK)/c-Jun dalam regulasi apoptosis kondrosit di tulang rawan pasien dengan OA(H.N and V.B, 2015).

Selain itu, jalur pensinyalan Wnt, yang terlibat dalam homeostasis tulang rawan dan jaringan tulang, ditemukan diatur ke atas sementara inhibitornya (FRZB) diatur ke bawah di tulang rawan dari sendi dengan OA sedang hingga berat. Jalur pensinyalan Wnt dan perbaikan DNA juga telah diidentifikasi secara signifikan berkorelasi dengan penyembuhan tulang rawan articular (H.N and V.B, 2015).



Gambar.3. Aktivasi atau penghambatan Forkhead box O (FoxO) melalui pascatranslasi yang diinduksi ROS modifikasi. Peningkatan ROS intraseluler menginduksi aktivasi kinase JNK dan Akt dan menghambat deacetylase SIRT1 dan pensinyalan Wnt/β-catenin. Defosforilasi dan asetilasi status FoxO dapat menyebabkan induksi subset spesifik gen yang mengatur detoksifikasi seluler. FoxO = Forkhead box O faktor transkripsi, ROS = spesies oksigen reaktif, FRE = Respon FoxO elemen, SOD = superoksida dismutase, GADD45 = penghentian pertumbuhan dan kerusakan DNA 45, OPG = osteoprotegerin, TCF/LEF = faktor transkripsi spesifik sel T/faktor peningkat limfoid, Axin = penghambatan sumbu, APC = adenomatous polyposis coli.(Rikang et al., 2018).

Metode ekspresi gen yang divalidasi dengan baik telah mengidentifikasi peningkatan ekspresi interleukin (IL)-1β dalam leukosit darah perifer (PBL) pada pasien dengan OA lutut, disebabkan adanya peningkatan nyeri dan derajat kerusakan OA berdasarkan pemeriksaan radiografi (H.N and V.B, 2015).

Ada bukti yang menyakinkan bahwa efek epigenik yang melibatkan gen inflamasi merupakan komponen *Osteoarthritis (OA)* dan perubahan ekspresi gen ini juga sangat relevan dengan terjadinya penyakit ini. Perbedaan yang jelas dalam ekspresi gen inflamasi telah diidentifikasi dalam sendi *Osteoarthritis (OA)* dibandingkan dengan kontrol non-OA, dengan salah satu dari jaringan yang paling meradang adalah sinovium. (E.L et al.,

2015).

Sementara penyebab pasti peradangan sinovium (sinovitis) masih harus ditentukan, analisis microarray ekspresi gen menunjukkan peningkatan ekspresi gen efektor komplemen dan penurunan inhibitor komplemen di sinovium OA dibandingkan dengan kontrol (E.L et al., 2015).

Selanjutnya, IL-1 β telah dikaitkan dengan banyak gambaran patologi OA. Meskipun IL1R, yang mengkode reseptor IL-1, tidak diekspresikan secara berbeda dalam keadaan normal dibandingkan dengan fibroblas sinovial OA, IL-1R diregulasi pada tingkat protein dalam OA. Pensinyalan IL-1 β telah terbukti memodulasi ekspresi 909 dari 3459 gen dalam kondrosit articular manusia primer, termasuk induksi signifikan dari banyak kemokin dan mediator inflamasi, seperti gen IL11 dan CCL5. Oleh karena itu, peningkatan regulasi IL1R pasca-transkripsi pada OA cenderung menyebabkan perubahan signifikan dalam ekspresi gen inflamasi. Sejalan dengan ini, perbandingan OA tulang rawan ke tulang rawan yang utuh secara mikroskopis dari individu tanpa OA mengidentifikasi peningkatan regulasi kemokin dan sitokin yang berbeda gen di tulang rawan OA, termasuk IL8 dan LIF (E.L et al., 2015).

Adanya kesamaan dari ekspresi gen terkait inflamasi pada kartilago antara OA lutut dan OA pinggul jika dibandingkan dengan kontrol yang tidak sakit. Sebagai contoh, ekspresi diferensial gen dalam jalur pensinyalan TREM1, terlibat dalam amplifikasi respon inflamasi, terjadi pada tulang rawan articular OA lutut dan pinggul bila dibandingkan dengan kontrol. Selain perbedaan spesifik jaringan yang terlokalisasi dalam gen ekspresi, peningkatan sistemik ekspresi gen inflamasi adalah juga hadir di OA. Ditinjau dari perspektif epigenetik dan ekspresi gen, gen yang terkait peradangan memiliki peran yang jelas

dalam proses penyakit OA. Sebagian besar studi epigenetik dan ekspresi gen difokuskan pada tulang rawan atau jaringan sinovial. (E.L et al.,2015).

Salah satu temuan paling menarik dari analisis epigenetik adalah bahwa pasien OA dapat dikelompokkan menjadi mereka yang gen terkait peradangan secara aktif terlibat dalam OA dan mereka yang memiliki gen terkait peradangan tanpa OA(E.L et al., 2015).

Dari perspektif genetik, gen yang berhubungan dengan peradangan tidak relevan dengan penyakit OA, tidak terbukti kuat bahwa DNA polimorfisme pada gen ini berkontribusi terhadap kerentanan OA(E.L et al., 2015).

2.1.3. *STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription)*

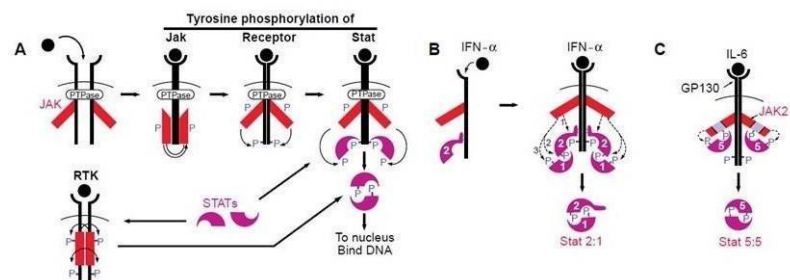
2.1.3.1. Regulasi dan Aktivasi STAT

STAT adalah family dari sitoplasma yang merupakan protein yang dapat diaktifkan sebagai kontrol terhadap gen ketika sel bertemu dengan berbagai polipeptida ekstraseluler. Jalur JAK-STAT adalah salah satu sinyal yang paling dipahami sebagai kaskade transduksi(Murray, 2007). Reseptor tempat JAK (Janus Kinase) terikat sering disebut sebagai reseptor sitokin. Liganya termasuk IFN- α , β dan - γ ; interleukin (IL) 2 sampai 7, 10 sampai 13, dan 15; dan eritropoietin, hormon pertumbuhan, prolaktin, trombopoietin, dan polipeptida lainnya(James E., 1997).

Aktivasi pensinyalan JAK-STAT, menjelaskan bahwa reseptor sitokin keterlibatan mengaktifkan kombinasi JAK terkait, yang pada gilirannya memfosforilasi domain sitoplasma reseptor untuk memungkinkan perekrutan STAT, yang pada gilirannya terfosforilasi, dimerisasi dan bergerak ke nukleus untuk

mengikat urutan tertentu dalam genom dan mengaktifkan ekspresi gen.(Murray, 2007).

Di dalam nucleus ini, STAT di dimerisasi ke area spesifik dari DNA terhadap regulasi gen target yang bertanggungjawab atas regulasi migrasi, proliferasi dan apoptosis(Eliana Rita et al., 2020).

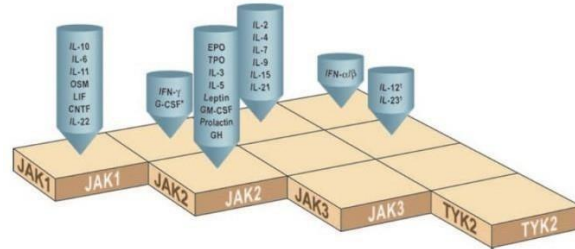


Gambar.4. aktivasi STAT mekanisme. (A) Mekanisme umum STAT fosforilasi tirosin oleh baik JAK atau RTK. (B) Interaksi Stat2 dengan reseptor IFN-a tidak terikat rantai [rantai IFNAR-2 (12)]diikuti oleh ligan-dimediasi perakitan reseptor. Tiga fosforilasi dikatalisis oleh JAK kemudian terjadi (1–3): reseptor fosforilasi tirosin, fosforilasi Stat2, dan terakhir fosforilasi Stat1. (C) Rekrutmen domain Stat5 ke JH2 (berbintik ungu) dari reseptor JAK2 yang terkait dengan rantai reseptor transmembran GP130. JH2 adalah salah satu dari tujuh domain yang dilestarikan dalam JAK dan merupakan domain pseudo-kinase (3, 6).(James E., 1997).

Jalur sinyal Sitokin melalui dua jenis jalur: Jalur JAK-STAT dan jalur lain yang biasanya melibatkan aktivasi kaskade MAPkinase dimana jalur JAK-STAT merupakan jalur yang penting dalam sistem patologis (Murray, 2007).

Ada ~36 sitokin kombinasi reseptor yang merespons ~38 sitokin (IFN tipe I sebagai satu karena semuanya memberi sinyal IFN- α , β R). Sel dan jaringan yang berbeda mengekspresikan reseptor yang berbeda kombinasi yang merespon kombinasi sitokin yang unik

untuk lingkungan mikro atau respons sistemik dari organisme. Oleh karena itu, pada waktu tertentu, satu sel dapat berintegrasi sinyalnya dari beberapa reseptor sitokin (Murray, 2007).



Gambar.5. Mayoritas reseptor sitokin menggunakan tiga kombinasi JAK. Ditunjukkan adalah kasus yang dipelajari dengan baik di mana penggunaan JAK oleh masing-masing reseptor sitokin telah ditetapkan oleh studi genetik dan biokimia. Pengecualian yang ditampilkan adalah G-CSFR (*) di mana saat ini tidak jelas apakah JAK1 dan JAK2 diperlukan bersama. Selain itu, IL-12R (†) dan IL-23R (†) memerlukan TYK2 tetapi persyaratan untuk JAK2 belum ditentukan secara pasti. Reseptor yang menggunakan JAK2 dan JAK3, JAK3 saja, TYK2 saja, atau JAK3 dan TYK2 belum dijelaskan (Murray, 2007).

2.1.3.2. Hubungan OA, JAK-STAT, IL-1 dan IL-6

Mayoritas sitokin yang mempengaruhi hematopoiesis menggunakan reseptor dari superfamily reseptor sitokin, reseptor sitokin ini dominan berada di ekstraselular yang terlibat dalam ikatan ligan (JAMES et al., 1997).

Perangsangan IL-1 β pada chondrocyte pasien OA lutut telah meningkatkan berbagai inflamasi sitokin seperti IL-6, IL-8 dan TNF- α . Dimana IL-6 dan IFN- γ secara dominan mengaktifkan JANUS KINASE transduser sinyal dan activator jalur transkripsi (JAK/STAT) (Zhiguang et al., 2019).

Penghambatan respon inflamasi IL-1 β dilaporkan bisa menjadi pengobatan terapi lini pertama untuk

pasien OA, dan ini juga menunjukkan bukti aktivasi pensinyalan MAPK oleh IFN- γ (Charles J, 2018).

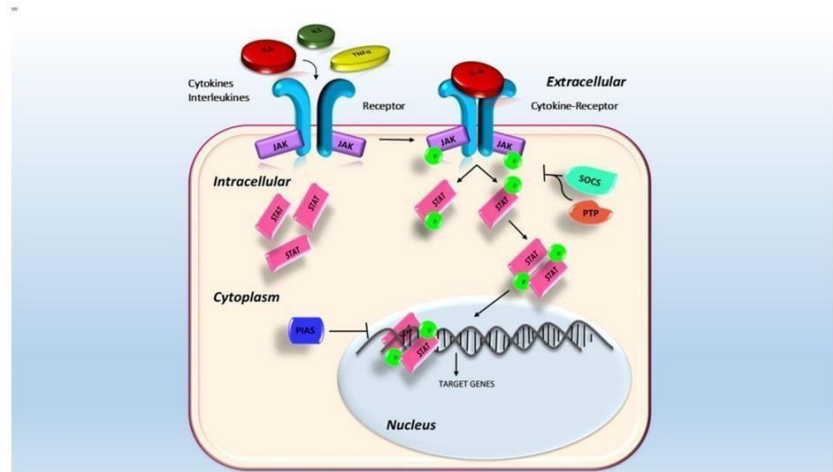
Interleukin 1 (IL-1) adalah pengatur peradangan dengan mengendalikan proses imun bawaan. IL-1 sendiri diekspresikan dalam berbagai jaringan dan sel. IL-1 disintesis

karena stress jaringan. Dengan mengikat reseptornya, itu akan mengaktifkan respons imun lainnya dan perubahan hematologis lainnya. IL-1 juga terkait dengan patogenesis OA lutut karena fakta bahwa peningkatan ekspresi sitokin ini berkorelasi dengan gejala yang memburuk dan lebih progresif gambaran radiologis lutut OA. Interleukin-1 dianggap sebagai sitokin proinflamasi utama selain Tumor Faktor Nekrosis (TNF) dan IL-6, dan aktivitas biologisnya dimediasi melalui reseptor permukaan sel spesifik yang dikenal sebagai Reseptor IL-1 tipe I (IL-1R1). Penghambat alami lain dari Aktivitas IL-1, antagonis reseptor IL-1 (IL-1RA), diproduksi oleh beberapa jenis sel termasuk kondrosit dan synovial fibroblas, dan berfungsi sebagai antagonis kompetitif dalam proses osteoarthritis (Nicolaas C et al., 2022).

Mekanisme lain adalah melalui pengikatan IL-1 β ke reseptor IL-1 (IL-1R1), yang menginduksi reaksi pro-inflamasi yang menghasilkan destruksi tulang rawan penghancuran. Destruksi kartilago progresif dapat diikuti oleh destruksi subkondral yang bermanifestasi sebagai progresif penilaian radiologi. Reaksi pro-inflamasi juga menyebabkan peradangan sinovial, yang mungkin bermanifestasi sebagai rasa sakit (Nicolaas C et al., 2022).

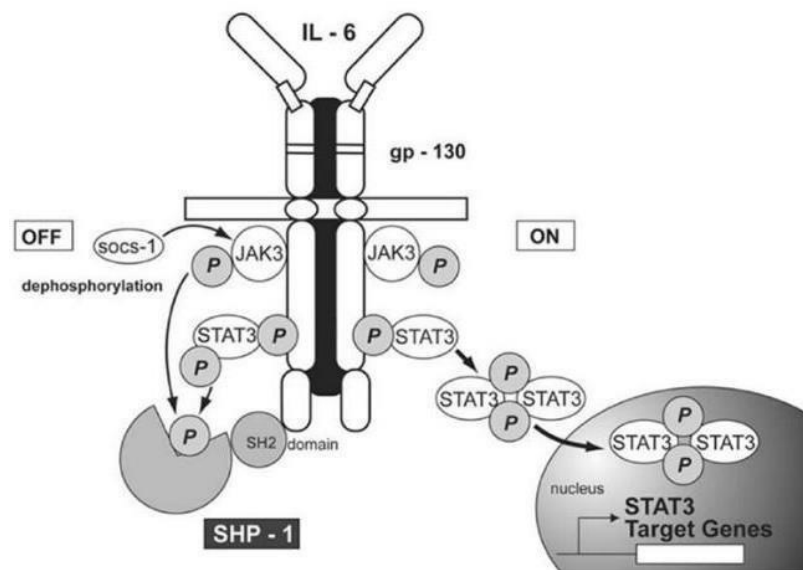
Sitokin proinflamasi umumnya diproduksi oleh

jaringan adiposa, yang juga diekspresikan oleh osteoblas, sel synoviom dan kondrosit, telah digambarkan sebagai elemen penting dalam peradangan sendi dan degradasi matriks ekstraseluler. Kadar adiponektin dan leptin yang tinggi dapat diukur dalam cairan sinovial pasien dengan osteoarthritis dan dilaporkan berkorelasi dengan tingkat keparahan osteoarthritis(M et al., 2013).



Gambar.6. Pensinyalan jalur JAK/STAT. Pengikatan sitokin ke reseptornya menginduksi aktivasi JAK, yang memfosforil memakan elemen STAT. Setelah pembentukan dimer STAT, mereka bermigrasi ke nukleus dan, dengan mengikat gen target, mereka memodifikasi transkripsi DNA. Beberapa elemen dapat mengatur kaskade sinyal(Eliana Rita et al., 2020).

Interleukin-6 juga memainkan peranan kunci dalam pergantian tulang “Bone Turnover”, bukti eksperimental terkini telah menunjukkan bahwa IL-6 menyajikan dua bentuk, CIS dan TRANS dimana Bentuk TRANS IL-6 mempromosikan pembentukan tulang “Bone Formation”(Eliana Rita et al., 2020).



Gambar.7. Interaksi IL-6 dengan kompleks IL- 6R α /gp130 mengaktifkan JAK3 yang menghasilkan fosforilasi STAT3 (p-STAT3) (ON). SHP-1 adalah fosfatase yang mengatur fosforilasi STAT dengan de- fosforilasi p-STAT3 (OFF). IL, interleukin; JAK, Janus kinase.(Eliana Rita et al., 2020).

Studi lain menunjukkan bahwa, dengan aktivasi STAT3 dan keterlibatan reseptor subunit GP130 untuk mentransduksi sinyal sehingga IL-6 dapat sangat menghambat deferensiasi osteoklas yang diinduksi RANKL Sebaliknya IL-6 merangsang produksi RANKL dalam osteoblast dan itu juga bisa menginduksi peningkatan osteoklas dan resorpsi tulang(Eliana Rita et al., 2020).

Positive/Negative
effect of cytokines on bone cells,
processes and bone remodeling

Cytokine	Effect on Osteoblast and bone formation	Effect on osteoclast and bone resorption
IL-1	–	Positive effect (↑ osteoclastogenesis) (↑ bone resorption)
IL-3	Positive effect (↑ osteoblastogenesis) (↑ bone formation)	Negative effect (↓ osteoclastogenesis) (↓ bone resorption)
IL-4	–	Negative effect (↓ osteoclastogenesis) (↓ bone resorption) (↓ osteoclast activity)
IL-6 ●	Positive effect (↑ osteoblastogenesis) (↑ bone formation)	Negative/Positive effect ● (↓ osteoclastogenesis) (↑ bone resorption) (↑ osteoclasts formation)
IL-7 ●	–	Negative/Positive effect ● (↓ osteoclastogenesis) (↓ bone resorption) (↓ osteoclast activity) (↑ osteoclasts formation)
IL-12	–	Negative effect (↓ osteoclastogenesis)
IL-15	–	Positive effect (↑ osteoclastogenesis)
IL-17	Positive effect (↑ osteoblastogenesis) (↑ bone formation)	–
IL-23	–	Negative effect (↓ osteoclastogenesis)
IL-27	Involvement in osteoblasts (to be studied)	Negative effect (↓ osteoclastogenesis)

↑, Stimulation, increase, promotion; ↓, Inhibition, decrease, induction; ●, uncertain/contrasting effect

Tabel.1. Positif negative efek sitokin pada sel tulang, proses dan remodeling tulang(Eliana Rita et al., 2020).

2.1.4. Terapi *Platelet-Rich-Plasma (PRP)*

Platelet-Rich-Plasma (PRP) banyak digunakan oleh ahli bedah ortopedi untuk berbagai kondisi di seluruh dunia karena sifatnya yang potensi penyembuhan yang terkandung dalam trombosit. Hasil positif telah diamati secara seragam oleh berbagai peneliti untuk OA derajat awal lutut dalam beberapa tahun terakhir. *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* sudah jelas menunjukkan keunggulannya dibandingkan dengan asam *Hyaluronic* dan plasebo dalam berbagai uji klinis dan tidak diragukan lagi merupakan pilihan terbaik tersedia yang dapat memodifikasi prosespenyakit pada awal *Osteoarthritis (OA)* lutut. Pelepasan faktor pertumbuhan dari *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* terjadi segera setelah disuntikkan ke sendi rematik, dan efeknya dapat bertahan selama bertahun-tahun(Mandeep S et al., 2018).

2.1.4.1. Definisi *Platelet-Rich-Plasma (PRP)*

Adalah trombosit kecil, badan tidak berinti di perifer darah yang dikenal terutama karena perannya dalam hemostasis. Trombosit mengandung sejumlah protein, sitokin, dan faktor bioaktif lain yang memulai dan mengatur aspek penyembuhan luka. Jumlah trombosit normal dalam darah berkisar dari 150.000/ μ L hingga 350.000/ μ L. Plasma adalah cairan bagian dari darah dan mengandung faktor pembekuan dan lainnya protein dan ion. Plasma kaya trombosit, dengan trombosit konsentrasi minimal 1 000 000 trombosit/ μ L dalam 5 mL plasma, dikaitkan dengan peningkatan penyembuhan. Plasma kaya trombosit mengandung peningkatan pertumbuhan 3 hingga 5 kali lipat konsentrasi faktor. Konsentrasi trombosit yang lebih besar tidak terbukti lebih meningkatkan penyembuhan, meskipun sejumlah variabel mempengaruhi aktivitas biologis berbagai sediaan *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* (Timothy E et al., 2009).

Istilah "konsentrat trombosit" telah digunakan, tetapi tidak akurat karena ini menyiratkan solid komposisi trombosit tanpa plasma, yang tidak akan menggumpal. Istilah "gel trombosit" juga telah digunakan, tetapi ini juga tidak benar karena gel tidak mengandung molekul adhesi sel yang ada dalam gumpalan. Plasma kaya trombosit berbeda dari "fibrin-glue" karena gumpalan di *Platelet- Rich-Plasma (PRP)* hanya mengandung konsentrasi fibrin yang sama dengan bekuan darah normal (Timothy E et al., 2009).

2.1.4.2. Komposisi dan Jenis *Platelet-Rich-Plasma (PRP)*

Platelet-Rich-Plasma (PRP) berpotensi meningkatkan penyembuhan dengan pengiriman berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin dari *a-granula* yang terkandung dalam trombosit. Sitokin dasar yang diidentifikasi dalam trombosit termasuk faktor pertumbuhan transformasi- β (TGF), faktor pertumbuhan yang diturunkan dari trombosit (PDGF), pertumbuhan seperti insulin faktor (IGF-I, IGF-II), faktor pertumbuhan fibroblas (FGF), faktor pertumbuhan epidermal, faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF), dan faktor pertumbuhan sel endotel. Sitokin ini memainkan peran penting dalam proliferasi sel, kemotaksis, diferensiasi sel, dan angiogenesis (Timothy E et al., 2009).

Tabel.2. Growth factors Identified Within Platelet-Rich

Growth Factors Identified Within Platelet-Rich Plasma and Their Physiologic Effect^a

Factor	Target Cell/Tissue	Function
PD-EGF	Blood vessel cells, outer skin cells Fibroblasts, and many other cell types	Cell growth, recruitment Differentiation, skin closure Cytokine secretion
PDGF A + B	Fibroblasts, smooth muscle cells, chondrocytes, osteoblasts, mesenchymal stem cells	Potent cell growth, recruitment Blood vessel growth, granulation Growth factor secretion; matrix formation with BMP's (collagen and bone)
TGF- β 1	Blood vessel tissue, outer skin cells Fibroblasts, monocytes TGF gene family includes the BMP's Osteoblasts—highest levels of TGF- β r	Blood vessel ($\pm$), collagen synthesis Growth inhibition, apoptosis (cell death) Differentiation, activation
IGF-I, II	Bone, blood vessel, skin, other tissues Fibroblasts	Cell growth, differentiation, recruitment Collagen synthesis with PDGF
VEGF, ECGF	Blood vessel cells	Cell growth, migration, new blood vessel growth Anti-apoptosis (anti-cell death)
bFGF	Blood vessels, smooth muscle, skin Fibroblasts, other cell types	Cell growth Cell migration, blood vessel growth

^aPD-EGF, platelet-derived epidermal growth factor; PDGF, platelet-derived growth factor; BMP, bone morphogenetic protein; TGF, transforming growth factor; IGF, insulin-like growth factor; VEGF, vascular endothelial growth factor; ECGF, endothelial cell growth factor; bFGF, basic fibroblast growth factor.

Plasma and Their Physiologic Effect (Timothy E et al., 2009).

Nilai tertentu dari *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* adalah bahwa sitokin asli ini semuanya ada dalam kondisi biologis "normal" rasio. Sebaliknya, sitokin eksogen seperti bone morphogenic protein (BMP) diproduksi oleh teknologi rekombinan dan dikirim dalam dosis tinggi menggunakan kendaraan pembawa. Karena penyembuhan adalah proses yang sangat kompleks, ada perbedaan keterbatasan kemampuan terapi faktor

tunggal (yaitu, pengiriman faktor pertumbuhan eksogen) untuk meningkatkan penyembuhan jaringan (Timothy E et al., 2009).

Faktor bioaktif juga terkandung dalam *Granula* padat dalam trombosit. *Granula* padat mengandung serotonin, histamin, dopamin, kalsium, dan adenosin. Faktor Non-pertumbuhan ini memiliki efek mendasar pada aspek biologis dari penyembuhan luka (Timothy E et al., 2009).

3 (tiga) tahap penyembuhan yaitu inflamasi, proliferasi, dan remodelling. Tahap inflamasi dimulai dengan cedera jaringan; akibatnya, trombosit dirangsang untuk mengumpulkan dan mengeluarkan faktor pertumbuhan, sitokin, dan faktor hemostatik penting pada tahap awal jalur intrinsik dan ekstrinsik dari kaskade pembekuan. Histamin dan serotonin dilepaskan oleh trombosit dan keduanya berfungsi untuk meningkatkan permeabilitas kapiler, yang memungkinkan sel inflamasi memiliki akses yang lebih besar ke lokasi luka dan mengaktifkan makrofag. *Leukosit* polimorfonuklear bermigrasi menuju daerah peradangan dan, segera setelah itu, sel-sel mulai berproliferasi sementara fibroblas membantu membentuk jaringan dasar. Aktivasi reseptor adenosin memodulasi peradangan selama penyembuhan luka (Timothy E et al., 2009).

Bioactive Molecules Found in the α -Granules of Platelets ^a		
General Activity Categories	Specific Molecules	Biologic Activities
Growth factors	TGF- β	Promotes matrix synthesis
	PDGF	Chemoattraction, cell proliferation
	IGF-I, II	Cell proliferation, maturation, bone matrix synthesis
	FGF	Angiogenesis, fibroblast proliferation
	EGF	Cell proliferation
	VEGF	Angiogenesis
	ECGF	Endothelial cell proliferation, angiogenesis
Adhesive proteins	Fibrinogen	Blood clotting cascade (fibrin clot formation)
	Fibronectin	Binds to cell-surface integrins, affecting cell adhesion, cell growth, migration, and differentiation
	Vitronectin	Cell adhesion, chemotaxis
	Thrombospondin-1	Inhibition of angiogenesis
Clotting factors	Factor V, factor XI, protein S, antithrombin	All play a role in thrombin activation and eventual fibrin clot formation
Fibrinolytic factors	Plasminogen	Plasmin production (leads to fibrinolysis)
	Plasminogen activator inhibitor	Regulation of plasmin production
	α -2 antiplasmin	Inactivation of plasmin
Proteases and antiproteases	TIMP-4	Regulation of matrix degradation
	Metalloprotease-4	Matrix degradation
	α 1-antitrypsin	Inhibits a wide variety of proteases and enzymes
Basic proteins	Platelet factor 4	Inhibition of angiogenesis
	β -thromboglobulin	Platelet activation, inhibition of angiogenesis
	Endostatins	Inhibitors of endothelial cell migration and angiogenesis
Membrane glycoproteins	CD40 ligand	Inflammation, synthesis of interleukins, and integrin production; platelet endothelial cell adhesion, cell signaling, modulation of integrin activation molecule-1 (PECAM-1) on leukocytes
	P-selectin	Vascular cell adhesion molecule, aids in binding and recruitment of leukocytes to inflamed tissue

^aTGF, transforming growth factor; PDGF, platelet-derived growth factor; IGF, insulin-like growth factor; FGF, fibroblast growth factor; EGF, epidermal growth factor; VEGF, vascular endothelial growth factor; ECGF, endothelial cell growth factor; TIMP-4, tissue inhibitor of metalloprotease-4.

Tabel.3. Molekul Bioaktif Ditemukan dibutiran Trombosit(Timothy E et al., 2009).

Trombosit di *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* dikirim dalam gumpalan, yang mengandung beberapa molekul adhesi sel termasuk fibronektin, fibrin, dan vitronektin. Molekul adhesi sel ini berperan dalam migrasi sel, dan dengan demikian juga menambah potensi aktivitas biologis *Platelet-Rich-Plasma (PRP)*. Gumpalan itu sendiri juga bisa berperan dalam penyembuhan luka dengan bertindak sebagai matriks konduktif atau "*Scaffold*" di mana sel-sel dapat menempel dan memulai proses penyembuhan luka(Timothy E et al., 2009).

**Bioactive Molecules Found in the Dense
Granules of Platelets^a**

Specific Molecules	Biologic Activities
Serotonin	Vasoconstriction, increased capillary permeability, macrophage attraction
Histamine	Increased capillary permeability, attract and activate macrophages
Dopamine	Regulation of heart rate and blood pressure, neurotransmitter
ADP	Promotes platelet aggregation
ATP	Participates in platelet response to collagen
Ca ⁺⁺	Cofactor for platelet aggregation and fibrin formation
Catecholamines	Sympathomimetic hormones released by the adrenal glands in response to stress

^aADP, adenosine diphosphate; ATP, adenosine triphosphate.

Tabel.4. Molekul Bioaktif Ditemukan dalam Butiran padat Trombosit(Timothy E et al., 2009).

2.1.4.3. Preparasi *Platelet-Rich-Plasma (PRP)*

Platelet-Rich-Plasma (PRP) hanya dapat dibuat dari antikoagulan darah. *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* ini tidak dapatdibuat dari darah utuh yang membeku karena trombosit menjadi bagian dari bekuan. *Platelet-Rich- Plasma (PRP)* juga tidak dapat dibuat dari serum. Serum adalah bagian cairan bening darah yang tersisa setelah sel-sel darah dan protein pembekuan telah dibuang; serum mengandung sangat sedikit trombosit(Timothy E et al., 2009).

Pembuatan *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* dimulai dengan penambahan sitrat ke seluruh darah untuk mengikat kalsium terionisasi dan menghambat kaskade pembekuan. Ini diikuti oleh satu atau dua langkah sentrifugasi(Timothy E et al., 2009). Langkah sentrifugasi pertama memisahkan sel darah merah dan sel darah putih dari plasma dan trombosit. Sel darah

merah (berdiameter 7 μm) dan sel darah putih (berdiameter 7-15 μm) jauh lebih besar dari trombosit (diameter 2 μm); sel-sel ini terpisah dari plasma dan trombosit. Langkah sentrifugasi kedua lebih lanjut memusatkan platelet, menghasilkan *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* yang terpisah dari *Platelet-Poor-Plasma* (Timothy E et al., 2009).

Satu perbedaan penting adalah apakah preparasi *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* kaya akan leukosit atau miskin leukosit. Karena leukosit diketahui menghasilkan VEGF34 dan memiliki sifat antimikroba, mereka mungkin memainkan peran penting dalam peningkatan lebih lanjut proses perbaikan jaringan, tetapi mereka juga dapat menyebabkan peningkatan peradangan lokal (Tiffany N et al., 2010).

Beberapa penelitian telah menunjukkan perbedaan dalam konsentrasi trombosit dan faktor pertumbuhan dalam *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* yang dihasilkan oleh sistem pemisahan trombosit. Faktor pertumbuhan (PDGF-ab, PDGF-bb, konsentrasi TGF- β 1 aktif, dan VEGF) ditentukan oleh ELISA (Tiffany N et al., 2010).

Menurut penelitian sebelumnya, *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* dapat diklasifikasikan menurut 3 komponen: (1) bilangan mutlak trombosit, (2) cara aktivasi trombosit terjadi, dan (3) ada atau tidak adanya sel darah putih (WBC). Namun, jumlah sel tidak dapat secara komprehensif memprediksi komposisi GF tergantung beberapa persiapan individu, variabilitas dalam metode isolasi, kecepatan centrifuge/waktu, dan tingkat aktivasi sediaan *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* dapat menghasilkan sediaan plasma dengan perbedaan

kuantitas atau kualitas sitokin. Beberapa penelitian telah menunjukkan perbedaan konsentrasi trombosit dan sitokin dalam Sistem *Platelet-Rich-Plasma (PRP)*, tetapi ini hanya berfokus pada membandingkan konsentrasi trombosit atau sitokin setelah masa inkubasi yang tidak pasti(Joo han et al., 2015).

Karakteristik biomolekuler *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* dalam hal: kandungan sitokin penting untuk menentukan metode aplikasi lokal serta untuk mengevaluasi efektivitas dari prosedur(Joo han et al., 2015).

Konsentrasi *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* trombosit yang optimal untuk penyembuhan dan regenerasi jaringan diyakini 3 hingga 5 kali lebih tinggi daripada darah utuh, dan $1000 \times 10^3 \text{ cells}/\mu\text{L}$ secara luas dianggap sebagai konsentrasi trombosit yang efektif untuk menginduksi respon seluler lokal yang efisien. Di samping itu, konsentrasi trombosit 6 kali lebih tinggi dari keseluruhan darah telah dilaporkan memiliki efek penghambatan pada penyembuhan. Sebaliknya, efek dari sel darah putih yang sangat terkonsentrasi di persiapan *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* telah banyak diperdebatkan. *Leukocyte* di *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* mungkin memainkan peran antimikroba yang berharga tetapi mungkin menghambat penyembuhan jaringan dengan memproduksi sitokin katabolik yang aktif secara biologis. Sediaan *Leukocyte-Rich* tampaknya tidak memperlihatkan eksklusifitas baik atau buruk(Joo han et al., 2015).

Untuk beberapa indikasi tertentu seperti tendinopati kronis, *Leukocyte-Rich-Platelet-Rich-Plasma (LR-PRP)*

telah terbukti lebih unggul dari *Leukocyte-Poor- Platelet-Rich-Plasma (LP-PRP)* secara klinis percobaan. Faktor terpentingnya adalah adanya fase pertama penyembuhan tendon yaitu terjadinya peradangan(Joo han et al., 2015).

Ini mungkin menjelaskan mengapa *Leukocyte- Rich-Platelet-Rich-Plasma (LR-PRP)* adalah pilihan yang lebih baik untuk tendinopati kronis dibandingkan dengan *Leukocyte- Poor-Platelet-Rich-Plasma (LP- PRP)*. Dalam indikasi lain seperti *Osteoarthritis (OA)* lutut, lebih baik penggunaannya terutama dengan *Leukocyte-Poor-Platelet-Rich-Plasma (LP- PRP)*(Joo han et al., 2015).

Efek leukosit mungkin tergantung pada konsentrasi *Leukosit* atau keadaan biologis jaringan yang terluka, menunjukkan perlunya penelitian lebih lanjut tentang peran *Leukosit* pada sediaan *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* dalam indikasi pasien yang berbeda(Joo han et al., 2015).

2.1.4.4. *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* dan antikoagulan *Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA)*.

Platelet-Rich-Plasma (PRP) telah banyak digunakan dalam pengaturan klinis, namun prosedur standar *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* produksi masih kurang, terutama prosedur yang berkaitan dengan durasi dan kecepatan sentrifugasi, dan juga antikoagulan yang digunakan(Munawirah et al., 2020).

Penggunaan antikoagulan juga sangat penting faktor dalam menjaga fungsi, integritas, dan morfologi trombosit. Beberapa peneliti berpendapat bahwa penggunaan *Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA)* antikoagulan dapat merusak membran trombosit, dan

merekomendasikan penggunaan Asam Sitrat Dekstrosa (ACD). Namun, penelitian Araki et al. pada tahun 2012 menunjukkan bahwa penggunaan antikoagulan *Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA)* meningkatkan trombosit jumlah dan kadar PDGF menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan penggunaan antikoagulan ACD, Ini karena penggunaan *Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA)* menunjukkan efektivitas yang lebih baik dalam mencegah agregasi trombosit dibandingkan dengan penggunaan ACD. (Munawirah et al., 2020).

Jumlah trombosit dan kadar PDGF-BB tertinggi ditemukan pada PRP dengan EDTA yang dihasilkan dari putaran pertama pada 2800 RPM dalam lima menit, dan putaran kedua pada 3800 RPM dalam tujuh menit. (Munawirah et al., 2020).

2.1.4.5. Ideal terapi *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* sebagai injeksi intraarticular pada *Osteoarthritis (OA)* lutut

Persiapan *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* menunjukkan kualitas yang berbeda dalam hal kinetika pelepasan sitokin tergantung pada protokol aktivasi yang digunakan. Metode (*SS/Single-Spin*) dan (*DS/Double-Spin*) berbeda efeknya pada pelepasan sitokin, dan efek ini bervariasi di antara sitokin dianalisis (Y. H. et al., 2016).

Metode putaran tunggal (*SS/Single-Spin*) umumnya menghasilkan konsentrasi yang lebih rendah dari trombosit dan sel darah putih *Leukocyte-Poor- Platelet - Rich - Plasma (LP- PRP)*, dan metode (*DS/Double-Spin*) menghasilkan konsentrasi trombosit yang lebih tinggi dan sel darah

putih (*Leukocyte-Poor-Platelet-Rich-Plasma (LP-PRP)*)(Y. H. et al., 2016).

Dijelaskan juga bahwa suntikan intra articular *Leukocyte-Poor-Platelet-Rich-Plasma (LP-PRP)* dapat memberikan peningkatan fungsional yang signifikan secara klinis setidaknya selama 1 tahun pada pasien dengan *Osteoarthritis (OA)* lutut ringan sampai sedang(Jia Zhu et al., 2020).

Sebagai suatu produk autologus yang berasal dari darah pasien sendiri melalui proses sentrifugasi densitas gradien, *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* mengandung berbagai faktor pertumbuhan dan bioaktif lainnya molekul, yang dapat mengatur proses inflamasi yang menyimpang, meregenerasi struktur jaringan dan dengan demikian meningkatkan penyembuhan jaringan. *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* autologus melibatkan risiko minimum reaksi imun dan transmisi penyakitmenular(Jia Zhu et al., 2020).

Dikatakan *Platelet-Rich-Plasma (PRP)*, memberi hasil yang efektif mengandung konsentrasi (*GF/Growth Factors*) dan *platelets* lebih dari 1,500,000/ μ l(Tahir Mutlu et al., 2016).

2.1.4.6. Sediaan dan periode penyuntikan *Platelet-Rich-Plasma (PRP)*

Sampai saat ini proses pembuatan PRP belum distandarisasi. Sebuah tinjauan sistematis oleh Chahla, Cinque, dan Piuizzi yang melibatkan penelitian yang diterbitkan pada tahun 2006-2016 menemukan protokol dan persiapan *Platelet- Rich-Plasma (PRP)* yang digunakan dalam klinis percobaan tidak konsisten dan tidak standar sehingga menghasilkan efek yang

berbeda(Munawirah et al., 2020).

Araki dkk. Juga menyebutkan bahwa non- standarisasi pembuatan protokol *Platelet- Rich - Plasma (PRP)* untuk uji klinis membuat kemanjuran PRP *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* masih bisa diperdebatkan. Oleh karena itu, standarisasi proses manufaktur *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* diperlukan untuk mendapatkan jumlah trombosit dan tingkat faktor pertumbuhan dengan pasti. Standardisasi harus mempertimbangkan faktor- faktor yang mempengaruhi kuantitas dan kualitas *Platelet- Rich-Plasma (PRP)*, termasuk jumlah siklus sentrifugasi(tunggal atau ganda), kecepatan dan panjang sentrifugasi, suhu selama proses pembuatan, antikoagulan yang digunakan, dan teknik pengambilan sampel. Kecepatan dan durasi sentrifugasi adalah satu faktor yang sangat bervariasi yang digunakan dalam persiapan proses produksi *Platelet- Rich-Plasma (PRP)*(Munawirah et al., 2020).

Penelitian oleh Nugraha et al. yang menggunakan 30 pasien perawatan menggunakan berbagai intervensi (kecepatan dan durasi) dari sentrifugasi. Hasil studi tersebut menemukan bahwa peningkatan trombosit tertinggi diperoleh pada kecepatan 1300 RCF selama 5 menit pada sentrifugasi pertama dan kecepatan 2300 selama 7 menit dengan peningkatan trombosit 4.11 waktu(Munawirah et al., 2020).

D. Tahir Mutlu et al. telah menggunakan sediaan *Platelet- Rich-Plasma (PRP)* pada penelitiannya sebanyak 5 ml darah yang telah dihasilkan dari 14 ml darah subyek penelitian dengan sentrifugasi dengan kecepatan 3700 rpm, selama 7 menit yang kemudian

disuntikan secara intra artikular pada lutut yang mengalami *Osteoarthritis (OA)* dengan dosis yang sama diulang setelah 1 bulan paska penyuntikan pertama *Platelet-Rich-Plasma (PRP)*, kemudian di follow-up setiap 1,3,6, dan 12 bulan sejak injeksi pertama(Tahir Mutlu et al., 2016).

Spesimen *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* dikumpulkan seperti yang dijelaskan oleh Filardo dkk, sebanyak 45 ml sampel darah vena diambil dari vena antecubital ke dalam 50 ml injector yang berisi 4 ml natrium sitrat. Sampel darah disentrifugasi pada 1480 rpm selama 6 menit pada suhu kamar untuk memisahkan sel darah merah dari buffy coat dan lapisan plasma atas. Mantel buffy dan lapisan plasma atas dikumpulkan dengan hati-hati menggunakan pipet serologis ke dalam tabung centrifuge baru untuk tidak menghilangkan lapisan eritrosit, dan disentrifugasi lagi pada 3400 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan plasma dua bagian, yang terdiri dari plasma miskin trombosit dan bagian yang terdiri dari plasma kaya trombosit. Tiga perempat bagian atas fraksi plasma dibuang dan sisanya dipertahankan, yang berisi sekitar 7 ml konsentrat *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* yang mengandung leukosit, 1 ml dikirim ke laboratorium untuk analisis kualitas (jumlah trombosit dan jumlah leukosit), untuk menilai aktivasi pembekuan trombosit, kalsium klorida ditambahkan ke *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* akhir segera sebelum injeksi. Semua prosedur dilakukan dalam kondisi steril(Ke et al., 2018).

Prosedur diatas diulang sebanyak 1 kali dosis

dengan jarak 2 minggu kemudian sejak suntikan pertama(Ke et al., 2018). David Buendía et al. menjelaskan persiapan penyuntikan 5 ml *Platelet-Rich- Plasma (PRP)*, dengan cara setiap pasien memiliki 60 ml darah tepi yang diekstraksi dengan pungsi vena dari vena antecubital. Dilakukan sentrifugasi ganda. Langkah putaran pertama adalah 1050 rpm selama 15 menit dan untuk langkah putaran kedua, percepatan 2000 rpm selama 10 menit diterapkan. Sebanyak 5 ml diperoleh *Leukocyte-Poor-Platelet- Rich-Plasma (LP-PRP)*, diaktifkan oleh 1 ml kalsium klorida. Ditemukan konsentrasi trombosit adalah $1.095.000 \pm 23.200/\text{mm}^3$, yaitu 3,87 kali lebih besar dari konsentrasi awal(David Buendía et al., 2018).

Penambahan Kalsium klorida (CaCl_2) , secara langsung mengaktifkan *Platelet*, yang kemudian memfasilitasi pembentukan bekuan secara mandiri dan bekerja sama dengan jalur koagulasi(Toshihisa et al., 2018).

Walaupun ada laporan studi mengenai konsensus khusus tidak tersedia mengenai seberapa sering injeksi *Platelet-Rich- Plasma (PRP)* harus dipergunakan(Ekin et al., 2019).

2.1.5. Terapi *Hyaluronic Acid (HA)*

Hyaluronic Acid (HA) merupakan komponen alami yang penting dari bahan ekstraseluler matriks (ECM) dalam tubuh manusia. *Hyaluronic Acid (HA)* ini telah banyak digunakan/dibutuhkan dalam proses regenerasi tulang dan berfungsi sebagai rangka pembawa (scaffolding) bagi komponen bioaktif dan di pasaran berbentuk koloid(Peison et al., 2019). *Hyaluronic Acid (HA)* telah menunjukkan potensi yang sangat

baik dalam peningkatan osteogenesis dan mineralisasi tulang (Peisong et al., 2019).

Efek menguntungkan dari *Hyaluronic Acid (HA)* dilaporkan berkaitan dengan fungsinya sebagai viscosupplement dan aktivitas anti inflamasinya. Injeksi *Hyaluronic Acid (HA)* juga digunakan untuk merawat tendon dan cederaligamen dan setelah operasi (Kohei et al., 2016b).

Hyaluronic Acid (HA) adalah zat terpenting dalam cairan sinovial (SF) articular sendi, bertindak sebagai pelumas untuk tulang rawan dan mengatur viskositas cairan sinovial (Prasad N and Maximas H, 2014).

Aplikasi dari *Hyaluronic Acid (HA)* pada tulang rawan manusia yang rusak menghasilkan pelumasan yang lebih baik antara permukaan tulang rawan yang tergesek pada model tulang rawan manusia yang rusak. *Hyaluronic Acid (HA)* bersifat fisikokimia yang sangat baik seperti biodegradable, biokompatibel, karakteristik nontoksik, dan nonimunogenik (Prasad N and Maximas H, 2014).

2.1.6. Perbandingan dan efek samping terapi *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* dan *Hyaluronic Acid (HA)*.

Berdasarkan database elektronik yang dicari secara sistematis serta di metaanalisis menunjukkan bahwa injeksi *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* intra-artikular tampaknya lebih manjur dalam pemulihan fungsional dari pada injeksi *Hyaluronic Acid (HA)* untuk pengobatan *Osteoarthritis (OA)* lutut dalam hal jangka pendek (Jia Zhu et al., 2020).

Sebagian besar pedoman klinis tidak merekomendasikan plasma kaya trombosit (PRP) untuk lutut osteoarthritis (OA) karena kurangnya bukti yang sangat berkualitas tentang kemanjuran gejala dan sendi secara bersama, tetapi ketentuan ini menekankan perlunya studi yang ketat. Meskipun demikian,

penggunaan PRP pada OA lutut tetap juga meningkat(Kim L et al., 2021).

Di antara pasien dengan gejala ringan sampai sedang pada OA lutut radiografi, yang menggunakan injeksi PRP intra- artikular, dibandingkan dengan injeksi menggunakan saline plasebo, tidak menghasilkan perbedaan yang signifikan dalam gejala atau struktur sendi selama 12 bulan, sehingga temuan ini tidak mendukung penggunaan PRP untuk pengelolaan OA lutut(Kim L et al., 2021).

Selain itu, injeksi *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* lebih unggul daripada injeksi *Hyaluronic Acid (HA)* dalam hal penghilang rasa sakit jangka panjang dan perbaikan fungsi. Injeksi *Platelet-Rich- Plasma (PRP)* tidak meningkatkan risiko efek samping bila dibandingkan dengan injeksi *Hyaluronic Acid (HA)*(Jia Zhu et al., 2020).

Studi klinis menunjukkan bahwa: *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* bisa menjadi pengobatan non-operatif yang menjanjikan untuk *Osteoarthritis (OA)*. Bukti dari studi metodologis rendah hingga sedang kualitas menunjukkan bahwaterapi injeksi *Platelet- Rich-Plasma (PRP)* intra-artikular aman dengan potensi untuk memberikan manfaat simptomatik untuk *Osteoarthritis (OA)* setidaknya dalam jangka pendek (hingga 12 bulan) dan banyak lagi berkhasiat daripada *Hyaluronic Acid (HA)*(Kim L et al., 2017).

Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa *Platelet-Rich- Plasma (PRP)* dikombinasikan dengan *Hyaluronic Acid (HA)* mungkin memiliki efek klinis yang menjanjikan pada *Osteoarthritis (OA)* lutut. Berdasarkan studi meta- analisis, dibandingkan dengan injeksi intra-artikular *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* saja, *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* yang dikombinasikan dengan *Hyaluronic Acid (HA)* dapat meningkatkan *Western*

Ontario and McMaster Universities (WOMAC) Skor Fungsi, Skor Total *Western Ontario and McMaster Universities (WOMAC)*, peringkat VAS (setelah 6 bulan pengobatan), dan skor Indeks Lequesne. Selain itu, dalam hal kejadian efek samping, injeksi *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* intra-artikular dikombinasikan dengan *Hyaluronic Acid(HA)* tidak signifikan berbeda dari injeksi intra-artikular *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* atau *Hyaluronic Acid (HA)* saja, dan keamanan ketiga rejimen pengobatan serupa(Jinlong et al., 2020).

2.1.7. Peranan *Osteoarthritis (OA)* lutut terhadap ekspresi miR-132 dan fluktuasi kadar sitokin IL-1B dan IL-6.

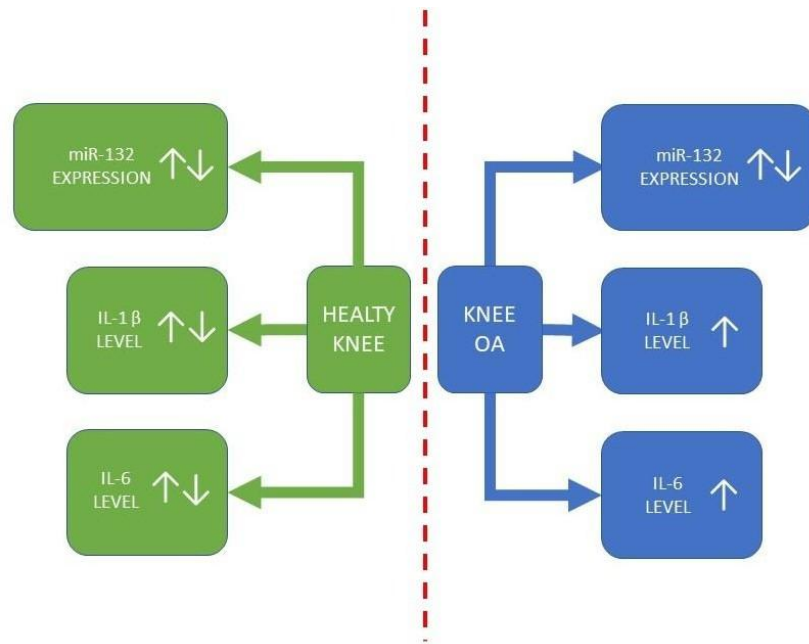
Insidensi penyebab terjadinya *Osteoarthritis (OA)* lutut biasanya akibat berat badan yang berlebihan (Obesitas), cedera berat, serta pengaruh aktifitas yang berat pada lutut. Meskipun dalam penegakkan diagnosa berdasarkan radiografi dan pemeriksaan fisik yang tersedia dapat mengetahui diagnosa namun masih belum memuaskan, karena kompleksitasnya dalam diagnosis dini, Kebutuhan penemuan biomarker yang lebih andal dan agen terapeutik sangat dibutuhkan (Zhang et al., 2021).

Satu studi menjelaskan bahwa miR-132 telah terbukti bahwa tingkat ekspresi-132 menurun pada pasien *Osteoarthritis (OA)* lutut dibandingkan dengan kontrol yang sehat. Studi lain juga melaporkan potensi miR-132 dalam mengatur perkembangan *Osteoarthritis (OA)*(Zhang et al., 2021), Namun ada beberapa penelitian yang melaporkan adanya peningkatan pada pasien *Osteoarthritis (OA)* lutut, sebagaimana penelitian mengenai ekspresi miR-132 dengan menyelidiki database PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) pada 10 tahun terakhir dengan kata kunci osteoarthritis lutut dan miR-132, ekspresi gen, dan hasilnya dijelaskan dalam **Tabel.5**

No	Penulis	Judul	Metode	Hasil	Perbedaan dengan Desertasi ini
1.	(Murata et al., 2010)	Plasma and Synovial Fluid MicroRNAs as Potential Biomarkers of Rheumatoid Arthritis and Osteoarthritis	Mengukur konsentrasi polimerase miR-16, miR-132, miR-146a, miR-155 dan miR-223 dalam cairan sinovial dan plasma dari pasien dengan RA dan OA, dan kontrol sehat (HCs)	Pada RA dan OA, konsentrasi cairan sinovial miR-16, miR-132, miR-146a, dan miR-223 adalah secara signifikan lebih rendah daripada konsentrasi plasma, Pola ekspresi miRNA dalam cairan sinovial OA mirip dengan miRNA yang disekresikan oleh jaringan sinovial. MiR-132 plasma dari HC secara signifikan lebih tinggi daripada RA atau OA	Pada penelitian kami ini adalah, melakukan evaluasi pada serum penderita OA yang dilakukan penyuntikan intraartikular menggunakan PRP, HA dan dibandingkan dengan kontrol orang sehat. Ekspresi miR-132 pada ketiga group setelah dilakukan injeksi intraartikular ditemukan down-regulation termasuk kontrol orang sehat.
2.	(L. X. PAN AND W. DING, 2020)	miR-132 Over Expression in Osteoarthritis may Regulate the Proliferation and Apoptosis of Fibroblast-like Synoviocytes via Targeting Sirtuin1	Dua puluh pasien osteoarthritis dan 20 sukarelawan sehat terdaftar dalam penelitian ini. Jaringan sinovial dan plasma pasien dan kontrol dikumpulkan dan RT-qPCR dilakukan untuk menentukan tingkat ekspresi miR-132	Ekspresi miR-132 meningkat secara signifikan di jaringan sinovial dan plasma pasien osteoarthritis dibandingkan kontrol sehat. Menunjukkan bahwa miR-132 sinovial dan plasma dapat berfungsi sebagai biomarker diagnostik potensial untuk osteoarthritis	Penelitian yang kami lakukan, terdapat down-regulation pada pasien Osteoarthritis dan memperlihatkan down regulation juga pada pasien Osteoarthritis setelah dilakukan tindakan injeksi menggunakan PRP atau HA.

					dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi	
3.	(Zhang et al., 2021)	MiRNA-132 regulates the development of osteoarthritis in correlation with the modulation of PTEN/PI3K/AKT signaling	Delapan pasien pria dengan osteoarthritis dan delapan pasien sehat direkrut. Menggunakan serum pasien. Untuk percobaan seluler menggunakan tikus jantan. Serum dan sel di test menggunakan QRT-PCR dilakukan untuk mendeteksi tingkat ekspresi miR-132, PTEN, PI3K dan AKT. Uji Elisa pada Supernatan yang dikumpulkan untuk mendeteksi IL-1 β , IL-6 dan IL-18	Down- regulation ekspresi pada miR-132 dibandingkan serum kontrol sehat. Peningkatan kadar IL-1B dan IL-6 pada kondrosit dengan regulasi miR-132 tetapi tidak pada normal control terkait faktor peradangan. menunjukkan bahwa downregulasi miR-132 dapat meningkatkan ekspresi IL-1B dan IL-6 ,protein terkait peradangan	Penelitian yang kami lakukan pada populasi Indonesia (manusia) dengan melakukan pemeriksaan serum menggunakan PCR-RT untuk mengetahui ekspresi miR-132 dan ELISA untuk mengetahui kadar sitokin IL-1B dan IL-6 pada pasien yang dilakukan suntikan PRP,HA dan kontrol sehat	

Dari hasil penelitian diatas, ditemukan adanya perbedaan pada hasil ekspresi miR-132, dimana dilaporkan adanya peningkatan dan penurunan kadar citokin (IL-1B/IL-6) pasien dengan lutut Osteoarthritis (Gambar.8.).



Terjadinya up-regulation pada IL-1B/IL-6 menunjukkan peningkatan aktivitas respons peradangan sistemik pada serum penderita osteoarthritis terutama respons pro-inflamasi. Interleukin-6 (IL-6), yang dilepaskan sebagai respons terhadap cedera jaringan, memiliki efek lokal dan sistemik untuk menciptakan respons fisiologis sesuai kebutuhan. Konsentrasi IL-

6 akan meningkat jika terjadi trauma dan peradangan. Proses proinflamasi ini diikuti oleh respon antiinflamasi dan salah satu sitokin antiinflamasi yang kuat adalah interleukin-1B (IL-1B)(Heber B et al., 2017).

Kadar plasma dan regulasi IL-6 dan proinflamasi lainnya pada Uji coba multisenter prospektif yang diadakan di empat pusat trauma didapatkan Kadar plasma dan ekspresi mRNA IL-6 dan IL-10 dapat diukur selama 5 hari setelah trauma didapati rasio IL-6/IL-10 yang meningkat menunjukkan peningkatan aktivitas respons inflamasi sistemik, terutama respons pro- inflamasi yang memiliki kemungkinan lebih tinggi untuk berkembang menjadi MODS dan kematian (Heber B et al., 2017).

Dilaporkan bahwa pengukuran ekspresi mRNA IL-1 dapat

diukur 1 minggu paska pengumpulan sampel darah dan dilakukan pemeriksaan menggunakan real-time PCR (Purnamanita et al., 2020). Hal tersebut diatas memperlihatkan miRNA menawarkan keunikan keuntungan unik sebagai biomarker untuk OA. Dibandingkan dengan penanda genetik, yang bersifat “statis”, miRNA memberikan pandangan dinamis dan real-time tentang keadaan penyakit, yang mencerminkan kompleks dan selalu berubah jaringan regulasi dalam patologi penyakit (Kyriacos Felekis et al., 2023).

Stabilitas miRNA dalam berbagai cairan tubuh memungkinkan pemantauan non-invasif dari beberapa penyakit, termasuk OA, sementara sensitivitas dan spesifisitasnya yang tinggi terhadap kondisi patologis tertentu menghadirkan peluang untuk diagnosis dan terapi yang lebih tepat sasaran (Kyriacos Felekis et al., 2023).

2.1.8. Skala Intensitas Nyeri dan Nilai luaran fungsi (*Functional Outcome*) paska terapi

Setelah memahami bahwa *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* mempengaruhi perkembangan *Osteoarthritis (OA)* lutut melalui penghambatan inflamasi sitokin dan mengubah tingkat ekspresi enzimatis dan dengan demikian menyebabkan perbaikan tulang rawan (Jia Zhu et al., 2020).

Proses perbaikan tulang rawan ini dapat dinilai berdasarkan *follow-up* nilai luaran fungsi (*Functional Outcome*), berikut beberapa nilai luaran fungsi (*Functional Outcome*) yang sering digunakan dalam penilain perbaikan diantaranya *Visual Analogue Scale (EQ-VAS)* dan *Western Ontario and McMaster Universities (WOMAC) scores*. (Wichan et al., 2016)(Tí' mea et al., 2012)(Ewa M and Sören, 2003).

Skala penilaian rasa sakit ini telah menunjukkan validitas dan reliabilitas yang baik untuk menilai rasa sakit intensitas;

Namun, tidak ada yang menunjukkan keunggulan atas yang lain dalam pengukuran nyeri akibat *Osteoarthritis (OA)*, sebagai berbagai aspek, seperti kategori respon, preferensi pasien, metode aplikasi, dan koreksi untuk informasi yang hilang, membuat masing-masing menjadi unik(Ahmad et al., 2018).

Studi melaporkan bahwa tiga skala sensitif untuk penilaian nyeri *Osteoarthritis (OA)* kronis, tidak ditemukan hasil perbedaan antara mereka. Demikian pula, Bellamy et al. melaporkan bahwa semua skala untuk pengukuran nyeri mampu mendeteksi signifikan secara statistik dan perbaikan penting secara klinis pada nyeri *Osteoarthritis (OA)* setelah intervensi farmakologis(Ahmad et al., 2018).

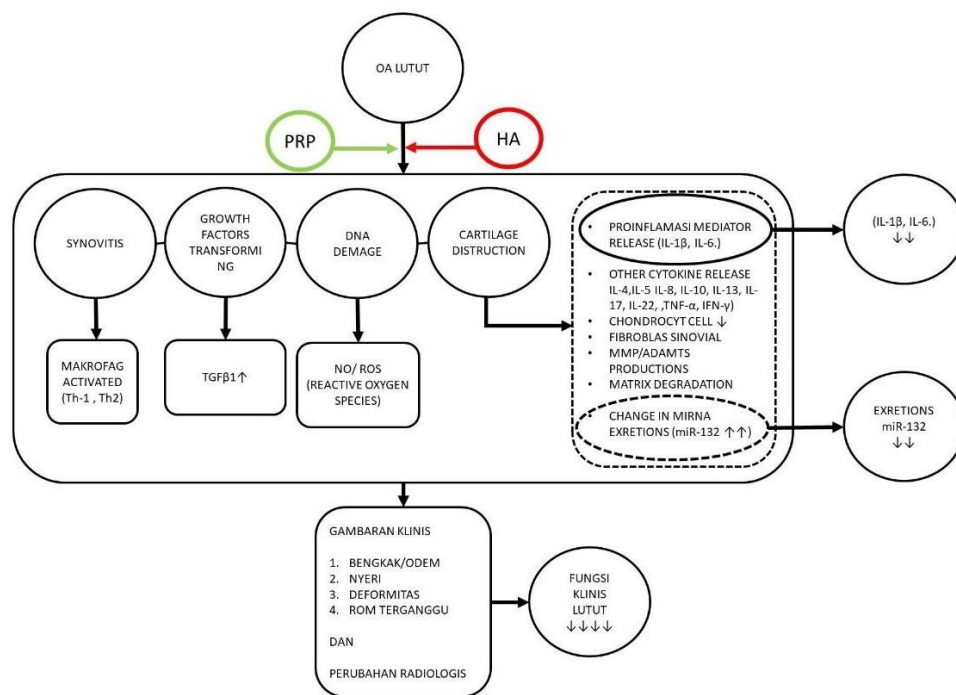
VAS adalah penilaian yang andal, valid, responsif, dan sering digunakan untuk pengukuran hasil nyeri. Ini terdiri dari dua arah 10 cm garis lurus dengan dua label, yaitu, "tidak sakit" dan "terburuk" kemungkinan rasa sakit", terletak di kedua ujung garis. Pasien diinstruksikan untuk menggambar tanda vertikal pada garis yang menunjukkan tingkat rasa sakit mereka(Ahmad et al., 2018).

VAS dianggap yang paling stabil, yang terkecil kesalahan dalam pengukuran dan nilai *MDC (Minimum Detectable Change)* untuk nyeri lutut *Osteoarthritis (OA)*(Ahmad et al., 2018).

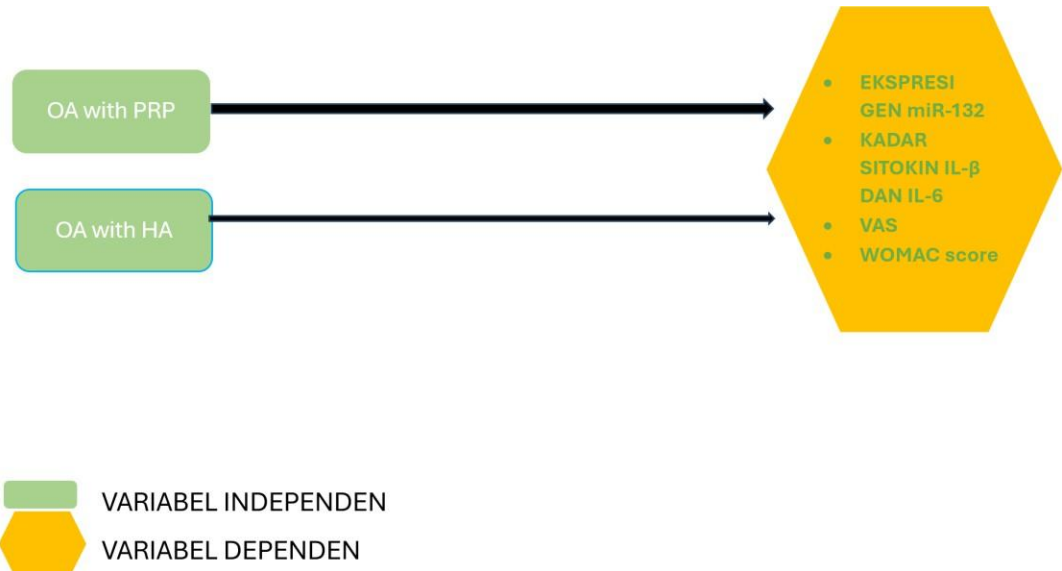
Western Ontario and McMaster Universities (WOMAC) scores dikembangkan untuk lansia dengan *Osteoarthritis (OA)* dan menilai nyeri,kekakuan dan fungsi dari kehidupan sehari-hari dalam tiga subskala terpisah(Ewa M and Sören, 2003). *Western Ontario and McMaster Universities (WOMAC) scores* merupakan instrument yang paling tervalidasi dan sering digunakan untuk mengukur hasil luaran (fungsional outcome) pada subyek dengan OA lutut(S et al., 2017). Kuis ini memiliki 24 pertanyaan yang berfokus pada nyeri, stiffness dan *functional limitation*. Setiap item pertanyaan memiliki 5 respon: "none" skor 0, "slight/mild" skor

1, “moderate” skor 2, “severe” skore 3, dan “extreme” skor 4. Total skor untuk setiap subskala dijumlahkan untuk setiap respon pada masing-masing item, dan dapat dikalkulasi secara manual atau menggunakan computer. Semakin tinggi skor yang di dapat mengindikasikan semakin buruknya nyeri, stiffness atau physical limitation(S et al., 2017).

2.2.Kerangka Teori



2.3.Kerangka Konsep



2.4.Hipotesis

Terdapat perbedaan ekspresi gen miR-132 dan kadar Sitokin (IL-1 β dan IL-6) serta perubahan fungsi klinis pada pasien OA lutut yang telah mendapat terapi injeksi *Platelet-Rich-Plasma (PRP)* dan *Hyaluronic Acid(HA)* dengan menggunakan VAS/WOMAC Score