

## Artikel Penelitian

## Efektivitas Injeksi Intra-Artikular Sekretom Sel Punca Jaringan Adiposa terhadap Regenerasi Tulang Rawan pada Osteoarthritis Sendi Lutut: Penelitian pada Domba

Andri M. T. Lubis,<sup>1</sup> Andra Hendriarto,<sup>1\*</sup> Bambang P. Priosoeryanto,<sup>2</sup>  
Tri I. Tunggadewi,<sup>3</sup> Ziad Alaztha,<sup>1</sup> Anissa F. Canintika<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Orthopaedi dan Traumatologi

RSUP Nasional dr. Cipto Mangunkusumo – Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta

<sup>2</sup>Departemen Klinis, Reproduksi dan Patologi, <sup>3</sup>Laboratorium Diagnostik, Fakultas Kedokteran Hewan dan Biomedis  
Institut Pertanian Bogor, Bogor

\*Penulis korespondensi: andrahendriarto.ortho@gmail.com

Diterima 12 Mei 2023; Disetujui 3 Agustus 2023

<https://doi.org/10.23886/ejki.11.386.109>

### Abstrak

Saat ini tidak terdapat terapi efektif untuk mencegah osteoarthritis lutut. Sel punca mesenkimal (SPM) telah mendapat banyak perhatian karena kapasitas regeneratifnya. Namun, penggunaan SPM berkaitan dengan berbagai kekurangan seperti biaya yang besar, sulitnya penanganan dan manufaktur sel, serta prosedur pengambilan yang invasif. SPM memperbaiki osteoarthritis lutut melalui aksi parakrin faktor pertumbuhan dan sitokin yang disekresi oleh SPM yang disebut sekretom. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas pemberian injeksi intra-artikular sekretom sel punca jaringan adiposa terhadap regenerasi tulang rawan pada osteoarthritis sendi lutut menggunakan metode post-test only control group experimental di Rumah Sakit Hewan Pendidikan Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor pada bulan Juli hingga Oktober 2019. Sebanyak 15 domba dibagi menjadi tiga kelompok. Kelompok pertama mendapat sekretom SPM jaringan adiposa, kelompok kedua mendapat asam hyaluronat (AH), dan kelompok ketiga mendapat sekretom dan AH. Empat minggu setelah injeksi, seluruh domba dikorbankan. Lutut dari ketiga kelompok dibandingkan secara makroskopik dan mikroskopik menggunakan skor OARSI. Dalam 4 minggu setelah injeksi, terdapat fibrosis pada kelompok sekretom dan AH yang tidak terdapat di kelompok lainnya. Skor osteofit pada kelompok sekretom lebih rendah dibandingkan kelompok lainnya ( $p=0,031$ ). Skor osteofit secara bermakna lebih rendah pada model domba yang diinjeksi sekretom asal SPM jaringan adiposa. Tidak terdapat perbedaan bermakna pada parameter lainnya, baik makroskopik mikroskopik, 4 minggu setelah injeksi.

**Kata kunci:** sekretom, sel punca jaringan adiposa, osteoarthritis, domba, ovine.

## Effectiveness of Adipose Tissue Mesenchymal Stem Cell Intraarticular Injection on Knee Joint Cartilage Bone Regeneration: Study on Sheep

### Abstract

Currently, treatment strategies that could retard the progression of knee osteoarthritis (KOA) are lacking. Mesenchymal stem cells (MSCs) have garnered many interests due to their regenerative capacity. However, the use of such cells is associated with several drawbacks including high capital investment, complex cell handling and manufacturing, and invasive collection procedures. Moreover, existing evidence demonstrated that these cells ameliorate KOA via paracrine actions of growth factors and cytokines secreted from them, which is referred to as secretome. Induction of KOA was performed surgically through anterior cruciate ligament transection and lateral meniscectomy. This study aims to test the effectiveness of intra-articular injection of adipose tissue stem cell secretomes against cartilage regeneration in knee joint osteoarthritis using the post-test only control group experimental method at the Teaching Animal Hospital, Faculty of Veterinary Medicine, Bogor Agricultural University from July to October 2019. The sheep ( $n=15$ ) were divided into three groups; each group consisted of five sheep. The first group received secretome derived from AD-MSCs, the second group was administered with hyaluronic acid (HA), and the third group received both secretome and HA. Each of the therapy was given weekly for four weeks postoperatively. Four weeks post-injection, the sheep were sacrificed. Knees of the three groups were compared macroscopically and histologically. At 4 weeks post-injection, we found intraarticular fibrosis on secretome combined with HA, which were not found on two other group. The osteophyte score in the secretome-treated group was lower compared to the other groups ( $p=0.031$ ). The osteophyte score was significantly lower in sheep models injected with AD-MSC derived secretome. Other parameters, including both macroscopic and microscopic scores did not significantly differ between the groups after 4 weeks of injection.

**Keywords:** secretome, adipose-derived mesenchymal stem cells, osteoarthritis, sheep, ovine.

## Pendahuluan

Osteoarthritis merupakan penyakit sendi yang paling sering dijumpai di seluruh dunia, dengan insidensi yang semakin meningkat seiring dengan bertambahnya usia.<sup>1</sup> Osteoarthritis disebabkan oleh kerusakan tulang rawan sendi akibat ketidakseimbangan proses regenerasi tulang rawan sendi seiring dengan bertambahnya usia dan atau cedera sendi.<sup>1</sup> Kerusakan tersebut menimbulkan nyeri sehingga mengganggu pergerakan sendi dan menimbulkan disabilitas; paling sering menyerang sendi lutut yang berperan besar dalam menyangga tubuh.<sup>4,5</sup>

Tidak ada terapi yang dapat menghambat perjalanan penyakit osteoarthritis.<sup>4</sup> Antiinflamasi non-steroid, opioid, analgesik topikal, hanya memberi efek simptomatik. Terapi viskosuplemen seperti asam hyaluronat (AH) memperbaiki gejala dalam jangka menengah, namun tidak direkomendasikan lagi oleh OARSI dan AAOS.<sup>4,7,8</sup>

Terapi medikamentosa kurang efektif, sehingga pasien membutuhkan operasi penggantian sendi (artroplasti) untuk mendapatkan kembali fungsi sendi mendekati normal. Transplantasi osteokondral, tandur perikhondral dan periosteal, serta implantasi kondrosit tidak dapat digunakan pada osteoarthritis karena luasnya defek tulang rawan sendi.<sup>9</sup> Saat ini dibutuhkan terapi osteoarthritis yang dapat mengubah perjalanan penyakit sehingga mengurangi kebutuhan analgetik dan menghindari operasi.<sup>10</sup>

Dewasa ini dilaporkan bahwa perjalanan penyakit osteoarthritis dapat dihambat.<sup>11</sup> Sel punca mesenkimal (SPM) digunakan dalam terapi osteoarthritis karena memiliki potensi regenerasi tulang rawan sendi.<sup>12</sup> SPM dapat ditemukan di sumsum tulang, jaringan adiposa, pulpa dentin, membran sinovial, tendon, jaringan limfoid, dan jaringan perinatal seperti darah tali pusat, jeli wharton, plasenta, dan cairan amnion.<sup>13</sup> SPM jaringan adiposa mudah diambil, banyak sel punca yang diperoleh dan berpotensi untuk berdiferensiasi menjadi tulang, tulang rawan, lemak, otot dan saraf.<sup>14</sup> SPM juga memiliki efek parakrin dengan memproduksi sekretom yang memengaruhi lingkungan sel punca dan memiliki efek protektif.<sup>15</sup> Sekretom lebih aman dari SPM karena efek imunogenik lebih sedikit, penyimpanan lebih mudah dan risiko menimbulkan tumor lebih sedikit.<sup>16</sup>

Untuk menguji efektivitas sekretom terhadap regenerasi tulang rawan sendi, dibutuhkan penelitian dasar pada hewan sebelum diteliti pada manusia. Penelitian sebelumnya pada domba menunjukkan bahwa injeksi intraarticular sel punca

kombinasi dengan AH menghasilkan perbaikan di meniskus dan memperlambat progresivitas osteoarthritis.<sup>17</sup> Namun, belum terdapat penelitian yang menunjukkan efek sekretom pada model osteoarthritis domba. Domba dipilih karena ukuran lutut mendekati manusia, jinak, dan anatomi sendi mirip dengan manusia.<sup>17</sup> Setelah intervensi, domba dikorbankan dan dinilai efektivitas pemberian sekretom sel punca jaringan adiposa secara makroskopik, dan histopatologik.

## Metode

Penelitian eksperimental ini menggunakan desain *post-test only control group design*. Penelitian dilakukan di Rumah Sakit Hewan Pendidikan Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor untuk implantasi sekretom SPM dan pembuatan hewan model osteoarthritis, serta Stem Cell and Tissue Engineering Research Cluster Indonesian Medical Education and Research Institute (SCTE IMERI) Jakarta untuk isolasi dan ekspansi sekretom SPM jaringan adiposa. Penelitian dilakukan pada bulan Juli hingga Oktober 2019.

Kriteria inklusi adalah (1) domba lokal jantan (*Ovis aries*); (2) berusia  $\geq 3$  tahun; (3) berat badan 23-30 kg; (4) matur secara skeletal, tidak mengalami kelainan ekstremitas bawah karena trauma atau kelainan kongenital. Kriteria eksklusi adalah (1) kematian subjek; (2) tidak terjadi osteoarthritis pada hewan model; dan (3) terjadi infeksi di lutut yang dioperasi.

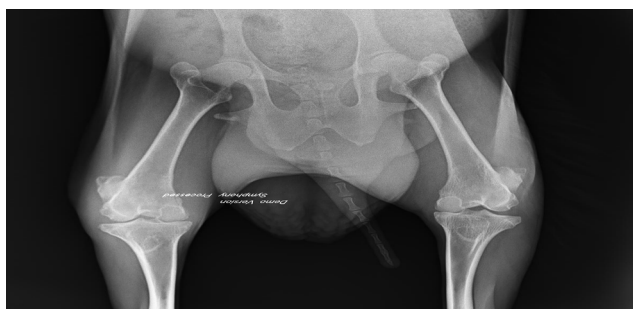
Sebanyak 15 domba dibagi menjadi tiga kelompok. Kelompok pertama mendapat sekretom SPM jaringan adiposa, kelompok kedua mendapat asam hyaluronat (AH), dan kelompok ketiga mendapat sekretom dan AH. Empat minggu setelah injeksi, seluruh domba dikorbankan. Lutut dari ketiga kelompok dibandingkan secara makroskopik dan mikroskopik menggunakan skor OARSI.

Dilakukan induksi dekstruksi tulang rawan dengan cara menisektomi kemudian dilakukan pengambilan, isolasi dan ekspansi SPM dan sekretom. Empat minggu setelah menisektomi, dilakukan penyuntikan intra-artikular dan domba dipelihara di kandang serta diamati aktivitasnya 1 bulan setelah penyuntikan. Setelah 4 minggu, dikorbankan 5 ekor domba dengan metode eksanguinasi. Selanjutnya dilakukan evaluasi secara makroskopis dengan menilai derajat kerusakan kartilago artikular. Evaluasi mikroskopis dilakukan dengan mengambil sampel kartilago artikular lalu dibuat sediaan dan diwarnai dengan hematoksilin & eosin serta toluidine blue. Data pengukuran berat

badan, tinggi badan subjek dan data lainnya diinput dalam SPSS versi 20.0 dan dianalisis dengan uji statistik yang sesuai. Uji normalitas dilakukan dengan uji Shapiro-Wilk dengan nilai  $p > 0.05$  menunjukkan distribusi normal. Uji beda antar 3 kelompok dilakukan dengan Uji One-way Anova dengan nilai  $p < 0.05$  menunjukkan perbedaan yang signifikan dilanjutkan dengan uji post-hoc jika uji anova signifikan. Uji Kruskal-Wallis digunakan jika data menunjukkan distribusi yang tidak normal dengan nilai  $p < 0.05$  dianggap signifikan.

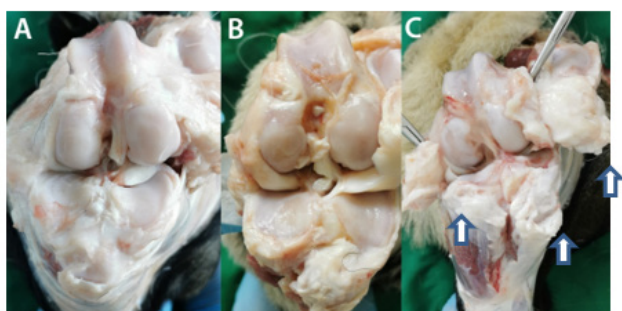
**Hasil**

Dari 3 kelompok perlakuan didapatkan hasil sebagai berikut. Terdapat penyempitan celah sendi di sisi lateral dan sklerosis di tulang subkondral, dibandingkan lutut sehat di sebelah kiri (Gambar 1).



**Gambar 1. Evaluasi Lutut Domba 4 Minggu Pasca Menisektomi**

Seluruh sediaan dievaluasi secara makroskopik menggunakan sistem skoring OARSI, didapatkan osteofit (Gambar 2A), erosi tulang rawan sisi lateral tibia (Gambar 2A, 2B), dan fibrosis intraartikular di sediaan sekretom sel punca jaringan adiposa dan AH (Gambar 2C, tanda panah) di Gambar 2.



**Gambar 2. Makroskopik Lutut saat Pengamatan 8 Minggu Pasca-Menisektomi. Tanda Panah Menunjukkan Fibrosis Intraartikular**

**Tabel 1. Distribusi Skor Makroskopik dan Normalitas Berdasarkan Sistem OARSI**

Skor Makroskopik Perkelompok	Skor Makroskopik	Nilai p
Skor Makroskopik Total (rerata ± SD)		
AH	16,60 ± 4,827	0,054
Sekretom	16,80 ± 5,167	0,163
Sekretom+AH	15,60 ± 1,517	0,375
Skor Tulang Rawan (rerata ± SD)		
AH	5,60 ± 1,949	0,758
Sekretom	7,20 ± 4,025	0,750
Sekretom+AH	4,20 ± 1,643	0,490
Skor Osteofit Median (min-maks)		
AH	11,0 (6-12)	0,293
Sekretom	8,00 (6-9)	0,419
Sekretom+AH	11,0 (9-11)	0,048
Skor Sinovium Median (min-maks)		
AH	1,00 (0-2)	0,325
Sekretom	2,00 (1-3)	0,314
Sekretom+AH	1 (1-1)	<0,001

Berdasarkan uji Shapiro-Wilk, didapatkan skor makroskopik total dan skor tulang rawan berdistribusi normal, sedangkan skor osteofit dan sinovium tidak berdistribusi normal (Tabel 1). Kemudian dilakukan uji one-way ANOVA dan uji Kruskal-Wallis untuk menguji perbedaan (Tabel 2).

**Tabel 2. Evaluasi Skor Makroskopik berdasarkan Sistem OARSI**

Skor Makroskopik Per Kelompok	Nilai p	Uji post-hoc
Skor makroskopik total		
AH	0,889 <sup>a</sup>	Tidak dilakukan
Sekretom		
Sekretom + HA		
Skor Tulang Rawan		
AH	0,264 <sup>a</sup>	Tidak dilakukan
Sekretom		
Sekretom + HA		
Skor Osteofit		
AH	0,031 <sup>b</sup>	Referensi
Sekretom		0,841 <sup>c</sup>
Sekretom + HA		0,151 <sup>c</sup>
Skor Sinovium		
AH	0,110 <sup>b</sup>	Tidak dilakukan
Sekretom		
Sekretom + HA		

Setelah pengamatan, dilakukan penilaian skor mikroskopik dengan sistem skoring OARSI (Tabel 3).

**Tabel 3. Distribusi Skor Mikroskopik dan Normalitas Sistem OARSI**

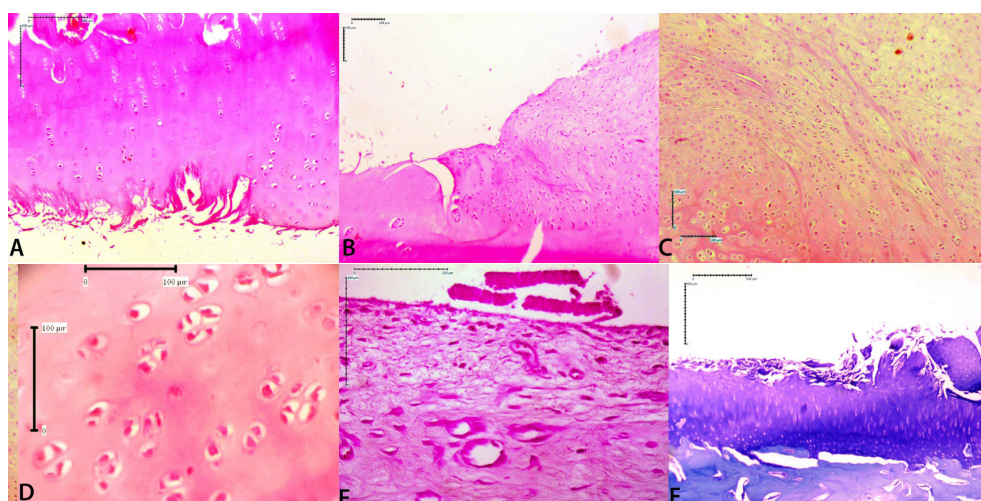
Skor Mikroskopik Per Kelompok	Skor Makroskopik (Rerata ± SD)*	Nilai p <sup>a</sup>
Skor Mikroskopik Total		
AH*	19,20 ± 1,643	0,054
Sekretom	27,00 ± 7,517	0,163
Sekretom+AH*	26,60 ± 7,797	0,375
Skor Struktur		
AH*	4,00 (2-6)	0,325
Sekretom	15,00 (2-16)	0,024
Sekretom+AH*	6,00 (3-18)	0,205
Skor jumlah sel		
AH*	4,00 (2-4)	0,046
Sekretom	3,00 (2-4)	0,119
Sekretom+AH*	3,00 (1-3)	<0,001
Skor kloning sel		
AH*	4,00 (3-5)	0,314
Sekretom	4,00 (2-7)	0,928
Sekretom+AH*	8,00 (2-8)	0,021
Skor interterritorial		
AH*	4,40 ± 2,074	0,754
Sekretom	5,00 ± 2,121	0,468
Sekretom+AH*	4,80 ± 1,924	0,223
Skor <i>tidemark</i>		
AH*	3,60 ± 1,140	0,814
Sekretom	5,00 ± 0,707	0,325
Sekretom+AH*	3,60 ± 1,517	0,086

Berdasarkan uji normalitas didapatkan distribusi normal pada skor total, interteri-torial dan *tidemark*, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *one-way*

ANOVA. Uji normalitas untuk skor struktur, jumlah sel, dan kloning menunjukkan distribusi tidak normal sehingga diuji dengan Kruskal-Wallis. Uji *one-way* ANOVA dan Kruskal-Wallis menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna pada seluruh kelompok yang diuji sehingga tidak dilanjutkan uji *post-hoc* Tabel 4.

**Tabel 4. Evaluasi Skor Mikroskopik Berdasarkan Sistem OARSI**

Skor Mikroskopik Per Kelompok	Nilai p
Skor mikroskopik total	
AH	0,132 <sup>a</sup>
Sekretom	
Sekretom + HA	
Struktur	
AH	0,491 <sup>b</sup>
Sekretom	
Sekretom + HA	
Jumlah sel	
AH	0,383 <sup>b</sup>
Sekretom	
Sekretom + HA	
Skor kloning sel	
AH	0,195
Sekretom	
Sekretom + HA	
Skor interterritorial	
AH	0,895
Sekretom	
Sekretom+AH	
Skor <i>tidemark</i>	
AH	0,134
Sekretom	
Sekretom+AH	



**Gambar 3. Pengamatan mikroskopik sediaan HE pembesaran 40x menunjukkan erosi permukaan tulang rawan (A) pembentukan fibrokartilago di daerah perifer (B), dan jaringan fibrokartilago (C). Pada pembesaran 100x (D), terdapat peningkatan jumlah kloning sel menjadi doublets. Pada pembesaran 400x terjadi infiltrasi pembuluh darah di lapisan tulang rawan sendi (E). Pengamatan mikroskopik sediaan toluidine blue menunjukkan tidemark ganda dan penurunan pewarnaan lapisan kartilago (F).**

## Diskusi

Pada penelitian ini, digunakan model domba sebagai subjek. Model domba dipilih karena dapat menggambarkan karakteristik osteoarthritis seperti manusia, memiliki respon imun yang mirip, dan umur lebih panjang.<sup>18</sup>

Selain itu, berhasil dilakukan penelitian tata laksana sel punca sumsum tulang dan jaringan adiposa pada model osteoarthritis domba dan anjing. Domba yang dipilih adalah jantan berusia 2-3 tahun, karena domba mencapai maturitas skeletal pada usia 24-36 bulan dan memiliki kecenderungan osteoarthritis alamiah sehingga cocok dijadikan model.<sup>19</sup> Untuk membuat model hewan dengan osteoarthritis yang terjadi secara alamiah membutuhkan waktu lama untuk terjadi, seratnya membutuhkan biaya yang mahal. Maka dari itu, pada penelitian ini dipilih model yang diinduksi secara bedah.<sup>20</sup>

Penelitian ini menggunakan model domba osteoarthritis yang diinduksi dengan menisektomi. Pada penelitian Situmeang et al<sup>21</sup> dilakukan operasi menisektomi di meniskus lateral dan dibuktikan secara radiologis serta patologi. Penelitian tersebut berhasil menginduksi osteoarthritis di seluruh subjek yang dibuktikan dengan rontgen 4 minggu pasca-operasi. Menisektomi lateral dipilih karena meniskus lateral menyangga beban lebih banyak dibandingkan medial.<sup>23</sup> Setelah menisektomi, terjadi perubahan kinematika sendi lutut terutama peningkatan abduksi dan translasi tibia ke arah medial di seluruh siklus berjalan. Hasil penelitian serupa didapatkan pada penelitian ini, walaupun tidak dilakukan analisis hasil rontgen. Pada penelitian Burger et al<sup>22</sup> lutut yang dilakukan menisektomi medial berhasil menjadi osteoarthritis setelah diamati selama 6 bulan pada mikroskop elektron. Pada penelitian tersebut, didapatkan osteoarthritis tidak hanya di kompartemen medial, tetapi juga di kompartemen lateral dengan meniskus intak, bahkan di lutut kontralateral yang tidak dioperasi. Hal itu menunjukkan pentingnya meniskus pada stabilitas sendi lutut dan efektivitas menisektomi dalam menimbulkan osteoarthritis.

Olah et al<sup>24</sup> mengemukakan perbandingan spasiotemporal antara osteoarthritis pada domba dan manusia. Hasilnya menyatakan bahwa kerusakan tulang rawan berbanding lurus dengan daerah yang kehilangan meniskus. Domba dan manusia menjalani pola yang sama untuk osteoarthritis derajat rendah. Di manusia daerah yang paling sering terkena adalah meniskus kornu posterior, sehingga saat fleksi lutut, terjadi pergeseran yang memberikan beban

berlebih di tibia. Karena meniskus menghantarkan 50% transmisi beban dari femur ke tibia, maka kehilangan meniskus meningkatkan beban ke tibia secara bermakna. Appleyard et al<sup>25</sup> melaporkan tindakan lateral menisektomi lutut domba menghasilkan kerusakan tulang rawan dan perubahan tulang subkondral yang sepadan dengan osteoarthritis tahap awal pada manusia. Namun, McCoy et al<sup>20</sup> mengemukakan perbedaan karakteristik sendi lutut domba dibandingkan manusia pada proses osteoarthritis. Pada domba, transeksi ligamen krusiatus anterior menyebabkan kerusakan ringan tulang rawan dan usaha untuk instabilitas sisi posterolateral melalui transeksi tendon popliteus, ligamen kolateral lateral, dan kapsul sendi lateral tidak menyebabkan perubahan makroskopik; hanya sedikit kerusakan histologi.

Pada penelitian ini, interval tindakan menisektomi sampai injeksi hanya 4 minggu; relatif singkat dibandingkan penelitian lain yang waktunya 3-12 bulan. Sejalan dengan penelitian Situmeang et al<sup>21</sup> interval 4 minggu diambil karena ingin menguji perlakuan pada osteoarthritis derajat 1 dan 2; karena, jika observasi terlalu lama akan timbul osteoarthritis derajat 3 atau 4 dan sel punca tidak memberi manfaat pada derajat 3-4.

Dalam dekade terakhir, terapi SPM digunakan sebagai terapi berbagai kelainan karena kapasitas memperbaharui diri dan potensi diferensiasi ke berbagai jenis sel. Pada tahun 2013, Murphy et al<sup>26</sup> melaporkan penggunaan pertama SPM dewasa melalui injeksi intra-artikuler pada model hewan osteoarthritis. SPM mendorong regenerasi meniskus dan mencegah destruksi progresif tulang rawan sendi. Pada tahun 2008, Centeno et al<sup>27</sup> melaporkan kasus pertama terapi SPM pada osteoarthritis dan mendapat perbaikan regenerasi tulang rawan sendi serta mobilitas lutut bersamaan dengan penurunan nyeri yang bermakna pada pasien osteoarthritis. Jo et al<sup>28</sup> melakukan studi kohort pertama luaran injeksi intra-artikuler SPM yang diikuti selama 2 tahun mengkonfirmasi bahwa prosedur tersebut aman dan efektif.

Risiko terapi berbasis sel tidak dapat sepenuhnya dieliminasi. Zhang et al<sup>29</sup> pada tahun 2013 melaporkan rejeksi imun bermakna pada tikus tanpa desentisasi neonatus setelah injeksi SPM untuk terapi defek kartilago. Pada tahun 2015, Nori et al<sup>30</sup> menemukan pembentukan tumor dari sel punca yang diimplantasi di tikus dengan cedera medula spinalis yang diterapi sel punca pluripoten. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa sangat sedikit SPM yang ditransplantasi, berubah menjadi kondrosit di lokasi implantasi.<sup>26,31</sup> Van Buul

et al<sup>32</sup> menemukan bahwa meskipun injeksi SPM bermanfaat pada sendi setelah induksi osteoarthritis, SPM tidak terdeteksi 3 minggu setelah injeksi. Diekman et al<sup>33</sup> dan Mak et al<sup>34</sup> juga menemukan hal serupa. Mak et al<sup>34</sup> menduga bahwa hal tersebut akibat diferensiasi, migrasi atau kematian sel. Efek yang timbul setelah pemberian SPM berasal dari efek parakrin yang dimediasi sekretom.<sup>16,35</sup>

Pada studi ini, tidak ditemukan perbedaan skor makroskopik yang bermakna antara ketiga grup; hanya terdapat perbedaan bermakna pada skor osteofit. Beveridge et al<sup>36</sup> menyatakan perubahan menisektomi sebagian besar terjadi di sisi perifer terutama anterior dan posterior sedangkan di bagian sentral, tidak terdapat kerusakan berat. Hal serupa dijumpai oleh Appleyard et al<sup>37</sup> yang melakukan studi pada 15 domba betina. Sebanyak 10 domba betina dilakukan menisektomi lateral, dan 5 domba diperlakukan sebagai kontrol. Seluruh hewan dikorbankan 3 bulan pascaoperasi. Tidak terdapat perubahan morfologis bermakna di kartilago sendi patela. Inflamasi sinovium 3 bulan setelah menisektomi bersifat minimal; sehingga, kemungkinan perubahan kartilago sendi adalah akibat perubahan kesegaran dan atau *tracking* dari patela sebagai konsekuensi mekanika sendi abnormal dan distribusi beban abnormal. Knights et al<sup>38</sup> menemukan bahwa menisektomi medial menyebabkan perubahan degeneratif ringan 4 minggu setelah menisektomi, sedangkan modifikasi struktural progresif baru ditemukan 8 dan 12 minggu pascaoperasi.

Manferdini et al<sup>39</sup> menemukan bahwa sekretom dari SPM jaringan adiposa hanya memiliki efek anti-inflamasi parsial, karena jumlah PGE2 lebih rendah yang terdeteksi pada sekretom SPM jaringan adiposa dibandingkan SPM jaringan adiposa karena kurangnya efektivitas sekretom yang tidak terstimulasi. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa SPM yang disiapkan dengan kondrosit inflamasi atau faktor yang disekresikan oleh sinoviosit menjadi lebih poten untuk memberikan efek terapeutik melawan ekspresi faktor-faktor krusial yang mendukung osteoarthritis.<sup>39</sup> Pada penelitian kami tidak dilakukan sistem ko-kultur kondrosit. Pada penelitian sebelumnya, terdapat peningkatan efektivitas sekretom yang dilakukan ko-kultur kondrosit.

Inflamasi berperan dalam patogenesis degradasi kartilago artikuler. Sitokin proinflamasi dan kemokin menginduksi produksi ROS oleh sel artikuler yang berakibat pada aktivasi jalur sinyal utama seperti *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) dan *nuclear factor kappa B* (NFkB).<sup>40</sup> Platas et al<sup>41</sup> melaporkan sekretom SPM jaringan adiposa

menginhibisi aktivasi NFkB dan produksi mediator inflamasi pada kondrosit osteoarthritis. Peran inflamasi pada terjadinya dan perjalanan osteoarthritis yang ditandai dengan inflamasi membran sinovial telah diterima secara luas. Pasien osteoarthritis memiliki berbagai derajat sinovitis, dengan kadar sitokin proinflamasi yang tinggi dan infiltrasi sel imun, terutama makrofag. Penanda biologis inflamasi berkorelasi secara positif dengan nyeri lutut dan progresi klinis osteoarthritis. SPM mensekresi sitokin anti-inflamasi yang memperbaiki ekuilibrium pada sinovium yang mengalami inflamasi: sekretom SPM mengurangi produksi mediator inflamasi pada eksplan sendi osteoarthritis.<sup>42</sup>

Salah satu efektor utama supresi imuntermidiasi SPM adalah prostaglandin E2 (PGE2) yang sebagian besar disekresi SPM. Produksi PGE2 secara dramatis meningkat via stimulasi interferon- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , atau IL-1 $\beta$ . PGE2 secara negatif memengaruhi sel T dan sel *natural killer*, yang meningkatkan sel T regulatorik, stimulasi makrofag untuk menghasilkan IL-10, dan mencegah monosit berdiferensiasi menjadi sel dendritik. Pada osteoarthritis, PGE2 memediasi efek terapeutik SPM jaringan adiposa dan merupakan *checkpoint* regulatorik modulasi imun.<sup>42</sup>

Selain itu, hasil yang tidak berbeda bermakna dapat disebabkan waktu injeksi yang dilakukan 4 minggu pasca-induksi, sehingga proses inflamasi tidak lagi terjadi. Sekretom dan sel punca menurunkan efek mediator pro-inflamasi, yang tidak terjadi jika proses inflamasi sudah selesai.<sup>32</sup> Hal tersebut merupakan salah satu penyebab tidak ditemukannya perbedaan masing-masing kelompok. Walaupun demikian, belum terdapat penelitian mengenai efektivitas sekretom SPM pada model domba dengan osteoarthritis. Penggunaan sekretom pada model hewan osteoarthritis, dilakukan Chen et al<sup>43</sup> pada tahun 2019 dan Khatab et al<sup>32</sup> pada tahun 2018, keduanya dilakukan pada model tikus osteoarthritis.

Chen et al<sup>43</sup> meneliti 12 model tikus osteoarthritis dibandingkan dengan 6 tikus sehat. Osteoarthritis diinduksi dengan transeksi ligamentum krusiatum anterior dan destabilisasi meniskus medial. Kelompok pertama (n=6) diberikan injeksi artikuler sekretom SPM setiap minggu, kelompok kedua (n=6) mendapat *phosphate-buffered saline* (PBS), kelompok ketiga (n=6) berperan sebagai kontrol normal dan mendapatkan operasi *sham* dengan injeksi PBS setiap minggu selama 8 minggu; tikus dikorbankan 8 minggu pascaoperasi. Pada penelitian tersebut, didapatkan kelompok kontrol memiliki

kartilago sendi dengan permukaan kasar penuh fisura dan osteofit dibandingkan kelompok perlakuan yang memiliki sedikit fibrilasi saja. Selain itu, tulang subkondral terpapar; sedangkan, kelompok yang diberikan sekretom memiliki permukaan kartilago sendi yang jauh lebih licin. Kelompok kontrol kehilangan volume tulang subkondral yang lebih besar, disertai destruksi struktur tulang trabekula; sedangkan pada sendi yang diinjeksi sekretom, hanya sedikit kehilangan tulang trabekula.<sup>43</sup>

Khatab et al<sup>32</sup> memberikan injeksi sekretom SPM asal sumsum tulang pada 54 tikus jantan berusia 12 minggu. Osteoarthritis diinduksi unilateral di lutut tikus dengan injeksi kolagenase tipe VII 3 unit pada hari ketujuh dan kelima. Sampel dibagi tiga kelompok: pertama mendapat sekretom dari 20.000 SPM, kedua mendapat 20.000 SPM, dan kelompok ketiga mendapat injeksi dari medium (kontrol). Injeksi sekretom SPM mengurangi nyeri dan memberikan efek protektif terhadap kerusakan kartilago.<sup>32</sup>

Meskipun penelitian sebelumnya menunjukkan hasil yang baik dari pemberian SPM jaringan adiposa pada model hewan osteoarthritis, pada penelitian ini tidak didapatkan perbedaan bermakna pada kelompok yang diberikan sekretom dan AH, sekretom saja, dan AH saja. Salah satu penyebabnya adalah karena efek sekretom yang hanya memiliki efek anti-inflamasi parsial.

## Kesimpulan

Terdapat perbedaan bermakna skor osteofit antara kelompok domba yang diberikan injeksi sekretom SPM jaringan adiposa, kelompok yang diberikan sekretom dengan AH, dan kelompok yang diberikan sekretom saja pada durasi empat minggu. Tidak terdapat perbedaan bermakna evaluasi makroskopik skor lainnya pada ketiga kelompok serta evaluasi mikroskopik pada ketiga kelompok.

## Daftar Pustaka

1. Michael JW, Schluter-Brust KU, Eysel P. The epidemiology, etiology, diagnosis, and treatment of osteoarthritis of the knee. *Dtsch Arztebl Int*. 2010;107:152–62. doi: 10.3238/arztebl.2010.0152
2. Litwic A, Edwards MH, Dennison EM, Cooper C. Epidemiology and burden of osteoarthritis. *Br Med Bull*. 2013;105:185–99. doi: 10.1093/bmb/lds038
3. Wyles CC, Houdek MT. Mesenchymal stem cell therapy for osteoarthritis: current perspectives. *Stem cells cloning Adv Appl*. 2015;8:117–24. doi: 10.2147/SCCAA.S68073
4. Ringdahl E, Pandit S. Treatment of knee osteoarthritis. *Am Fam Physician*. 2011;83:1287–92.
5. Wallace IJ, Worthington S, Felson DT, Jurmain RD, Wren KT, Maijanen H, et al. Knee osteoarthritis has doubled in prevalence since the mid-20th century. *Proc Natl Acad Sci*. 2017;114:9332–6. doi: 10.1073/pnas.1703856114
6. Pers YM, Jorgensen C. Adipose derived stem cells for regenerative therapy in osteoarticular diseases. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2016;25:1–8. doi: 10.1515/hmbci-2016-0010
7. McAlindon TE, Bannuru RR, Sullivan MC, Arden NK, Berenbaum F, Bierma-Zeinstra SM, et al. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil*. 2014;22:363–88. doi: 10.1016/j.joca.2014.01.003
8. Jevsevar DS. Treatment of osteoarthritis of the knee evidence-based guideline 2<sup>nd</sup> edition. *JAmAcad Orthop Surg*. 2013;21:571–6. doi: 10.5435/JAAOS-21-09-571
9. Zhang S, Chu WC, Lai RC, Lim SK, Hui JHP, Toh WS. Exosomes derived from human embryonic mesenchymal stem cells promote osteochondral regeneration. *Osteoarthr Cartil*. 2016;24:2135–40. doi: 10.1016/j.joca.2016.06.022
10. Newman B, Wallis GA. Is osteoarthritis a genetic disease? *Clin Investig Med*. 2002;25:139–49.
11. Pers YM, Ruiz M, Noël D, Jorgensen C. Mesenchymal stem cells for the management of inflammation in osteoarthritis: state of the art and perspectives. Vol. 23, *Osteoarthritis and Cartilage*. 2015;23:2027–35. doi: 10.1016/j.joca.2015.07.004
12. Ham O, Youn Lee C, Kim R, Lee J, Oh S, Young Lee M, et al. Therapeutic potential of differentiated mesenchymal stem cells for treatment of osteoarthritis. *Int J Mol Sci*. 2015;16:14961–78. doi: 10.3390/ijms160714961
13. Crivelli B, Chlapanidas T, Perteghella S, Lucarelli E, Pascucci L, Brini AT, et al. Mesenchymal stem/stromal cell extracellular vesicles: from active principle to next generation drug delivery system. *J Control Release*. 2017;262:104–117. doi: 10.1016/j.jconrel.2017.07.023
14. Fellows CR, Matta C, Zakany R, Khan IM, Mobasher A. Adipose, bone marrow and synovial joint-derived mesenchymal stem cells for cartilage repair. *Front Genet*. 2016;7:1–20. doi: 10.3389/fgene.2016.00213
15. Kuroda K, Kabata T, Hayashi K, Maeda T, Kajino Y, Iwai S, et al. The paracrine effect of adipose-derived stem cells inhibits osteoarthritis progression orthopedics and biomechanics. *BMC Musculoskelet Disord*. 2015;16:1–10. doi: 10.1186/s12891-015-0701-4
16. Konala VBR, Mamidi MK, Bhonde R, Das AK, Pochampally R, Pal R. The current landscape of the mesenchymal stromal cell secretome: A new paradigm for cell-free regeneration. *Cytotherapy*. 2016;18:13–24. doi: 10.1016/j.jcyt.2015.10.008
17. Gregory MH, Capito N, Kuroki K, Stoker AM, Cook JL, Sherman SL. A review of translational animal models for knee osteoarthritis. 2012;2012:764621. doi: 10.1155/2012/764621

19. Harding J, Roberts RM, Mirochnitchenko O. Large animal models for stem cell therapy. *Stem Cell Res Ther.* 2013;4(2):23. doi: 10.1186/scrt171
20. Van Der Kraan PM. Factors that influence outcome in experimental osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil.* 2017;25:369–75. doi: 10.1016/j.joca.2016.09.005
21. McCoy AM. Animal models of osteoarthritis: comparisons and key considerations. *Vet Pathol.* 2015; Sep;52(5):803-18. doi: 10.1177/0300985815588611
22. Situmeang A, Lubis AM. Efektivitas injeksi intraartikular sel punca mesenkimal-jeli wharton pada sendi lutut dengan osteoarthritis terhadap regenerasi kartilago artikular: penelitian pada domba [tesis]. Jakarta: Universitas Indonesia; 2017.
23. Burger C, Mueller M, Wlodarczyk P, Goost H, Tolba RH, Rangger C, et al. The sheep as a knee osteoarthritis model: early cartilage changes after meniscus injury and repair. *Lab Anim.* 2007;41: 420–31. doi: 10.1258/002367707782314265
24. Heard BJ, Beveridge JE, Atarod M, Brien EJO, Rolian C, Frank CB, et al. Analysis of change in gait in the ovine stifle: normal, injured, and anterior cruciate ligament reconstructed. *BMC Musculoskelet Disord.* 2017;1–10. doi: 10.1186/s12891-017-1576-3
25. Oláh T, Reinhard J, Gao L, Haberkamp S, Goebel LKH. Topographic modeling of early human osteoarthritis in sheep. *Sci Transl Med.* 2019;6775:1–13. doi: 10.1126/scitranslmed.aax6775
26. Appleyard RC, Burkhardt D, Ghosh P, Read R, Cake M, Swain MV, et al. Topographical analysis of the structural, biochemical and dynamic biomechanical properties of cartilage in an ovine model of osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil.* 2003;11:65–77. doi: 10.1053/joca.2002.0867
27. Murphy JM, Fink DJ, Hunziker EB, Barry FP. Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2003;48:3464–74. doi: 10.1002/art.11365
28. Centeno CJ, Busse D, Kisiday J, Keohan C, Freeman M. Increased knee cartilage volume in degenerative joint disease using percutaneously implanted, autologous mesenchymal stem cells, platelet lysate and dexamethasone. *Am J Case Rep.* 2008;11:343–53.
29. Jo CH, Chai JW, Jeong EC, Oh S, Shin JS, Shim H, et al. Intra-articular injection of mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis of the knee: a 2-year follow-up study. *Am J Sports Med.* 2017;45:2774-83. doi: 10.1177/0363546517716641
30. Zhang S, Jiang YZ, Zhang W, Chen L, Tong T, Liu W, et al. Neonatal desensitization supports long-term survival and functional integration of human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells in rat joint cartilage without immunosuppression. *Stem Cells Dev.* 2013;22:90-101. doi: 10.1089/scd.2012.0116
31. Nori S, Okada Y, Nishimura S, Sasaki T, Itakura G, Kobayashi Y, et al. Long-term safety issues of iPSC-based cell therapy in a spinal cord injury model: Oncogenic transformation with epithelial-mesenchymal transition. *Stem Cell Reports.* 2015;4:360-73. doi: 10.1016/j.stemcr.2015.01.006
32. Matsumoto T, Cooper GM, Gharraibeh B, Meszaros LB, Li G, Usas A, et al. Cartilage repair in a rat model of osteoarthritis through intraarticular transplantation of muscle-derived stem cells expressing bone morphogenetic protein 4 and soluble Flt-1. *Arthritis Rheum.* 2009;60:1390-405. doi: 10.1002/art.24443
33. Khatab S, van Osch GJVM, Kops N, Bastiaansen-Jenniskens YM, Bos PK, Verhaar JAN, et al. Mesenchymal stem cell secretome reduces pain and prevents cartilage damage in a murine osteoarthritis model. *Eur Cells Mater.* 2018;36:218-30. doi: 10.22203/eCM.v036a16
34. Diekman BO, Wu CL, Louer CR, Furman BD, Huebner JL, Kraus VB, et al. Intra-articular delivery of purified mesenchymal stem cells from C57Bl/6 or MRL/MpJ superhealer mice prevents posttraumatic arthritis. *Cell Transplant.* 2013;22:1395-408. doi: 10.3727/096368912X653264
35. Mak J, Jablonski CL, Leonard CA, Dunn JF, Raharjo E, Matyas JR, et al. Intra-articular injection of synovial mesenchymal stem cells improves cartilage repair in a mouse injury model. *Sci Rep.* 2016;6:23076. doi: 10.1038/srep23076
36. Wang Y, Yu D, Liu Z, Zhou F, Dai J, Wu B, et al. Exosomes from embryonic mesenchymal stem cells alleviate osteoarthritis through balancing synthesis and degradation of cartilage extracellular matrix. *Stem Cell Res Ther.* 2017;8:189. doi: 10.1186/s13287-017-0632-0
37. Beveridge JE, Shrive NG, Frank CB. Meniscectomy causes significant in vivo kinematic changes and mechanically induced focal chondral lesions in a sheep model. *J Orthop Res.* 2011;29:1397–405. doi: 10.1002/jor.21395
38. Appleyard RC, Ghosh P, Swain MV. Biomechanical, histological and immunohistological studies of patellar cartilage in an ovine model of osteoarthritis induced by lateral meniscectomy. *Osteoarthr Cartil.* 1999;7:281-94. doi: 10.1053/joca.1998.0202
39. Knights CB, Gentry C, Bevan S. Partial medial meniscectomy produces osteoarthritis pain-related behaviour in female C57BL/6 mice. *Pain.* 2012;153:281-292. doi: 10.1016/j.pain.2011.09.007
40. Manfredini C, Maumus M, Gabusi E, Paoletta F, Grassi F, Jorgensen C, et al. Lack of anti-inflammatory and anti-catabolic effects on basal inflamed osteoarthritic chondrocytes or synoviocytes by adipose stem cell-conditioned medium. *Osteoarthr Cartil.* 2015;23:2045-57. doi: 10.1016/j.joca.2015.03.025



41. Anderson AS, Loeser RF. Why is osteoarthritis an age-related disease? *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2010;24:15–26. doi: 10.1016/j.berh.2009.08.006
42. Platas J, Guillén MI, Del Caz MDP, Gomar F, Mirabet V, Alcaraz MJ. Conditioned media from adipose-tissue-derived mesenchymal stem cells downregulate degradative mediators induced by interleukin-1  $\beta$  in osteoarthritic chondrocytes. *Mediators Inflamm.* 2013;2013:357014. doi: 10.1155/2013/357014
43. Mancuso P, Raman S, Glynn A, Barry F, Murphy JM. Mesenchymal stem cell therapy for osteoarthritis: the critical role of the cell secretome. *Front Bioeng Biotechnol.* 2019;7:9. . doi: 10.3389/fbioe.2019.00009
44. Chen W, Sun Y, Gu X, Hao Y, Liu X, Lin J, et al. Conditioned medium of mesenchymal stem cells delays osteoarthritis progression in a rat model by protecting subchondral bone, maintaining matrix homeostasis, and enhancing autophagy. *J Tissue Eng Regen Med.* 2019;13:1618-1628. doi: 10.1002/term.2916