

Peran CD44 pada Progresivitas Non Alcoholic Steatohepatitis (NASH)

¹Sarwanti, ²Marini Stephanie, ²Ria Kodariah

¹Peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis, ²Staf Pengajar
Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia
Jakarta

Penulis Korespondensi: Dr. Dra. Ria Kodariah, MS.
Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia
Jl. Salemba Raya No. 6, Jakarta 10430
e-mail: rkodariah@gmail.com

ABSTRAK

Non alcoholic Steatohepatitis (NASH) merupakan suatu spektrum penyakit dari *Non Alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD) yang bersifat kronik. Setelah menyingkirkan penyebab perlemakan hati lainnya seperti konsumsi alkohol berlebih dan penyakit hati kronik lainnya. NASH ditandai dengan adanya perlemakan hati yang disertai peradangan (*ballooning*) hepatosit dan inflamasi lobular dengan atau tanpa disertai adanya fibrosis. Diagnosis histopatologi NASH hanya dapat dilakukan dengan melakukan biopsi hati agar didapatkan tingkat dan derajat penyakitnya. Cluster of Differentiation (CD) 44 merupakan reseptor glikoprotein transmembran yang terletak dipermukaan sel makrofag, limfosit, sel endotel. Pada penelitian yang dilakukan pada mencit dan manusia didapatkan hasil bahwa CD44 berperan penting pada progresivitas NASH melalui mekanisme peningkatan peradangan pada jaringan adiposa dan hati. CD44 diduga meningkatkan rekrutmen makrofag dan sel-sel radang lainnya pada jaringan hati yang pada akhirnya meningkatkan resistensi insulin dan perlemakan pada hati. Pemberian *methionine and choline deficiency diet* (MCDD) pada model tikus didapatkan defisiensi CD44 dan berhubungan dengan pencegahan komplikasi hati karena berkurangnya infiltrasi dan inflamasi monosit atau makrofag dan rekrutmen neutrofil di hati yang dievaluasi melalui berkurangnya jumlah fokus inflamasi, ekspresi sitokin peradangan seperti *tumor necrosis factor α* (TNFα), interleukin (IL) -1B dan *nitric oxide synthesis* (iNOS) serta makrofag tipe pro inflamasi. CD44 juga diduga meningkat ekspresinya secara spesifik pasien obesitas.

Kata kunci : NAFLD, steatohepatitis, CD44.

Role of CD44 in Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH) Progressivity

ABSTRACT

Non alcoholic Steatohepatitis (NASH) is part of a group of conditions called Non-Alcoholic Fatty Liver Diseases (NAFLD) where it is a chronic disease, which defined after elimination other causes of fatty liver, such as excessive alcohol consumption and other causes of chronic liver diseases. NASH is fatty liver disease which characterized by ballooning of hepatocyte and lobular inflammation with or without fibrosis. Histopathology diagnose on NASH can be defined by performing liver biopsy. The purpose of liver biopsy is to define level and degree of the disease. Cluster of Differentiation (CD) 44 is a transmembrane glycoprotein receptor which located on the surface of macrophage cells, lymphocytes and endothelial cells. In studies which conducted on mice and humans, showed that CD44 plays important role in the progression of NASH. CD44 regulates inflammation of adipose tissue and liver. CD44 is presumed as a marker which increase macrophage infiltration and other inflammatory cells on liver. This process leads to ultimate increment on insulin resistance and fatty liver. Deficiency was discovered on mice which injected with methionine and choline deficiency diet (MCDD). CD44 is associated with preventive method to prevent liver complication by reducing macrophage or monocyte and as well as neutrophil accumulation in liver which was evaluated through reducing numbers of inflammatory focus, expression of inflammatory cytokines: tumor necrosis factor α (TNFα), interleukin (IL) -1B and nitric oxide synthesis (iNOS), and pro-inflammatory types of macrophage. In obese patients, number of CD44 is predicted to be increasing.

Key word : NAFLD, steatohepatitis, CD44.

PENDAHULUAN

Non alcoholic steatohepatitis (NASH) adalah suatu spektrum penyakit hati kronik yang ditandai dengan adanya perlemakan hati minimal 5% yang disertai inflamasi dan cedera hepatosit dengan atau tanpa adanya fibrosis.^{1,2} NASH merupakan episode lanjutan dari perlemakan hati yang terjadi setelah menyingkirkan penyebab perlemakan hati lainnya seperti konsumsi alkohol yang berlebihan, penyakit hati kronik lainnya dan kondisi lain yang menyebabkan perlemakan hati.¹ NASH bersama dengan *nonalcoholic fatty liver* (NAFL) atau *simple steatosis (fatty liver)* serta sirosis terkait NASH merupakan bagian dari sebuah spektrum klinis yang disebut *nonalcoholic fatty liver disease* (NAFLD).² NASH yang disertai steatofibrosis berperan pada sirosis dan karsinoma hepatoseluler.³

NAFLD merupakan penyebab penyakit hati kronik paling umum di dunia.⁴ Prevalensi NAFLD diseluruh dunia berkisar antara 22%-28%.¹ Prevalensi NASH pada populasi umum sekitar 1,5-6,45%. Prevalensi NASH ditemukan pada pasien NAFLD yang dilakukan biopsi hati adalah 59,10%.²

Prevalensi NAFLD di Amerika Serikat sebesar 18,8% dan NASH 2,6%,⁵ 20%-30% di negara Barat dan di Asia 5%-18%.⁶ Prevalensi NAFLD di Amerika Serikat sebesar 18,8% dan NASH 2,6%,⁵ 20%-30% di negara Barat dan di Asia 5%-18%.⁶ Di Indonesia prevalensi NAFLD kurang lebih sekitar 30% dari total populasi dewasa.⁷ Di RSCM selama tahun 2007 hingga 2017 didapatkan 406 kasus pasien dengan NAFLD.

NAFLD berkorelasi dengan obesitas, resistensi insulin dan/atau diabetes mellitus tipe 2, dislipidemia, hipertrigliserida, hipertensi serta sindrom metabolik lainnya.^{6,7} Insiden penyakit jantung koroner pada populasi NAFLD mencapai 2-11% dengan angka mortalitas 12-13%.⁸ Studi *Ultra Sonografi* menunjukkan pada pasien dengan diabetes mellitus tipe 2 memiliki prevalensi NAFLD sebesar 69%.⁹ Prevalensi NAFL dan NASH meningkat selama tiga hingga empat dekade terakhir seiring dengan meningkatnya prevalensi obesitas dan diabetes mellitus tipe 2.²

Penelitian mengenai perjalanan penyakit NAFLD menyebutkan bahwa 44-64% kasus NAFLD akan menjadi NASH dalam 3-7 tahun. Dari kasus NASH tersebut, 21-26% nya akan menjadi sirosis dalam 8 tahun. Delapan

persen dari kasus sirosis akan menjadi karsinoma hepatoseluler dalam 5 tahun.⁴

Dengan semakin meningkatnya prevalensi NASH menjadi tantangan tersendiri karena sulitnya diagnosis tanpa pemeriksaan noninvasif, serta kemungkinan berkembang ke arah fibrosis dan sirosis. Adanya inflamasi hepatosit yang dapat berlanjut ke arah fibrosis pada NAFLD merupakan faktor kunci terjadinya NASH.³

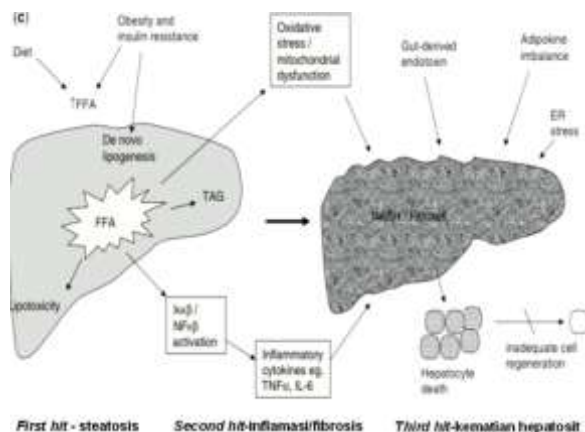
Dari beberapa penelitian diduga bahwa *Cluster of Differentiation* (CD)44 memegang peranan penting dalam progresivitas NASH, dengan cara meningkatkan peradangan pada jaringan adiposa dan hati.³ CD44 diduga meningkatkan rekrutmen makrofag dan sel-sel radang pada jaringan hati yang pada akhirnya meningkatkan resistensi insulin dan perlemakan pada hati.

Tujuan penulisan tinjauan pustaka ini adalah untuk menjelaskan NASH sebagai salah satu kelainan hati kronik dan membahas peran CD44 pada progresivitas NASH.

Patogenesis NASH

Patogenesis terjadinya NASH masih terus dipelajari beberapa tahun ini. Hipotesis yang paling sering dipakai saat ini adalah mekanisme *hits hypothesis* oleh Day *et al.*¹⁰ Hipotesis tersebut membagi patogenesis NASH dalam dua tahap. Tahap satu (*first hit hypothesis*) adalah mekanisme penumpukan lemak (steatosis) di hati yang terjadi saat resistensi insulin.¹¹ Tahap kedua yaitu *second hit hypothesis* dimana terjadi peningkatan produksi radikal bebas yang berasal dari hasil oksidasi asam lemak di hati. Radikal bebas tersebut kemudian akan memicu pelepasan sitokin pro inflamasi, disfungsi mitokondria dan stress oksidatif yang dapat menyebabkan terjadinya steatohepatitis. Selain itu pelepasan sitokin pro inflamasi akan mengaktivasi sel stellata untuk menghasilkan fibroblast yang memicu fibrosis hati.¹⁰

Pada kejadian cedera hati yang kronik, perkembangan fibrosis atau sirosis bergantung pada kemampuan regenerasi sel hati, sehingga gangguan proliferasi hepatosit progenitor dianggap sebagai *third hit* pada NASH.¹¹ Adanya stress oksidatif yang merupakan patogenesis utama dalam perlemakan hati menghambat replikasi hepatosit matur (Gambar 1).¹¹



Gambar 1. Teori *first hit*, *second hit* dan *third hit*¹¹

Gambaran Klinis NASH

Sebanyak 48-100% pasien dengan NASH tidak menunjukkan gejala/asimtomatik.¹² Biasanya penyakit hati sering ditemukan secara kebetulan pada saat pemeriksaan laboratorium rutin. Gejala yang muncul biasanya tidak spesifik. Namun gejala yang paling umum adalah nyeri pada kuadran kanan atas perut, kelelahan dan malaise. Gejala lain yang jarang ditemukan adalah pruritus, anoreksia, dan mual. Penyakit kuning, asites, perdarahan gastrointestinal, dan ensefalopati merupakan indikasi penyakit hati kronik yang lebih lanjut.

Tidak ada tanda khas dari NASH. Obesitas adalah kelainan yang paling umum ditemukan saat pemeriksaan fisik, terjadi pada 30-100% pasien dalam berbagai studi *cross sectional*. Hepatomegali dilaporkan sebanyak 75% pasien dalam beberapa penelitian, dengan prevalensi hepatomegali akan meningkat menjadi 95% bila dinilai dengan *ultrasonografi*. Gambaran stigmata hipertensi portal jarang terjadi, namun spider nevi dan palmar eritema adalah yang paling umum ditemukan.¹²

Meningkatnya kadar serum aminotransferase (ALT dan AST) adalah gambaran/kelainan laboratorium yang paling umum dan seringkali satu-satunya kelainan laboratorium yang didapat pada pasien dengan NASH. Namun tidak ada hubungan signifikan antara tingginya kadar aminotransferase dengan derajat peradangan hati atau fibrosis secara histologis. Hiperbilirubinemia, hipoalbuminemia, dan *protrombin time* yang memanjang jarang ditemukan. Peningkatan profil lipid serum dan glukosa ditemukan pada 25 hingga 75% kasus.¹² Adanya sindrom metabolik pada pasien

dapat dicurigai sebagai prediktor untuk keberadaan steatohepatitis pada pasien dengan NASH.

Diagnosis NASH

Diagnosis NASH ditegakkan setelah menyingkirkan penyakit hati kronik lainnya seperti penyakit hati alkoholik, cedera hati akibat obat, Penyakit Wilson, defisiensi $\alpha 1$ -antitrypsin, dan hepatitis virus. Pertimbangan klinis paling utama untuk curiga adanya NASH adalah peningkatan enzim hati dan hepatomegali pada pasien dengan faktor risiko sindrom metabolik.

Diagnosis NASH dapat dilakukan dengan berbagai alat pencitraan. Ultrasonografi (USG) abdominal pemakaiannya terbatas karena sensitivitasnya yang rendah yaitu kurang dari 30%.⁴ Namun, pemeriksaan USG bersifat non invasif, banyak tersedia dan tidak memerlukan kontras. Penggunaan *CT scan* dikaitkan dengan bahaya radiasi dan kontras bersifat nefropati. Selain itu sensitivitasnya juga rendah serta alat ini masih tergolong pemeriksaan yang mahal. *Magnetic resonance imaging* (MRI) dan *magnetic resonance spectroscopy* (MRS) merupakan alat pencitraan dengan presisi (sensitivitas dan spesifisitas) yang tinggi pada kasus steatosis dan perlemakan hati.

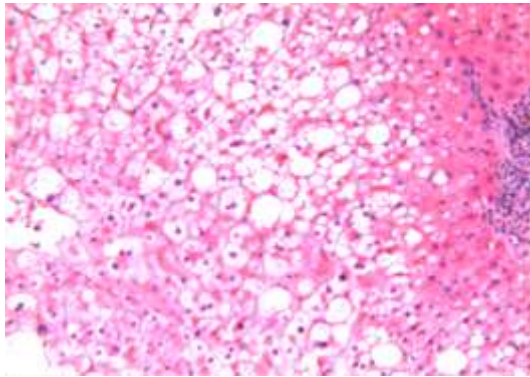
Namun pemeriksaan pencitraan tidak cukup sensitif untuk mendeteksi inflamasi hati, fibrosis ataupun sirosis. Kondisi patologis hati ini hanya dapat didiagnosis dengan pemeriksaan biopsi hati.¹² Biopsi hati merupakan standar baku dalam diagnosis NASH. Biopsi hati dilakukan untuk dapat menegakkan diagnosis, menentukan derajat dan tingkat kelainan NASH.

Gambaran Histopatologi NASH

Terdapat 10 variabel histologi yang diperhatikan dalam penilaian aktivitas nekroinflamasi yang terjadi pada NASH:¹³

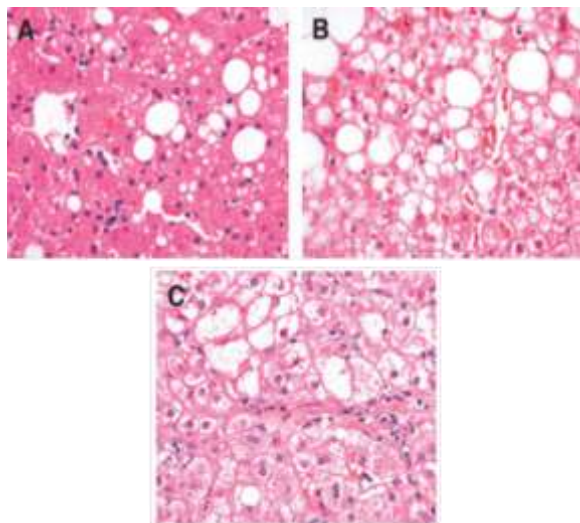
1. Steatosis makrovesikular: Steatosis hepatoseluler dibagi menjadi dua jenis yaitu makrovesikuler dan mikrovesikuler. Pada steatosis makrovesikular, droplet lemak besar atau kecil menempati sitoplasma hepatosit dan men-dorong nukleus ke pinggiran. Steatosis dalam NAFLD biasanya bersifat makrovesikuler. Steatosis NAFLD biasanya dimulai di zona 3 (gambar 2).¹⁴ Steatosis makrovesikuler dibagi menjadi tingkat 0-3 berdasarkan persentase hepatosit yang terlibat (0 tidak ada; 1 sampai 33%; 2 33-66%; 3 lebih

dari 66%); zona distribusi steatosis dan keberadaan steatosis juga dicatat. Pada steatosis mikrovessikular, sitoplasma hepatosit diisi dengan droplet lemak kecil, dan nukleus terletak terpusat di dalam sel.



Gambar 2. Steatosis macrovesikuler dan microvesikuler.¹⁵ (HE, Pembesaran 100X)

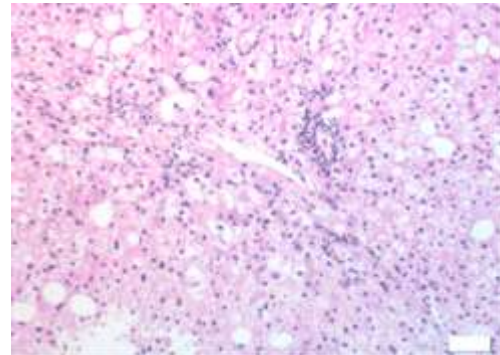
2. Ketidak teraturan dan pembengkakan sel hati (*balloning*) yang dievaluasi adalah zona lokasi yang terlibat, serta perkiraan keparahannya (ringan; nyata) yang dinyatakan berdasarkan jumlah hepatosit yang terlihat mengalami perubahan (Gambar 3).



Gambar 3. A. Balloning hepatosit skor 0, B. Skor 1, C. skor 2¹⁶ (HE, Pembesaran 40X).

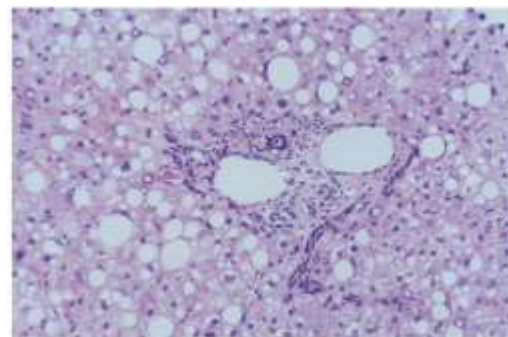
3. Inflamasi lobular: dibagi menjadi tingkat 0-3 berdasarkan jumlah fokus inflamasi dalam 20x lapang pandang dengan pembesaran 20x (0 tidak ada; 1: 1-2/20x; 2: 4/20x; 3: lebih dari 4/20x) yang dinilai adalah komponen sel-

sel inflamasi (leukosit polimorfonuklear, limfosit dan sel-sel mononuklear lain, eosinofil dan mikro-granuloma) serta lokasinya (sinusoidal, yang dikelilingi jaringan hialin mallory atau nekrosis hepatoseluler) juga dicatat. Peradangan portal yang berat kemungkinan harus dipikirkan adanya penyakit hati kronik lainnya seperti hepatitis C.¹⁴



Gambar 4. Peradangan lobular¹⁴ (HE, Pembesaran 400X).

4. Inflamasi pada jalur portal: dibagi menjadi tidak ada, ringan, sedang dan berat (0-3). Jenis inflamasi juga dicatat (limfosit, plasma dan eosinofil).

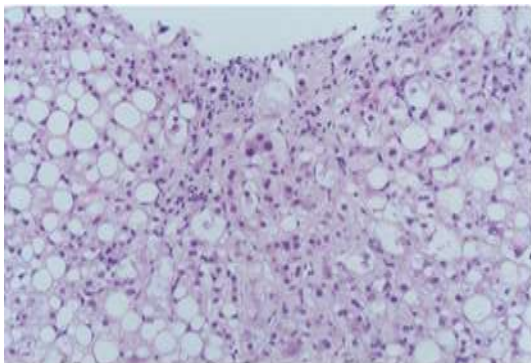


Gambar 5. Inflamasi pada jalur portal. Tambahan adanya inti terglisogenasi (HE 20x)¹³

5. Hialin Mallory: dibagi menjadi 0-2 (0 tidak ada, 1 sesekali, 2 beberapa) penilaian yaitu pada bentuk hialin yang baik/buruk, lokasi, zona, serta adanya satelitosis (leukosit polimorfo-nuklear yang mengelilingi sel hati dengan hialin Mallory).
6. Badan-badan asidofil: dihitung sebanyak 20x lapangan pandang dan dibagi 0-3 seperti pembagian pada inflamasi intra asinus.
7. Sel-sel PAS-D Kupfer: dihitung dengan cara yang sama dan dibagi menjadi 0-3.

8. Nukleus terglukogenasi: dibagi menjadi 0-3 (0 tidak ada, 1 jarang, 2 beberapa, 3 banyak) lokasi/zona juga dicatat (Gambar 5).
9. Lipogranuloma: lipogranuloma intra-asinar dinilai dan dibagi menjadi tidak ada, jarang, sesekali, dan beberapa. Komponen selular lipogranuloma tersebut juga dicatat.
10. Besi pada hepatoseluler: juga dicatat dan dibagi menjadi 0-4+.

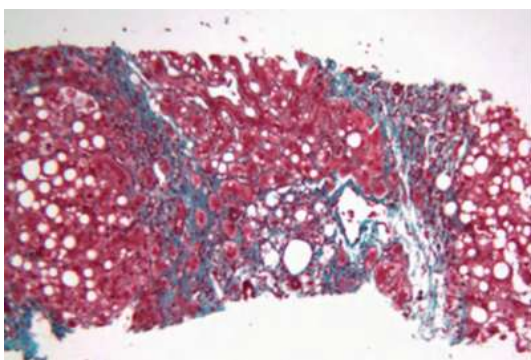
Gambaran NASH terutama didapatkan adanya steatosis makrovesikular, ballooning hepatosit dan peradangan lobular (Gambar 6).¹³



Gambar 6. Gambaran NASH dinilai dengan adanya predominan makrovesikular, ballooning hepatosit, dan sedikit Mallory hyalin, sel radang kronik.¹³ (HE, Pembesaran 100X).

Fibrosis

Pola karakteristik fibrosis pada NASH adalah perisinusoidal/fibrosis pericellular yang biasanya dimulai di zona 3. Pewarnaan Masson trichrome atau reticulin pewarnaan dapat bermanfaat untuk mengevaluasi fibrosis (Gambar 7). Saat NASH berkembang, terjadinya fibrosis portal/periportal, menandakan sirosis hati dapat terjadi.¹⁴



Gambar 7. Gambaran fibrosis perisinusoidal di zona 3 pada NASH¹⁵ (HE Pembesaran 40X).

Grading dan Staging NASH

Brunt et al¹⁷ mengklasifikasikan derajat inflamasi pada NASH sebagai grade 1 (ringan), grade 2 (sedang), dan grade 3 (berat) berdasarkan derajat steatosis hepatoseluler, ballooning sel hati, dan peradangan lobular akut dan kronis campuran dan adanya fibrosis perisinusoidal di zona 3.¹³ Sistem penilaian untuk ini berdasarkan lokasi dan luasnya fibrosis (Tabel 1).

Tabel 1. Grading dan staging sistem untuk NASH.¹³

1. Grade 1 (ringan)	- Steatosis hingga 66%
	- Balloning hepatosit di zona 3 (sedikit)
	- Inflamasi intralobular: sebaran sel limfosit yang menyebar
	- Peradangan portal : tidak ada atau ringan
2. Grade 2 (sedang)	- Steatosis semua tingkat
	- Balloning: jelas, terutama di zona 3
	- Inflamasi intralobular: polimorf dan adanya inflamasi kronis
	- Peradangan portal: ringan hingga sedang
3. Grade 3 (berat)	- Steatosis: panacinar
	- Balloning: luas terutama di zona 3
	- Inflamasi intralobular: polimorf tersebar dan peradangan kronis ringan
	- Peradangan portal: ringan atau sedang
Stage 1:	Fibrosis perisinusoidal/periseluler di zona 3, fokal atau luas
Stage 2:	Fibrosis perisinusoidal/periseluler di zona 3 fokal atau fibrosis periportal luas
Stage 3:	Fibrosis perisinusoidal/periseluler di zona 3 fokal atau fibrosis bridging
Stage 4:	Sirosis

The NASH Clinical Research Network (NASH CRN) mendesain skor aktivitas NAFLD yang disebut Nash Activity Score (NAS) untuk digunakan dalam penelitian klinis. Skor ini dapat digunakan untuk semua spektrum NAFLD, termasuk steatosis simpel. Skor dihitung sebagai jumlah dari skor untuk steatosis (0-3), peradangan lobular (0-3), dan ballooning hepatosit (0-2), dan skor berkisar dari 0 sampai 8 (Tabel 2).¹⁶

Tabel 2. Komponen NAS.¹⁶

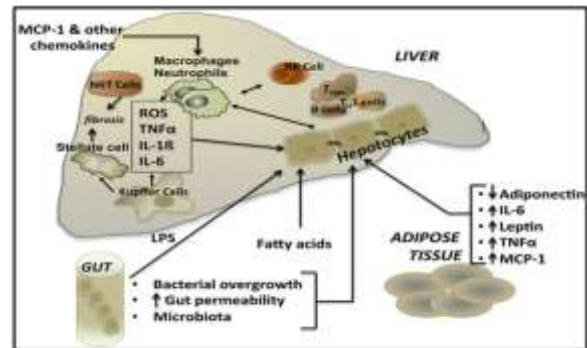
Jenis kelainan histopatologi	Skor
Steatosis	
< 5%	0
5%-33%	1
>33%-66%	2
>66%	3
Inflamasi lobular	
Tidak ada fokus	0
<2 fokus per 200x lapang pandang	1
2-4 fokus per 200x lapang pandang	2
>4 fokus per 200x lapang pandang	3
Balloning	
Tidak ada	0
Sedikit sel balloning	1
Banyak sel/prominent balloning	2

Tujuan utama penggunaan NAS pada awalnya adalah untuk mengevaluasi histologik, namun saat ini digunakan sebagai kriteria diagnostik untuk NASH. Beberapa penelitian telah menggunakan batas nilai NAS, sebagai pengganti untuk diagnosis histologik NASH. Karena $NAS \geq 5$ berkorelasi dengan diagnosis NASH, dan biopsi dengan skor ≤ 2 didiagnosis sebagai "not NASH". Sedangkan NAS skor 3-4 disebut *possible NASH*.¹⁶

Standar baku evaluasi hasil pengobatan yang diharapkan pada tatalaksana NASH adalah adanya perbaikan secara histologi. Penelitian-penelitian pada dekade sekarang ini terus dilakukan karena terapi farmakologis belum berdampak terhadap pengobatan NASH. Mekanisme molekuler belum mendapatkan hasil yang signifikan. Beberapa penelitian menunjukkan inflamasi hati merupakan faktor penting dalam perkembangan NAFL menjadi NASH.

Inflamasi pada Hati

Selain sel hepatosit, hati juga memiliki komponen sel imun. Komponen sel imun bawaan di hati terdiri dari sel Kupfer/makrofag residen, dan sel-sel pembunuh alami/*natural killer cell* (NK). Bila terjadi cedera hati, komponen sel imun adaptif seperti neutrofil, leukosit, monosit, makrofag, sel T pembunuh alami (NKT), sel B, dan sel T akan segera direkrut ke hati. Jenis sel lain yang dapat berkontribusi pada peradangan dan fibrosis adalah endotel sinusoidal sel (SEC) dan sel stellata hati (HSC). Asam lemak bebas, *bacterial lipopolysaccharide* (LPS), kemokin, sitokin, dan adipokine, semuanya berkontribusi dalam memicu terjadinya peradangan di hati.¹⁸ Sistem imun bawaan dan adaptif serta *pathological associated molecular pattern* (PAMP) dan *damage association molecular pattern* (DAMP) diketahui mengaktifasi berbagai *pattern recognition receptors* yang menyebabkan inflamasi hati. PAMP adalah sinyal berbahaya yang berasal dari luar contohnya seperti mikroba yang memicu inflamasi. DAMP adalah molekul endogen yang dihasilkan dari adanya kerusakan sel yang memicu inflamasi yang steril (Gambar 8).¹⁸



Gambar 8. Berbagai sinyal pada NASH. Respon imun dan inflamasi pada NASH termasuk interaksi hati, usus, dan jaringan adipose. Berbagai adipokin termasuk adiponektin, IL-6, leptin, TNF α , dan MCP-1 dilepaskan oleh sel adiposit dan makrofag pada jaringan dan berperan pada inflamasi hati. Peningkatan permeabilitas usus, pertumbuhan bakteri, dan perubahan mikrobiota menghasilkan LPS, asam lemak, dan faktor lain yang berkontribusi pada inflamasi dan steatosis.¹⁸

Sinyal PAMP dan DAMP berperan pada patogenesis NASH melalui berbagai *pattern recognition receptors* (PRR), termasuk *Toll Like Receptor* (TLR), *nucleotide-binding and oligomerization domain (NOD)-like receptors*, dan RIG-I receptors. Sinyal PRR berperan pada steatosis, resistensi insulin dan aktivasi dan rekrutmen sel-sel inflamasi.

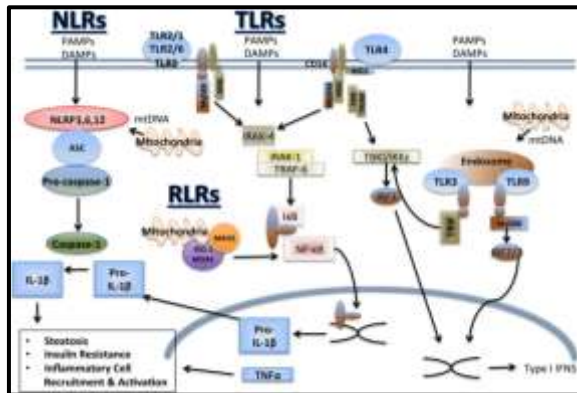
1. *Toll Like Receptor* (TLR).

TLR pada hati di ekspresikan oleh sel kupfer, hepatosit, *sinusoidal endothelial cell* (SEC) dan HSC. Ketika pola molekuler dikenali oleh TLR, sinyal downstream diinisiasi dan menghasilkan respon inflamasi. Sinyal TLR mengaktifasi NF- κ B, yang berperan pada perekrutan reseptor IL-1 yang berhubungan dengan keluarga kinase. Sel kupfer melalui sinyal TLR memproduksi sitokin pro inflamasi seperti TNF α , IL-1 β , CCL2, CCL20 dan CD44. Masing-masing TLR berhubungan dengan protein adaptor yang berbeda, yang berperan pada transkripsi sitokin proinflamasi.^{3,18}

2. *NOD Like Receptor* (NLR)

NLR adalah famili dari receptor intraseluler yang mempengaruhi respon imun bawaan.

Aktivasi inflamasi oleh NLR terbagi dua yaitu: sinyal peningkatan ekspresi *inflammasome* secara general dan aktivasi oleh ligan. Aktivasi *inflammasome* terjadi pada sel imun bawaan termasuk makrofag, netrofil, dendritik sel, hepatosit, HSC, dan myofibroblast. Aktivasi *inflammasome* memproduksi sitokin proinflamasi seperti IL-1B dan interleukin 18. Sinyal IL-1B berperan penting pada NASH.¹⁸



Gambar 9. Pola pengenalan reseptor yang berperan pada patogenesis NASH. Sinyal PAMP dan DAMP melalui PRRs, termasuk *Toll-like receptors*, *nucleotide-binding* dan *oligomerization domain (NOD)-like receptors*, dan *RIG-I like receptors*. Sinyal PRR berperan pada steatosis, resistensi insulin, dan perekrutan serta inflamasi sel radang.¹⁸

Aktivasi Jalur Inflamasi pada NASH

Proses inflamasi yang terjadi pada spektrum penyakit NAFLD dari NAFL menjadi NASH diaktivasi oleh beberapa faktor yaitu:

a. Sitokin inflamasi/adipokinin dan asam lemak bebas.

Dampak adanya perlemakan hati kronik akan meningkatkan penimbunan asam lemak bebas didalam jaringan hati yang mengaktivasi sinyal IKK-B/NF-kB dan selanjutnya memicu peningkatan ekspresi sitokin pro inflamasi seperti TNF-α, interleukin 6 (IL-6), interleukin 1-beta (IL-1β), dan aktivasi sel kupfer yang akhirnya memicu terjadinya NASH. Selain itu jalur IKK-B/NF-kB juga dapat diaktivasi oleh adanya peningkatan stress oksidatif, stress retikulum endoplasma yang dipicu oleh peningkatan asam lemak bebas. Aktivasi sinyal IKK-B/NF-kB dapat pula meningkatkan resistensi insulin. Penimbunan lemak dalam jaringan adiposa meningkatkan kadar leptin yang di produksi

oleh adiposit yang memicu peradangan jaringan adiposa yang akan mempengaruhi terjadinya NAFLD. Namun sekresi adiponektin pada kondisi perlemakan menurun. Adiponektin merupakan anti inflamasi dan dapat meningkatkan sensitivitas insulin.

b. Stress oksidatif/difungsi mitokondria.

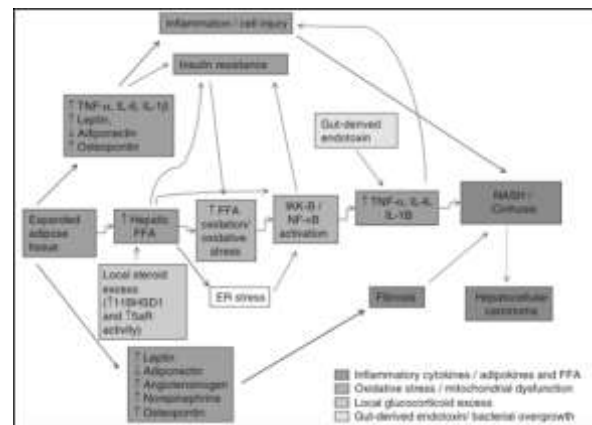
Peningkatan asam lemak bebas meningkatkan oksidasi asam lemak di mitokondria yang menghasilkan radikal bebas berupa *Reactive Oxygen Species (ROS)*, dimana senyawa ROS menginduksi stres oksidatif yang memicu kerusakan mitokondria dan pada akhirnya memicu jalur inflamasi.

c. Endotoksin berasal dari saluran cerna/pertumbuhan bakterial yang berlebih.

Stres retikulum endoplasma disebabkan oleh berbagai stress biologis, seperti hiperinsulinemia dan hyperlipidemia yang dapat mengaktivasi berbagai jalur yang mengarah ke dalam resistensi insulin, peradangan, apoptosis dan difungsi mitokondria. Pertumbuhan bakteri berlebih menghasilkan etanol dan pelepasan lipopolisakarida yang mengaktivasi produksi TNF-α pada sel kupfer dan menyebabkan peradangan hati.

d. Sekresi glukokortikoid berlebih.

Biasanya pada pasien gangguan metabolik seperti Sindrom Cushing terjadi peningkatan glukokortikoid yang memicu obesitas sentral, resistensi insulin dan diabetes.



Gambar 10. Aktivasi jalur inflamasi pada NASH¹¹

Temuan terbaru menunjukkan bahwa CD44 dapat berperan pada perkembangan NASH melalui inflamasi jaringan adiposa dan hati dengan cara meningkatkan rekrutmen makrofag, yang berakibat meningkatnya resis-

tensi insulin dan steatosis hati. Studi yang dilakukan oleh Patoureaux et al³ menjelaskan bahwa steatohepatitis berhubungan dengan peningkatan CD44 hati pada pasien obesitas dan juga hewan mencit, dan CD44 hati meningkat secara spesifik pada pasien NASH.³

Cluster of Differentiation Number 44 (CD44)

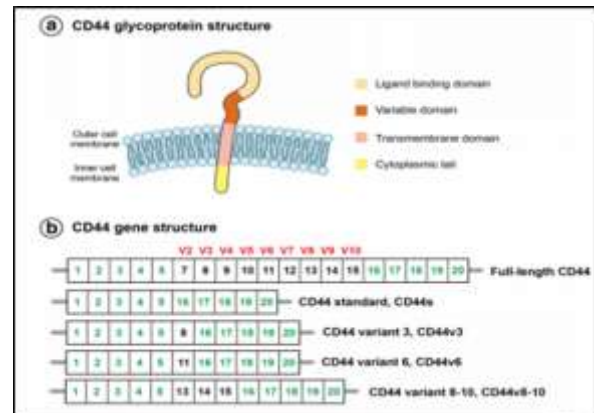
CD44 adalah molekul membran yang pertama diidentifikasi pada limfosit dengan nama lain adalah Pgp-1, ECMRIII, Hermes antigen, Ly-24, H-CAM dan gp90.^{Hermes¹⁹} CD44 diekspresikan pada banyak tipe sel yang berperan pada inflamasi, seperti leukosit, neutrofil dan makrofag.³ Selain itu juga diekspresikan pada berbagai tipe sel seperti hepatosit, fibroblast, epithelial, sel mesodermal dan neuroektodermal.²⁰

CD44 merupakan glikoprotein trans membrane yang memiliki fungsi adhesi seluler (agregasi dan migrasi), degradasi hyaluronat, homing kelenjar limfe, myelopoiesis dan lymphopoiesis, angiogenesis dan induksi pelepasan sitokin pro inflamasi. Secara prinsip fungsi CD44 tergantung dari adhesi seluler pada suatu jaringan.¹⁹ CD44 hepatosit, fibroblast, epithelial, sel mesodermal dan neuroektodermal.²¹

Struktur dan isoform CD44

CD44 merupakan glikoprotein transmembran tipe I yang terletak di lengan pendek kromosom 11 pada manusia.^{19,20} Gen CD44 terdiri dari 20 exon, 12 diantaranya berperan dalam *splicing*.

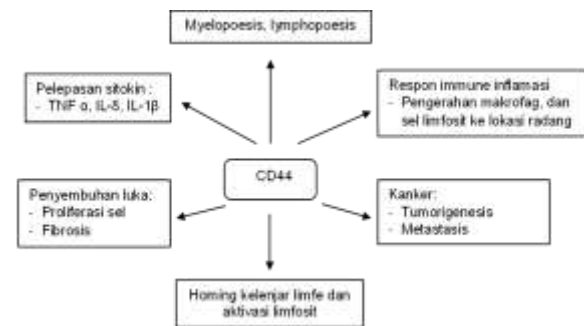
CD44 memiliki lebih dari 20 isoform yang berasal dari *RNA alternative splicing* (gambar 11). Isoform-isoform ini berperan pada differensiasi seluler. Isoform yang secara umum diketahui berjumlah 12 isoform, yang disebut sebagai variant dan disimbolkan dengan huruf "v" (nomenklatur CD44v#). Varian dari isoform CD44 dapat diisolasi dari sel normal maupun sel patologis. CD44H adalah isoform hematopoetic, sering juga disebut sebagai CD44 standar. CD44 standar banyak diekspresikan semua tipe sel darah seperti leukosit dan natural killer sel.²⁰ CD44 memiliki domain ekstraseluler, daerah membran-proksimal, domain transmembran, dan ekor sitoplasma.²² Isoform CD44 yang paling produktif disebut *standar CD44 (CD44s)* dan merupakan protein dengan berat molekul 37 kDa.¹⁹



Gambar 11. Struktur protein dan gen CD44. a. Empat domain glikoprotein CD44 disajikan dengan warna yang sesuai: domain pengikatan ligan, domain variabel, domain transmembran, dan ekor sitoplasma. B. CD44 dikodekan oleh 20 ekson pada tikus tetapi 19 pada manusia. Exon 6 coding untuk CD44 varian 1 (CD44v1) kurang pada manusia. Ekson warna hijau selalu dinyatakan sebagai bentuk standar CD44 (CD44), dan hingga sembilan varian ekson dapat dimasukkan dengan penyambungan alternatif.²²

Fungsi CD44

CD44 berfungsi dalam proses fisiologis dan patologis dalam tubuh. Secara skematik berbagai fungsi dari CD44 digambarkan pada skema Gambar 12.



Gambar 12. Skema fungsi CD44^{20,23}

Peran CD44 pada Progresivitas NASH

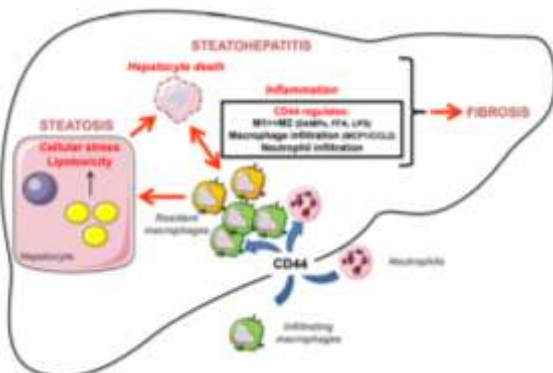
Pada steatosis hati sederhana respon imun yang terjadi adalah infiltrasi makrofag dan *monocyte chemoattractant protein 1 (MCP1)* yang meningkat. CD44 diekspresikan tinggi oleh makrofag yang jumlahnya meningkat sehingga memicu inflamasi dan resistensi insulin yang merupakan fenomena umum pada NAFLD. Pada NASH, peningkatan ekspresi CD44 meningkatkan infiltrasi sel T dan sitokin pro

inflamasi. CD44 yang berikatan dengan Hyaluronat Acid (HA) dapat memicu interaksi dengan sejumlah protein permukaan sel lainnya, seperti *Toll like receptors* (TLRs) yang akan mengaktifasi Nucleus Factor kB (NF-kB) dan berakhir pada aktivasi gen-gen yang mengkode sitokin-sitokin proinflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor* (TNF) dan *Interleukin 1B* (IL-1B). Proses tersebut juga melibatkan bantuan dari caspase-1 dan *inflammasome*, terutama dalam proses sintesis IL-1B.^{10,24}

CD44 yang diekspresikan oleh sel-sel inflamasi juga memicu sel makrofag resident (sel kupfer) untuk meningkatkan proses inflamasi melalui regulasi peningkatan polarisasi sel kupfer fenotip M1. Makrofag M1 diaktifkan secara klasik, yang memainkan peran penting dalam kekebalan humoral dan merespon adanya patogen, serta bersifat pro inflamasi.¹⁸

CD44 juga memicu sel Kupfer dan HSC untuk menghasilkan CCL2. CCL2 menginduksi perekrutan monosit yang bersirkulasi ke dalam hati. Monosit lebih pro-inflamasi daripada sel Kupfer resident dan menghasilkan sitokin proinflamasi, seperti TNF α dan IL-1 β yang berkontribusi pada pengembangan NASH dan fibrosis.²⁵

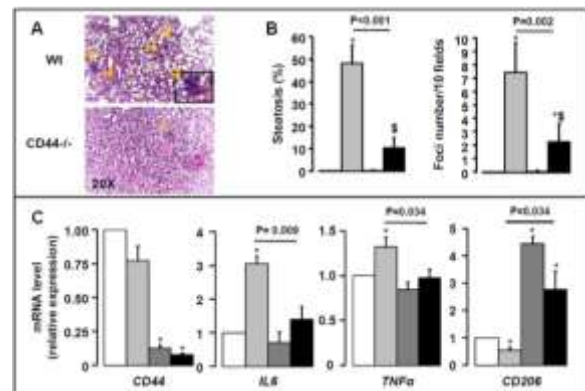
Ekspresi CD44 juga meningkatkan perekrutan neutrofil. Banyaknya perekrutan neutrofil di NASH secara krusial berkontribusi pada kerusakan hepatosit, peradangan dan fibrosis, melalui pelepasan faktor yang berbeda. Termasuk enzim sitotoksik myeloperoxidase dan elastase.^{3,26} Secara skematis, peran CD44 dalam progresivitas NALFD menjadi NASH digambarkan pada gambar 13.



Gambar.13 Skema peran CD44 pada NASH³

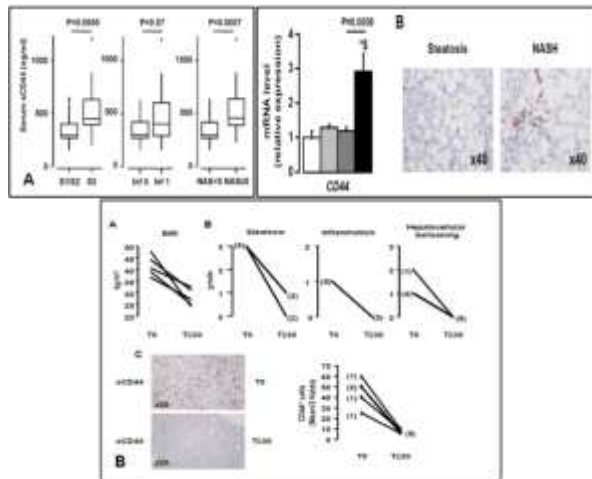
Penelitian CD44 pada NASH

Patoureaux S et al³ melakukan penelitian pada pasien obesitas dan tikus untuk mengetahui peran CD44 pada NASH. Pada penelitian ini didapatkan peningkatan regulasi CD44 pada pasien obesitas dan model tikus dengan steatosis hati. Pemberian *methionine and choline deficient diet* (MCDD) pada model tikus didapatkan defisiensi CD44 dan berhubungan dengan pencegahan komplikasi hati karena berkurangnya infiltrasi dan inflamasi monosit atau makrofag dan rekrutmen neutrofil di hati yang dievaluasi melalui berkurangnya jumlah fokus inflamasi, ekspresi sitokin peradangan seperti TNF α , IL-1B dan *nitric oxide synthase* (iNOS) serta makrofag tipe pro inflamasi. Namun defisiensi CD44 tidak berdampak pada jumlah CD3+, CD4+ dan CD8+ pada tikus, serta tidak berdampak pada penurunan monosit dan makrofag didalam sirkulasi darah.



Gambar 14. A. sampel jaringan hati dari tikus model *wild type* dan CD44^{-/-} setelah diet MCDD. B. Kuantifikasi steatosis hati dan focus inflamasi. C. Ekspresi gen CD44, TNF α , IL6, dan CD206.³

Pada penelitian ini juga dilaporkan adanya peningkatan yang spesifik ekspresi CD44 hati pada pasien obesitas. Ekspresi ini juga berhubungan dengan ekspresi marker CD68, MCP1/CCL2, TNF α , dan IL-1B pada makrofag (p=0,007).³



Gambar. 15 A. Jumlah serum level pada CD44 pada pasien NAFLD. B. koreksi NASH berhubungan dengan penurunan CD44 hati pasien obesitas.³

RINGKASAN

CD44 adalah molekul membran yang pertama diidentifikasi pada limfosit dan awalnya ditemukan fungsinya pada adhesi sel dan *homing* sel. CD44 diekspresikan pada banyak tipe sel yang berperan pada inflamasi, seperti leukosit, neutrofil dan makrofag. Selain itu juga diekspresikan pada berbagai tipe sel seperti hepatosit, fibroblast, epithelial, sel mesodermal dan neuroektodermal. CD44 berperan baik secara fisiologis dan patologis pada respon imun, inflamasi, pelepasan sitokin, penyembuhan luka, adhesi sel dan *homing* sel, aktivasi sel T dan tumorigenesis. Pada beberapa penelitian, ekspresi CD44 pada hati meningkat pada NASH melalui aktivasi respon imun bawaan yaitu makrofag, sel T dan neutrofil, yang mengindikasikan peran CD44 pada progresi NAFL menjadi NASH.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih saya ucapkan untuk kedua pembimbing saya, dr. Marini Stephanie, SpPA (K) dan Dr. Dra. Ria Kodariah, MS yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing saya hingga tinjauan pustaka ini selesai. Saya juga menyampaikan terima kasih kepada teman-teman PPDS satu angkatan, para senior, dan keluarga atas segala bentuk dukungan dan masukan selama proses pembuatan tinjauan pustaka ini. Semoga tinjauan pustaka ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

DAFTAR PUSTAKA

1. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016; 64: 73-84.
2. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, *et al*. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2018; 67: 328-57.
3. Patouraux S, Rousseau D, Bonnafous S, Lebeaupin C, Luci C, Canivet CM, *et al*. CD44 is a key player in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol [Internet]*. 2017; 67: 328-38. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2017.03.003>
4. Perumpail BJ, Khan MA, Yoo ER, Cholankeril G, Kim D, Ahmed A, *et al*. Clinical epidemiology and disease burden of nonalcoholic fatty liver disease. 2017; 23: 8263-76.
5. Sayiner M, Koenig A, Henry L, Younossi ZM. Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis in the United States and the Rest of the World. *Clin Liver Dis*. 2016; 20: 205-14.
6. Benedict M, Zhang X. Non-alcoholic fatty liver disease: An expanded review. *World J Hepatol*. 2017; 9: 715-32.
7. Amarapurkar DN, Hashimoto E, Lesmana LA, Sollano JD, Chen PJ, Goh KL. How common is non-alcoholic fatty liver disease in the Asia-Pacific region and are there local differences? *J Gastroenterol Hepatol*. 2007; 22: 788-93.
8. Azzam H, Malnick S. Non-alcoholic fatty liver disease-the heart of the matter. *World J Hepatol [Internet]*. 2015 Jun 8 [cited 2018 Sep 19]; 7: 1369-76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26052382>
9. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, *et al*. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatol*. 2012; 55: 2005-23.
10. Duwaerts CC, Maher JJ. Mechanisms of

- Liver Injury in Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Curr Hepatol reports* [Internet]. 2014 Jun 1 [cited 2018 Oct 28]; 13: 119-29. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25045618>
11. Dowman JK, Tomlinson JW, Newsome PN. Review Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. 2010;(November 2009):71-83.
 12. Sass DA, Chang P, Chopra KB. Nonalcoholic Fatty Liver Disease : A Clinical Review. 2005; 50: 171-80.
 13. Brunt EM, Janney CG, Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 1999 Sep [cited 2018 Sep 19]; 94: 2467-74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10484010>
 14. Takahashi Y, Fukusato T. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol*. 2014; 20: 15539-48.
 15. Burt A, Portmann B, Ferrell L. Pathology of the Liver MacSween ' s. 2012. 1020 p.
 16. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* [Internet]. 2005 Jun [cited 2018 Sep 19]; 41: 1313-21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15915461>
 17. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* [Internet]. 2005 Jun [cited 2018 Oct 28]; 41: 1313-21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15915461>
 18. Ganz M, Szabo G. Immune and inflammatory pathways in NASH. 2014; 7(2013).
 19. Sneath RJS, Mangham DC. The normal structure and function of CD44 and its role in neoplasia. *J Clin Pathol-Mol Pathol*. 1998; 51: 191-200.
 20. Basakran NS. CD44 as a potential diagnostic tumor marker. *Saudi Med J*. 2015; 36: 273-9.
 21. Liu LF, Kodama K, Wei K, Tolentino LL, Choi O, Engleman EG, et al. The receptor CD44 is associated with systemic insulin resistance and proinflammatory macrophages in human adipose tissue. *Diabetologia*. 2015; 58: 1579-86.
 22. Chen C, Zhao S, Karnad A, Freeman JW. The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications. 2018;1-23.
 23. Sneath RJS, Mangham DC. The normal structure and function of CD44 and its role in neoplasia [Internet]. Vol. 51, *J Clin Pathol: Mol Pathol*. 1998 [cited 2018 Sep 30]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC395635/pdf/510191.pdf>
 24. Gaggini M, Morelli M, Buzzigoli E, DeFronzo RA, Bugianesi E, Gastaldelli A. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease. *Nutrients* [Internet]. 2013 May 10 [cited 2018 Oct 28]; 5: 1544-60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23666091>
 25. Manuscript A, Inflammation H. NIH Public Access. 2016; 61: 1066-79.
 26. Caligiuri A, Gentilini A, Marra F. Molecular Pathogenesis of NASH. 2016.