

Identification of Osteoarthritis Patients By Transcriptome-Based Rule Set Generation

Pendahuluan

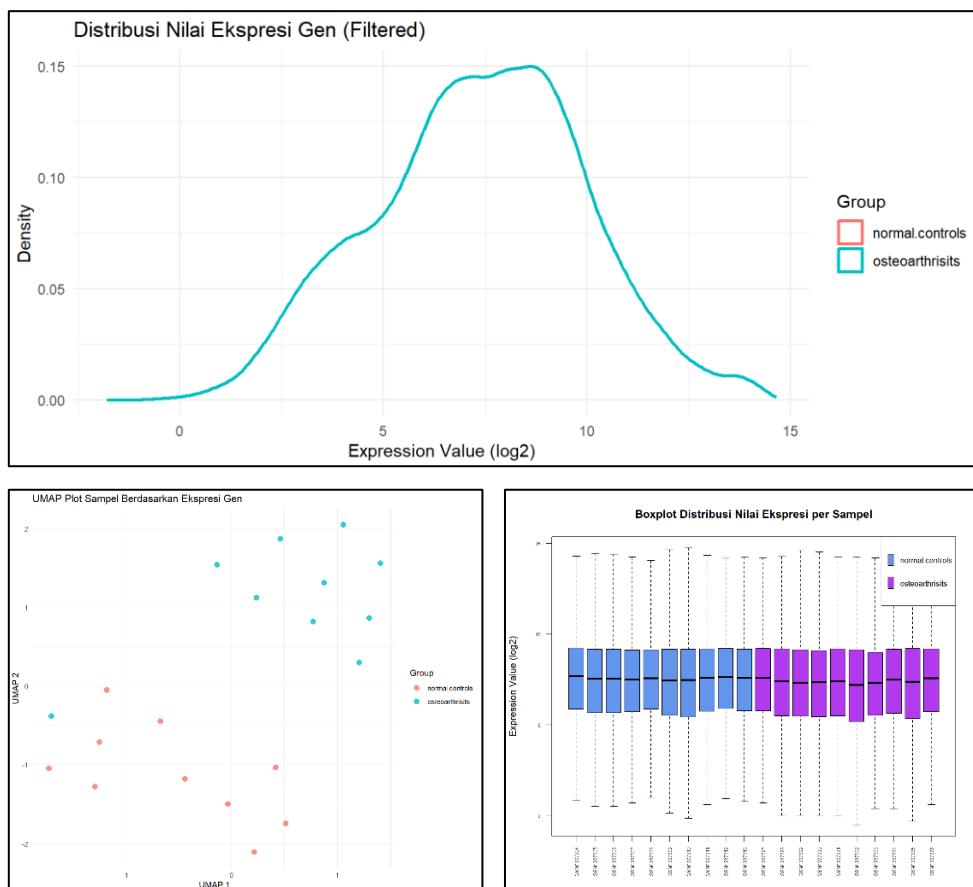
Osteoarthritis (OA) adalah penyakit yang menyebabkan nyeri kronis pada sendi dan umum terjadi seiring bertambahnya usia. Bahkan, beban penyakit OA secara global kini telah mencapai 500 juta orang. Urgensi identifikasi perubahan genetik pada OA didasari oleh keterbatasan terapi saat ini yang mayoritas hanya berfokus pada pereda gejala tanpa menghentikan progresivitas penyakit. Peristiwa ini berujung pada banyaknya pasien yang harus menjalani tindakan bedah pada stadium akhir. Oleh karena itu, tujuan dari analisis ini adalah untuk mengidentifikasi Differentially Expressed Genes (DEGs) guna memahami mekanisme molekuler yang mendasari perkembangan OA serta mendukung deteksi dini, prognosis, dan terapi baru untuk OA.

Metode

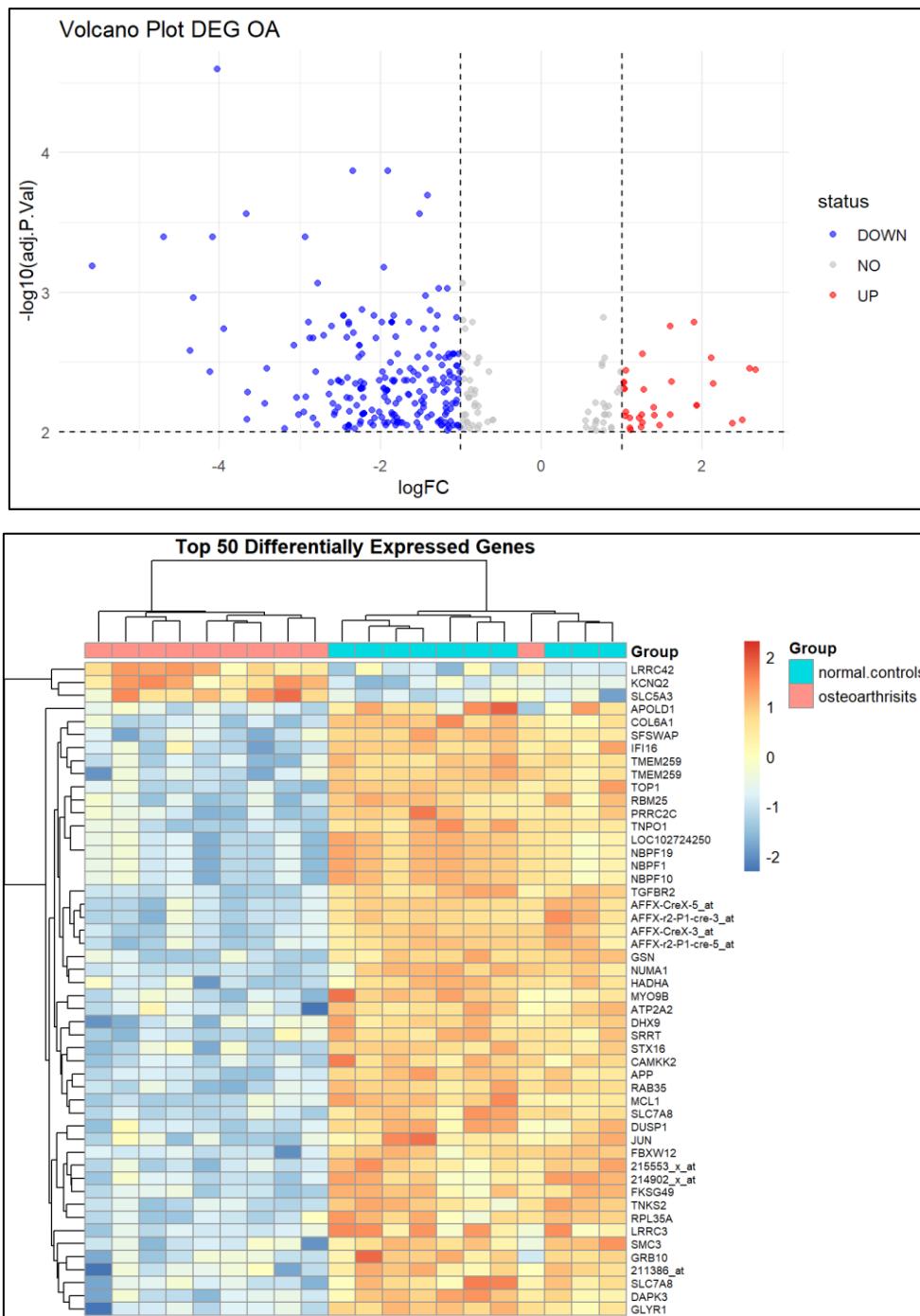
Penelitian ini menganalisis dataset GSE55457 yang dihasilkan menggunakan platform microarray Affymetrix Human Genome U133A Array serta diperoleh dari database Gene Expression Omnibus (GEO). Analisis DEGs dilakukan menggunakan software R dengan paket Bioconductor. Pra-pemrosesan data berupa pemilihan transkriptomik membran sinovial dari pasien Osteoarthritis (OA) maupun kontrol untuk memungkinkan perbandingan ekspresi gen antar kondisi. Dilakukan pula transformasi data ke dalam skala log₂ serta normalisasi kuantil untuk menstabilkan varian, mendekati asumsi model linear, serta memudahkan interpretasi log *fold change*. Visualisasi data ke dalam bentuk boxplot, density plot, UMAP Plot dapat membantu untuk menilai kualitas distribusi dan normalisasi data. Selanjutnya, dilakukan identifikasi gen dianggap sebagai DEGs menggunakan model linear (lmFit) dan statistik Empirical Bayes (eBayes) dengan penetapan adjusted P-value sebesar < 0.01. Kumpulan DEGs pada pasien OA dan pasien normal ini kemudian dapat divisualisasikan ke dalam bentuk volcano plot dan heatmap. Selanjutnya, dapat dijalankan pula analisis *enrichment* Gene Ontology (GO) dan KEGG Pathway untuk mengetahui keterlibatan gen terkait dengan fungsi atau jalur biologis tertentu. Untuk memastikan konsistensi dan reproducibility (keajegan) hasil, analisis dilakukan melalui tiga kali replikasi alur kerja. Hasil dari ketiga replikasi dibandingkan untuk memastikan bahwa tren gen utama dan arah perubahan ekspresi tetap konsisten.

Hasil dan Interpretasi

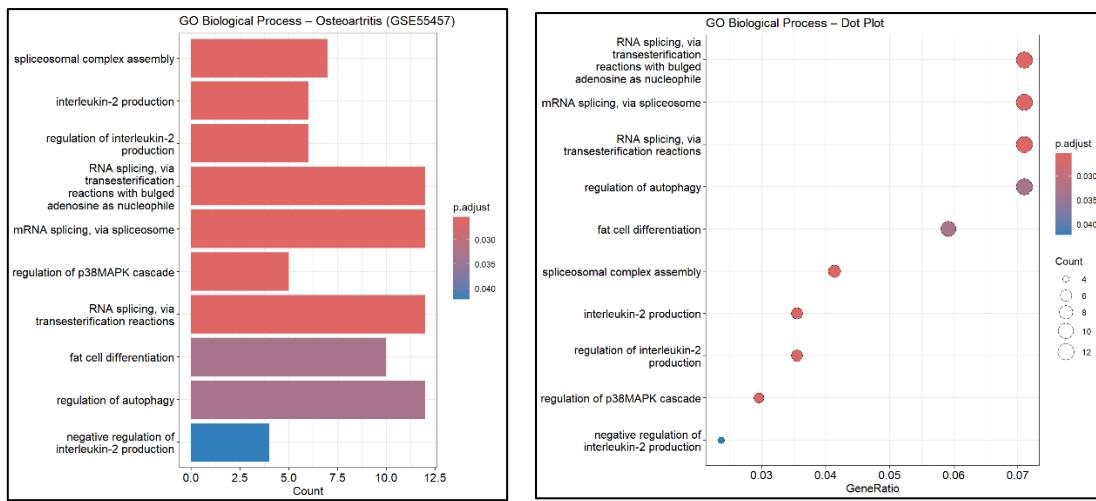
Berdasarkan metode tersebut, diperoleh visualisasi boxplot, density plot, dan UMAP sebagai berikut. Ketiga metode visualisasi ini menunjukkan distribusi data yang normal serta tegas diantara sampel pasien OA dan normal sehingga layak digunakan untuk analisis komparatif lebih lanjut.



Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat 266 DEGs diantara sampel pasien OA dan kontrol. Dari seluruh DEG tersebut, terdapat gen 31 *up-regulated* dan 235 gen *down-regulated*. Hasil ini didapati konsisten pada tiap kali proses replikasi. Dominansi gen yang mengalami downregulation pada dataset GSE55457, termasuk penurunan drastis pada gen regulator perbaikan seperti TGFBR2 dan gen anti-apoptosis seperti MCL1, mengonfirmasi patogenesis Osteoarthritis sebagai penyakit degeneratif yang dipicu oleh kegagalan sistemik sel dalam memelihara dan meregenerasi struktur matriks sendi. Dominasi gen *dow-regulated* pada DEGs paling signifikan pasien OA juga dipertegas melalui sajian volcano map dan heatmap berikut.

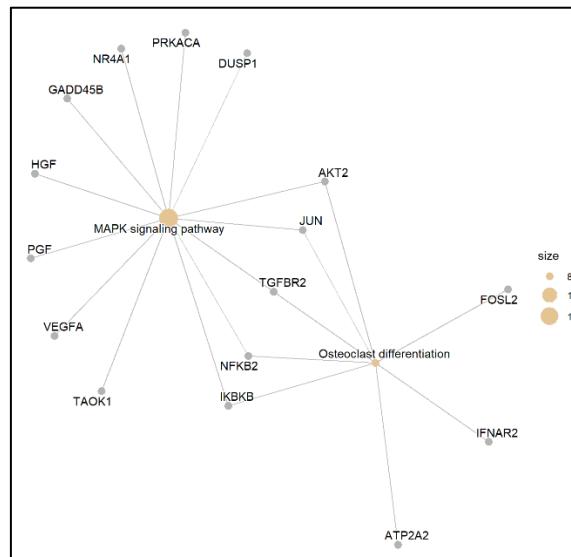


Selanjutnya dilakukan intrepretasi peran biologis DEGs menggunakan analisis enrichment GO dan KEGG Pathway. Analisis GO Biological Process (GO-BP) digunakan untuk mengetahui letak keterlibatan DEGs dalam serangkaian langkah terorganisir untuk mencapai tujuan biologis. Berikut merupakan grafik penyajian data GO-BP.



Analisis GO-BP mengungkapkan bahwa disregulasi gen pada OA melibatkan gangguan pada mekanisme regulasi genetik dan jalur sinyal inflamasi yang kompleks. Proses utama yang teridentifikasi meliputi regulasi pemrosesan RNA dan splicing, modulasi jalur interleukin dan inflamasi, serta disregulasi autofagi. Gangguan pemrosesan RNA dan splicing dapat menandakan adanya gangguan pada cara sel "menyunting" instruksi genetik sehingga menyebabkan kekurangan produksi protein pelindung sendi, seperti ECM, kolagen, dan komponen proteoglikan. Sedangkan ditemukannya keterlibatan jalur sinyal interleukin mengonfirmasi adanya aktivitas peradangan kronis yang dimediasi oleh sitokin pro-inflamasi pada jaringan sinovial pasien OA. Adapula penurunan regulasi autofagi yang mengakibatkan akumulasi makromolekul sehingga mempercepat terjadinya apoptosis dan degradasi kartilago pada pasien OA.

Di lain sisi, analisis KEGG pathway mengungkapkan pemetaan interaksi DEGs dalam jalur pensinyalan atau metabolisme yang lebih kompleks. Berikut adalah visualisasi dari analisis pengayaan KEGG Pathway yang dilakukan di R.



Selaras dengan hasil analisis pada tugas pekan sebelumnya, gen-gen yang terekspresi secara diferensial pada dataset ini secara signifikan memperkaya jalur-jalur yang terkait dengan proliferasi seluler, inflamasi sistemik (MAPK/PI3K-Akt), dan yang paling penting, jalur diferensiasi osteoklas. Hal ini menunjukkan bahwa DEGs berperan aktif dalam memicu pembentukan sel osteoklas di membran sinovial. Dengan kata lain, menurunnya modalitas proteksi sendi membuka jalan bagi proses destruktif erosi tulang dan remodeling tulang subkondral yang menjadi ciri khas patofisiologi OA. Proses ini menyebabkan hilangnya struktur pendukung sendi yang pada akhirnya memperparah kerusakan tulang rawan dan memicu nyeri kronis pada pasien.

Penutup

Analisis pada dataset GSE55457 berhasil mengidentifikasi 266 gen yang terekspresi secara diferensial (DEGs), dengan dominasi gen yang mengalami penurunan ekspresi (down-regulated sebanyak 325 gen). Temuan kunci dari studi ini adalah penegasan OA sebagai penyakit degeneratif yang didominasi oleh kegagalan sistem pemeliharaan seluler. Hal ini dibuktikan dengan banyaknya gen yang *down-regulated*, terutama yang berfungsi untuk membersihkan sel dari kerusakan (autofagi) dan meregenerasi jaringan (RNA splicing). Akibat hilangnya modalitas pelindung ini, jalur perusakan tulang (diferensiasi osteoklas) dan peradangan menjadi tidak terkendali, yang secara klinis berujung pada erosi tulang subkondral dan nyeri kronis. Dengan demikian, gen-gen dalam jalur tersebut berpotensi besar untuk dikembangkan sebagai biomarker deteksi dini maupun target terapi baru dengan tujuan mengaktifkan kembali kemampuan sel untuk memelihara struktur sendi.

Daftar Isi

Woetzel, D., Huber, R., Kupfer, P., Pohlers, D., Pfaff, M., Driesch, D., Häupl, T., Koczan, D., Stiehl, P., Guthke, R., & Kinne, R. W. (2014). Identification of rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients by transcriptome-based rule set generation. *Arthritis Research & Therapy*, 16(2), R84. <https://doi.org/10.1186/ar4526>.