

Sistem Multilayer pada Penghalang Usus: Mekanisme Pertahanan Terintegrasi dalam Menjaga Homeostasis Saluran Pencernaan

Fatiha Kamilah

fatihakamilah@apps.ipb.ac.id

1.1 4 Lapisan Penghalang Usus

Saluran usus (GI) terpapar oleh ribuan mikroorganisme dan berbagai macam komponen nutrisi yang tertelan setiap hari.¹ Oleh karena itu menjaga homeostasis usus memerlukan sistem yang kompleks yang mampu melakukan berbagai fungsi, seperti detoksifikasi endotoksin yang berasal dari bakteri, membatasi kontak/interaksi langsung dengan bakteri atau patogen, meregulasi penyerapan nutrisi dengan membatasi transport zat atau bakteri yang bersifat toxic, dan meningkatkan respon imun.² Dengan demikian, usus atau penghalang usus telah berkembang sebagai suatu unit fungsional yang diatur dalam sistem multilayer (Gambar 1), dengan menyediakan penghalang fisik yang fungsional. Beberapa lapisan penghalang ini, mulai dari lumen usus hingga sirkulasi sistemik, meliputi: (1) luminal intestinal alkaline phosphatase (IAP) yang mendefosforilasi bakteri endotoksin lipopolisakarida (LPS) untuk mendetoksifikasinya; (2) lapisan lendir/mucus yang berperan sebagai penghalang fisik yang mencegah interaksi antara bakteri usus dan sel epitel usus; (3) tight junction antara sel-sel epitel yang membatasi transportasi paraseluler bakteri atau produk bakteri ke sirkulasi sistemik dan (4) protein antibakteri yang disekresikan oleh sel epitel usus khusus atau sel Paneth dan IgA yang disekresikan oleh sel imun yang terdapat dalam lamina propria yang mendasari lapisan sel epitel.³

1.1.1 Lapisan 1 atau Intestinal Alkaline Phosphatase (IAP)

Alkaline fosfatase pada usus diekspresikan dan disekresikan oleh sel epitel usus dan tetap aktif didalam lapisan mukosa serta lumen usus. Selain meregulasi sekresi bikarbonat dan pH pada permukaan duodenum serta penyerapan asam lemak rantai Panjang, IAP mampu menghilangkan gugus fosfat dari substrat seperti bakteri endotoksin LPS dan PAMP (misalnya flagellin, DNACpG), dan mengurangi peradangan usus lokal.¹⁵ Selain itu, IAP juga mampu mendefosforilasi adenosin tri-fosfat (ATP) dan adenosin difosfat (ADP) di lumen; ATP yang tinggi pada luminal menghambat pertumbuhan bakteri komensal dan mengganggu homeostasis bakteri.⁴ Kemampuan IAP untuk menonaktifkan LPS yang menempatkan IAP sebagai garis pertahanan pertama luminal. LPS, konstituen dari dinding sel bakteri gram negatif, keberadaannya melimpah disaluran pencernaan dan mampu menyebabkan peradangan sistemik dan syok septik. Toksisitas LPS berada dibagian Lipid-A, yang memungkinkannya untuk berikatan dengan *toll-like receptor-4* (TLR4). Penghilangan 1 dari 2 gugus fosfat pada bagian Lipid-A mampu mengurangi toksisitas LPS 100 kali lipat. Dephospho-LPS tetap mampu berikatan dengan TLR4 tetapi secara dominan bertindak sebagai antagonis dari TLR4. Pengurangan toksisitas LPS akan menghambat pensinyalan intraseluler hilir, yang mengarah pada penurunan aktivasi NF- κ B dan pelepasan sitokin proinflamasi.⁵

1.1.2 Lapisan 2 atau Lapisan Mukus

Berbeda dengan IAP yang berperan sebagai suatu penghalang yang “fungsional”, lapisan mukosa usus (atau lapisan kedua penghalang usus) adalah penghalang “fisik” pertama yang kontak dengan bakteri disaluran GI. Ini terdiri dari 2 lapisan: lapisan dalam yang melekat erat pada sel epitel dan lapisan luar yang lebih tebal tetapi jauh lebih longgar dan kurang melekat. Lapisan mukosa bagian dalam akan menghalangi bakteri untuk menembus lapisan, untuk menjaga permukaan sel epitel agar terbebas dari kontak langsung dengan bakteri. Sebaliknya, lapisan mukosa luar mengandung bakteri komensal yang mencegah masuknya bakteri patogen kedalam lapisan mukosa luar dan dalam. Secara konsisten, peningkatan jumlah bakteri komensal pro atau prebiotik dianggap meningkatkan fungsi penghalang dari lapisan mukosa.⁶ 2 lapisan mukosa ini terdiri dari air (~95%) dan glikoprotein (1-10%), serta elektrolit, antibodi dan asam nukleat.⁷ MUC2 adalah glikoprotein utama yang disekresikan oleh sel epitel khusus yang disebut sel goblet. Setelah disekresikan, MUC2 bersama dengan protein lain yang disekresikan akan membentuk lapisan mukosa yang terorganisir. Jumlah dan komposisi lapisan mucus mencerminkan keseimbangan antara sekresi mucus dengan erosi dan degradasinya oleh bakteri. Penipisan lapisan mucus baik oleh peningkatan degradasi atau kekurangan sintesis, akan memberikan efek pada lapisan -enghalang usus. Secara konsisten, tikus *Muc2*^{-/-} menunjukkan adanya peningkatan perlekatan bakteri pada epitel usus, sehingga meningkatkan kerentanan terhadap colitis, dan mengganggu fungsi penghalang usus.⁸

1.1.3 Lapisan 3 atau Lapisan Epitelium

Epitel usus adalah satu lapisan sel yang berperan sebagai penghalang yang sangat selektif untuk mencegah agen berbahaya seperti antigen asing, mikroorganisme dan toksinnya serta memungkinkan terjadinya translokasi nutrisi makanan, elektrolit dan air dari lumen usus kedalam sirkulasi sistemik. Selektivitas transport dimediasi oleh regulasi 2 mekanisme utama, yaitu jalur transpor transepitel/transeluler dan paraseluler. Selain itu, lapisan epitel juga dianggap tidak permisif untuk penyerapan endotistik dengan mekanisme apapun, Sebagian besar karena jumlah glikolipid yang sangat tinggi yang diatur dalam mikrodoman lipid yang distabilkan oleh galectin-4 divalen.⁹ Nutrisi seperti asam amino, elektrolit, asam lemak rantai pendek, dan gula secara rutin diangkut melalui jalur transeluler melalui sel epitel, dan penyerapan ini sebagian besar diatur oleh transporter selektif. Transportasi melalui ruang antara sel epitel, atau transportasi paraseluler, diatur oleh kompleks antar sel yang terlokalisasi dipersimpangan membran apical-lateral dan sepanjang membran lateral.¹⁰ Kompleks antar sel ini termasuk desmosome, adherens junctions dan tight junction. Kompleks adhesive junctional dan desmosomes penting dalam hubungan mekanis sel-sel yang berdekatan dengan sitoskeleton aktin melalui protein scaffolding sitoplasma. Tight junction, disisi lain bertanggung jawab untuk menghubungkan ruang antar sel dan dengan demikian mengatur transportasi paraselular. Tight junction dibentuk oleh protein seperti occluding dan anggota famili claudin yang melintasi membran plasma untuk berinteraksi dengan protein dari sel yang berdekatan. Pada sisi intraseluler membran, ujung terminal karboksil dari protein ini berinteraksi dengan protein sambungan antar sel lainnya seperti ZO-1, ZO-2 dan ZO-3. Secara intraseluler, protein ini berasosiasi dengan cincin mikrofilamen

aktin.¹¹ Akibatnya, integritas lapisan sel epitel dan junction protein sering disebut sebagai “penghalang usus”.

1.1.4 Lapisan 4, atau Peptida Antimikroba

Selain menyediakan penghalang fisik lapisan sel tunggal, sel sekretori khusus dari epitel usus atau sel Paneth yang terletak didasar kriptus usus halus, bertindak sebagai efektor penting dari imunitas bawaan melalui sekresi peptida antimikroba yang berperan penting dalam pertahanan inang terhadap mikroba usus. Dengan demikian, peptida antibakteri yang disekresikan merupakan lapisan “keempat” dari penghalang usus. Peptida antimikroba yang paling melimpah diusus manusia adalah defensin, yang merupakan bagian dari peptida. Defensin bersifat bakteriosidal, yang mampu melawan bakteri Gram-negatif maupun Gram-positif. Selain menyediakan penghalang fisik lapisan sel tunggal, sel sekretori khusus dari epitel usus atau sel Paneth yang terletak di dasar kriptus usus halus, bertindak sebagai efektor penting dari imunitas bawaan melalui sekresi peptida antimikroba yang berperan penting dalam pertahanan inang terhadap mikroba usus.¹² Sejumlah penelitian telah menyatakan bahwa gangguan gen yang terlibat dalam ekspresi dan sekresi peptida antimikroba ini meningkatkan kerentanan terhadap penyakit radang usus, misalnya, X-box binding protein (Xbp-1), autophagy-related 16-like 1 (Atg16l1), nucleotide binding oligomerization domain containing 2 (Nod2), dan transcription factor 4 (Tcf4). Secara konsisten, penderita Crohn tidak hanya mengalami penurunan jumlah sel Paneth tetapi juga penurunan ekspresi β -defensin di area peradangan akut. Studi terbaru juga melibatkan peran penting asam amino dalam mengatur ekspresi peptida antimikroba. Misalnya, penyimpangan dalam metabolisme triptofan menyebabkan peradangan usus melalui perubahan ekspresi protein antibakteri, dan peningkatan ekspresi protein yang dimediasi glutamin yang mendasari penurunan peradangan usus yang diamati pada model hewan. Secara kolektif, penelitian-penelitian ini memberikan hubungan langsung antara gangguan lapisan fungsi penghalang usus dengan perkembangan penyakit.¹³

Selain protein antibakteri yang disekresikan oleh sel Paneth, IgA yang disekresikan (sIgA) oleh sel imun plasma yang ada di lamina propria yang juga memainkan peran penting dalam membatasi interaksi langsung antara patogen dan monolayer sel epitel. Mekanisme utama dari proteksi yang diperantarai sIgA adalah eksklusi imun dimana sIgA yang langsung mengikat mikroorganisme atau toksin untuk mencegah kolonisasi atau toksisitas/kerusakan pada sel epitel. Di dalam lamina propria itu sendiri, IgA berikatan dengan berbagai kompleks imun dan melemahkan respon inflamasi sistemik. Manusia mensekresikan sekitar 3g sIgA ke dalam lumen usus setiap hari, mencerminkan peran pentingnya dalam melindungi permukaan mukosa. Tikus yang kekurangan sel B atau tikus yang kekurangan reseptor imunoglobulin yang diperlukan untuk transportasi sIgA ke lumen menunjukkan peningkatan stimulasi respons bawaan dalam sel epitel usus, yang selanjutnya menunjukkan peran respons imun adaptif dalam mengatur peradangan usus.¹⁴

2.1 Lapisan Epitelium

Epitel usus berperan sebagai suatu penghalang antara lingkungan eksternal dan jaringan inang yang mendasarinya. Dibentuk oleh monolayer sel epitel yang berdiferensiasi yang dihubungkan dengan adanya *Apical junctional complex* (AJC) yang membentuk polarisasi

seluler dan mengurangi adanya ruang antara sel yang berdekatan, oleh karena itu membatasi akses patogen, racun dan xenobiotic ke jaringan inang dan sirkulasi sistemik dengan secara bersamaan mendukung pertumbuhan flora komensal. Sementara protein *carrier* spesifik berperan untuk proses penyerapan nutrisi yang aktif atau memfasilitasi penyerapan dan meregulasi pengangkutan air dan elektrolit. Pada dasarnya sebagian besar zat mampu melintasi penghalang epitel dengan difusi baik melalui membran sel yaitu melalui rute transseluler jika molekul lipofilik atau melalui rute paraseluler untuk molekul hidrofilik kecil. Dalam istilah fisiologis, ruang antar sel sangat terbatas karena adanya peranan *tight junction* (TJ).¹⁵

2.1.1 Struktur Apical Junctional Complex (AJC)

AJC terdiri dari dua kompleks protein multimolekul khusus, yaitu *tight junction* TJ dan *adherens junction* (AJs). Fibril TJ terdiri dari kompleks beberapa protein integral dan membran perifer yang berinteraksi kuat dengan sitoskeleton.¹⁶ Protein membran integral termasuk occludin, *junctional adhesion molecule* (JAM), claudin famili dan tricellulin. Loop ekstraselulernya menyediakan situs untuk interaksi antar sel, sedangkan ujung terminal N dan C sitoplasma menyediakan situs pengikatan untuk protein *scaffolding* yang disebut *Zonula occludens* (ZO)-1, ZO-2 dan ZO-3, yang peranannya adalah untuk menghubungkan komponen sitoplasma dari TJ ke sitoskeleton aktin myosin. Komponen lain dari TJ epitel adalah myosin IXB dan zonulin, yang merupakan bagian dari protein TJ yang dapat dilepaskan karena memiliki peran dalam meningkatkan permeabilitas intraseluler (4). TJ terlokalisasi dalam mikrodoman membran, glikolipid yang tidak larut dalam deterjen berperan dalam memfasilitasi perekrutan molekul kecil yang terlibat dalam struktur/organisasi TJ. Komponen utama AJ adalah E-cadherin, protein transmembran yang berinteraksi secara ekstraseluler dengan bagian lain pada sel yang berdekatan melalui lima domain ekstraseluler dan intraseluler dengan sitoskeleton melalui catenin. Komponen AJC, khususnya claudin memiliki fungsi yang berbeda atau tumpang tindih dalam mengatur permeabilitas paraseluler.¹⁹

Beberapa bagian dari claudin, termasuk claudin-1, claudin-4 dan claudin-5, menghambat difusi paraseluler dengan menyegel sel lain yang ada disebelahnya menyebabkan kontinuitas untaian TJ. Sebaliknya, claudin-2 membentuk saluran atau pori-pori selektif untuk entitas kationik kecil, sehingga berkontribusi terhadap kebocoran dan diskontinuitas epitel.²⁰ Karakteristik TJ epitel, dalam hal resistensi dan permeabilitas paraseluler untuk molekul ionik dan molekul non-muatan ditentukan oleh komposisinya. Perubahan ekspresi relatif, internalisasi dan degradasi protein *junctional* spesifik dapat menyebabkan peningkatan permeabilitas usus dan gangguan pada penghalang epitel pada penyakit tertentu.¹⁷ Selain itu, perubahan fosforilasi pada protein spesifik, seperti occluding atau ZO-1, dapat mempengaruhi pembentukannya pada komponen lain dari AJC dan meningkatkan permeabilitas. Aktivasi dan adanya *cross-talk* melalui jalur pensinyalan termasuk *Protein Kinase C* (PKC), *Protein Kinase A* (PKA), phosphoinositide 2-kinase (PI3-kinase) dan jalur sinyal Rho mempengaruhi fungsi penghalang epitel. Karena kompleks protein TJ berkaitan erat dengan cincin aktomiosin *perijunctional* apical, perubahan awal baik pada sitoskeleton atau protein TJ secara spesifik menghasilkan perubahan struktural dan fungsional pada yang lain.¹⁸

Fosforilasi MLC oleh *myosin light chain kinase* (MLCK) menyebabkan kontraksi filamen berbasin myosin dan reorganisasi sitoskeleton aktin, perubahan ZO-1 dan occluding, tetapi tidak pada claudin-1 dan claudin-2 serta distribusi dan peningkatan ukuran selektifitas dalam permeabilitas paraseluler untuk molekul kecil. AJC dan permeabilitas epitel dapat dipengaruhi oleh berbagai rangsangan eksogen (misalnya perlekatan bakteri, toksin bakteri dan obat-obatan) dan faktor endogen, terutama sel neuro-endokrin dan imun serta molekul yang mampu menginduksi persinyalan. Sementara itu beberapa faktor pertumbuhan dan nutrisi mampu mengkonsolidasikan penghalang usus melalui peningkatan ekspresi protein TJ “menyegel” sehingga memberikan efek perlindungan, sementara itu infeksi virus dan bakteri mampu mengubah penghalang gastrointestinal (GI) dengan menargetkan TJ dan memicu terjadinya diare parah. Enterotoksin *Vibrio cholera*, zonula occludens toxin (Zot) dan analog mamalia dari zonulin mampu meningkatkan permeabilitas mukosa usus dan mengubah struktur TJ secara reversible baik di jejunum dan ileum.²¹

Referensi

1. Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*. 2005;307(5717):1915–1920.
2. Gill SR, Pop M, Deboy RT, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*. 2006;312(5778):1355–1359.
3. den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud DJ, Bakker BM. The role of short chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res*. 2013;54(9):2325–2340.
4. Lallès JP. Intestinal alkaline phosphatase: novel functions and protective effects. *Nutr Rev*. 2014;72(2):82–94.
5. Malo MS, Moaven O, Muhammad N, et al. Intestinal alkaline phosphatase promotes gut bacterial growth by reducing the concentration of luminal nucleotide triphosphates. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2014;306(10):G826–G838.
6. Lu YC, Yeh WC, Ohashi PS. LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine*. 2008;42(2):145–151.
7. Everard A, Belzer C, Geurts L, et al. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(22):9066–9071.
8. Macfarlane S, Woodmansey EJ, Macfarlane GT. Colonization of mucin by human intestinal bacteria and establishment of biofilm communities in a two-stage continuous culture system. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71(11):7483–7492.
9. Kisooson-Singh V, Moreau F, Trusevych E, Chadee K. *Entamoeba histolytica* exacerbates epithelial tight junction permeability and proinflammatory responses in Muc2(-/-) mice. *Am J Pathol*. 2013;182(3):852–865.
10. Danielsen EM, Hansen GH. Lipid raft organization and function in brush borders of epithelial cells. *Mol Membr Biol*. 2006;23(1):71–79.
11. Bröer S. Amino acid transport across mammalian intestinal and renal epithelia. *Physiol Rev*. 2008;88(1):249–286.
12. Hartsock A, Nelson WJ. Adherens and tight junctions: structure, function and connections to the actin cytoskeleton. *Biochim Biophys Acta*. 2008;1778(3):660–669.

13. Kaser A, Lee AH, Franke A, et al. XBP1 links ER stress to intestinal inflammation and confers genetic risk for human inflammatory bowel disease. *Cell*. 2008;134(5):743–756
14. Cadwell K, Liu JY, Brown SL, et al. A key role for autophagy and the autophagy gene Atg16l1 in mouse and human intestinal Paneth cells. *Nature*. 2008;456(7219):259–263.
15. Hashimoto T, Perlot T, Rehman A, et al. ACE2 links amino acid malnutrition to microbial ecology and intestinal inflammation. *Nature*. 2012;487(7408):477–481.
16. Anderson, J.M.; Van Itallie, C.M. Physiology and function of the tight junction. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2009, 1, a002584.
17. Groschwitz, K.R.; Hogan, S.P. Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2009, 124(1), 3-20.
18. Tsukita, S.; Yamazaki, Y.; Katsuno, T.; Tamura, A.; Tsukita, S. Tight junction-based epithelial microenvironment and cell proliferation. *Oncogene*, 2008, 27(55), 6930-6938.
19. Shen, L.; Black, E.D.; Witkowski, E.D.; Lencer, W.I.; Guerriero, V.; Schneeberger, E.E.; Turner, J.R. Myosin light chain phosphorylation regulates barrier function by remodeling tight junction structure. *J. Cell. Sci.*, 2006, 119(10), 2095-210
20. Keita, A.V.; Söderholm, J.D. The intestinal barrier and its regulation by neuroimmune factors. *Neurogastroenterol. Motil.*, 2010, 22(7), 718-733
21. Guttman, J.A.; Finlay, B.B. Tight junctions as targets of infectious agents. *Biochim. Biophys. Acta*, 2009, 1788(4), 832-841.