

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mesenchymal Stem cell (MSC) yang memiliki kemampuan untuk memperbaharui dirinya dan berdiferensiasi banyak diteliti dalam proses penyembuhan luka.¹ Penggunaan MSC memiliki kendala yaitu memerlukan proses yang cukup panjang supaya sel tetap hidup, tidak dapat disimpan dalam waktu yang lama. Pemberian *conditional medium* (CM) yang mengandung banyak *growth factor* dan sitokin memiliki potensi lebih karena lebih mudah diaplikasikan. Baru-baru ini, CM telah digunakan dalam studi praklinis sebagai pengganti berbagai terapi berbasis seluler termasuk penyembuhan luka.² PDGF berperan dalam setiap tahap penyembuhan luka dengan menginduksi angiogenesis. PDGF juga merangsang proliferasi fibroblas dan pembentukan matrik ekstraselular.^{3,4} Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan CM penting, namun pengaruh MSC-CM yang diaktivasi TNF- α terhadap kadar PDGF dan jumlah fibroblas belum banyak diketahui.

Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) memperkirakan bahwa setiap tahun lebih dari 300.000 orang meninggal karena cedera kulit, dengan kematian tertinggi di negara-negara Asia Tenggara.⁵ Lebih dari 6 juta orang menderita luka kronis di Amerika Serikat.⁶ Hampir 2% dari anggaran kesehatan di Eropa dibelanjakan untuk mengelola luka kronis.⁷ Luka

kronis terjadi ketika ada kegagalan dari kulit yang terluka untuk melanjutkan melalui proses yang teratur dan tepat waktu untuk menghasilkan integritas anatomi dan fungsional.^{8,9}

Resident stem cell pada jaringan yang terluka memerlukan mediator inflamasi antara lain *Tumor Nekrosis Factor- α* (TNF- α) yang dapat menyebabkan stem sel menjadi aktif.¹⁰ *Resident stem cell* setelah teraktifasi mensekresi mediator inflamasi yang membantu penyembuhan luka, antara lain *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *tumor necrosis factor alfa* (TNF α), *platelet derived growth factor* (PDGF), *fibroblast growth factor* (FGF), *transforming growth factor* (TGF β 1), angiopietin, interleukin (IL)1, IL-6, dan *interferon gamma* (IFN γ) yang akan merangsang angiogenesis dan mempercepat proses penyembuhan.¹¹ Keberhasilan terapi dengan MSC akan tercapai apabila terjadi *homing*.¹² *Homing* terjadi apabila terdapat TNF- α yang kemudian akan merangsang angiogenesis di jaringan yang rusak.¹³ *Stem cell* meningkatkan pelepasan faktor parakrin melalui p38 *mitogen activated protein kinase* (MAPK) dan STAT-3 sebagai respon aktif terhadap mediator inflamasi seperti TNF- α untuk kemudian mengaktifkan *resident stem cell* dan sel progenitor yang ada di daerah kerusakan tersebut.¹⁴ PDGF berperan pada reepitalisasi dengan mengatur produksi IGF-1 dengan meningkatkan motilitas keratosit dan thrombospondin-1 melalui penundaan degradasi proteolitik dan mempromosikan respon proliferaatif pada luka.¹⁵ TGF β memacu migrasi dan proliferasi fibroblas, sehingga akan terjadi peningkatan sintesis kolagen, fibronektin, serta deposisi matrik ekstraseluler.^{14,15} Produk sintesis dan degradasi matrik ekstraseluler merupakan remodeling kerangka jaringan ikat, yang merupakan faktor utama penyembuhan luka.⁴

Yang woo kwon meneliti MSC-CM yang diaktivasi TNF- α meningkatkan angiogenesis kaki tikus iskemik dengan menggunakan dosis 60 μ l intramuskular.¹¹ Chen dan Tredget menunjukkan peningkatan luka secara signifikan menggunakan sumsum tulang mesenchymal stem cell (BMMSC)-CM dibandingkan fibroblas-CM yang menjanjikan terapi baru untuk perbaikan luka.¹⁶ Mereka melaporkan bahwa BMMSC-CM disekresikan faktor parakrin yang lebih tinggi seperti faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF)-a, insulin seperti faktor pertumbuhan (IGF), EGF, faktor pertumbuhan keratinosit (KGF), stroma faktor-1, angioprotein-1 (Ang-1) dan erythropoietin (EPO) dibandingkan fibroblas-CM. Penelitian Heo TNF α -CM dari jaringan adiposa meningkatkan angiogenesis, akumulasi makrofag dan proliferasi sel selama penyembuhan luka dengan pemberian topikal namun dosis tidak dicantumkan.¹⁷ Lee melaporkan bahwa CM dari sel induk embrio manusia (hESC) -derived sel prekursor endotel (EPC) mengandung tingkat tinggi GF dan sitokin seperti faktor pertumbuhan epidermal (EGF), faktor pertumbuhan fibroblas dasar (bFGF), *colony-stimulating factor granulosit-makrofag* (GM-CSF), fractalkine dan IL-6 berhasil digunakan untuk pengobatan penyembuhan luka eksisi pada tikus dengan menggunakan dosis 200 μ l subkutan pada luka 12 mm *fullthickness*.¹⁸ Mishra CM hMSCs juga efektif dalam mendorong penutupan luka dan peningkatan ekspresi SDF1 dan CXCL-5 dengan dosis 100 μ l dengan luas luka 120-140mm².¹⁹

Penelitian-penelitian sebelumnya belum ada yang membandingkan mana yang lebih efektif pemberian dosis secara topikal saja atau kombinasi (injeksi subkutan dan topikal), sehingga kami tertarik untuk membandingkan hal tersebut. Penelitian ini membandingkan pengaruh pemberian medium

kondisional dari MSC yang diaktivasi TNF- α yang terbagi dalam kelompok perlakuan P1 diberikan 100 μ l MSC-CM diaktivasi TNF- α gel topikal, kelompok P2 diberikan 200 μ l MSC-CM diaktivasi TNF- α gel topikal, kelompok X1 diberikan 100 μ l MSC-CM diaktivasi TNF- α (80 μ l injeksi subkutan, 20 μ l gel topikal), Kelompok X2 diberikan 200 μ l MSC-CM diaktivasi TNF- α (160 μ l injeksi subkutan, 40 μ l gel topikal). Kelompok kontrol K1 diberikan bioplasenton gel, K2 diberikan 200 μ l medium tanpa aktivasi TNF- α , K3 diberikan 200 μ l PBS (160 μ l injeksi subkutan, 40 μ l gel topikal), terhadap kadar PDGF dan jumlah fibroblas pada tikus galur wistar dengan luka eksisi diameter 6mm *fullthickness*. Diharapkan dengan hasil penelitian ini diketahui pemberian MSC-CM yang diaktivasi TNF- α yang lebih tepat dalam proses penyembuhan luka.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pemberian topikal dan kombinasi (injeksi subkutan dan gel topikal) MSC-CM yang diaktivasi TNF- α terhadap kadar PDGF dan jumlah fibroblas pada luka eksisi?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

- Untuk mengetahui pengaruh topikal dan kombinasi (injeksi subkutan dan topikal) MSC-CM yang diaktivasi TNF- α terhadap kadar PDGF dan jumlah fibroblas pada luka eksisi.

1.3.2 Tujuan Khusus

- Untuk mengetahui kadar PDGF tikus wistar dengan luka eksisi yang diberi topikal dan kombinasi (injeksi subkutan dan topikal) MSC-CM yang diaktivasi TNF- α pada tiap kelompok dibandingkan dengan kelompok kontrol hari ke 3 dan ke-6.
- Untuk mengetahui secara diskriptif jumlah fibroblas tikus wistar dengan luka eksisi yang diberi topikal dan kombinasi (injeksi subkutan dan topikal) MSC-CM yang diaktivasi TNF- α pada hari ke-3.
- Untuk mengetahui jumlah fibroblas tikus wistar dengan luka eksisi yang diberi topikal dan kombinasi (injeksi subkutan dan topikal) MSC-CM yang diaktivasi TNF- α pada tiap kelompok dibandingkan dengan kelompok kontrol pada hari ke-6.
- Untuk membedakan kadar PDGF tikus wistar dengan luka eksisi yang diberi topikal dan kombinasi (injeksi subkutan dan topikal) MSC-CM yang diaktivasi TNF- α antar tiap kelompok.
- Untuk membedakan jumlah fibroblas tikus wistar dengan luka eksisi yang diberi topikal dan kombinasi (injeksi subkutan dan topikal) MSC-CM yang diaktivasi TNF- α antar tiap kelompok.

- Untuk mengetahui mana yang lebih baik antara pemberian topikal atau kombinasi (injeksi subkutan dan topikal) MSC-CM yang diaktivasi TNF- α terhadap kadar PDGF tikus wistar dengan luka eksisi.
- Untuk mengetahui mana yang lebih baik antara pemberian topikal atau kombinasi (injeksi subkutan dan topikal) MSC-CM yang diaktivasi TNF- α terhadap jumlah fibroblas tikus wistar dengan luka eksisi.

1.4 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1

Peneliti, Tahun	Judul	Metode	Hasil
Yang Woo Kwon, Soon Chul Heo, Geun Ok Jeong, Jun Won Yoon, Won Min Mo, Mi Jeong Lee, IL-Ho Jang, Sang Mo Kwon, Jung Sub Lee, Jae Hoo Kim, 2013	<i>Tumor necrosis factor-α-activated mesenchymal stem cells promote endothelial progenitor cell homing and angiogenesis</i>	In Vivo, Eksperimental, Intramuskular	MSC yang diaktivasi TNF- α meningkatkan angiogenesis kaki tikus iskemik
Liwen Chen, Edward E. Tredget, Phillip Y.G. Wu, Yaojiong Wu, 2008	<i>Paracrine Factors of Mesenchymal Stem Cells Recruit Macrophages and Endothelial Lineage Cells and Enhance Wound Healing</i>	In Vivo, Eksperimental, Subkutan dan topikal	MSC meningkatkan sitokin lebih banyak, MSC-CM meningkatkan penyembuhan luka
Soon Chul Heo, Eun Su Jeon, Il Hwan Lee, Jae Ho Kim, 2011	<i>Tumor necrosis factor-α-activated human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells accelerate cutaneous wound healing through paracrine</i>	In Vivo, Eksperimental, Topikal dosis tidak tercantum	TNF α -CM dari jaringan adiposa meningkatkan angiogenesis, akumulasi makrofag dan proliferasi sel

	<i>mechanisms</i>		selama penyembuhan luka
Min Ji Lee, Jumi Kim, Kyung Il Lee, Jeong Min Shin, Jung IL Chae, Hyung Min Chung, 2011	<i>Enhancement of wound healing by secretory factors of endothelial precursor cells derived from human embryonic stem cells</i>	In Vivo Eksperimental, Subkutan	CM dari sel induk embrio manusia (hESC) -derived sel prekursor endotel (EPC) mengandung GF dan sitokin yang tinggi seperti EGF, (bFGF), fractalkine, GM-CSF dan IL-6
Pravin J Mishra, Prasun J Mishra, Debabrata Banerjee, 2012	<i>Cell-free derivatives from mesenchymal stem cells are effective in wound therapy</i>	In Vivo Eksperimental, Subkutan	CM hMSCs juga efektif dalam mendorong penutupan luka dan peningkatan ekspresi SDF1 dan CXCL-5

Originalitas Penelitian

Penelitian Yang Woo Kwon, dkk menggunakan metode intramuskular pada kaki tikus iskemik.¹¹ Penelitian Liwen Chen, dkk menggunakan CM diinkubasi 24 jam, tikus dilukai 6mm *fullthickness* diberikan dosis 100 µl (80 µl diberikan subkutan dan 20 µl diberikan topikal), tanpa diaktivasi TNF α .¹⁶ Penelitian Heo, dkk menggunakan metode topikal, namun dosis tidak dicantumkan.¹⁷ Pada penelitian Min Ji Lee, dkk dan Pravin J Mishra, dkk menggunakan metode subkutan.^{18,19} Pada penelitian ini berbeda dengan penelitian lain karena membandingkan dosis topikal dan kombinasi (injeksi subkutan dan topikal), dengan kontrol terhadap kadar PDGF dan jumlah fibroblas.

1.5 Manfaat

1.5.1 Manfaat Teoritis

- Memberikan ilmu pengetahuan tentang pengaruh topikal dan kombinasi (injeksi subkutan dan topikal) MSC-CM yang diaktivasi TNF- α terhadap kadar PDGF dan jumlah fibroblas pada luka eksisi
- Memberikan ilmu pengetahuan tentang pemberian topikal atau kombinasi (injeksi subkutan dan topikal) MSC-CM yang diaktivasi TNF- α yang optimal yang berpengaruh pada kadar PDGF dan jumlah fibroblas pada luka eksisi

1.5.2 Manfaat Praktis

- Memberikan sumber informasi pada masyarakat tentang pengaruh topikal dan kombinasi (injeksi subkutan dan topikal) MSC-CM yang diaktivasi TNF- α terhadap kadar PDGF dan jumlah Fibroblas pada luka eksisi
- Penelitian lebih lanjut diharapkan dapat diaplikasikan bagi masyarakat