

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyembuhan luka merupakan proses fisiologis kompleks dimana jaringan rusak akan hilang dan digantikan jaringan baru.¹ Penyembuhan luka dan perawatan luka membutuhkan proses waktu yang lama, sehingga diperlukan pendekatan terapi regeneratif sebagai alternatif meningkatkan proses penyembuhan luka.² Terapi regeneratif berbasis seluler seperti *Mesenchymal Stem Cell* (MSC) dapat digunakan karena kemampuan regenerasinya.³ Penggunaan MSC masih kurang optimal sehingga diperlukan kondisi perlakuan seperti hipoksia untuk meningkatkan kualitasnya.⁴ Lingkungan hipoksia dapat meningkatkan kemampuan proliferasi dan bertahan hidup sel lebih baik dibandingkan kondisi kultur biasa.^{4,5} Fibroblas merupakan sel yang terlibat dalam penyembuhan luka. Aktifnya fibroblas disebut dengan *myofibroblast* ditandai peningkatan ekspresi α -SMA yang membantu migrasi fibroblas ke area luka sebagai respons pelepasan berbagai faktor pertumbuhan.^{6,7} Fibroblas berproliferasi, menghasilkan dan melepaskan makromolekul seperti kolagen yang memperkuat struktur jaringan baru.⁷ Namun peningkatan ekspresi α -SMA berlebihan berhubungan dengan terbentuknya jaringan keloid yang ditandai dengan penumpukan kolagen secara berlebih disertai gejala iritasi seperti gatal dan kesemutan.⁸ Ketidakjelasan mekanisme dari MSC hipoksia dan α -

SMA dalam mekanisme penyembuhan luka menyebabkan perlunya dilakukan penelitian tentang pengaruh MSC hipoksia terhadap kecepatan penutupan luka dan ekspresi α -SMA pada fibroblas.

Upaya mempercepat penyembuhan luka serta pemulihan fungsi jaringan masih menjadi prioritas utama di pusat pelayanan kesehatan.⁹ Tujuan utama penanganan luka adalah penyembuhan dengan hasil fungsional, kosmetik yang optimal dan cepat. Idealnya, penyembuhan luka kulit harus kembali ke fungsi yang normal.¹⁰ Perawatan luka merupakan permasalahan dunia yang bernilai miliaran dolar. Di Negara Amerika Serikat, kondisi ini mempengaruhi 5,7 juta orang dengan biaya tahunan mencapai 20 miliar dolar.¹¹ Di Indonesia berdasarkan data dari Riskesdas 2013, prevalensi luka didominasi oleh luka lecet atau memar sebesar 70,9% dan luka robek sebesar 23,2%.¹² Luka akut yang tidak segera sembuh akan menjadi luka kronis yang dapat memberikan beban sangat besar kepada masyarakat melalui pengurangan produktivitas kerja.¹³

MSC memberikan harapan sebagai terapi berbasis sel untuk mengobati berbagai macam kondisi penyakit termasuk membantu mempercepat proses regenerasi luka.¹⁴ MSC selain dapat mempercepat penutupan dan penyembuhan luka juga memberikan hasil luka yang bagus dengan menurunkan pembentukan fibrosis pada jaringan. Kultur MSC dalam lingkungan hipoksia mampu meningkatkan proliferasi MSC, kemampuan hidup sel, *engraftment* dan membantu mempercepat penutupan luka.^{15,16} Kadar oksigen yang rendah mampu meningkatkan sintesis dari

Hypoxia-Inducible Factor (HIF-1a) sehingga mengaktifkan sejumlah gen yang terlibat dalam angiogenesis dan penyembuhan luka, termasuk PDGF, TGF- β 1, TGF- β 3, SDF-1, VEGF dan bFGF. VEGF dan bFGF bersifat proangiogenik yang bertugas menginduksi proliferasi dan migrasi keratinosit, sel endotel, monosit serta fibroblas.¹⁷ Peran PDGF dan TGF- β yang disekresi MSC berfungsi mengaktifkan fibroblas yang disebut dengan *myofibroblast* yang ditandai dengan ekspresi dari α -SMA. Disamping itu, aktivitas *myofibroblast* juga ditandai dengan peningkatan replikasi dan proliferasi (pergerakan siklus sel) yang menghasilkan komponen matriks ekstraseluler berupa kolagen.^{18,19}

Pada keloid atau terbentuknya jaringan fibrosis, ekspresi α -SMA lebih tinggi dibandingkan pada bekas luka dewasa dan kulit normal. Pada kondisi fibrosis kulit, ekspresi α -SMA ditemukan sangat positif kondisi ini menunjukkan bahwa *myofibroblast* aktif dalam pembentukan fibrosis kulit.²⁰ Pembentukan keloid disebabkan karena fase inflamasi yang berlebihan dan berkepanjangan yang menyebabkan pelepasan sitokin dan faktor pertumbuhan yang berkelanjutan, sehingga menstimulasi fibroblas untuk berproliferasi dan menyebabkan timbunan matriks ekstraseluler yang berlebihan (ECM).^{21,22} MSC hipoksia dapat berperan sebagai anti fibrotik dengan meningkatkan rasio makrofag M2 sebagai anti inflamasi terhadap makarofag M1 proinflamasi sehingga membantu mengurangi jaringan parut, karena peningkatan makrofag M1 dianggap sebagai regulator utama gangguan penyembuhan luka dan fibrosis jaringan.²³ Berkurangnya jaringan

parut merupakan hasil penutupan luka yang cepat, peningkatan angiogenesis, dan deposisi kolagen yang termodifikasi. Pemberian sinyal parakrin MSC yaitu dengan mengeluarkan VEGF dan HGF pada kadar yang tinggi akan mempertahankan rasio TGF- β 3 tetap tinggi terhadap TGF- β 1. Peningkatan VEGF dikaitkan dengan perbaikan tanpa bekas luka melalui mekanisme netralisasi TGF- β 1 dan TGF- β 2 atau peningkatan kadar TGF- β 3.²⁴ Mekanisme anti fibrotik MSC melalui efek parakrinnya yaitu dengan peningkatan kadar IL-10 dan melalui penghambatan proliferasi dan migrasi fibroblas.²⁵ MSC bertanggung jawab atas sekresi kolagen tipe III dan pengaturan rasio kolagen tipe III terhadap tipe I yang lebih tinggi sehingga tidak menghasilkan jaringan fibrosis.²⁴ MSC hipoksia memiliki kemampuan sebagai immunosupresif dimana mampu meningkatkan sekresi IL-10 dan TGF- β 1 yang merupakan sitokin anti-inflamasi kuat dalam mengendalikan respon inflamasi berlebihan.²⁶⁻²⁸ Secara khusus IL-10 mampu melemahkan sinyal proinflamasi dengan cara menghambat pelepasan sitokin pro-inflamasi terutama IFN- γ , IL-2, dan TNF- α terutama dalam tahapan inflamasi penyembuhan luka.²⁹

Penelitian pada pemberian MSC hipoksia terhadap kecepatan penutupan luka membutuhkan dosis yang tepat agar proses penyembuhan luka menjadi sempurna tetapi, penelitian tersebut belum begitu banyak dipublikasikan. Ide penelitian ini berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya dimana BM-MSK hipoksia meningkatkan ekspresi α -SMA, pada mencit pada tikus model iskemia ekstremitas,³⁰ penelitian yang lain

terkait dengan jumlah fibroblast dan PDGF meningkat pada hari ke 6 dibandingkan hari ke 3.³¹ Penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa pemberian BM-MSC mempercepat penutupan luka pada hari ke 12,³² dan penelitian yang lain menyebutkan pemberian *adipose stem cell* dengan dosis 3×10^6 sel/ml meningkatkan waktu penyembuhan luka pada tikus.²⁷ Penelitian ini akan membandingkan pengaruh pemberian MSC hipoksia pada dosis $1,5 \times 10^6$ sel dan 3×10^6 sel terhadap ekspresi α -SMA fibroblas dan kecepatan penutupan luka setelah pemberian hari ke-3, 6, 9 dan 12. Pada penelitian ini memiliki perbedaan dengan penelitian lainnya dimana MSC dalam kondisi kultur lingkungan hipoksia sedangkan pada penelitian sebelumnya pada lingkungan kultur normoksia. Diharapkan dengan hasil penelitian ini didapatkan dosis pemberian MSC hipoksia yang sesuai sehingga dapat memberikan hasil yang optimal dalam proses penyembuhan luka.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah tersebut di atas, dapat dirumuskan pertanyaan : "Apakah terdapat pengaruh MSC hipoksia terhadap kecepatan penutupan luka dan ekspresi α -SMA pada fibroblas?"

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian dosis MSC hipoksia terhadap kecepatan penutupan luka dan ekspresi α -SMA pada fibroblas.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengukur kecepatan penutupan luka pada tikus model luka eksisi setelah pemberian MSC hipoksia pada beberapa dosis yaitu: dosis $1,5 \times 10^6$ sel dan 3×10^6 sel dibandingkan kontrol.
2. Untuk mengukur ekspresi α -SMA pada fibroblas pada tikus model luka eksisi setelah pemberian MSC hipoksia pada beberapa dosis yaitu: dosis $1,5 \times 10^6$ sel dan 3×10^6 sel dibandingkan kontrol.
3. Membedakan kecepatan penutupan luka dan ekspresi α -SMA pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol

1.4 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1.
Originalitas Penelitian

No	Peneliti, tahun	Judul	Variabel Bebas	Variabel Tergantung	Hasil
1	Huang <i>et al.</i> , 2014 ³⁰	<i>Hypoxic mesenchymal stem cells engraft and ameliorate limb ischaemia in allogeneic recipients</i>	BM-MSC hipoksia	CD31+ Sel endotel α -SMA Desmin Sel otot	BM-MSC hipoksia meningkatkan CD31+, sel endotel, α -SMA, desmin, sel otot pada mencit model iskemia ekstremitas
2	Kuntardjo <i>et al.</i> , 2019 ³¹	<i>TNF-α activated MSC-CM topical gel effective in increasing PDGF level, fibroblast density, and wound healing process compared to subcutaneous</i>	MSC-CM gel teraktivasi TNF- α topikal dan kombinasi topikal-injeksi sub kutan	PDGF Fibroblas Penutupan luka	Didapatkan peningkatan kadar PDGF dan jumlah fibroblas yang signifikan di hari ke-6 pada MSC-CM gel topical dibandingkan dengan kombinasi topikal-injeksi

		<i>injection combination</i>			subkutan. Pemberian MSC-CM secara topikal lebih efektif dibanding dengan kombinasi topikal-injeksi subkutan.
3	Somia <i>et al.</i> , 2015 ³²	<i>Evaluation of Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cell Potency on Wound Healing</i>	BM-MSC	Penutupan luka VEGF B1 integrin B2 integrin ICAM-1	Pemberian BM- MSC pada tikus luka mempercepat penutupan luka, pada hari ke 12 dengan membentuk reepitelisasi dan regenerasi terjadi sekitar tepi luka.
4	Ohashiet <i>al.</i> , 2016 ³³	<i>Stem cells from adipose tissue improve the time of wound healing in rats</i>	<i>Adipose stem cell</i>	Fibroblas <i>in vitro</i> Penutupan luka	Pemberian <i>adipose stem cell</i> dengan dosis 3×10^6 sel/ml meningkatkan waktu penyembuhan luka pada tikus
5	Putraet <i>al.</i> , 2018 ²⁸	<i>The role of TNF-α induced MSCs on suppressive inflammation by increasing TGF-β and IL-10</i>	TNF- α	Kadar TGF- β Kadar IL-10	Dosis TNF- α 5 ng/mL adalah dosis yang cukup untuk MSC untuk menekan lingkungan inflamasi. Peningkatan kadar TGF- β karena kondisi peradangan yang dikontrol oleh IL-10.

6	Textor <i>et al.</i> , 2017 ³⁴	<i>Allogeneic stem cells alter gene expression and improve healing of distal limb wounds in horses</i>	MSC hipoksia MSC normosia	TGF- β COX-2 Penutupan luka Epitelisasi Inflamasi Fibrosis Vaskulariasi	Terapi MSC mempercepat penyembuhan luka ekstremitas distal pada kuda, terutama ketika diterapkan dengan injeksi secara langsung ke tepi luka. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan terapi MSC hipoksia dibanding normosia pada penyembuhan luka.
---	---	--	------------------------------	---	--

Pada penelitian Huang *et al.*, menggunakan variabel bebas BM-MSc hipoksia hasilnya menunjukkan peningkatan α -SMA pada mencit model iskemia ekstremitas.³⁰ Penelitian Kuntardjo *et al.*, menggunakan variabel bebas MSC-CM gel secara topikal dan dibandingkan MSC-CM kombinasi topikal-injeksi subkutan, dimana didapatkan peningkatan kadar PDGF dan jumlah fibroblas yang signifikan pada hari ke 6 pada topikal MSC-CM.³¹ Penelitian Somia *et al.*, menggunakan variabel bebas BM-MSc terhadap penutupan luka, hasilnya menunjukkan kecepatan penutupan luka pada hari ke 12 dengan membentuk re-epitelisasi di sekitar tepi luka.³² Penelitian Ohashi *et al.*, menggunakan variabel bebas *adipose stem cell* dengan dosis 3×10^6 sel/ml dimana hasilnya meningkatkan waktu penyembuhan luka pada tikus.³³ Penelitian Putra *et al.*, menggunakan variabel bebas TNF- α dengan dosis 5 ng/mL terhadap kadar TGF- β dan IL-10 hasilnya menunjukkan dosis tersebut cukup untuk MSC menekan dan mengontrol inflamasi.²⁸ Penelitian

Textor *et al.*, menggunakan variable bebas MSC hipoksia dan MSC normosia, yang menunjukkan hasil terapi MSC mempercepat penyembuhan luka ekstremitas distal pada kuda dengan injeksi langsung ke tepi luka.³⁴ Pada penelitian ini mempunyai perbedaan dengan penelitian lain karena menggunakan dua dosis berbeda MSC hipoksia yaitu $1,5 \times 10^6$ sel dan 3×10^6 sel, dimana MSC berasal dari *adult stem cell* yaitu *umbilical cord* tikus di bandingkan kontrol terhadap kecepatan penutupan luka dan ekspresi α -SMA pada fibroblas.

1.5 Manfaat

1.5.1. Manfaat Teoritis

Memberikan informasi ilmiah mengenai peran MSC hipoksia dalam dunia kedokteran karena fungsinya sebagai agen regeneratif yang berpengaruh terhadap kecepatan penutupan luka dan ekspresi α -SMA pada fibroblas.

1.5.2. Manfaat Praktis

Diharapkan MSC hipoksia dapat digunakan sebagai inovasi terapi berbasis seluler dalam menangani penyembuhan luka.