

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Fistula vesikovagina menjadi salah satu masalah di negara berkembang. Morbiditas yang signifikan pada wanita tidak hanya karena masalah medis tetapi juga menyebabkan masalah psikososial dan finansial yang serius. Di negara berkembang penyebab utama fistula vesikovagina adalah fistula yang terjadi karena tindakan obstetri. Di negara maju penyebab utama yakni cedera saat operasi ginekologi, operasi daerah pelvik dan lesi karena radiasi (Ugochukwu, 2015).

WHO memperkirakan ada sekitar 3 juta wanita di dunia yang mengalami fistula akibat obstetri dengan jumlah kasus baru fistula antara 50 – 130.000 per tahun (Diallo *et al.*, 2015). Di Amerika Serikat kejadian fistula setelah tindakan *simple hysterectomy* yakni sekitar 0,5% dan 10 % setelah operasi radikal histerektomi. Studi di negara Sub Sahara Afrika dilaporkan insiden fistula vesikovagina sebanyak 33.000 tiap tahun dan diperkirakan sekitar 10.000 kasus tiap tahun yang dilakukan tindakan perbaikan fistula (Garely & Mann, 2016). Berdasarkan data dari rekam medis RSUD dr. Soetomo Surabaya, dari tahun 2014 – 2018 didapatkan 25 pasien fistula vesikovagina yang dilakukan *repair* dengan angka keberhasilan operasi pertama 54% dan yang terjadi kegagalan sebanyak 46%.

Diagnosis yang akurat dan waktu perbaikan yang tepat akan mempengaruhi keberhasilan penyembuhan dari fistula (Stamatakos *et al.*, 2014). Tindakan pembedahan dengan penjahitan primer masih merupakan pilihan utama dengan

angka keberhasilan 85 – 95% pada operasi pertama. Angka keberhasilan menurun menjadi 65% pada operasi kedua (Javed *et al.*, 2015). Penelitian Zambon JP, *et al* menyebutkan 23 pasien yang mengalami fistula urogenital kompleks (tahun 2004-2007), 43% di antaranya mengalami kegagalan *repair* (Zambon *et al.*, 2010). Ini ditentukan banyak faktor antara lain jenis fistula yang kompleks, lokasi fistula, dan beberapa kondisi lain yang mempengaruhi penyembuhan luka. Kegagalan *repair* fistula dipengaruhi oleh proses penyembuhan luka, infeksi dan sistem imunologi. (Lindberg *et al.*, 2015).

Penyembuhan luka merupakan proses yang dinamis dan kompleks untuk mengganti jaringan yang sudah rusak. (Ninan *et al*, 2015). Penyembuhan luka melalui 4 fase yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi dan *remodelling*. Proses ini berjalan tumpang tindih dan berlangsung selama berbulan-bulan. Tiap fase dipengaruhi sitokin, *growth factor* dan komunikasi antar sel yang kompleks (Orsted *et al.*, 2011).

Pada proses penyembuhan luka, *growth factors* seperti PDGF, VEGF dan FGF. PDGF dihasilkan oleh platelet, makrofag, keratinosit, fibroblas dan sel endotel mempunyai peran penting. Pada fase proliferasi penyembuhan luka, PDGF membantu proliferasi dari fibroblas dan memproduksi sel pada matriks ekstraselular sehingga membentuk matriks kolagen dan menstimulasi myofibroblas (Werner & Grose, 2003). Neovaskularisasi muncul akibat pengaruh VEGF dan FGF yang disekresi oleh makrofag dan keratinosit. Populasi fibroblas, makrofag, dan neovaskular bergabung dengan matriks kolagen, *fibronectin* dan asam *hyaluronat* membentuk jaringan granulasi. (Li, Chen & Kirsner, 2007).

Beberapa studi juga mulai mengaitkan peran *tight junction* terhadap proses penyembuhan luka, terutama *occludin* dan *claudin*. Tidak hanya sebagai penghubung antar sel dan sebagai barier, *tight junction* juga berperan dalam proses penyembuhan luka. Mengingat kontribusi signifikan dari *tight junction* untuk fungsi barier sel epitel, maka pemulihan *tight junction* adalah elemen penting dari proses penyembuhan luka (Shi *et al.*, 2018). Kehilangan *occludin* pada saat terjadi luka akan menyebabkan regenerasi sel-sel baru pada proses penyembuhan luka melambat disebabkan karena gangguan adhesi seluler. Jumlah *claudin* didapatkan menurun pada luka kronis sehingga fungsi barier terganggu dan ini diduga dapat menyebabkan kolonisasi bakteri pada luka (Volksdorf *et al.*, 2017).

Penggunaan sel punca dipandang sebagai salah satu alternatif selain metode penjahitan saja. Salah satu sumber biomaterial dari sel punca yang jumlahnya berlimpah dalam bidang obstetri ginekologi adalah amnion. Amnion merupakan bahan yang ideal untuk rekayasa jaringan karena amnion mudah diakses dan kaya akan sel punca mesenkimal untuk perbaikan dan regenerasi jaringan. Lapisan sel epitel amnion mengandung FGF, PDGF, EGF dan VEGF. Lapisan membran dasar mencakup berbagai jenis kolagen V, VI, VIII, II, III, IV dan faktor bioaktif yang dikeluarkan dari matriks ekstraseluler seperti lamina *proteoglycan*, *fibronectin*, dan *glikosaminoglycan*. Lapisan stroma (jaringan mesenkim vaskular) terdiri atas TGF, faktor anti-inflamasi, dan sel induk, sehingga memiliki kemampuan angiogenesis, imunomodulator dan anti-inflamasi (Mahfouz *et al.*, 2013; Lashghari *et al.*, 2019).

Amnion juga dapat digunakan sebagai *scaffold* untuk proliferasi dan differensiasi sel punca itu sendiri. Hal ini dikarenakan, matriks ekstra selular yang banyak terdapat di membran amnion membuat amnion dapat digunakan sebagai

scaffold yang baik untuk rekayasa jaringan. Pemanfaatan sel punca telah dilakukan dan dikembangkan di *Stem Cell Research and Development Center* Universitas Airlangga Surabaya, termasuk pemanfaatan sel punca amnion. Membran amnion kering tersedia di Instalasi Bank Jaringan RSUD dr Soetomo.

Berdasarkan uraian di atas, dapat diambil kesimpulan tema penelitian ini adalah masih tingginya prevalensi kegagalan reparasi fistula vesikovagina yang kemungkinan dipengaruhi oleh proses penyembuhan luka, termasuk epitelisasi dan kegagalan adhesi antar sel. Karenanya, akan dicoba pemberian *seeding* sel punca amnion pada amnion kering pada tindakan penjahitan yang dilakukan pada kasus fistula vesikovagina. Dengan harapan, pemberian sel punca tersebut dapat memperbaiki proses penyembuhan luka. Sebelum metode baru yang menjanjikan ini dapat digunakan dalam pengobatan fistula vesikovagina, harus diuji dalam model hewan coba sehingga nantinya dapat diaplikasikan pada manusia. Penelitian ini menggunakan hewan kecil yaitu kelinci sebagai model fistula vesikovagina. Kelinci New Zealand dipilih karena secara anatomi mudah dilakukan, mudah dalam merawat, tidak mahal dan lebih praktis untuk model fistula. Sel punca diaplikasikan pada model fistula vesikovagina dan akan dilakukan evaluasi PDGF, VEGF, PDGF, *occludin*, *claudin-4* dan karakterisasi histologi untuk mengetahui penyembuhan luka pada model fistulavesikovagina.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu mengurangi kegagalan repair fistula vesikovagina sehingga ke depan dapat mengurangi morbiditas sosial dan finansial. Diharapkan di masa depan akan dihasilkan suatu produk siap pakai untuk dimanfaatkan dalam tatalaksana repair fistula vesikovagina.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekspresi PDGF pada kelinci *New Zealand* model fistula vesikovagina yang dilakukan penjahitan dengan penambahan *seeding* sel punca amnion manusia lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa diberikan *seeding* sel punca amnion, kelompok injeksi sel punca dan kelompok kontrol?
2. Apakah ekspresi VEGF pada kelinci *New Zealand* model fistula vesikovagina yang dilakukan penjahitan dengan *seeding* sel punca amnion manusia lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa diberikan *seeding* sel punca amnion, kelompok injeksi sel punca dan kelompok kontrol?
3. Apakah ekspresi FGF pada kelinci *New Zealand* model fistula vesikovagina yang dilakukan penjahitan dengan *seeding* sel punca amnion manusia lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa diberikan *seeding* sel punca amnion, kelompok injeksi sel punca dan kelompok kontrol?
4. Apakah ekspresi *occludin* pada kelinci *New Zealand* model fistula vesikovagina yang dilakukan penjahitan dengan *seeding* sel punca amnion manusia lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa diberikan *seeding* sel punca amnion, kelompok injeksi sel punca dan kelompok kontrol?
5. Apakah ekspresi *claudin-4* pada kelinci *New Zealand* model fistula vesikovagina yang dilakukan penjahitan dengan *seeding* sel punca amnion manusia lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa diberikan *seeding* sel punca amnion, kelompok injeksi sel punca dan kelompok kontrol?
6. Apakah skor karakterisasi histologi angiogenesis, maturasi fibroblas, reepitelisasi dan deposisi kolagen pada kelinci *New Zealand* model fistula

vesikovagina yang dilakukan penjahitan dengan *seeding* sel punca amnion manusia lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa diberikan *seeding* sel punca amnion, kelompok injeksi sel punca dan kelompok kontrol?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Menganalisis ekspresi PDGF, VEGF, FGF, *occludin*, dan *claudin-4* serta gambaran karakterisasi histologi angiogenesis, maturasi fibroblas, reepitelisasi dan deposisi kolagen pada kelinci *New Zealand* model fistula vesikovagina yang dilakukan penjahitan dengan *seeding* sel punca amnion dibandingkan dengan tanpa diberikan *seeding* sel punca amnion, kelompok injeksi sel punca dan kelompok kontrol

1.3.2 Tujuan khusus

1. Menganalisis ekspresi PDGF pada kelinci *New Zealand* model fistula vesikovagina yang dilakukan penjahitan dengan penambahan *seeding* sel punca amnion manusia dibandingkan dengan tanpa diberikan *seeding* sel punca amnion, kelompok injeksi sel punca dan kelompok kontrol
2. Menganalisis ekspresi VEGF pada kelinci *New Zealand* model fistula vesikovagina yang dilakukan penjahitan dengan *seeding* sel punca amnion manusia dibandingkan dengan tanpa diberikan *seeding* sel punca amnion, kelompok injeksi sel punca dan kelompok kontrol
3. Menganalisis ekspresi FGF pada kelinci *New Zealand* model fistula vesikovagina yang dilakukan penjahitan dengan *seeding* sel punca amnion

manusia dibandingkan dengan tanpa diberikan *seeding* sel punca amnion, kelompok injeksi sel punca dan kelompok kontrol

4. Menganalisis ekspresi *occludin* pada kelinci *New Zealand* model fistula vesikovagina yang dilakukan penjahitan dengan *seeding* sel punca amnion manusia dibandingkan dengan tanpa diberikan *seeding* sel punca amnion, kelompok injeksi sel punca dan kelompok kontrol
5. Menganalisis ekspresi *claudin-4* pada kelinci *New Zealand* model fistula vesikovagina yang dilakukan penjahitan dengan *seeding* sel punca amnion manusia dibandingkan dengan tanpa diberikan *seeding* sel punca amnion, kelompok injeksi sel punca dan kelompok kontrol.
6. Menilai skor karakterisasi histologi angiogenesis, maturasi fibroblas, reepitelisasi dan deposisi kolagen pada kelinci *New Zealand* model fistula vesikovagina yang dilakukan penjahitan dengan *seeding* sel punca amnion manusia dibandingkan dengan tanpa diberikan *seeding* sel punca amnion, kelompok injeksi sel punca dan kelompok kontrol.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Dapat dijelaskan proses penyembuhan luka kasus fistula vesikovagina yang dilakukan *seeding* sel punca amnion berdasarkan ekspresi PDGF, VEGF, FGF, *occludin*, *claudin-4* dan karakterisasi histologi sesuai dengan hasil penelitian.

1.4.2 Manfaat praktis

1. Dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan alternatif terapi pada kasus fistula vesikovagina berdasarkan hasil penelitian yang menjelaskan tentang ekspresi PDGF, VEGF, FGF, occludin, *claudin-4* dan karakterisasi histologi, di mana di masa depan dapat dihasilkan produk yang dapat digunakan untuk proses kesembuhan fistula vesikovagina.
2. Menjadi dasar strategi terapi pembedahan fistula vesikovagina dengan memanfaatkan membran amnion.