

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar belakang

Rekonstruksi uretra pada beberapa kelainan patologi, seperti trauma uretra, infeksi spesifik, striktura uretra, kelainan kongenital seperti hipospadia, aphalia dan kelainan lain merupakan masalah sejak dahulu dan menjadi tantangan besar untuk dokter bedah. Manajemen pembedahan pada cacat uretra masih menjadi kontroversi dan merupakan tantangan bagi ahli bedah karena belum ada material sintetis yang dianggap ideal sebagai substitusi uretra serta belum adanya penelitian yang tegas menentukan material sintetis yang baik untuk mengganti defek uretra.

Beracam-macam rekonstruksi uretra yang telah digunakan, contohnya penggunaan donor autograf dari kulit pripusium, kulit skrotum, mukosa rongga mulut, mukosa buli-buli, tunika Dartos skrotum, atau mukosa ileum dengan angka keberhasilan bervariasi dan kegagalan terapi yang banyak pula. Berbagai komplikasi yang sering terjadi, seperti pertumbuhan rambut, striktura, *lithogenesis* dan terbentuknya divertikula. (Hadidi.,2004).

Kelebihan kulit sebagai donor autograf adalah mudah digunakan, namun epitel yang terkeratinisasi dan ketebalan *split thickness* membuat kulit donor ini rentan terjadi kontraktur, tumbuh rambut dan menebal (Webster,*et al.*, 1984). Mukosa rongga mulut adalah salah satu donor yang paling mudah tumbuh sebagai pengganti uretra. Bila diperlukan mukosa rongga mulut yang cukup luas untuk menutup defek uretra, maka selama penyembuhan luka pada bibir 14,3% penderita merasa nyeriberkepanjangan, 3,7% – 40% mengalami mati rasa

persisten, kemudian terjadi jaringan parut di mukosa bibir yang akan menyebabkan nyeri, kesulitan gerak mulut dan mengunyah sebanyak 32%, terjadi kontraktur sendi temporo mandibular 23% (Frank, *et al.*, 2011, Bhargava, *et al.*, 2004). Demikian juga apabila dipergunakan mukosa buli-buli atau tunika Dartos skrotum sebagai autograf, maka dapat terjadi morbiditas yang mungkin lebih besar dari pada penyakit primernya, yaitu dapat terjadi prolaps meatus, stenosis, formasi ekstropion (Savas, *et al.*, 1997).

Berbagai jenis graf telah diajukan sebagai pengganti uretra, namun belum ditemukan graf yang ideal. Maka dipikirkan untuk membuat rekayasa jaringan dimana graf dapat tumbuh sebagaimana jaringan hidup. Agar graf hidup maka harus disertakan sel yang dapat melakukan proses remodeling dengan baik.

Komposit membran amnion kering(KMAK) telah digunakan pada operasi oftalmologi, sebagai penutup luka, vestibuloplasti dan bahkan pada prosedur bedah saraf sebagai pengganti duramater pada operasi myelomeningocele. Membran amnion kering sudah pernah dicoba sebagai graf uretra pada percobaan pada kelinci. (Shakeri, *et al.*, 2009).

*Komposit membran amnion kering (KMAK)* memiliki karakteristik unik yang membuat graf ini lebih superior dibanding dengan graf lain, yaitu adanya kemampuan untuk reepitelisasi, tidak menimbulkan respon imunologis serta tidak menimbulkan jaringan parut. Penolakan jaringan terhadap KMAK juga jarang terjadi. *KMAK* dapat ditinggal jika terjadi infeksi. Selain itu *KMAK* mudah didapatkan, dibuat dan disimpan, namun harus dihindari pengambilan *KMAK* dari donor ibu yang seropositif untuk hepatitis dan korioamnionitis. (Shakeri, *et al.*, 2009).

Aplikasi penggunaan sel punca sebagai rekayasa jaringan (*tissue engineering*) untuk membuat uretra dimulai tahun 2011. Sel punca dengan sifat mudah berdiferensiasi menjadi lebih dari satu sel, mampu memperbanyak diri (Self renewel) dan akhirnya dapat menjadi jaringan dari berbagai turunan sesuai dengan kondisi lingkungan sekitarnya. Sifat sel punca yang mampu memperbanyak diri serta dapat menjadi jaringan sesuai dengan kondisi lingkungannya maka peneliti melakukan rekonstruksi uretra dengan menggunakan model *acellular matrixbioscaffold seeding* sel punca (*cell seeded*), dikatakan berhasil baik. Jaringan uretra akan tumbuh dimatrix tersebut. Rekayasa jaringan tersebut dapat membentuk uretra yang menyerupai aslinya dan kecil kemungkinan terjadi penolakan jaringan (Fu, *et al.*, 2012).

Bank jaringan RSUD Dr. Soetomo telah lama dapat memproduksi membran amnion kering (*freeze dried amnion*). Lembaran amnion ini mungkin dapat sebagai kerangka untuk pertumbuhan sel punca sehingga membentuk jaringan yang dapat dipakai sebagai pengganti uretra. Hal ini menjadi pemikiran bahwa membran amnion kering yang telah diproduksi oleh RSUD Dr Soetomo mungkin dapat dipakai sebagai alograf untuk mengganti uretra yang cacat. Sejauh ini belum didapatkan percobaan rekonstruksi uretra menggunakan implantasi membran amnion kering *seeding* sel punca mesenkimal sebagai graf pada rekonstruksi uretra. Penelitian ini bertujuan mendapatkan kembali keutuhan anatomi dan sifat uretra sebagai tabung elastis yang dapat mengalirkan urine dari vesika urinaria hingga keluar tubuh. Untuk itu dipakai binatang coba kelinci jantan dimana uretra dibuat defek, kemudian defek tersebut di ganti dengan

membran amnion kering dibentuk tabung yang sebelumnya telah ditanami sel punca mesenkimal dari jaringan lemak kelinci.

Membran amnion kering *seeding* sel punca yang ditanam sebagai rekayasa jaringan, sebagai matriks hidup, diharapkan akan terjadi pertumbuhan sel epitel uretra sebagai bentuk proses penyembuhan luka jaringan uretra. Pada fase proliferasi penyembuhan luka terjadi proliferasi miofibroblas, angiogenesis dan terjadi produksi kolagen terutama kolagen III. (Hofer, *et al.*, 2014) Kolagen sangat penting pada setiap proses penyembuhan luka. Kolagen adalah protein utama yang menyusun komponen matrik ekstraselular dan merupakan protein yang terbanyak pada proses penyembuhan. (MacKay, *et al.*, 2003). Pada deposisi matriks ekstraselular sintesa kolagen diperbanyak oleh faktor-faktor pertumbuhan dan sitokin dengan ekspresi sel, antara lain *Fibroblast Growth Factor (FGF)*, *Transforming Growth Factor  $\beta$ 1 (TGF $\beta$ 1)*, *Connective Tissue Growth Factor (CTGF)*. (Amensag, *at al.*, 2012).

*Fibroblast Growth Factor(FGF)* adalah faktor pertumbuhan representative yang menunjukkan efek potensial pada perbaikan dan regenerasi jaringan. *Transforming Growth Factor -  $\beta$ 1(TGF  $\beta$ 1)* secara umum dianggap sebagai faktor utama yang berperan dalam proses fibrosis. Hal ini menyebabkan deposisi dari matriks ekstraselular yang dimediasi oleh *Connective Tissue Growth Factor(CTGF)*. (Dendooven, 2011).

Pada penelitian yang pernah dilakukan telah dibuktikan bahwa pertumbuhan sel basal epitelium pada pertumbuhan dari sel punca diekspresikan dan berdiferensiasi oleh fenotip inti 63 (p63). Jadi p63 penting untuk spesifikasi dan diferensiasi sel

epitel berlapis serta penting pada proses proliferasi dan pemeliharaan populasi sel progenitor epitel. (Nekulova, *at al.*, 2011).

Pada suatu penelitian invitro pada *human adipose-derived stem cells(hASCs)* pada kultur langsung dengan sel uroepitelial yang diobservasi menunjukkan ekspresi gen spesifik urotelial uroplakin Ib dan uroplakin II. Pada penelitian tersebut dapat dideteksi pola pertumbuhan dan viabilitas yang menunjukkan morfologi menyerupai epitel berlapis dengan ekspresi cytokeratin 19 (ck19) ekspresi lemah terhadap cytokeratin 13. (Li, *at al.*, 2014).

Maka penelitian ini bertujuan mendapatkan kembali keutuhan anatomi dan sifat uretra sebagai tabung elastis yang dapat mengalirkan urine dari vesika urinaria hingga keluar tubuh. Untuk itu dipakai binatang coba kelinci jantan dimana uretra akan dibuat defek, kemudian defek tersebut akan diganti dengan KMAK yang dibentuk tabung yang sebelumnya telah ditanami sel punca mesenkimal dari jaringan lemak kelinci. Pertumbuhan dan penyembuhan uretra, akan diteliti melalui analisa pembentukan kolagen, ekspresi sel *Fibroblast Growth Factor (FGF)*, *Transforming Growth Factor  $\beta$ 1 (TGF $\beta$ 1)*, *Connective Tissue Growth Factor (CTGF)*, *fenotip (p63)*, *ck 19* dan integrasi pertumbuhan uretra secara klinis.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang pemikiran tersebut, maka timbul pemikiran bahwa dapatkah membran amnion kering *seeding* sel punca sebagai graf pada defek uretra? Apakah membrane amnion kering *seeding* sel punca akan lebih baik dibanding KMAK tanpa sel punca untuk aplikasi graf ?

Rumusan masalah tersebut dijabarkan dalam sub rumusan masalah sebagai berikut :

- 1.2.1 Apakah ada perbedaan jumlah sel yang mengekspresikan *FGF* pada jaringan uretra dengan graf KMAK yang dibentuk tabung dan sel punca mesenkimal dengan graf tanpa sel punca sebagai matriks pembentukan uretra?
- 1.2.2 Apakah ada perbedaan jumlah sel yang mengekspresikan *CTGF* pada jaringan uretra dengan graf KMAK yang dibentuk tabung dan sel punca mesenkimal dengan graf yang tanpa sel punca sebagai matriks pembentukan uretra?
- 1.2.3 Apakah ada perbedaan ketebalan kolagen antara jaringan uretra dengan graf KMAK yang dibentuk tabung dan sel punca mesenkimal dengan graf yang tanpa sel punca sebagai matriks pembentukan uretra?
- 1.2.4 Apakah ada perbedaan jumlah sel yang mengekspresikan *TGF $\beta$*  pada jaringan uretra dengan graf KMAK yang dibentuk tabung dan sel punca mesenkimal dengan graf yang tanpa sel punca sebagai matriks pembentukan uretra?
- 1.2.5 Apakah ada perbedaan jumlah sel yang mengekspresikan p63 pada jaringan uretra dengan graf KMAK yang dibentuk tabung dan sel punca mesenkimal dengan graf yang tanpa sel punca sebagai matriks pembentukan uretra?
- 1.2.6 Apakah ada perbedaan jumlah sel yang mengekspresikan ck19 pada jaringan uretra dengan graf KMAK yang dibentuk tabung dan sel punca mesenkimal dengan graf yang tanpa sel punca sebagai matriks pembentukan uretra?

- 1.2.7 Apakah ada perbedaan integritas pertumbuhan jaringan uretra dengan graf KMAK yang dibentuk tabung dan sel punca mesenkimal dengan graf yang tanpa sel punca sebagai matriks pembentukan uretra?.

### 1.3 Tujuan Penelitian

#### 1.3.1 Tujuan umum

Menentukan dan mekanisme KMAK *seeding* sel punca sebagai *bioscaffold* untuk proses penyembuhan defek uretra.

#### 1.3.2 Tujuan khusus

Menentukan KMAK *seeding* sel punca dibandingkan dengan KMAK tanpa sel punca dalam proses penyembuhan luka

1. Menganalisis perbedaan jumlah sel yang mengekspresikan *FGF* pada jaringan uretra hewan coba pada defek uretra yang dilakukan implantasi dengan KMAK bentuk tabung *seeding* sel punca mesenkimal dan tanpa sel punca.
2. Menganalisis perbedaan jumlah sel yang mengekspresikan *CTGF* pada jaringan hewan coba pada defek uretra yang dilakukan implantasi dengan KMAK bentuk tabung *seeding* sel punca mesenkimal dan dengan yang tanpa sel punca.
3. Menganalisis ketebalan kolagen yang dibentuk pada jaringan hewan coba pada defek uretra yang dilakukan implantasi dengan KMAK bentuk tabung dan sel punca mesenkimal dibanding dengan yang tanpa sel punca.

4. Menganalisis perbedaan jumlah sel yang mengekspresikan p63 pada jaringan hewan coba pada defek uretra yang dilakukan implantasi dengan KMAK bentuk tabung *seeding* sel punca mesenkimal dengan yang tanpa sel punca.
5. Menganalisis perbedaan jumlah sel yang mengekspresikan ck19 pada jaringan hewan coba pada defek uretra yang dilakukan implantasi dengan KMAK dan sel punca mesenkimal dengan yang tanpa sel punca.
6. Menganalisis perbedaan integritas antara jaringan uretra dengan scaffold berdasarkan pemeriksaan klinis.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

##### **1.4.1 Manfaat teoritis**

Sebagai informasi ilmiah tentang rekayasa jaringan untuk rekonstruksi defek uretra dengan menggunakan *bioscaffold* membran amnion kering

##### **1.4.2 Manfaat praktis**

- a. Sebagai dasar pengembangan rekayasa jaringan.
- b. Sebagai dasar penelitian yang berkaitan dengan rekonstruksi defek uretra.