

TESIS

**AKTIVITAS *SENESCENCE* PADA UROEPITELIUM VESIKA
URINARIA TIKUS MODEL *BLADDER PAIN SYNDROME* /
INTERSTITIAL CYSTITIS YANG DIINDUKSI OLEH
SIMVASTATIN**

Disusun dan diajukan oleh

**ABDI DZUL IKRAM HASANUDDIN
P062191014**



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**AKTIVITAS *SENESCENCE* PADA UROEPITELIUM VESIKA
URINARIA TIKUS MODEL *BLADDER PAIN SYNDROME* /
INTERSTITIAL CYSTITIS YANG DIINDUKSI OLEH
SIMVASTATIN**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi
Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

ABDI DZUL IKRAM HASANUDDIN

kepada

**SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS**AKTIVITAS *SENESCENCE* PADA UROEPITELIUM VESIKA
URINARIA TIKUS MODEL *BLADDER PAIN SYNDROME* /
INTERSTITIAL CYSTITIS YANG DIINDUKSI OLEH
SIMVASTATIN**

Disusun dan diajukan oleh

ABDI DZUL IKRAM HASANUDDIN
P062191014

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi **Ilmu Biomedik Sekolah**
Pascasarjana Universitas Hasanuddin
pada tanggal 5 Februari 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan


Menyetujui,

Pembimbing Utama,



dr. Rahmawati Minhajat, Ph.D, SpPD, KHOM
Nip. 196802181999032002

Pembimbing Pendamping,



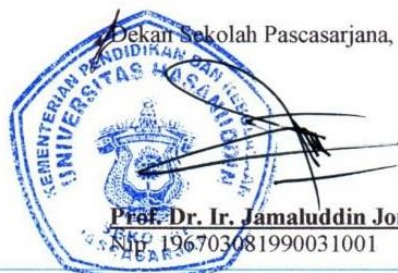
Dr. dr. Mirna Muis, Sp.Rad (K)
Nip. 197109082002122002

Ketua Program Studi,



Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc
Nip. 197701212003122003

Dekan Sekolah Pascasarjana,



Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, MSc
Nip. 196703081990031001

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Abdi Dzul Ikram Hasanuddin
NIM : P062191014
Program Studi : Ilmu Biomedik / Farmakologi
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

**AKTIVITAS SENESCENCE UROEPITELIAL VESIKA
URINARIA PADA TIKUS MODEL *BLADDER PAIN*
SYNDROME / INTERSTITIAL CYSTITIS YANG DIINDUKSI
OLEH SIMVASTATIN**

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa Tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila di kemudian hari terbukti terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Tesis ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Februari 2021

Yang menyatakan



Abdi Dzul Ikram Hasanuddin

PRAKATA

Dengan memanjatkan puji dan syukur kepada Allah *Subhaanahu Wata'ala*, atas segala berkat, karunia serta perlindungan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini sebagaimana mestinya sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Studi Magister Ilmu Biomedik Konsentrasi Histologi dan Biologi Sel Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis bermaksud memberikan informasi ilmiah mengenai aktivitas senescence uroepitelial vesika urinaria pada tikus model *BPS/IC* yang diinduksi oleh simvastatin. Tulisan ini diharapkan dapat memberi manfaat untuk menambah wawasan, aplikasi klinis dan menjadi bahan rujukan untuk penelitian selanjutnya.

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada **dr. Rahmawati Minhajat, Ph.D, SpPD, KHOM** sebagai pembimbing I dan **Dr. dr. Mirna Muis, Sp.Rad(K)** sebagai pembimbing II serta **dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA, DFM** sebagai pembimbing histopatologi atas bantuan dan bimbingan yang telah diberikan mulai dari pengembangan minat terhadap permasalahan penelitian ini, pelaksanaan sampai dengan penulisan tesis ini. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada **Dr. dr. Andi Alfian Zainudiin, MKM** dan **dr. Arif Santoso, Ph.D, Sp.P(K)** sebagai penyanggah yang memberikan kritik dan saran dalam menyempurnakan penelitian ini.

Penulis juga menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-

besarnya kepada :

1. Dekan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc** ;Ketua Program Studi **Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc**; seluruh staf pengajar beserta pegawai di Program Studi Ilmu Biomedik dan Sekolah Pascasarjana yang memberikan arahan, dukungan dan motivasi kepada penulis selama pendidikan. Terkhusus kepada **Dr. dr. Burhanuddin Bahar, M.Sc** dan **dr. Andriany Qonita, Ph.D** yang menjadi tempat untuk berdiskusi mengenai rencana uji statistik penelitian tesis ini.
2. Penasihat akademik penulis sekaligus pembimbing I **dr. Rahmawati Minhajat, Ph.D, Sp.PD, KHOM** yang selalu mendukung dan memberikan arahan selama mengikuti proses pendidikan dan penelitian untuk karya tulis ini.
3. Kedua orang tua saya, **Hasanuddin** dan **Sitti Roskina Mas**, isteri saya, **Ilzy Jum Ahmad**, ibu mertua saya **Jasmawati**, kedua buah hati saya, **Qonita Abdzil Ikram** dan **Hafizah Rodiah Abdzil Ikram**, kedua saudara saya, **Fadlih Awwal Hasanuddin** dan **Arham Fitriansyah Hasanuddin**, dan keluarga besar penulis yang telah memberikan restu untuk penulis melanjutkan pendidikan, disertai dengan doa, kasih sayang, pengertian dan dukungan yang luar biasa selama penulis menjalani pendidikan.
4. Teman sejawat peserta S2 Ilmu Biomedik 2019-1, terkhusus teman

satu konsentrasi **dr. Abdurrahman Hasymi**, teman satu penelitian **dr. Zulfahmidah** dan **dr. Desi Dwi Rosalia** atas bantuan, dukungan dan kerjasamanya selama proses pendidikan dan penelitian.

5. Laboran dan staf Departemen Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, **Pak Anas** dan **Mbak Tuti** yang sering membantu dalam administrasi proses pendidikan.
6. Laboran dan staf Laboratorium Biofarmasi dan Farmasi Klinik Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang membantu dalam melaksanakan proses penelitian.
7. Laboran dan staf Laboratorium Patologi Anatomi RSPR UNHAS yang membantu dalam melaksanakan proses penelitian, khususnya pemrosesan dan analisis jaringan spesimen.
8. Semua pihak yang namanya tidak tercantum namun telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

Semoga tesis ini memberikan manfaat dalam perkembangan ilmu pengetahuan pada umumnya serta Ilmu Biomedik Histologi pada khususnya di masa yang akan datang.

Makassar, Februari 2021

Abdi Dzul Ikram Hasanuddin

ABSTRAK

ABDI DZUL IKRAM HASANUDDIN. *Aktivitas Senescence Pada Uroepitelium Vesika Urinaria Tikus Model Bladder Pain Syndrome / Interstitial Cystitis Yang Diinduksi Oleh Simvastatin* (dibimbing oleh **Rahmawati Minhajat dan Mirna Muis**)

Statin dapat meningkatkan resiko *bladder pain syndrome / interstitial cystitis* (BPS/IC), namun mekanisme pastinya belum diketahui. Kami menduga, statin dapat menginduksi peningkatan aktivitas *senescence* uroepitelium vesika urinaria sehingga memicu gambaran patologi BPS/IC. Pada penelitian ini, digunakan 37 tikus galur Wistar betina usia 8-10 minggu yang dibagi ke dalam tiga kelompok secara acak: simvastatin 10 mg/kgBB (n=12), simvastatin 50 mg/kgBB (n=13), dan plasebo *carboxymethylcellulose* 0,5% (n=12). Semua kelompok mendapatkan perlakuan melalui sonde oral selama tiga puluh hari. Setelah itu, setiap kelompok dibagi menjadi tiga subkelompok: tikus kontrol, tikus BPS/IC hari ke-0, dan tikus BPS/IC hari ke-3. Tikus kontrol atau tikus BPS/IC hari ke-0 masing-masing mendapatkan instilasi *buffered saline* atau protamin sulfat (PS) intravesika, dan segera diterminasi kurang dari 3 jam paska instilasi. Tikus BPS/IC hari ke-3 mendapatkan instilasi PS intravesika dan diterminasi 3 hari paska instilasi. Sesaat sebelum diterminasi, semua tikus diambil sampel urinnya untuk dilakukan pemeriksaan makroskopis dan urinalisis untuk penentuan derajat sistitis hemoragik. Semua jaringan vesika urinaria yang diambil diperiksa persentase ekspresi *Senescence Marker β -Galactosidase* (GLB1) melalui metode imunohistokimia. Derajat inflamasi jaringan dan derajat kerusakan sel payung diperiksa melalui metode histopatologi standar dengan pewarnaan hematoksilin eosin.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase ekspresi GLB1 uroepitelial vesika urinaria pada tikus kontrol yang mendapatkan simvastatin 10 mg/kgBB dan simvastatin 50 mg/kgBB signifikan lebih tinggi (nilai $p=0,000$ untuk keduanya) dibanding plasebo, namun tidak pada tikus BPS/IC hari ke-0 dan hari ke-3 ($p=0,571$ dan $p=0,214$ berturut-turut). Pada tikus kontrol, pemberian simvastatin berkorelasi positif dan signifikan terhadap derajat kerusakan sel payung, derajat inflamasi jaringan, dan derajat sistitis hemoragik ($r=0,650$, $r=0,775$, dan $r=0,833$ berturut-turut). Pada tikus BPS/IC hari ke-0 dan hari ke-3, pemberian simvastatin berkorelasi positif terhadap semua parameter tersebut namun tidak signifikan (semua nilai $p > 0,05$). Dapat disimpulkan bahwa simvastatin dapat memicu peningkatan aktivitas *senescence* uroepitelium vesika urinaria yang disertai dengan gambaran patologi BPS/IC.

Kata kunci : inflamasi, simvastatin, sistitis hemoragik, sistitis interstisial, *senescence*

ABSTRACT

ABDI DZUL IKRAM HASANUDDIN. *Senescence Activity in Bladder Uroepithelial of Bladder Pain Syndrome / Interstitial Cystitis Rat Model Induced by Simvastatin* (supervised by **Rahmawati Minhajat** and **Mirna Muis**)

Statins can increase the risk of bladder pain syndrome / interstitial cystitis (BPS / IC), but the exact mechanism is unknown. We suspect that statins can induce increased uroepithelial bladder senescence activity, thereby triggering BPS / IC pathology. In this study, 37 female Wistar rats aged 8-10 weeks were used which were randomly divided into three groups: simvastatin 10 mg / kg BW (n = 12), simvastatin 50 mg / kgBB (n = 13), and placebo carboxymethylcellulose 0.5% (n = 12). All groups received treatment through oral gavage for thirty days. After that, each group was further divided into three subgroups: control rat, BPS/IC day 0 rat, and BPS/IC day 3 rat. Each control or BPS / IC day 0 rats received intravesical instillation of buffered saline or protamine sulfate (PS) and were immediately sacrificed less than 3 hours after instillation. BPS/IC day 3 rats received intravesical PS instillation and were sacrificed 3 days after instillation. Shortly before sacrifice, all of the urinary specimens were collected for macroscopic and urinalysis examination to determine the degree of hemorrhagic cystitis. All bladder tissue taken were examined for the percentage expression of Senescence Marker β -Galactosidase (GLB1) by immunohistochemical method. The degree of tissue inflammation and the degree of umbrella cell damage were examined by standard histopathological methods with hematoxylin-eosin staining.

The results revealed that the percentage of uroepithelial bladder GLB1 expression in control rats receiving simvastatin 10 mg/kg BW and simvastatin 50 mg/kg BW was significantly higher (p-value = 0.000 for both) than placebo, but not in BPS / IC day 0 and day 3 rat (p = 0.571 and p = 0.214, respectively). In the control rat, simvastatin administration had a positive and significant correlation with the degree of umbrella cell damage, the degree of tissue inflammation, and the degree of hemorrhagic cystitis (r = 0.650, r = 0.775, and r = 0.833, respectively). In BPS / IC day 0 and day 3 rats, simvastatin administration had a positive correlation to all these parameters but not significant (all p-values > 0.05). It can be concluded that simvastatin can increase the senescence activity of the bladder uroepithelium along with pathological features of BPS / IC.

Keywords: hemorrhagic cystitis, interstitial cystitis, inflammation, simvastatin, *senescence*

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| HALAMAN PENGAJUAN..... | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | iii |
| PERNYATAAN KEASLIAN TESIS..... | iv |
| PRAKATA | v |
| ABSTRAK | viii |
| ABSTRACT..... | ix |
| DAFTAR ISI | x |
| DAFTAR TABEL | xiii |
| DAFTAR GAMBAR | xiv |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xv |
| DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN..... | xvi |
| BAB I. PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar Belakang Masalah..... | 1 |
| B. Rumusan Masalah | 4 |
| C. Tujuan Penelitian | 5 |

| | |
|---|----|
| D. Manfaat Penelitian | 6 |
| E. Ruang Lingkup Penelitian | 6 |
| F. Definisi dan Istilah..... | 7 |
| G. Sistematika Penulisan..... | 8 |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA..... | 10 |
| A. Statin dan Intoleransinya Terhadap Proliferasi Sel..... | 10 |
| 1. Penggunaan Statin | 10 |
| 2. Mekanisme Kerja Statin | 10 |
| 3. Karakteristik Struktural dan Farmakokinetik Statin..... | 13 |
| 4. Intoleransi Statin | 15 |
| 5. Intoleransi Statin Terhadap Aktivitas Senescence Sel..... | 16 |
| B. Senescence dan Proliferasi Sel | 17 |
| 1. Regulasi Senescence Pada Sel..... | 17 |
| 2. <i>Senescence-Associated Secretory Phenotype</i> (SASP) | 22 |
| 3. Biomarker Senescence Pada Sel | 27 |
| 4. Regulasi Proliferasi Pada Sel | 28 |
| 5. Biomarker Proliferasi Pada Sel..... | 32 |
| C. Uroepitelium Vesika Urinaria | 32 |
| 1. Struktur dan Fungsi Uroepitelium Vesika Urinaria | 32 |

| | |
|--|----|
| 2. Lapisan Sel Uroepitelium | 33 |
| 3. Sel Punca dan Regenerasi Uroepitelial | 37 |
| D. <i>Bladder Pain Syndrome / Interstitial Cystitis</i> | 38 |
| 1. Epidemiologi <i>Bladder Pain Syndrome / Interstitial Cystitis</i> ... | 38 |
| 2. Faktor Resiko <i>Bladder Pain Syndrome / Interstitial Cystitis</i> . | 39 |
| 3. Patofisiologi <i>Bladder Pain Syndrome / Interstitial Cystitis</i> | 40 |
| 4. Etiologi <i>Bladder Pain Syndrome / Interstitial Cystitis</i> | 45 |
| 5. Manifestasi Klinis <i>Bladder Pain Syndrome / Interstitial Cystitis</i> | 46 |
| 6. Diagnosis <i>Bladder Pain Syndrome / Interstitial Cystitis</i> | 46 |
| 7. Pemodelan Tikus untuk BPS/IC Pada Penelitian In Vivo..... | 46 |
| E. Kerangka Konseptual | 49 |
| F. Hipotesis | 50 |
| G. Definisi Operasional | 51 |
| BAB III. METODE PENELITIAN..... | 55 |
| A. Rancangan Penelitian..... | 55 |
| B. Waktu dan Lokasi Penelitian..... | 55 |
| C. Populasi dan Sampel..... | 57 |
| D. Teknik Pengumpulan Data | 58 |
| 1. Persiapan Tikus Percobaan | 58 |

| | |
|--|-----|
| 2. Pemberian Simvastatin | 60 |
| 3. Pengukuran Profil Antropometri Tikus | 61 |
| 4. Induksi Sistitis Interstisial dengan Instilasi Protamin Sulfat Intrevesika | 62 |
| 5. Pemeriksaan Histologi dan Interpretasi | 63 |
| 6. Pengambilan dan Pemeriksaan Dipstik dan Makroskopis Spesimen Urin | 71 |
| E. Analisis Data | 74 |
| BAB IV. HASIL PENELITIAN | 75 |
| A. Efek Simvastatin Terhadap Profil Antropometri..... | 75 |
| B. Efek Simvastatin Terhadap Ekspresi GLB1 Uroepitelial | 77 |
| C. Efek Simvastatin Terhadap Derajat Kerusakan Sel Payung dan Derajat Inflamasi Jaringan | 84 |
| D. Efek Simvastatin Terhadap Derajat Sistitis Hemoragik..... | 92 |
| E. Korelasi Antara Ekspresi GLB1 Terhadap Derajat Kerusakan Sel Payung, Derajat Inflamasi Jaringan, dan Derajat Sistitis Hemoragik | 95 |
| BAB V. PEMBAHASAN | 101 |
| BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN..... | 110 |
| DAFTAR PUSTAKA | 112 |
| LAMPIRAN..... | 126 |

DAFTAR TABEL

| Nomor | Halaman |
|---|---------|
| 1. Karakteristik Farmakokinetik Beragam Obat Statin | 15 |
| 2. Karakteristik <i>senescence</i> dibandingkan <i>quiescence</i> , <i>exhaustion</i> , dan <i>terminal differentiation</i> | 19 |
| 3. Zat yang dapat disekresikan oleh SASP | 24 |
| 4. Perubahan struktur ultramikroskopis urotelial pada BPS/IC | 44 |
| 5. Inflamasi kronis dan perubahan ekspresi molekular urotelial pada patogenesis BPS/IC | 44 |
| 6. Fenotipe pemodelan tikus BPS/IC dengan beragam agen penginduksi kerusakan uroepitelium | 47 |
| 7. Definisi operasional variabel penelitian | 51 |
| 8. <i>Time line</i> penelitian..... | 56 |
| 9. Interpretasi derajat kerusakan sel payung dan derajat inflamasi pada uroepitelium vesika urinaria dengan pewarnaan HE setelah diinduksi protamin sulfat atau PBS intravesika | 70 |
| 10. Interpretasi derajat sistitis hemoragik pada uroepitelium vesika urinaria setelah diinduksi protamin sulfat atau PBS intravesika..... | 72 |
| 11. Efek simvastatin terhadap status antropometri..... | 76 |
| 12. Hasil pengukuran berat relatif vesika urinaria (milligram) setelah pemberian simvastatin atau plasebo pada model tikus BPS/IC atau kontrol..... | 77 |

| | |
|---|----|
| 13. Ekspresi GLB1 Urotelial pada beragam kelompok perlakuan | 78 |
| 14. Hasil pengamatan derajat kerusakan sel payung setelah pemberian simvastatin atau plasebo pada model tikus kontrol, BPS/IC hari ke-0, dan BPS/IC hari ke-3 | 87 |
| 15. Hasil pengamatan derajat inflamasi jaringan setelah pemberian simvastatin atau plasebo pada model tikus BPS/IC dan non BPS/IC..... | 90 |
| 16. Hasil pengamatan derajat sistitis hemoragik setelah pemberian simvastatin atau plasebo pada model tikus kontrol, BPS/IC hari ke-0, dan BPS/IC hari ke-3..... | 92 |
| 17. Korelasi antara ekspresi GLB1 uroepitelium dengan derajat kerusakan sel payung, derajat inflamasi jaringan, dan derajat sistitis hemoragik pada tikus kontrol, tikus BPS/IC hari ke-0, dan tikus BSP/IC hari ke-3 | 96 |

DAFTAR GAMBAR

| Nomor | Halaman |
|---|----------------|
| 1. Mekanisme Kerja Statin Sebagai penghambat HMG-CoA pada jalur mevalonat | 12 |
| 2. Struktur Kimia Beragam Jenis Statin | 14 |
| 3. Regulasi Senescence dan Quiescence | 18 |
| 4. Mekanisme molekuler senescence pada tiga jenis sel senescence: (1) senescence embrionik; (2) senescence akut; dan (3) senescence kronik pada tahap awal dan tahap akhir | 22 |
| 5. Siklus Sel Dalam 4 Fase Beserta Check Point nya | 30 |
| 6. Mekanisme kontrol siklus sel fase G1 sebelum lanjut ke fase S melalui jalur pRB | 31 |
| 7. Lapisan Sel Uroepitelium pada pemeriksaan Imunohistokimia..... | 34 |
| 8. Permukaan apikal sel payung kelinci yang diamati dengan menggunakan mikroskop elektron scanning..... | 36 |
| 9. Kaskade etiologi pemicu terjadinya BPS/IC..... | 45 |
| 10. Kerangka Teori Penelitian | 48 |
| 11. Kerangka konseptual yang menjelaskan hubungan antara variabel bebas, variabel terikat, dan variabel antara di mana variabel perancunya dikontrol dengan ketat..... | 49 |
| 12. Diagram Alir Penelitian | 73 |

| | |
|--|----|
| 13. Gambar representatif hasil pemeriksaan IHC GLB1 pada tikus kontrol, tikus model BPS/IC hari ke-0, dan tikus model BPS/IC hari ke-3. | 77 |
| 14. Dinamika perubahan ekspresi marker GLB1 pada model tikus kontrol, BPS/IC hari ke-0, dan BPS/IC hari ke-3 setelah pemberian plasebo, simvastatin 10 mg/kgBB, maupun simvastatin 50 mg/kgBB..... | 80 |
| 15. Efek pemberian plasebo, simvastatin 10 mg/kgBB, dan simvastatin 50 mg/kgBB terhadap ekspresi GLB1 pada tikus kontrol, tikus model BPS/IC hari ke-0, dan tikus model BPS/IC hari ke-3. | 82 |
| 16. Gambar representatif hasil pengamatan preparat HE pada semua kelompok perlakuan.. | 84 |
| 17. Diagram batang proporsi derajat kerusakan sel payung setelah pemberian simvastatin atau plasebo pada model tikus kontrol, BPS/IC hari ke-0, dan BPS/IC hari ke-3 | 87 |
| 18. Diagram batang proporsi derajat inflamasi jaringan setelah pemberian simvastatin atau plasebo pada model tikus kontrol, BPS/IC hari ke-0, dan BPS/IC hari ke-3 | 89 |
| 19. Diagram batang proporsi derajat sistitis hemoragik setelah pemberian simvastatin atau plasebo pada model tikus kontrol, BPS/IC hari ke-0, dan BPS/IC hari ke-3 | 92 |

20. Grafik *scatter-plot* antara persentase eksresi GLB1 terhadap derajat kerusakan sel payung, derajat inflamasi jaringan, dan derajat sistitis hemoragik pada tikus kontrol 97
21. Grafik *scatter-plot* antara persentase eksresi GLB1 terhadap derajat kerusakan sel payung, derajat inflamasi jaringan, dan derajat sistitis hemoragik pada tikus BPS/IC hari ke-0 98
22. Grafik *scatter-plot* antara persentase eksresi GLB1 terhadap derajat kerusakan sel payung, derajat inflamasi jaringan, dan derajat sistitis hemoragik pada tikus BPS/IC hari ke-3 99

DAFTAR LAMPIRAN

| Nomor | Halaman |
|--|----------------|
| 1. Surat Rekomendasi Persetujuan Etik Penelitian | 126 |
| 2. Kondisi Kandang Hewan Coba..... | 127 |
| 3. Dokumentasi Prosedur Penelitian | 128 |
| 4. Gambar Representatif Pemeriksaan Makroskopis Jaringan Vesika Urinaria dan Spesimen Urin..... | 129 |
| 5. Tabulasi Data | 130 |
| 6. Output Hasil analisis statistik..... | 132 |
| 7. Jurnal Publikasi Ilmiah..... | 134 |

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

| Lambang / Singkatan | Arti dan Keterangan |
|---------------------|--|
| ACC | <i>American College of Cardiology</i> |
| AHA | <i>American Heart Association</i> |
| APF | <i>antiproliferative factor</i> |
| ATP | <i>Adenosine Triphosphate</i> |
| BB | berat badan |
| BCL2 | <i>B Cell Lymphoma 2</i> |
| BDNF | <i>brain-derived neurothropic peptide</i> |
| BMI | <i>body mass index</i> |
| BPS/IC | <i>Bladder Pain Syndrome/Interstitial Cystitis</i> |
| CDK | <i>cyclin-dependent kinase</i> |
| CKIs | <i>cyclin dependent kinase inhibitors</i> |
| CRP | <i>C-reactive protein</i> |
| CS | <i>chondroitin sulphate</i> |
| CXCL | <i>chemokine ligand</i> |
| DDR | <i>DNA Damage Responce</i> |

| | |
|----------------|---|
| DFV | <i>discoid fusciform vesicle</i> |
| EGF | <i>epidermal growth factor</i> |
| eNOS | <i>endothelial NO synthase</i> |
| FFPE | <i>Formaline Fixed Paraffin Embedded</i> |
| FGF | <i>fibroblast growth factor</i> |
| GLB1 | <i>senescence marker β-galactosidase β- Galactosidase</i> |
| GP51 | <i>Glicoprotein 51</i> |
| GM-CSF | <i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i> |
| HB-EGF | <i>Heparin-Binding Epidermal Growth Factor</i> |
| HCC | <i>human beta (CC) chemokine</i> |
| HGF | <i>hepatocyte growth factor</i> |
| HIER | <i>heat induced epitope retrieval</i> |
| HIF-1 α | <i>Hypoxia-inducible factor 1α</i> |
| HMG-CoA | <i>Hydroxymethylglutaryl-coenzyme A</i> |
| HSP32 | <i>heat shock protein 32</i> |
| ICAM | <i>intercellular adhesion molecule</i> |

| | |
|------------|--|
| IGF | <i>insulin-like growth factor</i> |
| IHC | <i>immunohistochemistry</i> |
| KGF | <i>keratinocyte growth factor</i> |
| LPS | lipopolisakarida |
| LUTS | <i>lower urinary tract symptoms</i> |
| MCP | <i>monocyte chemoattractant protein</i> |
| MIF | <i>macrophage inhibitory factor</i> |
| MIF | <i>macrophage migration inhibitory factor</i> |
| MIP | <i>macrophage inflammatory protein</i> |
| MMP | <i>matrixmetaloprotease</i> |
| mTOR | <i>mechanistic target of rapamycin</i> |
| NA | <i>Noradrenalin</i> |
| NGF | <i>nerve growth factor</i> |
| NHANES III | <i>third National Health and Nutrition Examination Surveys</i> |
| NHIS | <i>national health interview survey</i> |
| NK | <i>Natural Killer</i> |
| NO | <i>nitric oxide</i> |

| | |
|------------------|---|
| OIS | <i>oncogene-induced senescence</i> |
| OP | <i>osteoprotegrin</i> |
| p38MAPK | <i>p38-mitogen activated protein kinase</i> |
| PAI | <i>plasma activated inhibitor</i> |
| PBS | <i>phosphate buffered saline</i> |
| PGE | <i>prostaglandine</i> |
| PI3/AKT | <i>phosphatidylinositol 3-kinase-Akt</i> |
| PIGF | <i>placental growth factor</i> |
| PS | protamin sulfat |
| RIPS | <i>replicative-induced premature senescence</i> |
| ROS | <i>reactive oxygen species</i> |
| SAMSs | <i>statin-associated muscle symptoms</i> |
| SAHF | <i>senescence associated heterochromatin foci</i> |
| SASP | <i>senescence-associated secretory phenotype</i> |
| SA- β -GAL | <i>senescence associated β galactosidase</i> |
| SD | standar deviasi |
| SDF | <i>stromal cell-derived factor</i> |

| | |
|-----------|---|
| sEVs | <i>small extracellular vesicles</i> |
| sEV-miRNA | <i>small extracellular vesicles-micro RNA</i> |
| SGP | <i>soluble glycoprotein</i> |
| SIPS | <i>stress-induced premature senescence</i> |
| SKF | <i>Skp-1-Cullin-F-Box</i> |
| sTNFRII | <i>soluble tumor necrosis factor receptor</i> |
| Th1 | <i>T-helper 1</i> |
| TIMP | <i>tissue inhibitor of metalloprotease</i> |
| TrK | <i>tyrosine kinase</i> |
| TRPV4 | <i>transient receptor potential of catione subfamily V member 4</i> |
| TRAIL-R3 | <i>TNF-related apoptosis-inducing ligand-membrane receptor 3</i> |
| UP | <i>uroplakin</i> |
| UPAR | <i>urokinase-type plasminogen activator receptor</i> |
| UPEC | <i>Uropathogenic E. Coli</i> |
| VEGF | <i>Vascular endothelial growth factor</i> |
| ZO-1 | <i>zonula occludin-1</i> |

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Statin termasuk obat yang penggunaannya sangat luas. Statin banyak digunakan untuk menurunkan kolesterol LDL dan prevensi primer dan sekunder penyakit kardiovaskular (Baigent C. et al., 2005). Penggunaan Statin meningkat pada usia ≥ 40 tahun dan pasien dengan resiko tinggi *Cardio Vascular Disease* aterosklerotik (Harrison et al., 2018; Muntean et al., 2017).

Penggunaan statin yang luas masih terkendala dengan adanya toksisitas atau intoleransi yang dihasilkan, di mana hal itu mempengaruhi angka kepatuhan obat (Ward et al., 2019). Toksisitas atau intoleransi statin berkisar antara 10-15%, bahkan dalam penelitian lainnya bisa toksisitas nya bisa mencapai 30% (Banach et al., 2015; Laufs et al., 2015). Toksisitas statin yang tersering adalah *statin-associated muscle symptoms* (SAMSs) (Keen et al., 2014). Selain itu, toksisitas statin yang telah terbukti adalah Diabetes Mellitus Tipe 2 onset baru, efek neurologis-neurokognitif, hepatotoksik, renal toksik, dan lainnya (GI tract, urogenital, dan reproduksi) (Bitzur et al., 2013). Meskipun mekanisme pasti penyebab terjadinya intoleransi tersebut belum diketahui.

Pada sistem urogenital, efek samping penggunaan statin dikaitkan dengan penyakit *Bladder Pain Syndrome/Interstitial Cystitis* (BPS/IC). Pada sebuah penelitian populasi *case control* didapatkan

bahwa terdapat hubungan yang bermakna antara penggunaan statin yang rutin dengan kejadian BPS/IC dengan *Odd Ratio* 1,58. Statin diduga menginduksi disfungsi uroepitelium vesika urinaria, yang merupakan salah satu penyebab utama BPS/IC (Huang et al., 2015).

Disfungsi uroepitelium pada BPS/IC dikaitkan dengan adanya disrupsi dari *tight junction* sel payung uroepitelium vesika urinaria (Khandelwal et al., 2009). Defek selular yang berkaitan dengan adanya disrupsi *tight junction* ini sepenuhnya belum dipahami, namun diduga berkaitan dengan pelepasan *antiproliferative factor* (APF) dari uroepitelium (Khandelwal et al., 2009). APF akan menghambat proliferasi dari sel-sel uroepitelium, sehingga terjadi peningkatan flux paraseluler dan pengurangan ekspresi protein-protein yang berkaitan dengan *tight junction* (Keay et al., 2003; Zhang et al., 2005b).

Seperti yang sudah dijelaskan, bahwa BPS/IC berkaitan erat dengan kemampuan proliferasi sel-sel uroepitelium vesika urinaria. Statin diduga dapat menurunkan kemampuan proliferasi dari sel uroepitelium karena dia dapat berefek samping pada aktivitas sel punca, di mana terjadi peningkatan senescence melalui mekanisme upregulasi p16 dan p53. Selain itu, statin juga dapat menghambat kerja gen *DNA repair* termasuk XRCC4, XRCC6, dan Apex1 (Izadpanah et al., 2015).

Peningkatan aktivitas senescence yang berkaitan dengan upregulasi p53 dan p16 akan berimbas pada kemampuan proliferasi sel, karena aktivitas senescence dapat membuat sel mengalami penghentian

siklus sel yang ireversibel (Terzi et al., 2016). Aktivitas senescence sel pada jaringan ditandai oleh peningkatan marker kunci, yaitu aktivitas SA- β -GAL, p16^{Ink4a} dan p21 (Childs et al., 2015). Sel senescence menghasilkan enzim β -galaktosidase yang akan bereaksi dengan substrat X-Gal dari zat warna SA- β -Gal, menghasilkan warna kebiruan pada sel (Dimri et al., 1995). Marker baru yang berkaitan dengan senescence lainnya yaitu β -Galactosidase (GLB1), yang merupakan gen pengkode aktivitas β -Galactosidase dalam untaian RNA nukleus serta memiliki ekspresi yang berbanding terbalik dengan kemampuan proliferasi *cell line* kanker hepatoselular (Borghesan et al., 2016; Wagner et al., 2015).

Adanya peningkatan aktivitas senescence diduga dapat menghambat proses perbaikan lapisan sel payung pada tikus model BPS/IC yang diinduksi oleh protamin sulfat. Pada tikus model BPS/IC yang diinduksi kerusakan uroepiteliumnya oleh protamin sulfat, terjadi perbaikan sel dalam waktu kurang dari lima hari (Lavelle et al., 2001). Lapisan sel payung yang mengalami kerusakan akan dengan cepat diganti oleh lapisan sel di stratum intermediet tepat di bawah sel payung (Lavelle et al., 2002). Mekanisme regenerasi uroepitelium ini belum sepenuhnya dipahami. Beberapa faktor yang mungkin adalah adanya sel “*label-retaining*” di lapisan basal regio ureter dan trigonum yang klonogenik dan proliferasif saat dikultur (Kurzrock et al., 2008), adanya paparan lapisan sel intermediet terhadap faktor-faktor pertumbuhan di urin (semisal *Epidermal Growth Factor*) yang disertai hilangnya kontak antar

sel intermediet (Khandelwal et al., 2009), dan juga perubahan ekspresi gen pengatur diferensiasi (Mysorekar et al., 2002).

Sel yang mengalami senescence juga pada umumnya bisa memicu terjadinya respon inflamasi, karena dapat menghasilkan sitokin pro-inflamasi, proteinase, dan *growth factor*. Sifat ini penting dan bermanfaat dalam kondisi akut seperti perbaikan sel yang mengalami cedera (Childs et al., 2015). Namun apabila terjadi reaksi inflamasi yang terus-menerus, maka akan memicu cedera vesika urinaria yang progresif dan menjadi nyeri buli-buli kronik yang merupakan manifestasi klinis utama dari BPS/IC (Hanno et al., 2010).

Berdasarkan uraian di atas, maka pada penelitian tesis ini kami mengambil judul "***Aktivitas Senescence Pada Uroepitelium Vesika Urinaria Tikus Model Bladder Pain Syndrome / Interstitial Cystitis Yang Diinduksi Oleh Simvastatin***".

B. Rumusan Masalah

Adapun yang menjadi rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bagaimana hubungan antara pemberian simvastatin terhadap perubahan profil antropometri tikus model BPS/IC?
2. Bagaimana hubungan antara pemberian simvastatin terhadap ekspresi *senescence marker β -galactosidase* (GLB1) di jaringan uroepitelium vesika urinaria pada tikus model BPS/IC?

3. Bagaimana hubungan antara pemberian simvastatin terhadap derajat kerusakan sel payung vesika urinaria pada tikus model BPS/IC?
4. Bagaimana hubungan antara pemberian simvastatin terhadap derajat inflamasi jaringan uroepitelium vesika urinaria pada tikus model BPS/IC?
5. Bagaimana hubungan antara pemberian simvastatin terhadap derajat sistitis hemoragik uroepitelium vesika urinaria pada tikus model BPS/IC?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Mengetahui aktivitas senescence pada uroepitelium vesika urinaria tikus model bladder pain syndrome / interstitial cystitis yang diinduksi oleh simvastatin.

2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui hubungan antara pemberian simvastatin terhadap perubahan profil antropometri tikus model BPS/IC.
- b. Mengetahui hubungan antara pemberian simvastatin terhadap ekspresi *senescence marker β -galactosidase* (GLB1) di jaringan uroepitelium vesika urinaria tikus model BPS/IC.
- c. Mengetahui hubungan antara pemberian simvastatin terhadap derajat kerusakan sel payung vesika urinaria pada tikus model BPS/IC.

- d. Mengetahui hubungan antara pemberian simvastatin terhadap derajat inflamasi jaringan uroepitelium vesika urinaria pada tikus model BPS/IC.
- e. Mengetahui hubungan antara pemberian simvastatin terhadap derajat sistitis hemoragik uroepitelium vesika urinaria pada tikus model BPS/IC.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Akademik

Menambah pengetahuan baru tentang gambaran histologi dan patofisiologi BPS/IC yang berkaitan dengan peningkatan aktivitas senescence yang dipicu oleh simvastatin.

2. Manfaat Praktis

Adanya pengetahuan mengenai karakter senescence ini akan mengarahkan pada *adjusting dose* simvastatin, penambahan terapi adjuvant, maupun menjadikan sel senescence sebagai target terapi (obat senolitik) pada pasien penderita BPS/IC yang memang harus menggunakan simvastatin dalam jangka panjang

E. Ruang Lingkup Penelitian

Batasan ruang lingkup penelitian ini bisa dilihat dari beberapa hal. Untuk obat statin yang digunakan adalah simvastatin dengan beberapa pertimbangan, yaitu selain harga relatif terjangkau dan penggunaan paling luas di masyarakat, simvastatin juga bersifat lipofilik sehingga bisa berdifusi secara pasif ke berbagai organ di luar organ target

(liver), termasuk sel-sel di uroepitelium yang menjadi fokus dari penelitian ini (Fong, 2014). Parameter utama untuk penelitian ini adalah aktivitas senescence yang diamati melalui biomarker GLB1 karena bisa dikerjakan dengan menggunakan teknik *Formaline Fixed Paraffin Embedded* (FFPE) (Wagner et al., 2015). Adapun pemilihan uroepitelium vesika urinaria karena mudah untuk dilakukan pengamatan perbedaan derajat kerusakan sel payung sesaat dan beberapa hari setelah instilasi protamin sulfat intravesika (Lavelle et al., 2001).

F. Definisi dan Istilah

Beberapa definisi yang perlu diperjelas dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. **Simvastatin** adalah adalah obat yang bertujuan untuk menurunkan kolesterol dengan cara menghambat aktivitas enzim *HMG-CoA (Hydroxymethylglutaryl-coenzyme A) reductase* pada biosintesis kolesterol yang bersifat lipofilik (Fong, 2014; Hess et al., 2018).
2. **Intoleransi atau Toksisitas Statin** adalah efek samping yang berkaitan dengan kualitas hidup, yang membuat seseorang yang menggunakan statin memutuskan untuk mengurangi ataupun berhenti menggunakannya (Guyton et al., 2014).
3. **β -Galactosidase (GLB1)** adalah salah satu biomarker aktivitas senescence yang dominan diekspresikan di nukleus, menghasilkan

warna presipitat kecoklatan pada pemeriksaan imunohistokimia (Wagner et al., 2015).

4. **Senescence** adalah sel yang mengalami siklus istirahat dari yang sebelumnya merupakan sel yang kompeten untuk bereplikasi, yang diinduksi oleh stress ataupun tumor (He and Sharpless, 2017).
5. **Uroepitelium vesika urinaria** adalah jaringan yang melapisi bagian dalam dari vesika urinaria yang berfungsi sebagai sawar untuk mengakomodasi perubahan volume urin yang tertampung dari ureter sebelum masuk ke uretra. Uroepitelium tersusun atas tiga lapisan yaitu lapisan sel payung, sel intermediet, dan sel basal (Khandelwal et al., 2009).
6. **Protamin Sulfat** adalah agen yang dipakai untuk melakukan deskuamasi selektif pada lapisan sel payung uroepitelium vesika urinaria yang diberikan dengan cara instilasi intravesika (Lavelle et al., 2001).
7. **Bladder Pain Syndrome/Interstitial Cystitis** adalah penyakit kronik dengan sindroma klinis berupa frekuensi, urgensi, dan nyeri pelvis yang ditandai dengan adanya *ulkus hunner* pada pemeriksaan sistoskopi (Peters and Tennyson, 2019).

G. Sistematika Penulisan

Proposal penelitian ini tersusun atas empat bab. Bab pertama membahas tentang latar belakang, rumusan masalah, tujuan, kegunaan,

definisi istilah, ruang lingkup, dan sistematika penelitian. Pada bab kedua, dibahas mengenai teori-teori untuk mendukung penelitian yang diikuti dengan kerangka konseptual, hipotesis, serta definisi operasional. Pada bab ketiga, dibahas mengenai metode penelitian, dimulai dari rancangan penelitian, lokasi dan waktu, populasi dan teknik sampel, instrument pengumpul data, serta analisis data secara statistik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Statin dan Intoleransinya Terhadap Proliferasi Sel

1. Penggunaan Statin

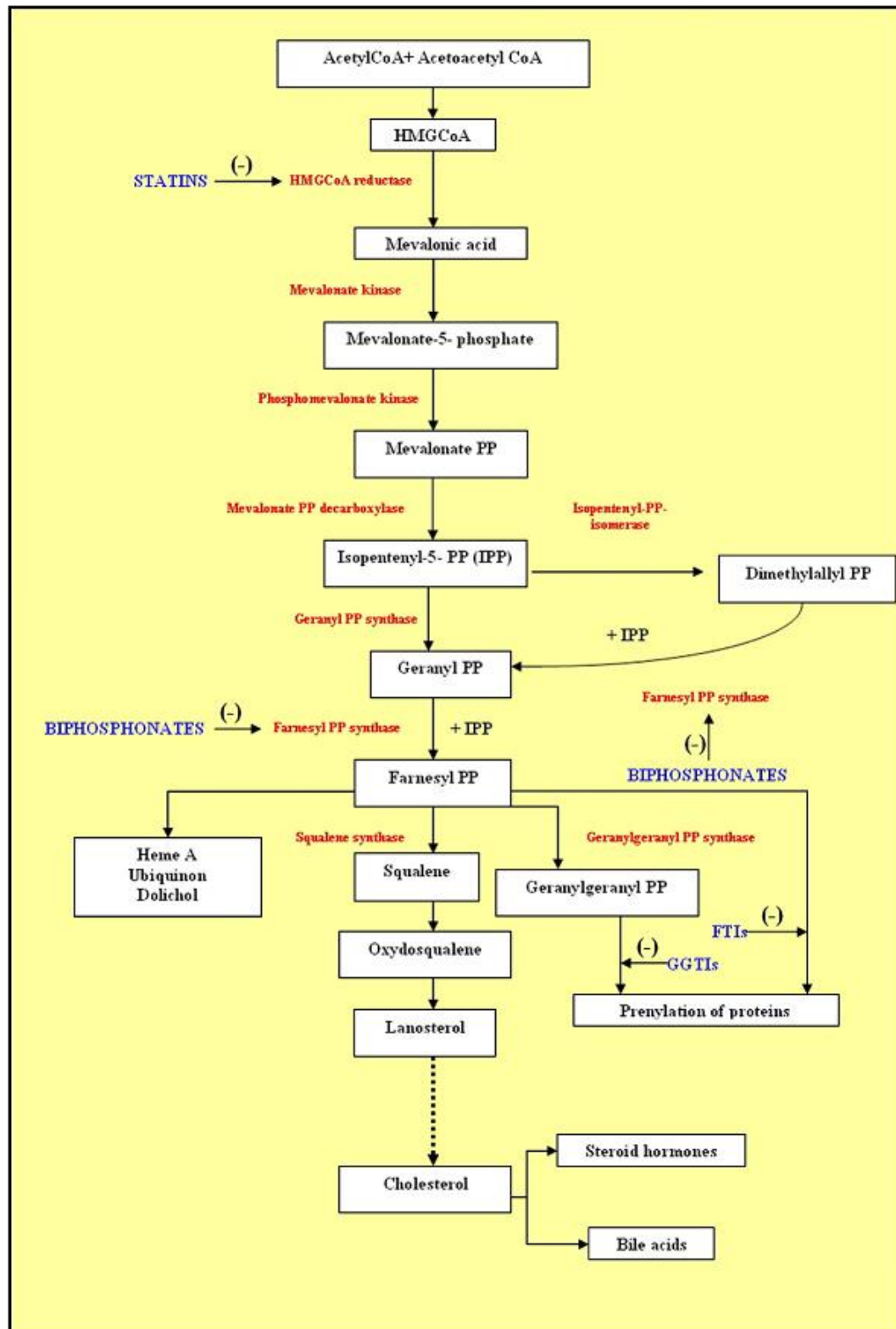
Statin termasuk obat yang penggunaannya sangat luas. Statin banyak digunakan untuk menurunkan kolesterol LDL dan prevensi primer dan sekunder penyakit kardiovaskular (Baigent C. et al., 2005). Penggunaan Statin meningkat pada usia ≥ 40 tahun dan pasien dengan resiko tinggi *Cardio Vascular Disease* aterosklerotik (Harrison et al., 2018; Muntean et al., 2017).

Hasil meta analisis menunjukkan bahwa dengan pengurangan kadar kolesterol LDL setiap 1 mmol/L nya (38,7 mg/dl) maka akan terjadi pengurangan 22% resiko relatif kejadian vascular dan koroner mayor secara signifikan (Silverman et al., 2016). Penggunaan statin juga sudah direkomendasikan dalam berbagai *guideline*. *American Heart Association* (AHA) dan *American College of Cardiology* (ACC) pada tahun 2018 mengeluarkan *guideline* tentang manajemen kolesterol darah, di mana statin direkomendasikan penggunaannya pada populasi pasien aterosklerotik CVD klinis, diabetes mellitus, dan hiperlipidemia dengan target pengurangan kadar kolesterol $\geq 50\%$ (Grundy et al., 2019).

2. Mekanisme Kerja Statin

Statin bekerja dengan cara menghambat secara kompetitif enzim HMG-CoA reduktase pada jalur mevalonat. Hambatan pada HMG-CoA

reduktase ini akhirnya akan menghambat perubahan HMG-CoA menjadi asam mevalonat. Pada liver mekanisme ini akan mengurangi sintesis kolesterol di hepar, sehingga terjadi peningkatan produksi mikrosomal HMG-CoA reduktase dan peningkatan ekspresi reseptor LDL pada permukaan sel. Hal ini akan meningkatkan klirens dari kolesterol LDL dari aliran darah sehingga terjadi pengurangan kolesterol LDL sebanyak 20% hingga 55% (Grundy et al., 2019). Mekanisme kerja statin bisa dilihat pada Gambar 1.



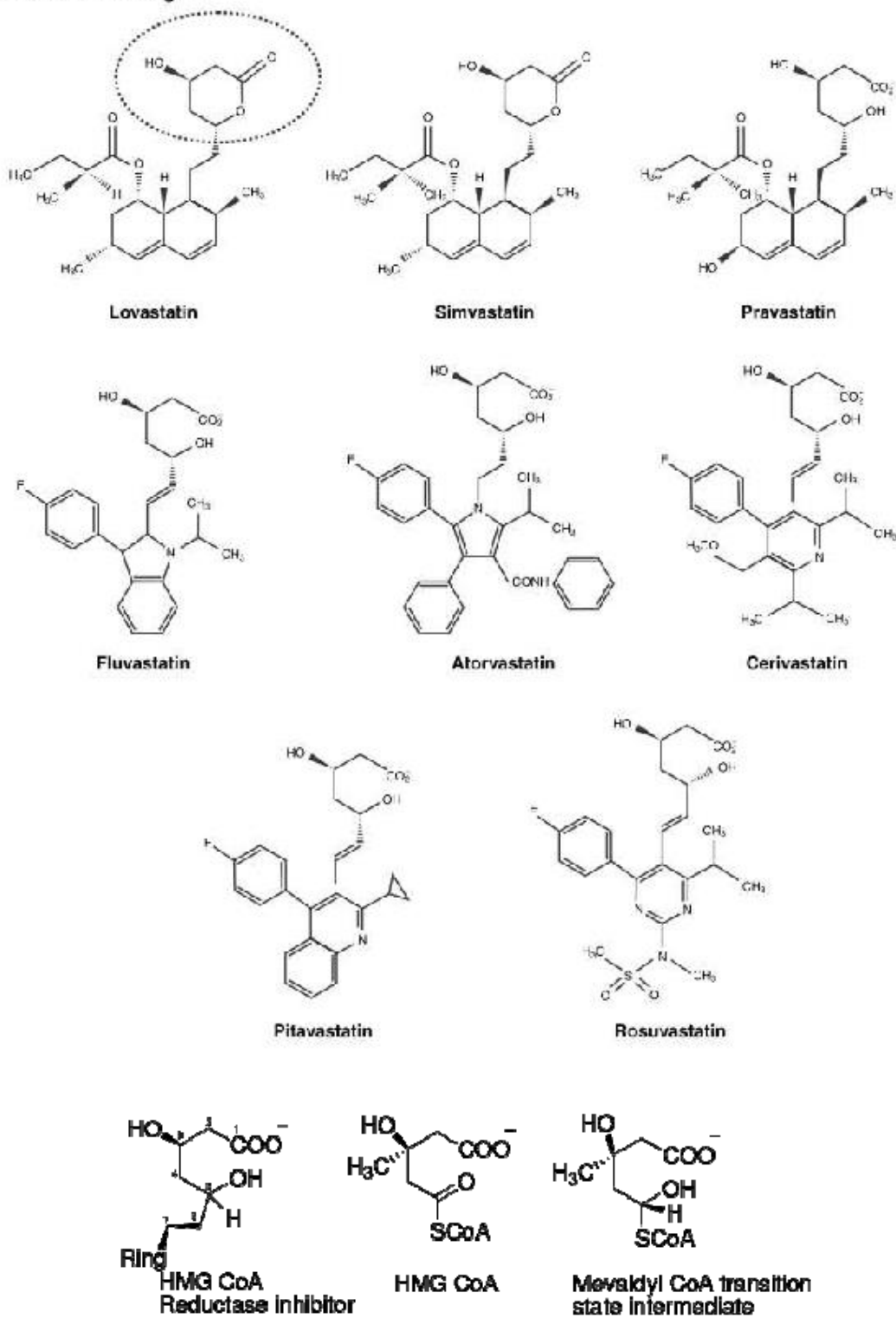
Gambar 1. Mekanisme Kerja Statin Sebagai penghambat HMG-CoA pada jalur mevalonat (Buhaescu and Izzedine, 2007).

Selain itu, statin memiliki efek pleiotropik yang tidak berhubungan dengan kerja menurunkan kolesterolnya. Efek tersebut diantaranya peningkatan fungsi endotel, stabilisasi plak aterosklerotik, anti inflamasi, imunomodulator, antitrombotik, efek pada metabolisme tulang, dan pengurangan resiko demensia. Hal ini dimungkinkan karena adanya penghambatan sintesis isoprenoid yang memperantari jalur mevalonat (Schachter, 2005).

3. Karakteristik Struktural dan Farmakokinetik Statin

Komponen aktif dari statin yaitu 3,5-asam dihidroksiglutarat yang dimodifikasi, yang secara struktur mirip dengan substrat endogen HMG-CoA. Komponen aktif ini yang akan berikatan dengan aktivitas HMG-CoA reduktase melalui proses stereoselektif yang mana statin memiliki konfigurasi 3R dan 5R. Perbedaan molekular dan klinis dari statin bisa dilihat dari bentuk cincin yang berikatan dengan komponen aktifnya. Cincin naftalena dimiliki oleh lovastatin, simvastatin, pravastatin. Cincin pirol dimiliki oleh atorvastatin. Cincin indol dimiliki oleh fluvastatin. Cincin pirimidin dimiliki oleh rosuvastatin. Cincin piridin dimiliki oleh cerivastatin. Cincin quinolin dimiliki oleh pitavastatin. Struktur cincin inilah yang menentukan solubilitas dan efek farmakologis dari statin (Fong, 2014). Berbagai macam struktur kimia dari statin ini bisa lebih jelas dilihat pada Gambar 2.

HMG-CoA analogue



Gambar 2. Struktur Kimia Beragam Jenis Statin (Fong, 2014)

Statin memiliki karakteristik farmakokinetik yang beragam bergantung pada bentuknya saat masuk ke tubuh dan sifat lipofiliknya. Hal ini bisa dilihat pada Tabel 1. Statin yang bersifat hidrofilik membutuhkan karier yang dapat membawanya ke hepar, sedangkan statin yang bersifat lipofilik dapat berdifusi secara pasif melewati membrane sel. Sifat lipofilik dari statin ini akan mengurangi profil hepatoselektifitasnya sehingga dapat berdifusi ke jaringan organ lainnya. Statin lipofilik diekskresikan melalui jalur biotransformasi oksidatif, sedangkan statin hidrofilik diekskresikan tanpa terlebih dahulu diubah. Metabolisme statin pada umumnya melalui CYP3A4 untuk simvastatin, lovastatin, dan atorvastatin. Sedangkan metabolisme melalui CYP2C9 berlaku pada fluvastatin (Schachter, 2005).

Tabel 1. Karakteristik Farmakokinetik Beragam Obat Statin (Ward et al., 2019)

| Nama obat | Derivat | Cincin samping | Kelarutan | Metabolisme | Klirens |
|--------------|----------|----------------|------------|---------------------------------|------------------|
| Atorvastatin | Sintetik | Pirol | Lipofilik | CYP3A4 | Hepar |
| Fluvastatin | Sintetik | Indol | Lipofilik | CYPC29 | Hepar |
| Lovastatin | Fungi | Naftalen | Lipofilik | CYP3A4 | Hepar |
| Pravastatin | Fungi | Naftalen | Hidrofilik | Non-CYP450 | Hepar dan Ginjal |
| Rosuvastatin | Sintetik | Pirimidin | Hidrofilik | Non-CYP450, sedikit pada CYPC29 | Hepar dan Ginjal |
| Simvastatin | Fungi | Naftalen | Lipofilik | CYP3A4 | Hepar |

Keterangan : CYP, Cytochrome

4. Intoleransi Statin

Intoleransi atau toksisitas Statin adalah efek samping yang berkaitan dengan kualitas hidup, yang membuat seseorang yang

menggunakan statin memutuskan untuk mengurangi ataupun berhenti menggunakannya (Guyton et al., 2014). Toksisitas atau intoleransi statin berkisar antara 10-15%, bahkan dalam penelitian lainnya bisa toksisitasnya bisa mencapai 30% (Banach et al., 2015; Ward et al., 2019). Toksisitas statin yang tersering adalah *statin-associated muscle symptoms* (SAMSs) (Laufs et al., 2015). Selain itu, toksisitas statin yang telah terbukti adalah Diabetes Mellitus Tipe 2 onset baru, efek neurologis-neurokognitif, hepatotoksik, renal toksik, dan lainnya. (GI tract, urogenital, dan reproduksi) (Keen et al., 2014). Meskipun mekanisme pasti penyebab terjadinya intoleransi tersebut belum diketahui.

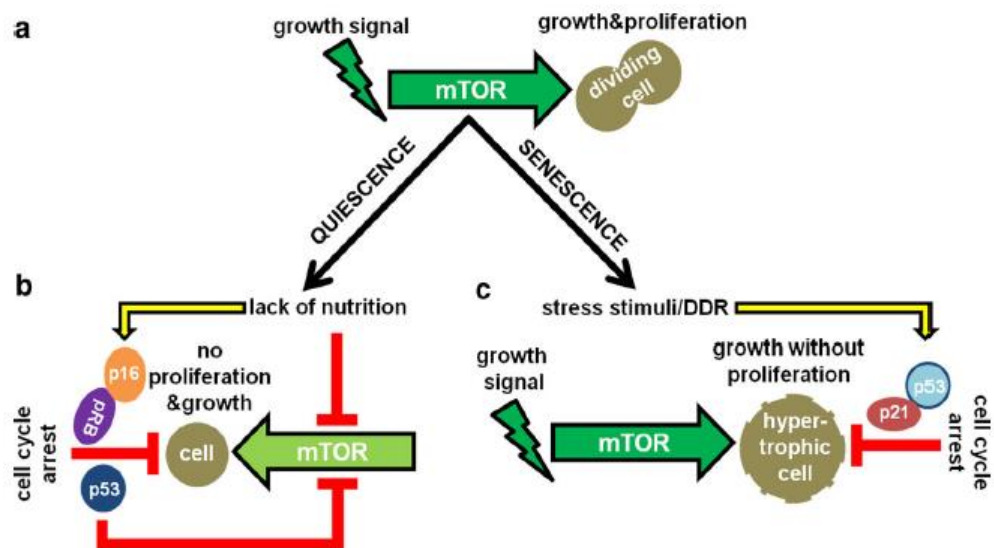
5. Intoleransi Statin Terhadap Aktivitas Senescence Sel

Di antara toksisitas atau intoleransi statin yang menarik untuk dicermati adalah dia dapat berefek samping pada aktivitas sel punca, di mana terjadi peningkatan senescence dan apoptosis sel melalui mekanisme upregulasi p16, p53, dan kaspase 3, 8, dan 9. Selain itu, statin juga dapat menghambat kerja gen *DNA repair* termasuk XRCC4, XRCC6, dan Apex1 (Izadpanah et al., 2015).

B. Senescence dan Proliferasi Sel

1. Regulasi Senescence Pada Sel

Senescence adalah sel yang mengalami siklus istirahat dari yang sebelumnya merupakan sel yang kompeten untuk bereplikasi, yang diinduksi oleh stress (He and Sharpless, 2017). Normalnya sel yang berproliferasi, akan menerima sinyal pertumbuhan yang memicu terjadinya pembelahan sel setelah sel itu tumbuh dengan dimodulasi oleh *mechanistic target of rapamycin* (mTOR). Namun pada sel yang senescence, setelah mengalami stimulasi stress yang persisten akan terjadi *DNA Damage Response* (DDR). Stimulus stress merusak DNA yang parah akan mengakibatkan sel memasuki siklus sel istirahat yang ireversibel melalui aktivasi jalur p53/p21. Aktivasi parsial dari p53 dalam kondisi sinyal pertumbuhan tetap ada, tidak mampu menghambat aktivitas dari mTOR, sehingga terjadi hipertrofi seluler dan senescence. Di satu sisi, sel yang mengalami quiescence setelah kehilangan nutrisi dan/atau sinyal mitosis akan mengaktifkan jalur p53 dan pRB/p16. Akibatnya sel akan mengalami siklus istirahat. Kurangnya nutrisi dan over aktivasi p53 bersama-sama menghambat secara penuh aktivitas mTOR (Terzi et al., 2016). Hal ini bisa dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Regulasi Senescence dan Quiescence (Terzi et al., 2016)

Siklus sel yang istirahat bisa dimungkinkan oleh beberapa hal. Bisa karena sel mengalami senescence, quiescence, *exhaustion*, maupun diferensiasi terminal. Perbedaan karakteristik dari masing-masing tipe siklus sel istirahat tersebut bisa dilihat pada Tabel 2.

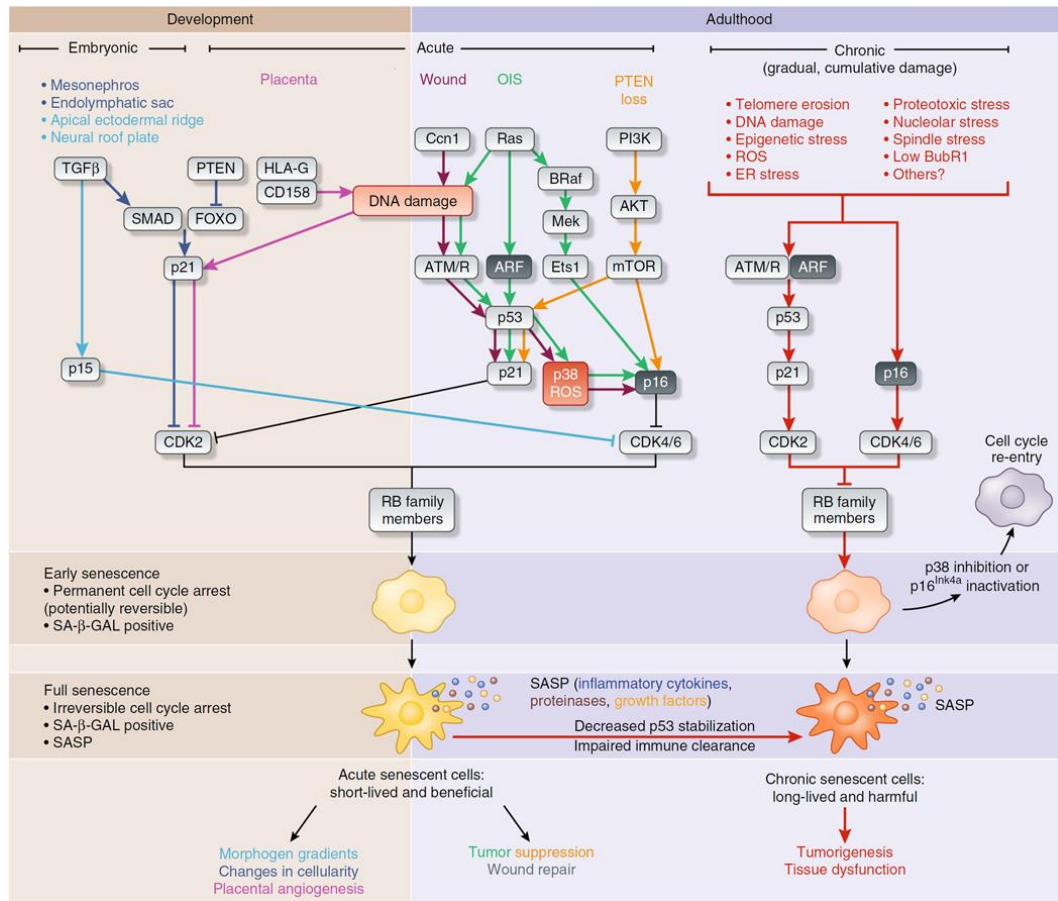
Tabel 2. Karakteristik *senescence* dibandingkan *quiescence*, *exhaustion*, dan *terminal differentiation* (He and Sharpless, 2017).

| | <i>Senescence</i> | <i>Quiescence</i> | <i>Exhaustion</i> | <i>Terminal Differentiation</i> |
|-------------------------|---|---|---|---|
| Tipe Sel | progenitor adiposit, limfosit, sel β pankreas, epitel renal, keratinosit, progenitor jaringan somatic, dsb. | Sel stem somatik, sel progenitor, limfosit, hepatosit, epitel renal/paru, kondrosit, glia, dsb. | Limfosit T Kebanyakan sel stem somatik | Banyak tipe sel, seperti neuron, kardiomyosit, osteosit, dsb. |
| Berhentinya Pertumbuhan | Hampir permanen | Reversibel | <ul style="list-style-type: none"> Defektif dalam merespon paparan antigenic (sel T) Keterbatasan potensi proliferasi (sel somatik) | Bervariasi, tergantung tipe sel |
| Konten DNA | 2N atau 4N | 2N | 2N | Sering 2N, kecuali megakaryosit dan otot rangka |
| Efektor | p16, p21, ARF, p53, dan RB | p18, p21, p27, p107, p130, dan E2F represif | ? | p18, p21, p27, p107, p130, dan E2F represif |
| Marker | <ul style="list-style-type: none"> Telomer yang memendek atau disfungsi Ekspresi p16 Persisten <i>DNA Damage Response</i> SASP SAHF SA β-Gal Hilangnya Lamin B1 | Tidak ada | <ul style="list-style-type: none"> Ekspresi PD1, TIM3, LAG3 (sel T) Bervariasi (sel somatik) | Tidak ada |

Keterangan : SASP, Senescence Associated Secretory Phenotype, SAHF, Senescence Associated Heterochromatin Foci

Senescence terdiri dari tiga jenis, yaitu senescence embrionik, senescence akut, dan senescence kronik. Stress yang menginduksi senescence bervariasi tergantung pada konteks *in vivo*, walaupun ada tumpang tindih substansial dalam pemrosesan sinyal respons-stres dan mengaktifkan efek senescence. Sebagai contoh, dalam semua kasus yang dilaporkan, meningkatnya level inhibitor kinase dependen-siklin mendorong masuknya ke senescence dengan mengaktifkan RB untuk memblokir perkembangan siklus sel. Dalam sel senescence embrionik, peningkatan TGF β dan pengurangan aktivitas PTEN meningkatkan aktivasi transkripsi SMAD-FOXO dari inhibitor kinase dependen cyclin p21, serta aktivasi p15^{Ink4b} melalui cara yang tidak jelas. Sebaliknya, sel senescence akut (dalam plasenta), setelah cedera atau sebagai respons terhadap aktivasi onkogen atau hilangnya penekan tumor PTEN, akan memicu kerusakan DNA atau sinyal p53 untuk menginduksi p21 dan p16^{Ink4a}. Baik sel senescence embrionik maupun akut bermanfaat, dan mungkin sel-sel ini dibersihkan dengan cepat oleh sistem kekebalan tubuh sebagai bagian dari program mereka. Dua pengaturan ini kontras dengan sel senescence kronik, yang merupakan respons terhadap kerusakan makromolekul yang secara lambat dan progresif terakumulasi, seperti erosi telomer, proteotoksisitas, kerusakan DNA, dan banyak kemungkinan lainnya. Efektor pada senescence kronis mungkin melalui jalur p21 dan

p16^{Ink4a}, yang diinduksi dalam jaringan yang sudah tua. Senescence kronis juga dapat berevolusi dari sel senescence akut jika pembersihan oleh sistem imun terganggu oleh usia, yang mengarah ke siklus sel istirahat yang berkepanjangan dan kemungkinan perubahan dalam komposisi yang dieksekresikan oleh *senescence-associated secretory phenotype* (SASP). Dalam semua jenis, sel senescence dimediasi oleh aktivitas cyclin-dependent-RB yang mengarah ke keadaan penuaan dini di mana penghentian siklus sel bersifat permanen secara *in vivo*, tetapi dapat dibalik dengan manipulasi faktor tunggal, seperti penghambatan p38 atau inaktivasi p16Ink4a. Sel-sel senescence, baik yang fase awal atau yang tahap akhir menunjukkan karakteristik SA-β-GAL positif dan mungkin tidak memiliki karakteristik SASP. Sel-sel senescence kronik dapat berevolusi lebih lanjut menjadi sel senescence tahap akhir yang benar-benar ireversibel dengan karakteristik SA-β-GAL positif dan SASP. Perubahan seluler yang mendorong saklar fenotipik *in vivo* ini tidak jelas tetapi cenderung mencakup proses yang kuat seperti heterokomatisasi gen siklus sel dan aktivasi program transkripsi yang bergantung NF-κB yang menghasilkan SASP (Childs et al., 2015). Mekanisme molekular dari ketiga jenis sel senescence ini bisa dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Mekanisme molekuler senescence pada tiga jenis sel senescence: (1) senescence embrionik; (2) senescence akut; dan (3) senescence kronik pada tahap awal dan tahap akhir (Childs et al., 2015).

2. Senescence-Associated Secretory Phenotype (SASP)

Faktor proinflamasi yang disekresikan oleh SASP bervariasi seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3. Substansi molekuler yang disekresikan oleh SASP paling bergantung pada jenis sel dan inducernya. (Herranz and Gil, 2018) Berbagai jalur yang dapat mengaktifkan SASP, yaitu Akt / mTOR, p38MAPK, NF-κB / CCAT / enhancer-binding protein β (C /

EBP β), dan cGAS / STING.(Chien et al., 2011; Freund et al., 2011; Kim et al., 2017; Rolt et al., 2019; Yang et al., 2017). IL-1 α , IL-1 β , dan TNF- α adalah sitokin sekresi SASP yang penting untuk respon inflamasi yang diinduksi dalam lingkungan mikro jaringan melalui jalur NF- κ B.(Su et al., 2019; You et al., 2019). IL- 6 dan IL-8 adalah sitokin utama yang berhubungan dengan DDR dan oncogene-induced senescence (OIS), sehingga memiliki peran sentral dalam proses penekanan tumor. Mereka dapat disekresikan oleh SASP melalui jalur Akt / mTOR (Mosteiro et al., 2018; Ortiz-Montero et al., 2017; Rolt et al., 2019; You et al., 2019). IL-13, IL-4, dan TGF- β 1 adalah sitokin penting lainnya dalam makrofag alveolar tua untuk merangsang ekspresi gen yang terkait dengan faktor profibrotik.(Rana et al., 2020) Kemokin seperti CXCL-1,2, MCP- 2,4, HCC- 4, dan Eotaxin-3 umumnya disekresikan oleh sel-sel tua untuk merekrut sel-sel inflamasi.(Coppé et al., 2010) Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) juga disekresikan oleh sel tua untuk merangsang sel penekan myeloid.(Coppé et al., 2010) Faktor pro-inflamasi penting lainnya yang disekresikan oleh sel-sel tua adalah faktor penghambat migrasi makrofag (MIF) untuk menghambat proses pensinyalan p53 dan memberikan umpan balik positif NF- Sinyal κ B mengarah ke penuaan seluler dini (Salminen and Kaarniranta, 2011).

Tabel 3. Zat yang dapat disekresikan oleh SASP

| Tipe Molekul | Deskripsi | Referensi |
|-----------------------------|---|--|
| Interleukin | IL-6, IL-7, IL-1 α , IL-1 β , IL-13, IL-14, IL-15, TGF- β , dan TNF- α | (Coppé et al., 2010; Mosteiro et al., 2018; Ortiz-Montero et al., 2017; Rana et al., 2020; Rolt et al., 2019; Schafer et al., 2020; Su et al., 2019; You et al., 2019) |
| Kemokin | IL-8, CXCL-1, CXCL-2, MCP-2, MCP-4, MIP-1a, MIP-3a, HCC-4, dan Eotaxin-3 | (Coppé et al., 2010; Ortiz-Montero et al., 2017; You et al., 2019) |
| Faktor inflamasi lainnya | GM-CSF dan MIF | (Coppé et al., 2010; Salminen and Kaarniranta, 2011) |
| <i>Growth factor</i> | Amphiregulin, Epiregulin, Heregulin, EGF, bFGF, HGF, KGF (FGF7), VEGF, Angiogenin, SCF, SDF-1, PIGF, NGF, dan IGF-2 | (Bavik et al., 2006; Campos-Chillon et al., 2015; Coppé et al., 2010; Jiang et al., 2013; Kim et al., 2017; Marazita et al., 2016; Yang et al., 2005) |
| Protease | MMP-1, MMP-3, TIMP-2, PAI-1, dan Catehpsin-B | (Coppé et al., 2010; Rana et al., 2020; You et al., 2019) |
| Reseptor atau ligan | ICAM-1, ICAM-3, OPG, sTNFR1, IL-1R, TRAIL-R3, Fas, sTNFRII, uPAR, dan SGP130 | (Coppé et al., 2010; Liu et al., 2016) |
| Faktor terlarut non-protein | PGE-2, NO, dan ROS | (Coppé et al., 2010) |
| Matriks ekstraselular | Fibronektin, kolagen, dan laminin | (Coppé et al., 2010; Liu et al., 2020; Müller and Meineke, 2011) |

CXCL : chemokine ligand; *EGF*: epidermal growth factor; *FGF*: fibroblast growth factor; *GM-CSF*: granulocyte-macrophage colony stimulating factor; *HGF*: hepatocyte growth factor; *HCC*: human beta (CC) chemokine; *ICAM*: intercellular adhesion molecule; *IGF*: insulin-like growth factor; *KGF*: keratinocyte growth factor; *MCP*: monocyte chemoattractant protein; *MMP*: matrixmetalloprotease; *MIF*: macrophage migration inhibitory factor; *MIP*: macrophage inflammatory protein; *NGF*: nerve growth factor; *NO*: nitric oxide; *OPG*: osteoprotegrin; *PAI*: plasma activated inhibitor; *PGE*: prostaglandine; *PIGF*: placental growth factor; *ROS*: reactive oxygen species; *SDF*: stromal cell-derived factor; *SKF*: Skp-1-Cullin-F-Box; *SGP*: soluble glycoprotein; *sTNFRII*: soluble tumor necrosis factor receptor; *TIMP*: tissue inhibitor of metalloprotease; *TRAIL-R3*: TNF-related apoptosis-inducing ligand-membrane receptor 3; *UPAR*: urokinase-type plasminogen activator receptor

Epiregulin merupakan faktor pertumbuhan yang paling sering disekresikan dalam sel somatik tua, sedangkan amphiregulin disekresi oleh fibroblast prostat untuk merangsang pertumbuhan sel epitel prostat.^{78,79} EGF, HGF, dan faktor pertumbuhan keratinosit / faktor pertumbuhan fibroblas 7 (KGF / FGF7) adalah faktor pertumbuhan lain yang disekresikan oleh sel tua untuk memperkuat loop aktivasi untuk merekrut sel inflamasi dan kekebalan untuk mengeluarkan lebih banyak faktor proangiogenik dalam perkembangan tumor (Bavik et al., 2006; Coppé et al., 2010). VEGF adalah faktor pertumbuhan lain yang dapat meningkatkan atau menurunkan sel-sel tua, mungkin tergantung pada jenis sel dan penginduksi. Pada sel granulosa tua terdapat peningkatan VEGF, sebaliknya menurun pada replikatif induced premature senescence (RIPS) atau stress-induced premature senescence (SIPS) (Coppé et al., 2010; Marazita et al., 2016; Ratushnyy et al., 2020). NGF juga meningkat pada bagian awal sel Schwann yang diabadikan yang mengekspresikan gen terkait p16 dan p53 yang diregulasi (Jiang et al., 2012). *Insulin-like growth factor 2* (IGF-2) diregulasi dalam fibroblast tua yang dikultur dan

mungkin mengatur perkembangan tumor melalui jalur TGF- β (Kim et al., 2007; Yang et al., 2005).

Matrix metalloprotease 3 (MMP-3) dan plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) merupakan protease yang dapat menstimulasi fenotipe profibrotik pada sel-sel alveolar tipe-II tua melalui jalur TGF- β (Rana et al., 2020; You et al., 2019). Beberapa reseptor atau ligan juga disekresikan oleh sel senescent, seperti IL-1RI dan sTNFRI ke mekanisme loop umpan balik positif autokrin (Coppé et al., 2010; Liu et al., 2016).

Biasanya, SASP akut ini merupakan bagian dari homeostasis jaringan dan memainkan peran penting dalam perkembangan jaringan, pembentukan kembali jaringan, penyembuhan luka, resolusi luka, dan penghambat tumor yang kuat (Herranz and Gil, 2018). Sel ini dapat dibersihkan oleh sistem kekebalan, seperti sel T-helper 1 (Th1), natural killer (NK), dan makrofag (Biran et al., 2015; Eggert et al., 2016; Kang et al., 2011; Xue et al., 2007). Dalam kondisi tertentu, SASP ini dapat menghindari sistem kekebalan dan dapat berkorelasi dengan keluarga protein *B Cell Lymphoma 2* (BCL2) yang diregulasi dalam sel senescence (Eggert et al., 2016; Yosef et al., 2016). Akumulasi sel SASP ini membuat sel ini berkembang lebih jauh menjadi sel senescent kronis dan dapat berkontribusi pada penuaan dan penyakit terkait usia (Herranz and Gil, 2018).

Sel-sel senescence juga menunjukkan penurunan kapasitas proliferasi. Ekspresi Ki-67 menurun bahkan hilang pada sel pRB + yang

telah mengalami senescence sepenuhnya (Sobecki et al., 2017). Aktivitas apoptosis sel senescence bervariasi berdasarkan jenis sel, penyakit terkait, atau tipe karakteristik fenotipe SASP. Pada tikus dengan penipisan ERCC1, endonuklease mamalia yang memainkan peran sentral dalam mekanisme perbaikan nukleotida, mereka menyebabkan senescence seluler dan meningkatkan beberapa faktor SASP, termasuk TNF- α yang mendorong apoptosis jaringan lingkungan mikro sekitarnya. Sebaliknya, model SIPS *in vitro* dari fibroblas manusia yang memiliki vesikel ekstraseluler kecil (sEVs) dan vesikel-mikroRNA ekstraseluler kecil (sEV-miRNA) dapat memicu sifat anti-apoptosis (Bhaumik et al., 2009; Kim et al., 2004; Yan et al., 2018).

Akhirnya, sel-sel senescence memiliki efek *bystander* yang dapat menyebabkan senescence sel-sel yang berdampingan dan yang berdekatan. Mereka dapat mempengaruhi sel yang berdekatan melalui pensinyalan juxtacrine NOTCH / JAG1, peningkatan ROS, dan jembatan sitoplasma. Sel-sel senescence dapat mempengaruhi sel-sel tetangga dengan mensekresikan eksosom ke lingkungan mikro jaringan (Biran et al., 2015; Herranz and Gil, 2018).

3. Biomarker Senescence Pada Sel

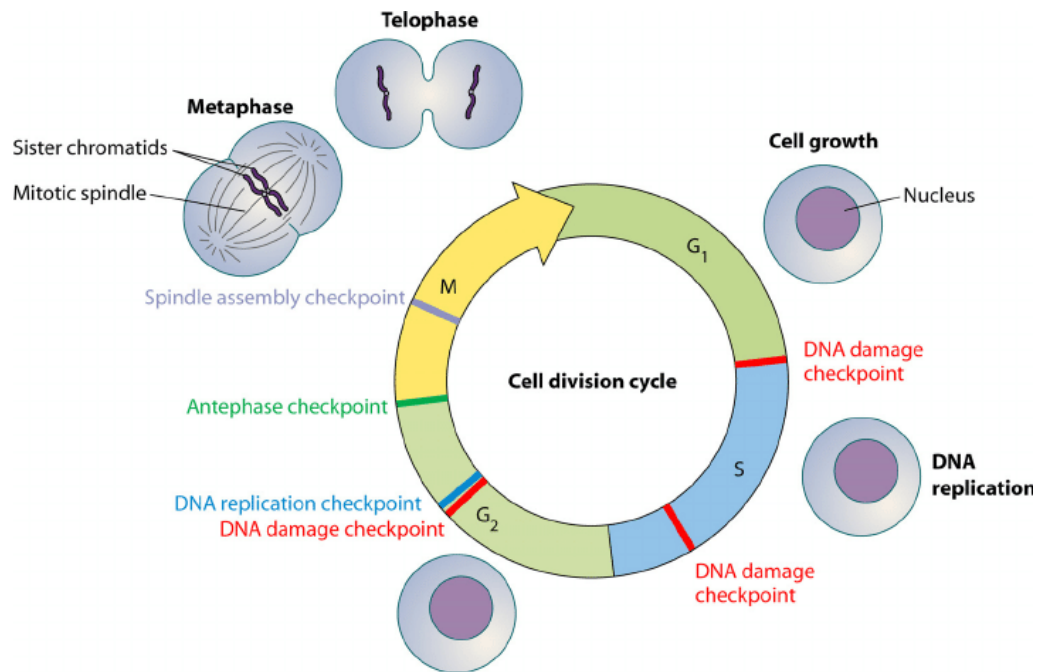
Terdapat beberapa biomarker penanda aktivitas senescence sel. Diantaranya yaitu disfungsi telomer, pemendekan telomer, ekspresi protein p16^{Ink4a}, respon terhadap kerusakan persisten DNA, SASP, SAHF, pewarnaan SA- β -Gal, dan hilangnya lamin B-1 (He and Sharpless, 2017).

Secara *in vivo*, aktivitas senescence sel pada jaringan terkadang menemui beberapa kendala. Senescence secara *in vivo* ditandai oleh peningkatan marker kunci, yaitu aktivitas SA- β -GAL, p16^{Ink4a} dan p21 (Childs et al., 2015). Sel senescence menghasilkan enzim β -galaktosidase yang akan bereaksi dengan substrat X-Gal dari zat warna SA- β -Gal, menghasilkan warna biru kehijauan pada sel.¹⁶ Terdapat pula marker baru untuk senescence yang dapat menggunakan metode blok paraffin dalam pemeriksaannya yaitu *Senescence marker β -Galactosidase (GLB1)*. Pemeriksaan ekspresi marker tersebut menggunakan metode imunohistokimia dengan menggunakan Anti β -Galactosidase sebagai antibodi primernya (Wagner et al., 2015).

4. Regulasi Proliferasi Pada Sel

Mitosis atau pembelahan sel, adalah proses biologis dasar yang menghasilkan peningkatan jumlah sel somatik dari waktu ke waktu. Istilah pertumbuhan berlaku untuk peningkatan volume populasi seluler dan diukur dalam satuan volume (misalnya, sentimeter kubik) atau berat (misalnya, miligram). Pertumbuhan sel sebagian besar merupakan konsekuensi dari peningkatan jumlah sel tetapi juga dapat dipengaruhi oleh meningkatnya ukuran sel individu, edema, perubahan dalam konteks matriks ekstraseluler, perdarahan, dan infiltrasi oleh sel inang, seperti leukosit. Sedangkan Proliferasi Sel adalah penambahan jumlah sel yang diukur pada satuan waktu tertentu sebagai akibat dari siklus mitosis atau siklus sel (Dang et al., 2003).

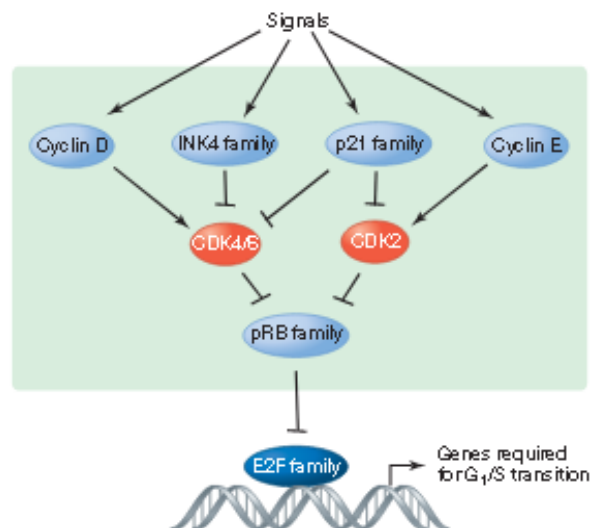
Teknik autoradiografi klasik pertama kali digunakan untuk membagi siklus sel menjadi empat fase (Howard and Pelc, 1951; Lajtha et al., 1954). Dua peristiwa utama dalam mitosis adalah sintesis DNA, yang sebagian besar terjadi pada fase S atau S (untuk sintesis), dan pembagian aktual sel induk menjadi dua anak perempuan selama fase-M atau M (untuk mitosis). Fase-M ditandai secara mikromorfologis oleh lempeng metafase. Kesenjangan waktu antara pembelahan sel dan sintesis DNA adalah kesenjangan nomor 1, atau G1. Kesenjangan waktu antara sintesis DNA dan pembelahan sel adalah kesenjangan nomor 2, atau G2. Meskipun istilah mitosis sering digunakan untuk merujuk pada fase-M, mitosis kata sifat dengan tepat mengacu pada semua sel yang terlibat dalam setiap bagian dari keseluruhan proses replikasi diri. Seluruh proses ini mencakup peristiwa submikroskopik (G1, S, G2) yang mendahului fase-M, serta fase-M itu sendiri. Penggunaan ini memiliki keuntungan membedakan sel-sel yang memberikan bukti niat mereka untuk membelah, dari sel-sel itu, yang disebut sel-sel G0, yang tidak menyatakan niat itu (Dang et al., 2003). Fase-fase siklus sel bisa dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Siklus Sel Dalam 4 Fase Beserta Check Point nya (Dang et al., 2003).

Kontrol proliferasi sel umumnya terjadi selama fase gap pertama (G₁) dari siklus pembelahan sel eukariotik. Banyak sinyal, mulai dari faktor pertumbuhan hingga kerusakan DNA hingga faktor-faktor lainnya, memengaruhi keputusan untuk memasuki fase S, ketika DNA direplikasi. Oleh karena itu, kontrol siklus sel fase G₁ secara intrinsik terkait dengan beberapa jalur yang berbeda, mulai dari jalur yang mengontrol diferensiasi, quiescence dari sel stem dan progenitor, senescence, dan respons terhadap berbagai stimulan stres. Keputusan untuk memasuki fase S dari G₁ merupakan titik yang tidak dapat kembali. Artinya, tanpa adanya stimuli seperti kerusakan DNA, sel akan tetap terus menyelesaikan siklus sel hingga akhirnya bermitosis. Oleh karena itu, fase ini dikontrol dengan ketat. Keputusan pada fase ini, untuk melanjutkan

dari fase G1 menuju fase S disebut dengan "titik restriksi" dalam sel mamalia dan "START" pada sel ragi (Duronio and Xiong, 2013). Mekanisme kontrol pada siklus sel G1 ini bisa dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Mekanisme kontrol siklus sel fase G1 sebelum lanjut ke fase S melalui jalur pRB (Duronio and Xiong, 2013).

Kontrol siklus sel G1 dilakukan melalui jalur pRB. Banyak peristiwa pensinyalan seluler secara intrinsik terkait dengan fase G1 dari siklus sel, yang dikendalikan oleh jalur RB. Pensinyalan ke jalur RB dan dengan demikian kontrol G1 oleh berbagai proses seluler dicapai terutama melalui regulasi cyclin dan penghambat CDK (CKIs). Dalam sel mamalia, sinyal mitogenik pertama-tama menginduksi sintesis siklin tipe-D, yang mengarah pada aktivasi CDK4 dan CDK6 yang bergantung-siklin-D, dan kemudian menginduksi siklin tipe-E untuk mengaktifkan CDK2. Cyclin-D – CDK4 / 6 dan cyclin-E-CDK2 secara kooperatif memfosforilasi protein *RB-family*, menurunkan E2F untuk memungkinkan transkripsi gen target E2F, sehingga mempromosikan transisi G1 / S. Protein p16^{INK4}

secara spesifik menghambat CDK4 dan CDK6, sedangkan keluarga p21 (CIP / KIP) CKI menghambat banyak CDK (Duronio and Xiong, 2013).

5. Biomarker Proliferasi Pada Sel

Biomarker proliferasi pada sel adalah protein yang diekspresikan dalam sel yang berproliferasi dan dideteksi secara rutin menggunakan teknik imunohistologis. Biomarker tersebut terdiri dari PCNA, Ki-67 dan TK1. Biomarker ini diekspresikan selama siklus sel dalam sel-sel yang berproliferasi. Ki-67 adalah biomarker yang paling banyak digunakan dari tipe ini dan diekspresikan selama fase G1, S, G2, dan M dari siklus sel (Jagarlamudi and Shaw, 2018).

C. Uroepitelium Vesika Urinaria

Uroepitelium vesika urinaria adalah jaringan yang melapisi bagian dalam dari vesika urinaria yang berfungsi sebagai sawar untuk mengakomodasi perubahan volume urin yang tertampung dari ureter sebelum masuk ke uretra (Khandelwal et al., 2009).

1. Struktur dan Fungsi Uroepitelium Vesika Urinaria

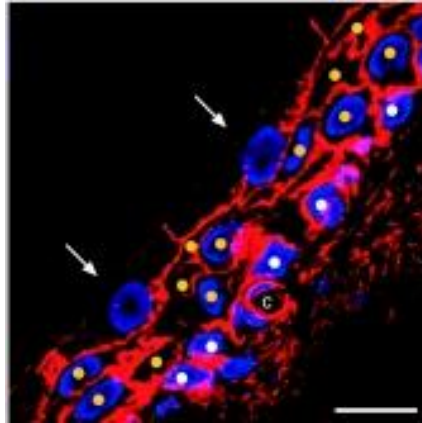
Uroepitelium adalah jaringan epitel yang melapisi bagian distal dari traktus urinarius, meliputi pelvis renalis, ureter, vesika urinaria, uretra proksimal dan duktus kelenjar prostat. Secara fungsi, dia membentuk barier yang mengakomodasi perubahan volume urin dalam jumlah besar bersamaan dengan tetap menjaga agar tidak terjadi pertukaran zat antara urin dan suplai vaskular (Khandelwal et al., 2009). Untuk menjalankan

fungsi tersebut, terdapat struktur khas yang melapisi uroepitelium vesika urinaria paling luar yaitu sel payung. Fungsi barrier dari sel payung didukung oleh beberapa faktor, yaitu adanya *tight junction* yang sangat tinggi resistensinya, komponen glikan pada membran apical, membran apical yang memiliki komposisi lipoprotein yang padat serta kemampuan dari sel payung untuk memodifikasi permukaan apikalnya melalui mekanisme eksositosis dan endositosis (Acharya et al., 2004; Hicks, 1975; Hurst et al., 1987; Kreft et al., 2009).

Selain sebagai barrier, uroepitelium dari vesika urinaria juga dapat memodulasi pergerakan ion, zat terlarut, dan air yang melewati permukaan mukosa dari vesika urinaria (Spector et al., 2004). Fungsi lainnya dari uroepithelium adalah mirip mekanoreseptor, di mana dia melepaskan berbagai mediator dan neurotransmitter, termasuk ATP, adenosine, dan ACh, dari permukaan serosalnya, yang memungkinkan epitel mengirimkan informasi tentang keadaan mukosa dan lumen kandung kemih ke jaringan di bawahnya, yaitu jaringan saraf, myofibroblast, dan otot detrusor (Apodaca et al., 2007).

2. Lapisan Sel Uroepitelium

Uroepitelium tersusun atas tiga lapisan, yaitu lapisan sel payung, sel intermediet, dan sel basal. Hal ini bisa dilihat pada Gambar 7 yang menunjukkan lapisan-lapisan sel uroepitelium pada pemeriksaan imunohistokimia dengan pewarnaan khusus.



Gambar 7. Lapisan Sel Uroepitelium pada pemeriksaan Imunohistokimia dengan pewarnaan FITC-phalloidin (hijau) untuk memberi label sitoskeleton aktin kortikal yang terkait dengan membran plasma sel uroepithelial, TO-PRO3 (biru) untuk label nuklei, dan antibodi yang mengenali domain sitoplasma uroplakin (UP) IIIa (merah). Sel payung ditandai dengan panah, sel intermediet oleh lingkaran kuning, dan sel basal oleh lingkaran putih. Tampak Sebuah kapiler (c) di bawah lapisan sel basal (Khandelwal et al., 2009).

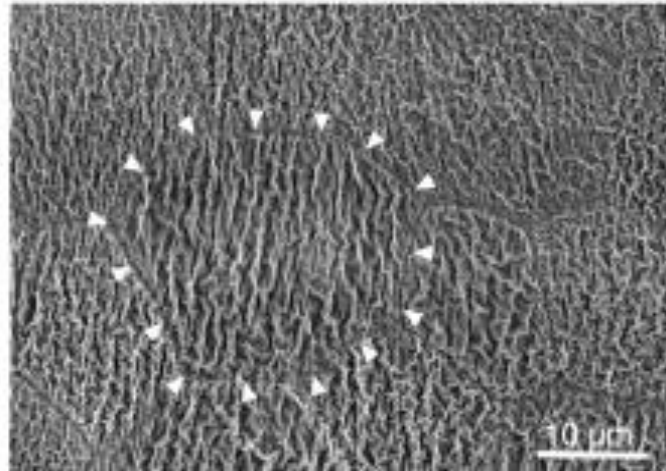
Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa uroepitelium merupakan lapisan yang *pseudostratified* karena adanya ekstensi dari sitoplasma ketiga jenis sel tersebut ke membrana basalis (Petry and Amon, 1966). Namun, studi terbaru menunjukkan bahwa uroepitelium merupakan jaringan epitel berlapis, karena ekstensi sitoplasma yang mencapai membrane basalis tersebut jarang terlihat pada sel intermediet, dan tidak pernah terlihat sama sekali pada sel payung (Jost et al., 1989).

a. Lapisan Sel Payung

Sel payung (juga dikenal sebagai sel facet atau sel superfisial) adalah lapisan tunggal sel yang sangat terdiferensiasi dan terpolarisasi yang memiliki domain membran apikal dan basolateral yang unik dan dibatasi oleh *tight junction* (Acharya et al., 2004). Sel-sel ini mono atau

multinuklear (tergantung pada spesies), polihedral (biasanya 5 atau 6 sisi), dan berdiameter antara 25 dan 250 μm (Khandelwal et al., 2009).

Morfologi dan ukuran sel-sel ini tergantung pada kondisi pengisian vesika urinaria. Pada saat vesika urinaria tidak terisi, sel-sel payung berbentuk kuboid. Sedangkan pada saat vesika urinaria penuh, maka sel-sel ini akan menjadi sangat teregang dan bersifat skuamosa (Truschel et al., 2002). Pinggiran setiap sel dibatasi oleh *ridge* berukuran 500-nm yang tampak dalam pemindaian mikrograf electron (Khandelwal et al., 2009). Pada mikroskop kekuatan atom beresolusi tinggi menunjukkan bahwa *ridge* dibentuk oleh interdigitasi membran apikal sel-sel yang berdekatan, yang dapat menutup membran apikal tepat di atas *tight junction* dan dapat berkontribusi pada penghalang paraseluler resistensi tinggi yang dibentuk oleh sel-sel payung yang berdekatan (Kreplak et al., 2007). Gambaran morfologi sel payung seperti yang telah dijelaskan sebelumnya dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Permukaan apikal sel payung kelinci yang diamati dengan menggunakan mikroskop elektron scanning. Batas antar sel ditandai dengan tanda kepala anak panah, yang menunjukkan struktur *ridge* sel payung uroepitelium (Khandelwal et al., 2009).

b. Lapisan Sel Intermediet dan Basal

Di bawah lapisan sel payung, terdapat beberapa lapis sel intermediet dan selapis sel basal. Sel-sel intermediet sering berbentuk mirip buah pir (*piriformis*), memiliki inti tunggal, berdiameter 10-15 μm , dan terhubung satu sama lain dan lapisan sel payung atasnya oleh desmosom dan mungkin juga terhubung dengan *tight junction* (Apodaca et al., 2007; Haefliger et al., 2002).

Jumlah lapisan sel intermediet di tiap mamalia berbeda. Pada tikus, terdapat satu hingga dua lapis sel intermediet (Khandelwal et al., 2009). Sedangkan pada manusia, lapisan sel intermediet bisa mencapai hingga lima lapisan (Jost et al., 1989). Jumlah lapisan sel intermediet tergantung pada kondisi vesika urinaria, dimana lapisan sel nya lebih

sedikit pada kondisi vesika urinaria terisi daripada saat kosong (Hicks, 1975).

Lapisan sel intermediet tepat di bawah sel payung memiliki perbedaan dengan lapisan sel intermediet lainnya, di mana sel-sel ini dapat mengekspresikan *Uroplakin* (UP) dan memiliki *Discoid Fusiform Vesicle* (DFV) (Wu et al., 2009). Lapisan sel intermediet ini dapat menggantikan sel payung di atasnya yang mengalami kerusakan atau terlepas (Lavelle et al., 2001).

Lapisan sel basal terdiri dari satu lapis yang sangat dekat dengan pembuluh kapiler. Sel-sel basal memiliki karakteristik mononuklear, diameter $\sim 10 \mu\text{m}$, dan melekat pada sel-sel intermediet oleh desmosom dan ke membran basal oleh hemidesmosom. Hemidesmosom tersusun oleh protein $\beta 4$ -intergrin (Hossler and Monson, 1995).

3. Sel Punca dan Regenerasi Uroepitelial

Pada kondisi normal, uroepitelium dari vesika urinaria memiliki kemampuan proliferasi yang sangat baik. Ketika lapisan sel payung dari uroepitelium mengalami kerusakan yang spesifik akibat terpapar protamin sulfat, terjadi perbaikan hanya dalam hitungan kurang dari lima hari, dimana lapisan sel payung yang mengalami kerusakan akan dengan cepat diganti oleh lapisan sel di stratum intermediet tepat di bawah sel payung (Lavelle et al., 2001, 2002).

Mekanisme regenerasi uroepitelium ini belum sepenuhnya dipahami. Beberapa faktor yang mungkin adalah: adanya sel "label-

retaining” di lapisan basal regio ureter dan trigonum yang klonogenik dan proliferaatif saat dikultur, adanya paparan lapisan sel intermediet terhadap faktor-faktor pertumbuhan di urin (semisal *Epidermal Growth Factor*) yang disertai hilangnya kontak antar sel intermediet, dan juga perubahan ekspresi gen pengatur diferensiasi (Khandelwal et al., 2009; Kurzrock et al., 2008; Mysorekar et al., 2002). Pada perubahan ekspresi gen pengatur diferensiasi yang teramati melalui proses pathogenesis kuman *E. coli* uropatogenik terhadap destruksi lapisan sel payung, terjadi upregulasi *E74-like factor* yang meningkatkan proses diferensiasi sel basal dan intermediet untuk menjadi sel payung, bersama dengan terjadinya downregulasi *bmp4* dan *Wnt5a/Ca²⁺* di lapisan intermediet dan basal uroepitelium (Mysorekar et al., 2002).

D. Bladder Pain Syndrome/ Interstitial Cystitis

Bladder Pain Syndrome/Interstitial Cystitis adalah sensasi yang tidak menyenangkan (nyeri, tekanan, ketidaknyamanan) dianggap terkait dengan vesika urinaria, terkait dengan gejala *Lower Urinary Tract Symptoms* (LUTS) selama lebih dari enam minggu, tanpa adanya infeksi atau penyebab lain yang dapat diidentifikasi (Bjorling et al., 2011).

1. Epidemiologi Bladder Pain Syndrome/Interstitial Cystitis (BPS/IC)

Pada penelitian yang diadakan oleh *National Health Interview Survey* (NHIS) pada tahun 1989, prevalensi keseluruhan dari BPS/IC adalah 500 per 100.000 populasi, dan prevalensi pada wanita adalah 865 per 100.000. Hasil yang serupa didapatkan oleh *third National Health and*

Nutrition Examination Surveys (NHANES III), prevalensinya adalah 470 per 100.000 populasi, termasuk 60 per 100.000 pria dan 850 per 100.000 wanita (Birder, 2019).

Penelitian terbaru pada tahun 2013 menunjukkan bahwa estimasi prevalensi BPS/IC dari 2,9% menjadi 4,2% untuk IC / BPS dan prevalensi 1,8% untuk CP / CPPS. Tumpang tindih antara kedua sindrom itu sekitar 17%. Para penulis mencatat bahwa temuan ini menunjukkan bahwa prevalensi IC / BPS pada pria mendekati prevalensinya pada wanita; oleh karena itu, BPS/IC ini sering *misdiagnosis* pada populasi pria (Lee et al., 2015a).

2. Faktor Resiko Bladder Pain Syndrome/Interstitial Cystitis

BPS/IC bisa dikaitkan dengan beberapa penyakit, di antaranya fibromyalgia, vulvar vestibulitis, vulvodinia, dan lupus eritematosus sistemik. Sedangkan faktor resiko yang dikaitkan dengan BPS/IC adalah usia (20-60 tahun), jenis kelamin wanita, etnis berkulit putih, dan riwayat keluarga yang sakit serupa (Peters and Tennyson, 2019).

BPS/IC juga dikaitkan dengan pemeberian obat tertentu, seperti statin. Pada sebuah penelitian populasi *case control* didapatkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna antara penggunaan statin yang rutin dengan kejadian BPS/IC dengan *Odd Ratio* 1,58. Statin diduga menginduksi disfungsi uroepitelium vesika urinaria, yang merupakan salah satu penyebab utama BPS/IC (Huang et al., 2015).

3. Patofisiologi Bladder Pain Syndrome/Interstitial Cystitis

Sistitis interstisial adalah penyakit yang kompleks dan mungkin melibatkan beberapa etiologi yang belum sepenuhnya dipahami. Secara umum, patogenesis dikaitkan dengan perubahan penghalang urothelial kandung kemih, hipersensitivitas urothelial, hipersensitivitas dinding kandung kemih, dan sensitisasi sentral. Tidak pasti proses mana yang memicu aliran patogenetik penyakit ini (Birder, 2019; Jhang and Kuo, 2016; Vannucchi and Traini, 2018).

Denudasi atau penipisan urothelium adalah ciri khas yang menunjukkan disfungsi penghalang urothelial kandung kemih pada sistitis interstisial. Adanya disfungsi ini mengakibatkan keluarnya air, urine, potasium, dan zat toksik lainnya di dalam urine untuk masuk ke jaringan suburothelial dan dinding kandung kemih di bawahnya, memicu gejala urgensi, frekuensi, dan nyeri saat buang air kecil (Jhang and Kuo, 2016). Disfungsi sawar urothelial ini bisa disebabkan oleh beberapa faktor. Kegagalan sitodiferensiasi lapisan basal dan antara urothelial dalam menanggapi kerusakan sel payung di atasnya ditemukan pada tikus model sistitis interstisial dan biopsi klinis (Malik et al., 2018; Southgate et al., 2007). Inflamasi kronis pada jaringan suburothelium, baik oleh makrofag, limfosit, eosinofil, dan sel mast ditemukan pada berbagai model tikus sistitis interstisial dan diduga berperan dalam menurunkan kemampuan proliferasi urothelial (Chen et al., 2014; Jhang and Kuo, 2016). Peningkatan apoptosis sel dan penurunan kemampuan proliferasi

urothelium juga terlihat pada pasien dengan sistitis interstisial (Shie and Kuo, 2011).

Hipersensitivitas urothelial juga ditemukan pada patogenesis sistitis interstisial. Sel payung di kandung kemih memiliki reseptor nosiseptif dan struktur reseptor regangan. Adanya hasil hipersensitivitas urothelial dalam peningkatan aktivitas saraf aferen yang mengakibatkan neuroplastisitas jangka panjang dan kemudian penurunan ambang untuk sensasi nosiseptif dan mekanoreseptif (Jhang and Kuo, 2016). Hipersensitivitas urothelial juga dapat terjadi di bagian proksimal uretra karena terdapat sel paraneuron yang merupakan sel kemosensori khusus. Ketika rangsangan kimiawi dan fisik yang berpotensi berbahaya bagi uretra dan kandung kemih terdeteksi, refleks berkemih dan gejala urgensi dan nyeri terjadi (Deckmann et al., 2014).

Hipersensitivitas dinding kandung kemih juga ditemukan pada tikus model dan pasien klinis dengan sistitis interstisial (Charrua et al., 2015; Kuo and Kuo, 2018). Dalam model tikus dari sistitis interstisial yang disebabkan oleh stimulasi adrenergik tulang belakang yang berlebihan, infiltrasi sel mast ditemukan di detrusor suburothelial dan kandung kemih (Charrua et al., 2015). Penghambatan kontraksi otot detrusor melalui suntikan Botulinum Toxin A ditemukan dapat memperbaiki gejala pada pasien dengan sistitis interstisial. Hal ini menunjukkan bahwa hipersensitivitas detrusor mungkin berperan dalam patogenesis sistitis interstisial (Lin et al., 2020). Hipersensitivitas dinding kandung kemih juga

dikaitkan dengan peningkatan ekspresi miofibroblas dan telosit, yang merupakan struktur penting dalam jalur saraf aferen pada pasien dengan kandung kemih terlalu aktif (Vannucchi and Traini, 2018). Ciri lain dari disfungsi dinding kandung kemih yang dapat ditemukan adalah penebalan. lapisan dinding yang membaik dengan penghambatan reseptor transien reseptor potensial saluran kation subfamili V member 4 (TRPV4) reseptor, yang merupakan reseptor histamin pada struktur mekanoreseptor di dinding kandung kemih (Everaerts et al., 2010).

Sensitisasi sentral adalah mekanisme lain yang berperan dalam patogenesis sistitis interstisial. Sensitisasi sentral dihasilkan dari aktivasi saraf aferen yang persisten atau kronis di kandung kemih dan dengan demikian memediasi nyeri, urgensi, dan frekuensi meskipun rangsangan perifer telah hilang. Sensitivitas sentral ini dibuktikan dengan ditemukannya peningkatan kadar NGF, BDNF, c-Fos tulang belakang dan reseptornya Tyrosine Kinase (Trk) pada model sistitis interstisial jaringan tulang belakang tikus (Charrua et al., 2015; Grundy et al., 2018; Jhang and Kuo, 2016; Murray et al., 2004; Seki et al., 2002). Peningkatan kadar NGF dibutuhkan sebagai mediator cross-talk organ antara sistem imun dan sistem saraf dalam patogenesis BPS / IC (Duh et al., 2018). Faktor lain yang mungkin berperan dalam sensitisasi sentral adalah aktivasi astrosit dan mikroglia di jaringan tulang belakang. Kedua neuroglia ini dapat memproduksi IL-1 β , chemokine-ligand 3 (CCL3), dan BDNF sehingga berperan dalam meningkatkan aktivitas kandung kemih yang

berlebihan dan sensitivitas nyeri kandung kemih (Liu et al., 2016; Majima et al., 2018).

Disfungsi urotelial vesika urinaria pada BPS/IC ditandai dengan perubahan struktur ultramikroskopisnya dan ekspresi molekularnya sebagaimana bisa dilihat pada Tabel 4 dan Tabel 5. Penurunan protein penghalang pada sel payung yaitu zonula occludin-1 (ZO-1), uroplakin (UP), Chondroitin Sulphate (CS), dan E-cadherin terlihat jelas pada jaringan kandung kemih tikus model sistitis interstisial dan biopsi klinis Pasien BPS / IC. (Lavelle et al., 2002; Shie et al., 2012). Ini mungkin menunjukkan peradangan kronis suburothelial sebagai penyebab perubahan penghalang urothelial (Jhang and Kuo, 2016). Peningkatan kadar noradrenalin urin, NGF urin, ATP urin, alpha-1, dan ekspresi suburothelial TRPV-1, bersama dengan infiltrasi sel mast di suburothelium ditunjukkan pada spesimen klinis dan studi in vitro (Charrua et al., 2015; Jhang and Kuo, 2016; Sun and Chai, 2006). Hal ini menunjukkan peradangan kronis suburothelial mungkin berhubungan dengan hipersensitivitas urothelial. Peningkatan ekspresi NGF, BDNF, dan Trk terlihat pada jaringan kandung kemih dari model tikus sistitis interstisial (Chuang et al., 2001; Lamb et al., 2004; Murray et al., 2004).

Tabel 4. Perubahan struktur ultramikroskopis urotelial pada BPS/IC

| Tipe Sel | Lokasi | Peran pada BPS/IC | Referensi |
|---------------------------|-------------------------------------|--|--|
| Sel Payung | Permukaan urotelial vesika urinaria | Gangguan struktur sel ini antara lain adalah tight junction protein (Zonula Occludin), protein permukaan apikal (Uropakin), protein E-cadherin dan mekanisme active trafficking atau apoptosis sel-sel tersebut dapat merubah fungsi penghalang urotelial. | (Lavelle et al., 2002; Lewis et al., 1995; Shie and Kuo, 2011) |
| Sel Basal dan Intermediet | Urotelial vesika urinaria | Kegagalan sitodiferensiasi sebagai respons terhadap kerusakan sel payung | (Lavelle et al., 2002; Southgate et al., 2007) |

Tabel 5. Inflamasi kronis dan perubahan ekspresi molekular urotelial pada patogenesis BPS/IC.

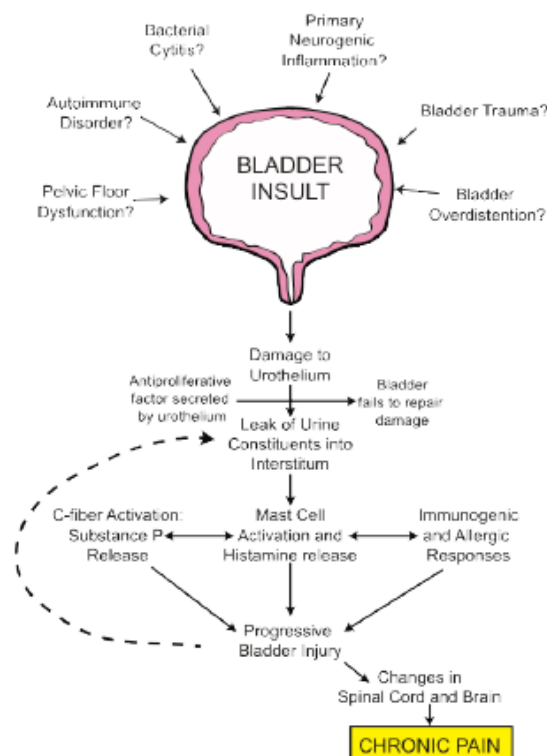
| Proses Patologis | Zat Molekular Terkait | Referensi |
|----------------------------------|---|--|
| Inflamasi Kronis | Peningkatan : IgE, eosinofil protein x, leukotrien E4, triptase, p38 MAPK, IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF- α , CXCL10, VEGF, EGF, HIF-1 α , and CRP Penurunan : GP51 | (Bouchelouche et al., 2001; Byrne et al., 1999; Jiang et al., 2013; Lee et al., 2006; Lee and Lee, 2011; Peters et al., 1999; Shie et al., 2012; Tyagi et al., 2012) |
| Gangguan fungsi barier urotelial | Peningkatan : APF and pro apoptotic protein (phosphor-p53, Bad, Bax, Caspase 3) Penurunan : ZO-1, UP, CS, E-Cadherin, IL-8, Ki-67, and HB-EGF | (Kim et al., 2007; Lavelle et al., 2002; Shie et al., 2012; Shie and Kuo, 2011; Tseng-Rogenski and Liebert, 2009; Zhang et al., 2005a) |
| Hipersensitivitas urotelial | Peningkatan : NA, NGF, ATP, stretch-activated ATP, alpha-1, and TRPV-1 | (Charrua et al., 2015; Jhang and Kuo, 2016; Shie et al., 2012; Sun and Chai, 2006) |

APF: Antiproliferative factor; ATP: Adenosine Triphosphate; BDNF: Brain-Derived Neurothropic Peptide; CCXL1: Chemokine ligand 1; CRP: C-reactive protein; CS: Chondroitin Sulphate; EGF: Epidermal Growth Factor; GP51: Glicoprotein 51; HB-EGF: Heparin-Binding Epidermal Growth Factor; HIF-1 α : Hypoxia-inducible factor 1 α ; NA:

Noradrenalin; NGF: Nerve Growth Factor; p38MAPK: p38-mitogen activated protein kinase; TrK: Tyrosine Kinase; TRPV1: transient receptor potential cation channel subfamily V member 1; UP: Uroplakin; VEGF: Vascular endothelial growth factor; ZO-1: Zonula Occludin 1

4. Etiologi BPS/IC

Etiologi terjadinya BPS/IC multipel, yaitu disfungsi dinding pelvis, penyakit autoimun, sistitis bacterial, inflamasi neurogenik primer, trauma vesika urinaria, maupun overdistensi vesika urinaria. Selanjutnya etiologi ini akan menyebabkan kerusakan uroepitelium dan bersamaan dengan adanya *antiproliferative factor* memicu kaskade BPS/IC (Hanno et al., 2010). Hal ini bisa dilihat lebih jelas pada Gambar 9.



Gambar 9. Kaskade etiologi pemicu terjadinya BPS/IC (Hanno et al., 2010).

5. Manifestasi Klinis Bladder Pain Syndrome/Interstitial Cystitis

Pasien dengan BPS/IC sering datang dengan keluhan LUTS, yaitu urgensi dan frekuensi. Kadang juga datang dengan keluhan inkontinensia urin. Biasanya keluhan dipicu oleh makanan ataupun stress (Peters and Tennyson, 2019).

6. Diagnosis Bladder Pain Syndrome/Interstitial Cystitis

Setelah dilakukan anamnesis dan pemeriksaan fisik, dilakukan upaya pemeriksaan tambahan untuk menegakkan diagnosis. Pertama, dilakukan pemeriksaan urinalisis dengan mikroskop dan kultur, pemeriksaan swab vagina, diari kencing, dan sitologi urin (Peters and Tennyson, 2019).

Pemeriksaan selanjutnya untuk memastikan diagnosis adalah pemeriksaan sistoskopi dengan hidrodistensi vesika urinaria, yang dilanjutkan dengan biopsy vesika urinaria. Selain itu, beberapa marker yang lebih *advanced* yang bisa diperiksa yaitu *stress protein gene assay*, *urine antiproliferative factor*, dan *urine nerve growth factor (NGF)* (Peters and Tennyson, 2019).

7. Pemodelan Tikus Untuk BPS/IC Pada Penelitian *In Vivo*

Pemodelan tikus yang menyerupai BPS/IC tergantung pada teori patofisiologi yang dipakai. Pada patofisiologi yang berkaitan dengan disfungsi uroepitelium, dilakukan pemberian zat-zat toksik secara instilasi intravesika, seperti acrolein, asam asetat, protamin sulfat, atau siklofosamid (Bjorling et al., 2011). Pada umumnya dipakai tiga agen

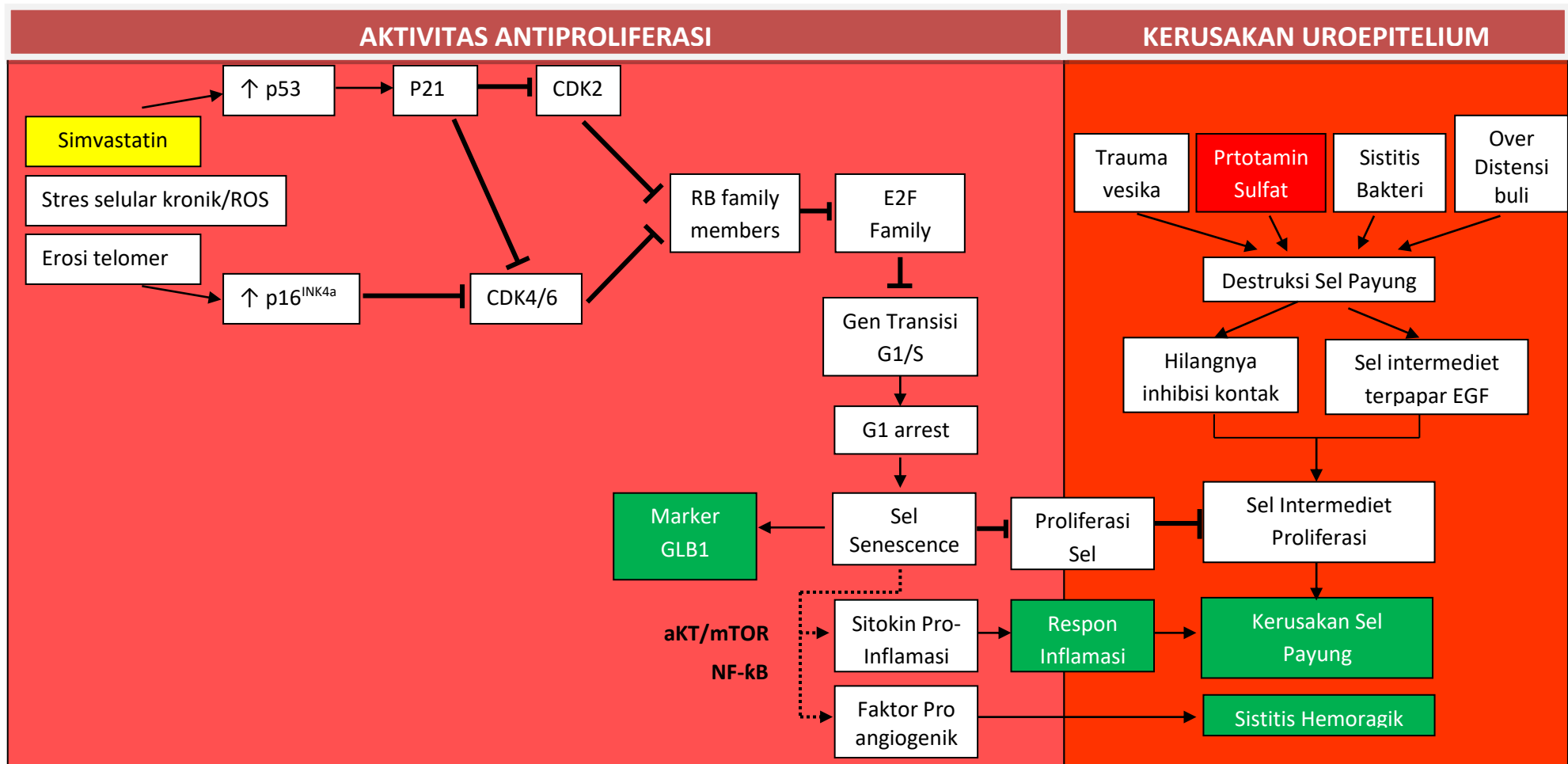
untuk menginduksi kerusakan uroepitelium vesika urinaria, yaitu infeksi *Uropathogenic E. Coli* (UPEC), protamin sulfat, dan lipopolisakarida (LPS) (Lee et al., 2015a). Masing-masing memberikan gambaran fenotip yang berbeda sebagaimana dirangkum pada Tabel 6.

Tabel 6. Fenotipe pemodelan tikus BPS/IC dengan beragam agen penginduksi kerusakan uroepitelium (Crock, LW, 2013; Stemler et al., 2013).

| Fenotip | Infeksi UPEC | Protamin Sulfat | Lipopolisakarida |
|-----------------------------|--------------|-----------------|------------------|
| Eksofiliasi sel superficial | Ya | Ya | Tidak |
| Regenerasi sel superficial | Ya | Ya | Tidak |
| Proliferasi sel basal | Ya | Tidak | Ya |
| Proliferasi sel intermediet | Tidak | Ya | Ya |
| Respon imun | Ya | Tidak | Ya |
| Disrupsi barier kronik | Ya | Tidak | Ya |
| Sistitis hemoragik | Ya/Tidak | Ya | - |

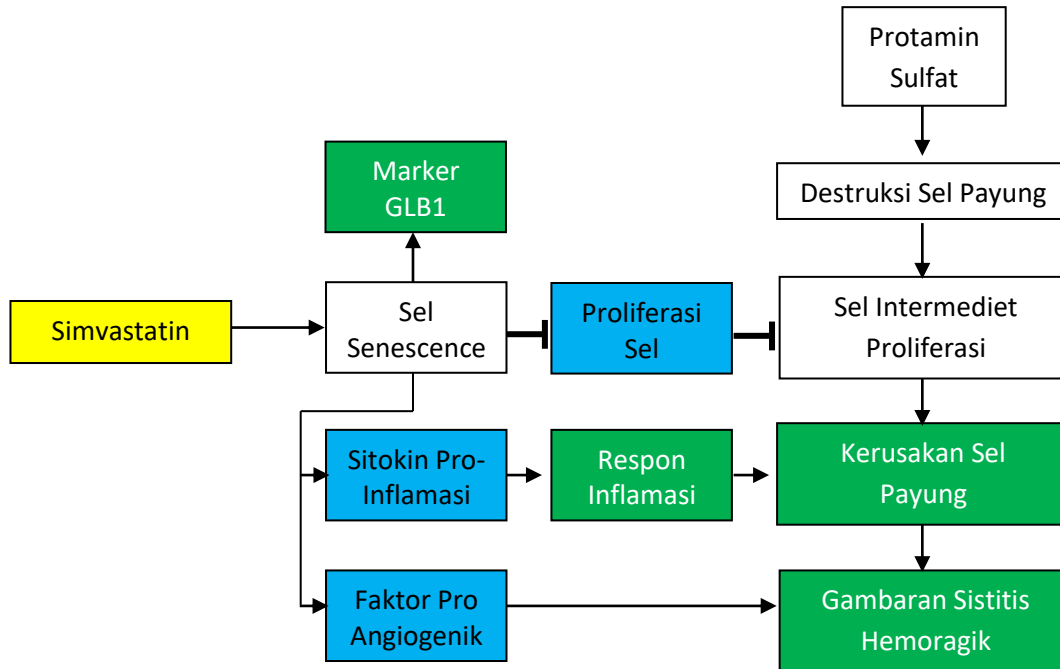
Pada patofisiologi yang berkaitan dengan sistem saraf pusat, model tikusnya lebih kompleks dan bervariasi. Di antaranya pemberian injeksi virus pseudorabies pada ekor tikus, model autoimun, dan banyak yang lainnya (Birder, 2019). Selain itu juga digunakan tikus model WAS yang diinduksi stress kronik menghasilkan gambaran klinis dan fungsional yang mirip dengan pasien BPS/IC (Lee et al., 2015).

Berdasarkan tinjauan pustaka yang telah dijelaskan di atas, maka peneliti mengajukan kerangka teori yang bisa dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Kerangka Teori Penelitian

D. Kerangka Konseptual



Keterangan :

- = Variabel bebas
- = Variabel terikat
- = Variabel antara

Gambar 11. Kerangka konseptual yang menjelaskan hubungan antara variabel bebas, variabel terikat, dan variabel antara di mana variabel perancunya dikontrol dengan ketat

E. Hipotesis

Penelitian ini terdiri dari beberapa hipotesis, yakni:

1. Terdapat hubungan antara pemberian simvastatin terhadap perubahan profil antropometri tikus model BPS/IC.
2. Terdapat hubungan antara pemberian simvastatin terhadap ekspresi *senescence marker β -galactosidase* (GLB1) di jaringan uroepitelium vesika urinaria pada tikus model BPS/IC.
3. Terdapat korelasi positif antara pemberian simvastatin terhadap derajat kerusakan sel payung vesika urinaria pada tikus model BPS/IC.
4. Terdapat korelasi positif antara pemberian simvastatin terhadap derajat inflamasi jaringan uroepitelium vesika urinaria pada tikus model BPS/IC.
5. Terdapat korelasi positif antara pemberian simvastatin terhadap derajat sistitis hemoragik uroepitelium vesika urinaria pada tikus model BPS/IC.

F. Definsi Operasional

Definisi operasional dari penelitian ini bisa dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Definisi operasional variabel penelitian

| Jenis Variabel | Parameter | Definisi Operasional | Skala Ukur |
|------------------|-----------------------------------|--|------------|
| Variabel Bebas | Dosis simvastatin I (10 mg/KgBB) | Dosis obat simvastatin yang diberikan dengan takaran 10 mg/KgBB yang kemudian dilarutkan pada 2 ml 0,1% metilselulosa, dan diberikan pada hewan coba secara oral melalui sonde. Obat diberikan tiap 24 jam selama 30 hari. | Nominal |
| | Dosis Simvastatin II (50 mg/KgBB) | Dosis obat simvastatin yang diberikan dengan takaran 50 mg/KgBB yang kemudian dilarutkan pada 2 ml 0,1% metilselulosa, dan diberikan pada hewan coba secara oral melalui sonde. Obat diberikan tiap 24 jam selama 30 hari. | Nominal |
| | Kontrol | Hewan coba yang hanya mendapatkan plasebo, yaitu 2 ml 0,1% metilselulosa yang diberikan secara oral melalui sonde tiap 24 jam selama 30 hari. | Nominal |
| Variabel Terikat | Profil Antropometri | Persentase perubahan status antropometri dari hewan coba, berupa berat badan (BB), <i>body mass index</i> (BMI), dan Indeks Lee di awal dan akhir | Rasio |

| | | | |
|------------------|-------------------------|--|---------|
| | | perlakuan dengan simvastatin, serta berat relatif vesika urinaria setelah instilasi dengan protamin sulfat atau <i>buffered saline</i> . | |
| Variabel Terikat | Ekspresi GLB1 | Persentase sel imunopositif terhadap protein GLB1 di jaringan uroepitelium vesika urinaria yang diperiksa melalui metode imunohistokimia dan dikuantifikasi dengan metode analisis spektrum gambar ImageJ | Rasio |
| Variabel Terikat | Sifat <i>Senescence</i> | <p>Sifat dari sel <i>senescence</i> uroepitelium pada tikus model BPS/IC yang diinduksi oleh simvastatin, yang terdiri dari sel <i>senescence</i> akut atau kronik.</p> <p>Sel <i>senescence</i> akut : Sel <i>senescence</i> yang masih memiliki respon adekuat terhadap mekanisme pembersihan <i>senescence</i>, dimana ekspresi GLB1 lebih tinggi sesaat setelah instilasi protamin sulfat dibandingkan kontrol, namun menjadi lebih rendah pada tiga hari setelah instilasi protamin sulfat.</p> <p>Sel <i>senescence</i> kronik : Sel <i>senescence</i> yang tidak memiliki respon adekuat terhadap mekanisme pembersihan <i>senescence</i>, dimana ekspresi GLB1 lebih tinggi sesaat setelah instilasi protamin sulfat dibandingkan kontrol, namun ekspresinya cenderung menetap pada tiga hari setelah instilasi protamin sulfat.</p> | Nominal |
| Variabel | Derajat Kerusakan | Derajat kerusakan sel payung setelah instilasi protamin sulfat atau fosfat buffer salin intravesika dengan cara diamati di bawah mikroskop secara | Ordinal |

| | | | |
|------------------|-------------------|--|---------|
| Terikat | Sel Payung | <p><i>blinded</i> oleh ahli patologi anatomi. Jaringan disiapkan dengan metode paraffin blok pewarnaan Hematoksilin Eosin sebagaimana penelitian sebelumnya. Parameter obyektifnya yaitu:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ 2 :Bila sel payung tidak terbentuk. ➤ 1 : Bila sel payung terbentuk namun morfologi tidak seperti semula. ➤ 0 : Bila sel payung terbentuk dan morfologi seperti semula. | |
| Variabel Terikat | Derajat Inflamasi | <p>Derajat inflamasi pada jaringan uroepitelium vesika urinaria yang diamati di bawah mikroskop secara <i>blinded</i> oleh ahli patologi anatomi. Jaringan disiapkan dengan metode paraffin blok pewarnaan Hematoksilin Eosin. Parameter obyektifnya yaitu dengan menggunakan skoring semi-kuantitatif sebagaimana penelitian terdahulu</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ 0 : Normal ➤ 1A : Edema subepitelial tanpa infiltrasi selular ➤ 1B: Infiltrat inflamasi subepitelial (fokal dan multifokal) ➤ 2 : Edema dan infiltrate inflamasi subepitelial (difus) ➤ 3 : infiltrate subepitelial dengan nekrosis dan adanya sel PMN di dalam dan di atas epitel mukosa vesika urinaria. ➤ 4 : derajat 3 + infiltrate ekstensi ke otot. ➤ 5 : hilangnya lapisan permukaan epitel (nekrosis dan infiltrat di seluruh lapisan jaringan). | Ordinal |
| Variabel | Derajat Sistitis | <p>Derajat pendarahan pada spesimen urin post instilasi protamin sulfat atau normal salin intravesika yang diukur dengan menggabungkan antara</p> | Ordinal |

Terikat Hemoragik urinalisis dipstik dan pengamatan dengan kasat mata. Parameter obyektifnya menggunakan skoring semi-kuantitatif sebagai berikut: ⁵⁸

- 0 : Tidak ada gejala iritabilitas vesika atau pendarahan
 - 1 : hematuria mikroskopik
 - 2 : hematuria makroskopik
 - 3 : hematuria makroskopik dengan sedikit klot.
 - 4 : hematuria makroskopik massif dan obstruksi.
-