

KARYA AKHIR

**EFEK PEMBERIAN STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFs)
DAN PLATELET RICH PLASMA (PRP) TERHADAP FAKTOR
EPITELISASI DALAM PENYEMBUHAN TRAUMA ANUS PADA
TIKUS WISTAR**

**THE EFFECT OF STROMAL VASCULAR FRACTION (SVF) AND
PLATELET RICH PLASMA (PRP) ADMINISTRATION OF
EPITHELISATION FACTOR IN ANAL TRAUMA HEALING IN
WISTAR RATS**



Muhammad Abdu

C045171008

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS – 1 (Sp-1)

DEPARTEMEN ILMU BEDAH

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

2022

**EFEK PEMBERIAN STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFs)
DAN PLATELET RICH PLASMA (PRP) TERHADAP FAKTOR
EPITELISASI DALAM PENYEMBUHAN TRAUMA ANUS PADA
TIKUS WISTAR**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Spesialis
Bedah**

Program Studi Ilmu Bedah

Disusun dan Diajukan Oleh

dr. Muhammad Abdu

C045171008

KARYA AKHIR

Kepada

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS – 1 (Sp-1)

DEPARTEMEN ILMU BEDAH

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

2022

LEMBAR PENGESAHAN KARYA TESIS**EFEK PEMBERIAN STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFs) DAN
PLATELET RICH PLASMA (PRP) TERHADAP FAKTOR EPITELISASI
DALAM PENYEMBUHAN TRAUMA ANUS PADA TIKUS WISTAR**

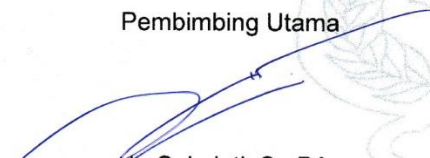
Disusun dan diajukan oleh

Muhammad Abdu
C045171008

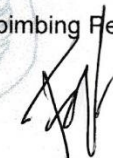
Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian
yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi
Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Bedah
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal 10 Januari 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui


Pembimbing Utama


dr. Sulmiati, Sp.BA
NIP. 19731206 200604 2 007

Pembimbing Pendamping


dr. Firdaus Hamid, Sp.MK., Ph.D
NIP. 19771231 200212 1 002

Ketua Program Studi


Dr. dr. Prihantono, Sp.B(K)Onk., M.Kes
NIP. 19740629 200812 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran


Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.MedEd
NIP. 19661231 199503 1 009

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : dr. Muhammad Abdu

NIM : C045171008

Program Studi : Ilmu Bedah

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis benar-benar merupakan karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 3 Juli 2022

Yang Menyatakan,



dr. Muhammad Abdu

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.

Penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada dosen pembimbing yaitu dr. Sulmiati Sp.BA, Prof. Dr. dr. Farid Nur Mantu, Sp.B., Sp.BA, dr. Firdaus Hamid, Sp.MK., Ph.D atas segala kesabaran, waktu, bantuan, bimbingan, nasihat dan arahan yang diberikan selama ini kepada penulis.

Rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan pula kepada dosen-dosen penguji yang telah memberikan arahan, saran dan masukan demi perbaikan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada rektor Universitas Hasanuddin, Dekan Fakultas Kedokteran, Ketua Departemen Ilmu Bedah, Ketua Program Studi Ilmu Bedah, Sekertaris Program Ilmu Bedah, Ketua Program Pendidikan Dokter Spesialis Fakultas kedokteran atas kesempatan yang telah diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan PPDS Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Terima kasih yang tak terhingga penulis ucapkan kepada ayahanda Djubianto (Alm) dan Ibunda Rohani, Istri Tercinta Ratih Finisanti serta ke 2 buah hati kami, Caiira dan Dutra dan keluarga besar lainnya yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, yang telah mengerti, mendoakan, mendukung dan mencurahkan perhatian yang besar selama penulis menjalani pendidikan ini.

Terima kasih juga kepada seluruh staf pegawai bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, rekan-rekan sejawat

dan perawat serta staf kamar operasi bedah yang telah banyak membantu selama proses pendidikan penulis.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para Guru Besar dan seluruh staf pengajar Departemen Ilmu Bedah atas segala bimbingan dan arahnya selama penulis mengikuti program pendidikan dokter spesialis bedah, semoga ilmu yang penulis dapatkan selama pendidikan ini dapat diamankan dan di manfaatkan sebaik-baiknya untuk kepentingan masyarakat luas.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan karya akhir ini dan tidak menutup kemungkinan penulis mempunyai khilaf dan salah terhadap saudara-saudara yang turut serta dalam penyusunan karya akhir ini, untuk itu penulis mengucapkan permohonan maaf yang sebesar-besarnya.

Akhir kata, penulis mengucapkan terima kasih sebanyak-banyaknya kepada semua pihak yang turut berperan serta dalam penyelesaian karya akhir ini yang tidak bisa penulis sebutkan namanya satu persatu. Semoga Tuhan Yang Maha Esa memberikan rahmat, kesehatan, dan berkat yang melimpah serta semoga karya ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, 3 Juli 2022

Yang Menyatakan,

dr. Muhammad Abdu

ABSTRAK

MUHAMMAD ABDU. *Efek Pemberian Stromal Vascular Fraction (SVFs) dan Platelet Rich Plasma (PRP) terhadap Faktor Epitelisasi dalam Penyembuhan Trauma Anus pada Tikus Wistar (dibimbing oleh Sulmiati dan Firdaus Hamid).*

Trauma ani merupakan istilah medis yang menggambarkan adanya kerusakan berupa ekskoriasi ataupun laserasi yang terjadi pada lapisan anus baik akibat trauma tumpul maupun akibat trauma tajam. Penggunaan ultrasonografi transanal 2D atau 3D merupakan landasan dalam diagnosis trauma anus paling utama dimana pembedahan menjadi terapi empiris. Penggunaan *stromal vascular fraction* (SVFS) dan *platelet rich plasma* (PRP) saat ini telah menjadi pilihan alternatif pengganti bedah. Penelitian ini bertujuan mengetahui efek pemberian *stromal vascular fraction* (SVFs) dan *platelet rich plasma* (PRP) pada faktor histopatologi epitel dalam penyembuhan trauma anus pada tikus wistar. Penelitian ini dilaksanakan selama 2 bulan di laboratorium animal dan laboratorium patologi anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dengan melibatkan 40 ekor tikus wistar sebagai objek. Perlakuan dibagi menjadi 2 kelompok dengan waktu pengamatan selama 14 hari dimana hasil akhir ditentukan berdasarkan gambaran histopatologi.. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan menggunakan Wilcoxon signed-rank test ditemukan hasil yang kurang signifikan pada peningkatan skor morfologis penyembuhan luka trauma anus pada kelompok tempa dan kontrol hari ke-1 ($P=0,083$), hari ke-7 ($P=0.157$), dan hari ke-14 ($0,317$). Namun, hasil menunjukkan adanya trend penyembuhan luka dari hari ke-1 sampai dengan hari ke-14. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa kombinasi PRP dan SVFs dapat meningkatkan skor morfologis dalam proses penyembuhan luka trauma anus, namun membutuhkan waktu minimal 14 hari.

Kata kunci: *Stromal Vascular Fraction (SVFS)*, *Platelet Rich Plasma (PRP)*
Trauma Anus Tikus Wistar, Histopatologi



ABSTRACT

MUHAMMAD ABDU. The effect of stromal vascular fraction (SVF) and platelet rich plasma (PRP) administration on epithelisation factor in anal trauma healing in wistar rats (supervised by Sulmiati and Firdaus Hamid).

An anal trauma is a medical term describing any damage in the form of excoriation or laceration which occurs in the anal layer either as a result of blunt trauma or sharp trauma. The use of 2D or 3D transanal ultrasonography is a cornerstone in the most important anal trauma diagnosis, in which a surgery becomes an empirical therapy. The use of SVF and PRP has now become an alternative surgical choice. The research aims at investigating the effect of SVF and PRP administration on the epithelia histopathological factor in the anal trauma healing in the wistar rats. The research was conducted for two months in the Animal Laboratory and Anatomical Pathology Laboratory, Medical Faculty, Hasanuddin University, involving 40 wistar rats as the objects. The treatments were divided into two stages with the observation time of 14 days, in which the final result was determined based on the histopathological feature. The use of *Wilcoxon signed-rank test* indicates that there is the less significant increase in the morphological score of the anal trauma wound healing of the treatment and control groups on the first day ($P=0.083$, seventh day ($P=0.157$), and fourteenth day (0.317). However, the result indicates that there is the wound healing trend from the first day to fourteenth day. The research concludes that PRP and SVF combination can increase the morphological score in the anal trauma wound healing process, but it needs the time of minimal fourteen days.

Key words: Stromal vascular fraction (SVF), platelet rich plasma (PRP), anal trauma, wistar rat, histopathology



DAFTAR ISI

<i>HALAMAN SAMPUL</i>	<i>i</i>
<i>LEMBAR PENGESAHAN</i>	<i>iii</i>
<i>LEMBAR KEASLIAN KARYA AKHIR</i>	<i>iv</i>
<i>KATA PENGANTAR</i>	<i>v</i>
<i>ABSTRAK</i>	<i>vii</i>
<i>ABSTRACT</i>	<i>viii</i>
<i>DAFTAR ISI</i>	<i>ix</i>
<i>DAFTAR GAMBAR</i>	<i>xi</i>
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar belakang.....	1
1.2. Rumusan masalah.....	6
1.3. Tujuan penelitian	6
1.4. Manfaat penelitian	7
1.5. Hipotesis.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1. Trauma Anus.....	9
2.2. Epitelisasi Rektum dan fisiologi penyembuhan luka.....	18
2.3. PRP (Platelet Rich Plasma)	31
2.4. Stromal Vascular Fraction	48
2.5. Kerangka Teori.....	62
2.6. Kerangka Konsep	63
BAB III METODE PENELITIAN	71
3.1. Rancangan Penelitian.....	64
3.2. Lokasi dan Waktu	64
3.3. Populasi dan Teknik Sampel	64
3.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	70
3.5. Definisi Operasional	70
3.6. Instrumen Pengumpul Data	71
3.7. Metode Pemeriksaan.....	74

3.8. Analisis Data	75
3.9. Alur Penelitian	76
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	77
4.1. Hasil Penelitian	77
4.2. Pembahasan Penelitian.....	93
DAFTAR PUSTAKA.....	89

DAFTAR GAMBAR

- Gambar 1 Komposisi Growth Factor yang terdapat dalam PRP.
- Gambar 2 Flowchart yang mendeskripsikan preparasi PRP
- Gambar 3 Mekanisme Kerja PRP dalam membantu penyembuhan luka akut.
- Gambar 4 Gambaran umum prosedur isolasi Stromal Vascular Fraction.
- Gambar 5 Komposisi sel-sel penyusun SVF yang berperan pada mekanisme regenerasi.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Trauma anus merupakan istilah medis yang menggambarkan adanya kerusakan berupa ekskoriasi ataupun laserasi yang terjadi pada lapisan anus. Meski pada umumnya kondisi ini bukanlah suatu penyakit yang berbahaya, namun dapat menyebabkan ketidaknyamanan pada penderita akibat nyeri. Karena posisinya yang relatif superfisial, anus lebih sering terluka daripada rektum, tetapi trauma yang melibatkan rektum ekstrapéritoneal seringkali lebih parah dan meluas ke organ sekitarnya. (Herzig DO., Dkk., 2012)

Trauma anus dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya Trauma tumpul (tertutup) seperti kecelakaan kendaraan bermotor atau kecelakaan jatuh dari tangga, trauma saat melahirkan akibat peningkatan tekanan area perineum atau akibat disproporsi sefalopelvis, trauma akibat benda asing yang tertelan, trauma akibat benda asing yang menyentuh atau masuk melalui anus, hubungan seksual melalui anus atau cedera pneumatic oleh peningkatan tekanan intrarektal secara tiba-tiba saat udara dimasukkan melalui anus. (Herzig DO., Dkk., 2012)

Saat ini, penggunaan ultrasonografi transanal 2D atau 3D merupakan landasan dalam diagnosis trauma anus paling utama. Pemeriksaan dengan Magnetic Resonance Imaging (MRI) kumparan Endoanal juga memungkinkan deteksi cacat anus yang sebanding dengan

ultrasonografi endoanal, tetapi lebih unggul dalam perbedaan antara serat otot dan jaringan fibrosa. (Schwartzberg D.M. 2020)

Cedera traumatis dapat diisolasi dan / atau berenergi rendah, hanya melibatkan sfingter anus atau, sebagai alternatif, bagian dari kompleks cedera polytrauma energi tinggi. Bagian berikut menjelaskan demografi pola cedera ini dan manajemen awal yang direkomendasikan untuk populasi pasien yang sangat berbeda ini. Di antara dua ekstrem ini terdapat area abu-abu di mana strategi pengelolaan yang optimal masih kurang jelas (► Gbr. 2). (Jeganathan et al., 2018)

Cedera perineum terisolasi diidentifikasi pada 5,4% pasien, paling sering ke saluran urogenital, sebagai lawan dari kompleks anosfingterik. Untuk cedera perineum terisolasi, tingkat kematian mendekati 18%, sedangkan cedera pelvip erineal kompleks memiliki tingkat kematian hingga 70%. Konsep "resusitasi ruang operasi" sangat penting dalam pengobatan cedera dubur dan perineum berenergi tinggi. 3 Pendekatan bertahap untuk pengambilan keputusan intraoperatif disediakan oleh Kudsk dan Hanna 4 dan dimulai dengan posisi pasien yang tepat. (Jeganathan et al., 2018)

Literatur tentang penatalaksanaan akut untuk trauma anal relatif jarang, meskipun prinsip dasarnya telah banyak diketahui. Sebelum melakukan terapi, perineum dan anus harus dievaluasi secara menyeluruh sesegera mungkin setelah presentasi. Setelah survei trauma primer selesai, evaluasi dilakukan dengan memeriksa dan meraba perineum dan

menilai fungsi sfingter secara seksama dengan meminta pasien untuk menekan jari pemeriksa dengan mengkontraksikan otot secara sadar, pemeriksaan ini dianggap sebagai salah satu landasan pertama dalam identifikasi dan penegakan diagnosis trauma anus.

Debridemen dini dari jaringan lunak yang tidak dapat dipertahankan akan menjadi sangat penting untuk mencegah infeksi dan sepsis panggul, meskipun perawatan harus dilakukan untuk meminimalkan debridemen otot guna mempertahankan mekanisme sfingter ani. Perbaikan / aproksimasi primer sfingter internal dan eksternal dengan jahitan yang dapat diserap dapat dilakukan secara akut untuk laserasi sederhana. (Altomare, D.F.2017). Untuk luka perineum yang besar atau kompleks, debridemen operasi segera dan pencegahan exsanguination adalah sebuah tindakan yang wajib untuk dilakukan. Ujung potongan otot sfingter harus diberi jahitan dimana setiap jaringan yang tidak dapat hidup akan diangkat, selanjutnya pasien akan mengikuti prosedur debridemen serial jaringan lunak di sekitarnya. (Trust, M.D., dkk., 2015)

Selain terapi pembedahan, saat ini manajemen trauma anus secara non-invasif juga telah banyak dikembangkan, salah satunya adalah dengan penggunaan stem sel yang dapat berupa PRP (protein rich plasma) dan stromal vascular factor (SVF) yang diambil dari jaringan darah pasien itu sendiri.

PRP adalah produk biologis yang didefinisikan sebagai bagian dari fraksi plasma darah autologus dengan konsentrasi trombosit di atas nilai

dasar (sebelum sentrifugasi). Dengan demikian, PRP tidak hanya mengandung trombosit tingkat tinggi tetapi juga lengkap faktor pembekuan, yang terakhir biasanya tetap pada tingkat fisiologis normal. (Conde Montero E, dkk., 2015)

Selama proses penyembuhan luka fisiologis, trombosit diaktifkan di lokasi cedera, dan faktor pertumbuhan serta sitokin dilepaskan seiring waktu selama retraksi fibrin. Protein-protein ini dapat mengikat matriks fibrin dan ke proteoglikan dalam matriks ekstraseluler, dengan akibat pembentukan kumpulan penyimpanan yang dapat dilepaskan secara sekunder oleh proteinase. Setiap faktor pertumbuhan mengaktifkan satu atau beberapa jalur respons, yang bergantung pada lingkungan seluler. Begitu faktor pertumbuhan terikat pada reseptor permukaan sel, kaskade pembawa pesan kedua dipicu dan transmisi sinyal tetap aktif, bahkan ketika faktor pertumbuhan menghilang. Bergantung pada faktor pertumbuhan, sekelompok protein tertentu difosforilasi dan modifikasi aktivitas sel terjadi. (Sánchez M, dkk., 2012)

Kelompok utama faktor pertumbuhan yang dilepaskan dari trombosit dan terlibat dalam penyembuhan luka adalah sebagai berikut: EGF merangsang fibroblas untuk mensekresi kolagenase, untuk menurunkan matriks ekstraseluler selama fase renovasi; mendorong proliferasi keratinosit dan fibroblast, TGF α proinformatif dan chemotactic untuk keratinosit dan fibroblas, TGF β 1 dan TGF β 2 mempromosikan angiogenesis, meningkatkan produksi kolagen, menghambat degradasi,

merangsang kemoatraksi sel inflamasi, VEGF merangsang angiogenesis melalui hipoksia jaringan, FGFs Sel endotel, fibroblast, dan migrasi keratinosit, masing-masing dan faktor pertumbuhan yang diturunkan trombosit (PDGF) meningkatkan migrasi makrofag dan fibroblas; mempromosikan sintesis kolagen dan proteoglikan. (Andia I, dkk., 2013)

Di sisi lain, Stromal Vascular Fraction (SVF) yang merupakan populasi sel yang sangat heterogen yang terdiri dari banyak jenis sel yang berbeda seperti sel turunan darah (eritrosit, limfosit, monosit, dll.), Sel endotel, fibroblas, dan sel progenitor lainnya (termasuk MSCs) juga diketahui telah dimanfaatkan sebagai terapi penyembuhan luka. (Nelson TJ, dkk.2009)

Secara umum, SVF dianggap meregenerasi jaringan melalui berbagai mekanisme. SVF telah terbukti meningkatkan angiogenesis, sebagian melalui sekresi berbagai faktor pertumbuhan seperti faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF), keberadaan sel progenitor endotel (EPC) dan peran suportif ASC dengan sifat pericytic. Menariknya, SVF mempromosikan neovaskularisasi tidak melalui angiogenesis, tetapi melalui perakitan kembali sel endotelnya menjadi pembuluh darah yang sudah ada sebelumnya. Selain itu, efek ini bergantung pada keberadaan makrofag yang menunjukkan adanya jenis sel yang berbeda di SVF mungkin bermanfaat. SVF juga terbukti menunjukkan efek anti-inflamasi pada model penderita gagal jantung iskemik dan ensefalomielitis autoimun. (Geevarghese A, dkk., 2014)

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka pada penelitian ini, peneneliti akan melakukan pengkajian tentang efek pemberian platelet rich plasma (PRP) dan stromal vascular fraction (SVFS) dalam penyembuhan kasus trauma anus menggunakan objek tikus wistar. Dalam penelitian ini akan dinilai perubahan pada faktor histopatologi epitel jaringan anus setelah dua pekan perlakuan. Hasil penelitian diharapkan mampu memberikan informasi klinis mengenai manfaat dan keterbatasan terapi SVF dan PRP dalam aspek ilmu kedokteran bedah.

1.2. Rumusan masalah

Bagaimanakah efek pemberian *platelet rich plasma* (PRP) dan *stromal vascular fraction* (SVFs) terhadap faktor epitelisasi dalam penyembuhan trauma anus pada model tikus wistar?

1.3. Tujuan penelitian

a) Tujuan umum

Untuk mengetahui efektifitas penggunaan kombinasi *platelet rich plasma* (PRP) dan *stromal vascular fraction* (SVFs) terhadap faktor histopatologi epitel dalam penyembuhan trauma anus pada model tikus wistar.

b) Tujuan khusus

- 1) Untuk mengetahui anatomi dan gambaran histologi normal organ anus tikus wistar.

- 2) Untuk mengetahui metode trauma anus menggunakan model tikus wistar.
- 3) Untuk mengetahui gambaran histopatologi trauma pada model tikus wistar.
- 4) Untuk membuktikan pemberian kombinasi platelet rich plasma (PRP) dan stromal vascular fraction (SVFs) mempercepat proses penyembuhan trauma anus pada model tikus wistar.
- 5) Untuk membuktikan pemberian kombinasi platelet rich plasma (PRP) dan stromal vascular fraction (SVFs) terhadap epitelisasi penyembuhan luka pada model tikus wistar

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat berupa:

1. Manfaat praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran histopatologi trauma anus terhadap efektifitas kombinasi pemberian platelet rich plasma (PRP) dan stromal vascular fraction (SVFs) pada model hewan coba tikus wistar.

2. Manfaat teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar bagi penelitian lain untuk melakukan pengembangan penelitian serupa yang menggunakan variable trauma anus, kombinasi PRP dan SVFs

3. Manfaat klinis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan evaluasi klinis bagi para tenaga medis (dokter) bahwa pemberian PRP dan SVFs dapat mempercepat penyembuhan trauma anus

1.5. Hipotesis

1.5.1. Kombinasi PRP dan SVF dapat meningkatkan Epitelisasi dalam penyembuhan trauma anus pada model tikus Wistar

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Trauma Anus

1. Definisi dan Etiologi

Trauma anus dan rektal relatif jarang terjadi (kecuali akibat kerusakan iatrogenik) karena posisi anatomis anorektum yang dilindungi oleh tulang panggul, sakrum, dan otot dasar panggul. Karena posisinya yang relatif superfisial, anus lebih sering terluka daripada rektum, tetapi trauma yang melibatkan rektum ekstrapéritoneal, meskipun jarang, seringkali lebih parah dan meluas ke organ sekitarnya. Seperti pada trauma lainnya, tujuan pembedahan adalah untuk mempertahankan hidup, diikuti dengan pengendalian infeksi dan, dalam kasus ini, menjaga fungsi evakuasi dan kontinensia feses. (Altomare, D. F. dkk., 2017).

Penyebab terjadinya trauma pada anus telah ditinjau di literatur lain, di antaranya: (Herzig DO., Dkk., 2012)

- Trauma tumpul (tertutup): Jarang mengenai anus atau rektum tanpa melibatkan tulang panggul dan biasanya merupakan akibat dari kecelakaan kendaraan bermotor atau kecelakaan jatuh dari tangga dan dari perancah.
- Melahirkan: disproporsi sefalopelvis saat melahirkan dapat mengoyak vagina, merobek tubuh perineum. Episiotomi garis

tengah dapat memfasilitasi kemajuan laserasi melalui sfingter, saluran anus, dan rektum dan harus dihindari. Meskipun jarang, laserasi lebar pada garis tengah posterior vagina yang terjadi selama persalinan tanpa bantuan, terutama di lingkungan pedesaan, dapat menyebabkan deformitas kloaka, hal ini jarang diperbaiki lebih awal, sangat mengganggu kualitas kehidupan seksual dan infeksi genitourinari.

- Benda asing yang tertelan: Beberapa partikel kecil dan tajam tertelan secara sengaja (seperti paku dimakan oleh pasien psikiatri), maupun tidak sengaja (tulang ikan atau ayam, kulit kenari, pecahan kaca, tusuk gigi, gigi palsu) dapat mencapai rektum dan terperangkap di dinding rektal atau otot sfingter, yang menyebabkan perforasi atau abses. Obat yang dibungkus dengan bungkus plastik adalah jenis baru dari benda asing yang tertelan. Paket dapat pecah selama upaya endoskopi atau pembedahan untuk mengangkatnya, kemungkinan menyebabkan overdosis obat yang mengancam jiwa.
- Benda asing masuk melalui anus: Berbagai benda lonjong (seperti lingga) yang telah dimasukkan ke dalam rektum dan tetap terperangkap di atas sfingter anus - yang paling sering ditemukan adalah botol, dildo plastik dan vibrator, sayuran, bola lampu listrik, pena, dan kaca - biasanya sebagai upaya autoerotisme atau selama pelecehan seksual. Kadang-kadang termometer bisa

hilang di dalam rektum saat mengukur suhu pada anak-anak dan bisa pecah, menyebabkan penetrasi cedera pada dinding rektal.

- Pelecehan seksual melalui anus: Baik pada pria maupun wanita, trauma mungkin disebabkan oleh tindakan seks anal yang terlalu kasar oleh kedua pasangan atau mungkin merupakan tindakan kriminal yang terkadang dilakukan pada anak-anak (terutama anak laki-laki).
- Cedera pneumatik: Ledakan yang mengenai rektum dan usus besar, yang memicu nyeri perut yang parah dan syok, dapat disebabkan oleh peningkatan tekanan intrarektal secara tiba-tiba jika udara tekan disuntikkan melalui anus; biasa dilakukan sebagai lelucon sampai tindakan kriminal.
- Cedera diagnostik / terapeutik iatrogenik merupakan akibat dari:
 - Enema (nosel enema dapat menyebabkan laserasi mukosa dan fistula rektovaginal, atau menggunakan air yang terlalu panas menyebabkan luka bakar mukosa)
 - Barium enema
 - Biopsi rektal, yang dapat menyebabkan perdarahan dan perforasi
 - Polipektomi diatermi, yang dapat menyebabkan gas kolon (metana, hidrogen sulfida, hidrogen) meledak
 - Rektoskopi, sigmoidoskopi
 - Pembedahan untuk fisura anus, wasir, fistula, dan abses

- Pembedahan untuk penyakit prostat, kandung kemih, dan rahim
- Luka tembus: Cedera anorektal tajam yang disebabkan oleh tusukan atau luka tembak harus diklasifikasikan sebagai luka intraperitoneal dan ekstraperitoneal; yang pertama lebih sering daripada yang terakhir.
 - Luka tusuk yang melibatkan anus atau rektum ekstraperitoneal jarang terjadi di negara-negara Barat tetapi dapat timbul sebagai bagian dari trauma anoperineal yang kompleks pada kecelakaan mobil atau sepeda motor. Luka tusuk tembus yang melibatkan rektum intraperitoneal dapat dihasilkan oleh pisau atau belati dan perlu dirawat seperti cedera kolon lainnya.
 - Luka tembak relatif sering terjadi di masa perang karena posisi tengkurap yang diambil oleh tentara saat menembak, dan tingkat kerusakan rektal bergantung pada sifat balistik proyektil. Peluru kecepatan tinggi (militer) menghasilkan lubang masuk yang kecil tetapi kerusakan jaringan yang luas, banyak perforasi, dan luka keluar yang besar, sedangkan peluru kecepatan rendah (penggunaan sipil) sering tertahan di jaringan.
- Penusukan rektal: Ini digunakan untuk menyiksa dan membunuh musuh di zaman kuno, tetapi hari ini masih dapat terjadi setelah jatuh ke benda runcing. Hal ini dapat terjadi, misalnya, pada

pekerja pertanian yang secara tidak sengaja jatuh ke perkakas atau tiang pagar dengan kaki mengangkang, atau terjatuh secara tidak sengaja oleh mereka yang berpartisipasi dalam olahraga yang melibatkan panjat tebing atau lompat. Trauma tembus dapat melibatkan anus, sfingter anus, dan dinding rektal dan dapat meluas ke sakrum dan tulang ekor, perineum, prostat, uretra, dan kandung kemih, serta organ intraperitoneal, terutama usus kecil dan besar.

2. Diagnosis Trauma Anal

Inspeksi dan eksplorasi digital pada saluran anus dapat dengan mudah menunjukkan hasil dari trauma anus. Saat ini, penggunaan ultrasonografi transanal 2D atau 3D merupakan landasan dalam diagnosis trauma anus dan paling berguna jika ditampilkan dalam tiga dimensi. Pertanyaan tentang riwayat pasien dan eksplorasi perineum dan abdomen adalah langkah pertama dalam menilai trauma anorektal. Kadang-kadang pasien enggan melakukan hubungan anal atau autoerotisme yang mengakibatkan retensi benda asing. Ekimosis atau laserasi perianal biasanya muncul setelah serangan seksual, dan sperma juga dapat ditemukan. Karena masalah hukum, perhatian khusus harus diberikan untuk membuktikan penyerangan dengan foto atau noda, memungkinkan identifikasi pelaku setelah pemerkosaan, misalnya. (Trust, M.D., dkk., 2015)

Benda asing yang tertahan dapat dirasakan dengan pelumasan eksplorasi digital anal, meskipun dalam banyak kasus benda asing tersebut bermigrasi ke distal ke dalam kolon rektosigmoid. Radiografi perut biasanya dapat membantu dalam diagnosis. Kolonoskopi mungkin diperlukan untuk mendiagnosis dan merawat benda asing yang tertinggal. (Schwartzberg D.M., dkk., 2020)

Nyeri perut, nyeri tekan, ileus, dan suhu tinggi setelah trauma rektal menunjukkan perforasi dan peritonitis. Trauma anorektal minor dan retensi benda asing dapat menyebabkan nyeri anal dan abdomen, perdarahan rektal, dan retensi refleks urin. Pembentukan abses perianal / perirectal dapat menyebabkan demam dan menyebabkan nyeri hebat kadang-kadang menyebabkan sepsis umum. (Trust, M.D., dkk., 2015)

3. Manajemen Trauma Anal

Literatur tentang penatalaksanaan akut untuk trauma anal relatif jarang, meskipun prinsip dasarnya ada. Perineum dan anus harus dievaluasi secara menyeluruh secepat mungkin saat ditemukan. Setelah survei trauma primer selesai, evaluasi di samping tempat tidur dapat dilakukan dengan memeriksa dan meraba perineum dan menilai fungsi sfingter secara kasar dengan colok dubur dan meminta pasien untuk menekan jari Anda. Wanita juga harus menjalani pemeriksaan vagina. Trauma anal biasanya

diidentifikasi dengan cepat pada survei sekunder dan meminta evaluasi di ruang operasi. Pemeriksaan luka yang cermat harus menentukan otot sfingter mana yang terlibat, apakah cedera tersebut merupakan laserasi melalui otot atau menunjukkan hilangnya jaringan yang sebenarnya, dan proktoskopi lembut dilakukan untuk mengevaluasi kedua saluran anus dan mencari cedera rektal terkait. Cedera minor pada saluran anus dapat diobati dengan debridemen transanal kembali ke jaringan sehat dan perbaikan jahitan primer dengan jahitan yang dapat diserap. (Miller, A.H., dkk., 2018).

Debridemen dini dari jaringan lunak yang tidak dapat hidup sangat penting untuk mencegah infeksi dan sepsis panggul, meskipun perawatan harus dilakukan untuk meminimalkan debridemen otot untuk mempertahankan mekanisme sfingter ani. Perbaikan / aproksimasi primer sfingter internal dan eksternal dengan jahitan yang dapat diserap dapat dilakukan secara akut untuk laserasi sederhana pada pasien yang tidak cedera dan stabil secara hemodinamik, dan pengalihan feses mungkin tidak diperlukan pada pasien tersebut. (Altomare, D.F.2017).

Cedera perineum yang signifikan sering muncul akibat tabrakan kendaraan bermotor dan sepeda motor atau insiden pejalan kaki dan dapat mengakibatkan hilangnya jaringan dan luka kompleks yang signifikan. Luka perineum besar atau kompleks, harus segera dilakukan operasi debridemen dan pencegahan *exsanguination*. Di

ruang trauma, luka harus segera dibersihkan dan dibalut dengan kain kasa elastis untuk kompresi guna menghentikan kehilangan darah dalam perjalanan ke ruang operasi. Kompleks sfingter dan saluran anus diperiksa seperti sebelumnya, tetapi dalam keadaan ini penanganan trauma anus jelas merupakan tindakan sekunder untuk resusitasi dan perbaikan cedera yang mengancam jiwa. Ujung potongan otot sfingter harus diberi jahitan dan setiap jaringan yang tidak dapat hidup diangkat, dengan rencana untuk kunjungan ulang ke ruang operasi untuk debridemen serial jaringan lunak di sekitarnya karena hal itu menyatakan kelangsungan hidup. (Trust, M.D., dkk., 2015).

Kolostomi harus dilakukan pada awal manajemen bedah pasien jika cedera perineum sangat parah atau ada keterlibatan rektum secara bersamaan. Setelah pasien diresusitasi dan jaringan yang hidup tetap ada, cedera sfingter harus ditangani kembali. Jika otot dapat diperkirakan, perbaikan harus dilakukan sebaik mungkin dengan jahitan yang dapat diserap. Jika kompleks sfingter anal telah hancur atau tidak dapat diperkirakan, pengalihan memungkinkan pemeliharaan luka yang bersih untuk penyembuhan. Luka jaringan lunak perineum di sekitarnya mungkin memerlukan penutupan atau pencangkakan dengan bantuan vakum tekanan negatif. (Miller, A.H., dkk., 2018).

Evaluasi otot sfingter selanjutnya dalam pengaturan rawat jalan akan menentukan terapi lebih lanjut, jika perlu. Tes kontinensia yang mudah dan awal adalah penggunaan tantangan enema. Jika pasien dapat mempertahankan 100 mL saline enema, perawatan bedah atau terapi fisik lebih lanjut tidak mungkin memberikan manfaat tambahan. Untuk menentukan apakah pasien memiliki defek sfingter resultan yang berkontribusi pada inkontinensia mereka, endosonografi anal dapat dilakukan dan terbukti memiliki sensitivitas tertinggi dibandingkan modalitas lain. (Schwartzberg D.M. 2020)

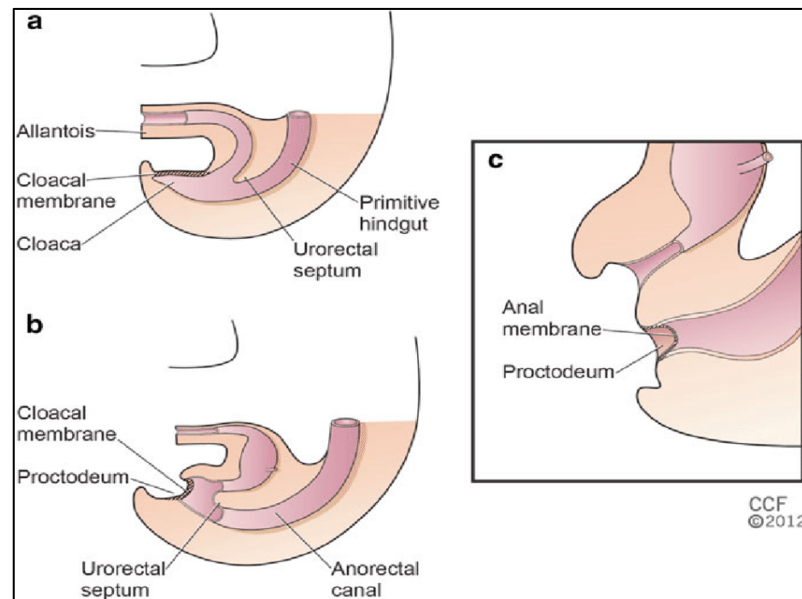
Magnetic Resonance Imaging (MRI) kumparan Endoanal memungkinkan deteksi cacat yang sebanding dengan ultrasonografi endoanal, tetapi lebih unggul dalam perbedaan antara serat otot dan jaringan fibrosa. Manometri anorektal digunakan untuk menentukan tekanan basal dan tekanan pasien, meskipun prediksi inkontinensia atau peningkatannya telah diperdebatkan dan berada di luar cakupan bab ini. Penggunaan terapi fisik dasar panggul dengan latihan sfingter dan biofeedback dapat meningkatkan mekanisme tonus dan tekanan dengan hasil perbaikan kontinensia feses dan flatus dalam pengaturan cedera sfingter traumatis ringan. Adanya defek sfingter kecil dan inkontinensia fekal yang berlanjut meskipun latihan sfingter mungkin memerlukan sphincteroplasty atau neurmodulasi sakral yang tumpang tindih. Transposisi otot atau interposisi selanjutnya dapat diindikasikan untuk pasien dengan kehilangan kompleks sfingter yang

signifikan. Beberapa dari pasien ini, terutama individu dengan kompleks sfingter yang buruk atau tidak berfungsi, mungkin paling baik dilayani dengan kolostomi permanen. (Schwartzberg D.M. 2020)

2.2. Epitelisasi Rektum dan fisiologi penyembuhan luka

1. Embriologi rektum dan histologi

Saluran gastrointestinal muncul sedini minggu ketiga perkembangan embrio. Selama proses yang disebut gastrulasi, tiga lapisan kuman terbentuk. Lapisan kuman termasuk ektoderm, mesoderm, dan endoderm, yang bersama-sama membentuk cakram embrionik. Ujung kranial dari cakram embrionik terdiri dari membran orofaring, yang akhirnya membentuk mulut, dan ujung ekor termasuk membran kloaka, yang membentuk anus. Selama minggu keempat, saluran gastrointestinal primordial mulai terbentuk dari endoderm. Ketika embrio terlipat ke arah garis tengah, endoderm membuat saluran usus yang tersuspensi oleh mesenterium, atau lapisan ganda peritoneal. Tabung usus membelah menjadi usus depan, usus tengah, dan usus belakang. Usus belakang membentuk sepertiga bagian distal dari kolon transversal, kolon desendens, kolon sigmoid, rektum, dan bagian superior dari saluran anus. Ujung terminal dari usus belakang termasuk kloaka, yang tidak hanya membentuk saluran pencernaan tetapi juga saluran urogenital. (Nakashima J, dkk. 2020)



Gambar 1.1 Embriologi anorektum (Inkster J dkk, 2016)

Bagian atas saluran anal proksimal garis pektinat dilapisi oleh epitel kolumnar sederhana, dan berisi sel sekretori dan absorptif dengan kelenjar tubular dan kriptus. Selaput lendir di bawah garis pektinat (di area yang disebut sebagai pekten) adalah epitel skuamosa berlapis halus yang tidak berkeratin. Tidak ada kelenjar keringat, kelenjar sebaceous atau folikel rambut di area ini. Di bawah garis putih Hilton, saluran anus dilapisi oleh epitel berlapis keratin dengan folikel rambut. Pada ambang anus (area antara saluran anus dan kulit perianal), epitel skuamosa dari saluran anus menjadi kontinu dengan kulit perineum. Setiap lesi yang terletak di luar anus diklasifikasikan sebagai lesi kulit primer, bukan lesi anal. (Nakashima J, dkk. 2020)

Menjelang ujung ekor kloaka terdapat area yang disebut membran kloaka, yang merupakan batas antara lapisan endoderm dan lapisan ektoderm tanpa mesoderm di antaranya; ini akhirnya membentuk proctodeum. Septum urorektal yang diturunkan dari mesoderm membagi kloaka ke dalam rongga urogenital ventral dan kanal anorektal dorsal pada minggu ketujuh atau kedelapan. Pada titik ini, ujung terminal rongga urogenital dan kanal anorektal terbuka di membran kloaka. Pembukaan pada membran kloaka ini penting karena saluran anus sekarang terbentuk dari endoderm dan ektoderm. Dua pertiga superior saluran anus berasal dari usus belakang, dan sepertiga inferior saluran anus berasal dari proctodeum ektodermal. Persimpangan yang menggambarkan kedua epitel ini disebut garis pektinat atau garis dentate. (Pandey, P., 2012)

2. Fisiologi Penyembuhan Luka

Terganggunya integritas kulit, permukaan mukosa atau jaringan organ mengakibatkan terbentuknya luka. Luka dapat terjadi sebagai bagian dari proses penyakit atau memiliki etiologi yang tidak disengaja atau disengaja.¹ Pada saat terjadi cedera beberapa jalur seluler dan ekstraseluler diaktifkan, dengan cara yang diatur dan terkoordinasi dengan ketat, dengan tujuan memulihkan integritas jaringan. Secara klasik, proses penyembuhan luka ini dibagi menjadi empat fase berbeda; hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan

pembentukan kembali jaringan. (Young, A., & McNaught, C.-E., 2011)

Definisi penyembuhan luka termasuk perbaikan dari kerusakan pada organ atau jaringan, umumnya kulit. Bagaimanapun, telah jelas bahwa proses sistemik pada luka yang mengubah jauh melebihi batas dari kerusakan itu sendiri. Lebih jauh lagi, riset sebelumnya melibatkan stem sel dan sel progenitor dalam proses penyembuhan luka membutuhkan perspektif yang luas daripada yang satu semata-mata fokus pada kerusakan organ itu sendiri. Penyembuhan luka paling baik dipahami secara menyeluruh sebagai respon organisme terhadap cedera, tanpa melihat apakah lokasinya pada kulit, hati atau jantung (Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; Sjamsuhidajat, de Jong., 2016).

Mengingat sifat rumit dari rangkaian penyembuhan, sungguh luar biasa betapa seringnya hal itu terjadi tanpa komplikasi. Banyak faktor yang dapat mengganggu proses ini, yang mengakibatkan penyembuhan luka tertunda, peningkatan morbiditas dan mortalitas pasien, dan hasil kosmetik yang buruk. (Young, A., & McNaught, C.-E., 2011)

Terdapat dua proses yang penting yang dengan hal ini pembentukan ulang proses homeostasis dapat terjadi. Pertama adalah penggantian selular matriks yang berbeda sebagai tambalan untuk kembali menyusun kelanjutan baik fisik dan psikologis terhadap

organ yang cedera. Hal tersebut merupakan proses terbentuknya *scar*. Proses yang kedua adalah rekapitulasi proses pembentukan yang awalnya tercipta dari organ yang cedera. Arsitektur organ asal dibentuk kembali, dengan mengaktifkan kembali jalur pembangunan. Ini merupakan proses regenerasi. Penyembuhan luka dapat dibagi ke dalam tiga fase, yaitu fase inflamasi, proliferasi dan remodeling. (Leong M. 2016; McLeod, Mansbridge., 2015; Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; Moenadjat Y, dkk., 2011)

a. Fase Inflamasi (Hemostasis dan Inflamasi)

Fase inflamasi berlangsung sejak terjadinya luka sampai kira-kira hari ke tiga. Pembuluh darah yang terputus pada luka akan menyebabkan perdarahan dan tubuh berusaha menghentikannya dengan vasokonstriksi, pengerutan ujung pembuluh yang putus (retraksi) dan reaksi hemostasis. Hemostasis terjadi karena trombosit yang keluar dari pembuluh darah saling melekat dan bersama jala fibrin yang terbentuk membekukan darah yang keluar dari pembuluh darah. Trombosit yang berlekatan akan berdegranulasi, melepas kemoatraktan yang menarik sel radang, mengaktifkan fibroblast lokal dan sel endotel serta vasokonstriktor. Hemostasis memicu inflamasi dengan terjadinya pelepasan faktor kemotaktik dari luka. (McLeod, Mansbridge., 2015; Widjajakusumah, Tanzil A., 2014)

Paparan kolagen subendothelial terhadap platelet menghasilkan agregasi platelet, degranulasi dan aktivasi koagulasi

menghasilkan bekuan fibrin. Granul-granul *platelet- α* melepaskan sejumlah zat kimia seperti platelet-derived growth factor (PDGF), transforming growth factor- β (TGF- β), platelet-activating factor (PAF), fibronectin dan serotonin. Sebagai tambahan untuk mencapai hemostasis, bekuan fibrin memungkinkan migrasi sel-sel inflamasi menuju luka seperti *polymorphonuclear leucocytes* (PMNs, neutrofil) dan monosit. PMN adalah sel pertama yang menuju ke tempat terjadinya luka. Jumlahnya meningkat cepat dan mencapai puncaknya pada 24 – 48 jam. Fungsi utamanya adalah memfagositosis bakteri yang masuk, meningkatkan permeabilitas pembuluh darah pelepasan prostaglandin dan adanya komponen kemotaktik seperti faktor komplemen, interleukin-1 (IL-1), tumor nekrosis faktor- α (TNF- α), TNF- β , factor platelet-4 atau produk bakteri kesemuanya merangsang migrasi netrofil. Elemen imun seluler yang berikutnya adalah makrofag. Sel ini turunan dari monosit yang bersirkulasi, terbentuk karena proses kemotaksis dan migrasi. (McLeod, Mansbridge., 2015; Widjajakusumah, Tanzil A., 2014)

Makrofag muncul pertama 48 – 96 jam setelah terjadi luka. Makrofag berumur lebih panjang dibanding dengan sel PMN dan tetap ada di dalam luka sampai proses penyembuhan berjalan sempurna. Makrofag seperti halnya netrofil, memfagositosis dan mencerna organisme-organisme patologis dan sisa-sisa jaringan. Makrofag juga memainkan peranan penting dalam regulasi

angiogenesis dan terkumpulnya ekstraseluler matriks (ECM) oleh fibroblast dan proliferasi dari otot polos dan sel endothelial yang dihasilkan dalam angiogenesis. Sesudah makrofag akan muncul Limfosit T dan jumlahnya mencapai puncak pada hari ketujuh. Jumlahnya lebih sedikit dibandingkan makrofag dan sebagai jembatan transisi dari fase inflamasi ke proliferasi. Fase ini juga disebut fase lamban karena reaksi pembentukan kolagen baru sedikit, dan luka hanya dipertautkan oleh fibrin yang amat lemah. (McLeod, Mansbridge., 2015; Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; Thorne, et al., 2007; Nauta A, et al., 2012)

b. Fase Proliferasi

Ketika respons akut hemostasis dan inflamasi mulai pulih, perancah diletakkan untuk memperbaiki luka melalui angiogenesis, fibroplasia, dan **epitelisasi**. Tahap ini ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi, yang terdiri dari lapisan kapiler, fibroblast, makrofag, dan susunan kolagen, fibronektin, dan asam hialuronat yang longgar. Fase proliferasi disebut juga fase fibroplasia karena yang menonjol adalah proses proliferasi fibroblast. Fase ini berlangsung dari akhir fase inflamasi sampai kira-kira akhir minggu ke tiga. Apabila tidak ada kontaminasi atau infeksi yang bermakna, fase inflamasi berlangsung pendek. Setelah luka berhasil dibersihkan dari jaringan mati dan sisa material yang tidak berguna, dimulailah fase proliferasi.

Terdapat tiga proses utama dalam fase proliferasi, antara lain:

1. Neoangiogenesis

Angiogenesis merupakan pertumbuhan pembuluh darah baru yang terjadi secara alami di dalam tubuh, baik dalam kondisi sehat maupun patologi (sakit). Kata angiogenesis sendiri berasal dari kata *angio* yang berarti pembuluh darah dan *genesis* yang berarti pembentukan. Pada keadaan terjadi kerusakan jaringan, proses angiogenesis berperan dalam mempertahankan kelangsungan fungsi berbagai jaringan dan organ yang terkena. Terjadinya hal ini melalui terbentuknya pembuluh darah baru yang menggantikan pembuluh darah yang rusak (Frisca dkk, 2009). Pada angiogenesis pembentukan pembuluh darah baru berasal dari kapiler-kapiler yang muncul dari pembuluh darah kecil dari sekitarnya (Kalangi, 2011). Pembuluh darah kapiler terdiri atas sel-sel endotel dan perisit. Kedua jenis sel ini memuat seluruh informasi genetik untuk membentuk pembuluh darah dan cabang-cabangnya serta seluruh jaring kapiler. Molekul-molekul angiogenik khas akan mendorong terjadinya proses ini, tetapi ada pula molekul-molekul penghambat bersifat khusus untuk menghentikan proses angiogenesis. Molekul-molekul dengan fungsi yang berlawanan tersebut nampaknya seimbang dan serasi dalam bekerja terus menerus mempertahankan suatu sistem pembuluh darah kecil yang konstan (Kalangi, 2011).

Pada proliferasi terjadi angiogenesis disebut juga sebagai neovaskularisasi, yaitu proses pembentukan pembuluh darah baru, merupakan hal penting sekali dalam langkah-langkah penyembuhan luka. Jaringan dimana pembentukan pembuluh darah baru terjadi, biasanya terlihat warna merah (eritema) karena terbentuknya kapiler-kapiler di darah itu. Selama angiogenesis, sel endotel memproduksi dan mengeluarkan sitokin. Beberapa faktor pertumbuhan terlibat dalam angiogenesis antara lain *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), *angiopentin*, *Fibroblast Growth Factor* (FGF), dan TGF- β . Setelah pembentukan jaringan cuku adekuat, migrasi dan proliferasi sel-sel endotelial menurun, dan sel yang berlebih akan mati dalam dengan proses apoptosis (Gurtner GC,2007)

2. Fibroblast

Fibroblas memiliki peran yang sangat penting dalam fase ini. Fibroblast memproduksi matriks ekstraselular yang akan mengisi kavitas luka dan menyediakan landasan untuk migrasi keratinosit. Matriks ekstraselular inilah yang menjadi komponen yang paling nampak pada skar di kulit. Makrofag memproduksi *growth factor* seperti PDGF, FGF dan TGF- yang menginduksi fibroblas untuk berproliferasi, migrasi, dan membentuk matriks ekstraselular (Gurtner GC, 2007). Dengan bantuan *matrix metalloproteinase* (MMP -12), fibroblas mencerna matriks fibrin dan menggantikannya dengan *glycosaminoglycan* (GAG). Dengan berjalannya waktu, matriks

ekstraselular ini akan digantikan oleh kolagen tipe III yang juga diproduksi oleh fibroblas. Kolagen ini tersusun atas 33% glisin, 25% hidroksiprolin, dan selebihnya berupa air, glukosa, dan galaktosa. Hidroksiprolin berasal dari residu prolin yang mengalami proses hidroksilasi oleh enzim *prolyl hydroxylase* dengan bantuan vitamin C. Hidroksiprolin hanya didapatkan pada kolagen, sehingga dapat dipakai sebagai tolok ukur banyaknya kolagen dengan mengalikan hasilnya dengan 7,8. Selanjutnya kolagen tipe III akan digantikan oleh kolagen tipe I pada fase maturasi. Faktor proangiogenik yang diproduksi makrofag seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *fibroblas growth factor* (FGF)-2, *angiopoietin-1*, dan *thrombospondin* akan menstimulasi sel endotel membentuk neovaskular melalui proses angiogenesis.

Angiogenesis meliputi urutan peristiwa sebagai berikut :

- a. Terdapat degradasi lokal lamina basal pada kapiler yang telah ada.
- b. Migrasi sel-sel endotel ke tempat pertumbuhan baru.
- c. Proliferasi dan diferensiasi untuk membentuk kuncup kapiler.
- d. Penyusunan kembali sel-sel endotel untuk membentuk lumen.
- e. Anastomosis kuncup-kuncup yang berdekatan untuk membentuk jalinan pembuluh darah.
- f. Pengaliran darah melalui pembuluh darah baru

c. Fase Re-Epitelisasi

Secara simultan, sel-sel basal pada epitelium bergerak dari daerah tepi luka menuju daerah luka dan menutupi daerah luka.(T Velnar, 2009). Pada tepi luka, lapisan *single layer* sel keratinosit akan berproliferasi kemudian bermigrasi dari membran basal ke permukaan luka. Ketika bermigrasi, keratinosit akan menjadi pipih dan panjang dan juga membentuk tonjolan sitoplasma yang panjang. Mereka akan berikatan dengan kolagen tipe I dan bermigrasi menggunakan reseptor spesifik integrin. Kolagenase yang dikeluarkan keratinosit akan mendisosiasi sel dari matriks dermis dan membantu pergerakan dari matriks awal. Sel keratinosit yang telah bermigrasi dan berdiferensiasi menjadi sel epitel ini akan bermigrasi di atas matriks provisional menuju ke tengah luka, bila sel- sel epitel ini telah bertemu di tengah luka, migrasi sel akan berhenti dan pembentukan membran basalis dimulai (T Velnar, 2009).

d. Remodeling

Fase remodeling adalah bagian yang paling lama dalam penyembuhan luka dan pada manusia berkisar pada hari ke 21 hingga 1 tahun. Sekali luka telah terisi jaringan granulasi dan setelah migrasi keratinosit yang telah mengalami re-epithelisasi, proses remodeling terjadi. Walaupun durasi remodeling yang lama dan hubungannya yang jelas sangat tampak, fase ini masih jauh dari pemahaman tentang penyembuhan luka. Pada fase ini terjadi proses

pematangan yang terdiri atas penyerapan kembali jaringan yang berlebih, pengerutan sesuai dengan gaya gravitasi, dan akhirnya perupaan kembali jaringan yang baru terbentuk. Fase ini dapat berlangsung berbulan-bulan dan dinyatakan berakhir kalau semua tanda radang sudah lenyap. Tubuh berusaha menormalkan kembali semua yang menjadi abnormal karena proses penyembuhan. Udem dan sel radang diserap, sel muda menjadi matang, kapiler baru menutup dan diserap kembali, kolagen yang berlebih diserap dan sisanya mengerut sesuai dengan regangan yang ada. (Barret J, Herndon D., 2005; Moenadjat Y, dkk., 2011)

Pada manusia, remodeling ditandai oleh dua proses yaitu kontraksi luka dan remodeling kolagen. Proses kontraksi luka dihasilkan oleh miofibroblast, yang miofibroblast dengan intraseluler aktin mikrofiliamen mampu mendorong pembentukan dan kontraksi matriks. Miofibroblast menghubungkan luka melalui interaksi spesifik secara langsung dengan matriks kolagen. Beberapa growth factor yang menstimulasi sintesis kolagen dan molekul jaringan ikat yang lain juga merangsang sintesis dan aktivasi dari metalloproteinase, enzim yang mendegradasi komponen ECM ini. Matriks metalloproteinase termasuk interstitial collagenases (MMP-1,-2 dan -3) yang membelah menjadi kolagen tipe I, II dan III; gelatinases (MMP-2 dan 9), yang merubah kolagen tidak berbentuk sebaik fibronectin; stromelysin (MMP-3, 10, dan 11), yang beraksi pada berbagai komponen ECM,

termasuk proteoglycans, laminin, fibronectin dan kolagen tak berbentuk; dan keluarga ikatan membran MMPs. MMPs diproduksi oleh fibroblast, makrofag, neutrofil, sel synovial, dan beberapa sel epitel. Sekresinya dipicu oleh growth factor (PDGF, FGF), sitokin (IL-1, TNF), dan fagositosis dalam makrofag dan di hambat oleh TGF- β dan steroid. Enzim kolagen membelah kolagen di bawah kondisi fisiologis. Mereka disintesis secara tersembunyi (procollagenase) yang diaktivasi secara kimiawi, seperti radikal bebas diproduksi selama oksidasi leukosit, dan enzim proteinase (plasmin). Sekali dibentuk, enzim kolagen yang diaktivasi secepatnya dihambat oleh golongan jaringan spesifik penghambat enzim metalloproteinase, yang diproduksi oleh hampir seluruh sel mesenkimal, hal ini mencegah aksi enzim protease yang tidak terkontrol. Serat kolagen membentuk bagian utama dari jaringan ikat dalam perbaikan dan penting untuk membangun kekuatan penyembuhan luka. (Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; McLeod, Mansbridge., 2015)

Akumulasi jaringan kolagen tergantung tidak hanya peningkatan sintesis kolagen namun juga penurunan degradasi. Ketika jahitan diangkat dari luka, biasanya diakhir minggu pertama, kekuatan luka \pm 10% dari kulit normal. Kekuatan luka segera meningkat hingga 4 minggu kemudian, melambat hingga kira-kira tiga bulan setelah dilakukan luka insisi dan tensile strength mencapai kira-kira 70% – 80% dari kulit normal. Tensile strength pada luka yang

lebih rendah mungkin berlangsung seumur hidup. Pemulihan tensile strength merupakan hasil dari sintesis kolagen lebih dari degradasi kolagen selama 2 bulan pertama penyembuhan dan selanjutnya dari modifikasi struktur serat kolagen setelah sintesis kolagen berakhir. (Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; McLeod, Mansbridge., 2015)

2.3. PRP (*Platelet Rich Plasma*)

1. Definisi PRP

PRP adalah produk biologis yang didefinisikan sebagai bagian dari fraksi plasma darah autologus dengan konsentrasi trombosit di atas nilai dasar (sebelum sentrifugasi). Dengan demikian, PRP tidak hanya mengandung trombosit tingkat tinggi tetapi juga lengkap faktor pembekuan, yang terakhir biasanya tetap pada tingkat fisiologis normal. Hal ini diperkaya oleh berbagai *growth factor*, kemokin, sitokin, dan protein plasma lainnya. PRP diperoleh dari darah pasien sebelum sentrifugasi. Setelah sentrifugasi dan menurut gradien densitas yang berbeda, terjadi pemisahan komponen darah (sel darah merah, PRP, dan plasma miskin trombosit [PPP]). (Conde Montero E, dkk., 2015)

Pada PRP, selain konsentrasi trombosit yang lebih tinggi, parameter lain perlu diperhitungkan, seperti ada tidaknya leukosit dan aktivasi. Ini akan menentukan jenis PRP yang digunakan dalam berbagai patologi. Ada beberapa perangkat komersial yang tersedia, yang menyederhanakan persiapan PRP. Menurut pabrikan,

perangkat PRP biasanya mencapai konsentrasi PRP 2-5 kali konsentrasi dasar. Meskipun orang mungkin berpikir bahwa jumlah trombosit yang lebih tinggi dengan jumlah GF yang lebih tinggi akan memberikan hasil yang lebih baik, hal ini belum ditentukan. Selain itu, satu penelitian juga telah menunjukkan bahwa konsentrasi PRP 2,5 kali di atas nilai dasar dapat memiliki efek penghambatan. (Lynch MD, dkk., 2016)

2. Fisiologi Platelet dan Mekanisme Kerja

Semua sel darah berasal dari sel induk berpotensi majemuk umum, yang berdiferensiasi menjadi garis sel yang berbeda. Masing-masing rangkaian sel ini mengandung prekursor yang dapat membelah dan matang. Trombosit diproduksi oleh megakariosit dari sumsum tulang, yang bermigrasi ke penghalang endotel setelah pematangan dan memproyeksikan perpanjangannya melepaskan ke dalam aliran darah proplatelet atau prekursor yang akan menghasilkan trombosit [28]. Trombosit adalah elemen darah diskoid dan teranukleasi dengan diameter 2–3 μm ; konsentrasi darah mereka adalah 150.000–400.000 trombosit / μL dengan masa hidup 7 sampai 10 hari. (Sclafani AP, dkk., 2012)

a. Mekanisme Hemostasis

Trombosit dibatasi oleh membran plasma eksternal yang berisi jaringan besar reseptor yang memicu sinyal intraseluler yang memungkinkan trombosit menjalankan berbagai fungsinya.

Diantaranya dapat ditemukan reseptor glikoprotein Ib (GPIb) dan glikoprotein VI (GPVI), yang terlibat dalam fungsi yang berkaitan dengan homeostasis, fungsi utama trombosit. GPIb dan GPVI berikatan dengan faktor von Willebrand (VWF) dan kolagen bila ada diskontinuitas pada penghalang endotel yang mengekspos matriks ekstraseluler. Interaksi ini menyebabkan perubahan konformasi pada trombosit dan memungkinkannya untuk mengikat fibrinogen, jaringan, dan trombosit lain untuk membentuk trombus yang akan berpartisipasi dalam perbaikan jaringan. (Semple JW., Dkk., 2011)

Kandungan internal trombosit disimpan dalam butiran berbeda yang disebut butiran padat, butiran α , dan lisosom. Bahan yang ada dalam butiran ini mungkin telah disintesis oleh megakariosit asli serta ditangkap oleh trombosit melalui endositosis. Granul α adalah granul yang memiliki kandungan biomolekul aktif yang lebih tinggi terkait dengan perbaikan jaringan. Ratusan molekul ini telah diidentifikasi, termasuk protein perekat, faktor fibrinolitik dan koagulasi, molekul antimikroba, sitokin, dan faktor pertumbuhan. (De Paoli SH., Dkk., 2018)

Dua kelompok molekul terakhir ini berpartisipasi dalam perbaikan jaringan dan proses regenerasi seperti angiogenesis, kemotaksis, migrasi, atau proliferasi sel. Ketika trombosit diaktifkan, tidak hanya molekul ini dilepaskan tetapi juga elemen lain seperti mikropartikel trombosit, yang terlibat dalam proses anti-inflamasi, atau

eksosom. Eksosom adalah vesikula kecil berukuran 100-400 nm yang membawa beberapa protein selain biomolekul lain sebagai materi genetik. Meskipun tidak banyak yang diketahui tentang eksosom platelet ini, telah ditemukan bahwa mereka sangat penting dalam komunikasi seluler. (Jenne CN, dkk., 2013)

Respon vaskular awal terhadap cedera meliputi pelepasan faktor subendotel yang menarik trombosit yang bersirkulasi dan mengaktifkan protein koagulasi. Trombosit merespons dengan mengumpulkan dan mengikuti lokasi cedera, di mana mereka melepaskan butiran yang mengandung serotonin, tromboksan, dan adenosin, dan memulai koagulasi dan pembentukan fibrin. Produksi lokal trombin meningkatkan aktivasi trombosit dan pembentukan sumbat hemostatik selanjutnya yang meminimalkan perdarahan lebih lanjut. Produksi trombin dan aktivasi platelet juga memulai proses penyembuhan luka melalui aktivasi sel yang bergantung pada trombin dan angiogenesis yang bergantung pada platelet. (De Paoli SH., Dkk., 2018)

PRP meniru langkah terakhir dari kaskade koagulasi, bentuk bekuan fibrin. Secara *in vivo*, pengembangan steker hemostatik primer dimulai dengan aktivasi reseptor membran platelet yang melaluinya makromolekul perekat faktor von Willebrand dan fibrinogen jangkar platelet ke dinding pembuluh darah dan menghubungkannya satu sama lain. Sumbat hemostatik sekunder

terdiri dari trombosit yang terjatoh dalam fibrin, hasil dari kerja trombin, yang penting untuk pembentukan fibrin.

b. Kandungan Growth factor

Aktivasi trombosit PRP menyebabkan pelepasan kandungan trombosit yang berhubungan dengan perbaikan jaringan ke luar, dan bergabung dengan biomolekul yang bersirkulasi di dalam plasma. Jadi, tingkat banyak faktor pertumbuhan akan bergantung pada konsentrasi trombosit PRP. Komponen penting dari PRP termasuk faktor pertumbuhan transformasi (TGF) $-\beta$, faktor pertumbuhan turunan trombosit (PDGF-AB dan PDGF-BB), faktor pertumbuhan mirip insulin (IGF), faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF), faktor pertumbuhan epidermal (EGFs) dan faktor pertumbuhan fibroblast (FGF) -2. (Padilla S, dkk., 2017)

Tabel 1.1 Molekul biologis dalam plasma kaya trombosit Padilla S, dkk., 2017)

Growth Factor	Sel Penghasil	Fungsi
PDGF	Trombosit, makrofag	Kemotaksis kondrosit, proliferasi MSC, angiogenesis, kondrogenesis
VEGF	Trombosit, makrofag, neutrofil	Angiogenesis, migrasi endotel
TGF-β	Trombosit, makrofag	MSC dan proliferasi fibroblast, produksi kolagen, reepitelisasi
EGF	Trombosit, makrofag, plasma	Re-epithelialization, organisasi jaringan granulasi

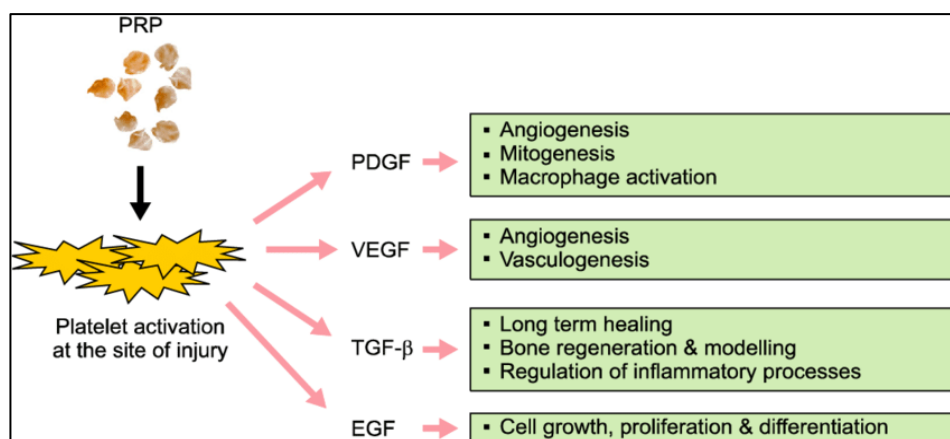
FGF	Trombosit	Proliferasi endotel, angiogenesis, produksi kolagen
IGF	Plasma	Proliferasi sel, produksi proteoglikan, kolagen
MMPs	Makrofag, Neutrofil	Pergantian ECM, pembentukan kembali jaringan, dan perekrutan sel-sel proliferaatif
PDGF	Trombosit, makrofag	Kemotaksis kondrosit, proliferasi MSC, angiogenesis, kondrogenesis

Di antara faktor pertumbuhan trombosit ini, terdapat faktor pertumbuhan turunan trombosit (PDGF), yang merupakan kemotaktik kuat untuk beberapa jenis sel dan memiliki efek penting pada perbaikan jaringan di atas jaringan seperti tulang rawan dan meniskus. TGF- β 1 dan PDGF merangsang proliferasi sel mesenkim. TGF- β 1 juga merangsang produksi matriks ekstraseluler, termasuk kolagen. Pada prinsipnya, faktor-faktor ini menstabilkan jaringan yang rusak selama tahap awal perbaikan jaringan, dan mengarahkan sel mesenkim dan epitel lokal untuk bermigrasi, membelah, dan meningkatkan sintesis kolagen dan matriks, yang pada akhirnya mengarah ke jaringan ikat fibrosa dan pembentukan bekas luka. VEGF dan FGF-2 penting untuk merangsang pembentukan pembuluh darah baru untuk membawa nutrisi dan sel progenitor ke lokasi cedera; namun, faktor tambahan juga diperlukan untuk neovaskularisasi.

PRP didalilkan untuk meningkatkan penyembuhan awal cacat tendon dengan ekspresi IGF-1 yang berlebihan. Hormon polipeptida

asam amino 70 IGF adalah komponen normal dari plasma dan diangkut oleh protein pengikat IGF. Penyimpanan IGF-1 dalam trombosit tidak jelas, dengan beberapa penelitian proteomik melaporkan bahwa tidak ada dan sebagian besar literatur mendeteksi IGF-1 dalam trombosit; namun, sebagian besar penelitian telah mendeteksi IGF-1 di PRP. Untuk peran PRP dalam beberapa jalur penyembuhan, PRP perlu dipertimbangkan sebagai terapi tambahan untuk aplikasi tertentu. (Anitua E, dkk., 2011).

Oleh karena itu, PRP adalah gabungan dari ribuan biomolekul dari plasma dan trombosit yang mengatur hemostasis, koagulasi, perbaikan dan regenerasi jaringan, peradangan, perilaku seluler, atau pertahanan terhadap mikroorganisme, di antara proses biologis lainnya. Semua potensi terapeutik ini sangat bergantung pada komposisinya, yang dapat bervariasi sesuai dengan metode yang digunakan untuk memperolehnya.



Gambar 1.2 Komposisi Growth Factor yang terdapat dalam PRP. (Padilla S, dkk., 2017)

3. Prosedur Preparasi dan Aktivasi PRP

a) Proses Pengambilan darah

Seperti yang dinyatakan sebelumnya, teknik perolehan PRP digunakan untuk mencapai fraksi plasma darah dengan tingkat trombosit yang lebih tinggi daripada darah. Langkah pertama terdiri dari pengambilan sejumlah kecil darah tepi dari pasien menggunakan tabung dengan antikoagulan — untuk mencegah pembekuan darah. Berbagai jenis antikoagulan dapat digunakan seperti natrium sitrat dan asam ethylenediaminetetraacetic (EDTA), yang mengkelat kalsium dan mencegah kaskade koagulasi, atau heparin yang menghambat trombin. Namun, natrium sitrat adalah antikoagulan yang paling direkomendasikan karena memastikan pengawetan trombosit yang lebih baik. Ini juga menyebabkan lebih sedikit sekresi mikrovesikel yang merupakan hasil dari aktivasi trombosit, yang meningkat ketika EDTA dan heparin digunakan sebagai antikoagulan darah. (Wisgrill L., dkk., 2016)

b) Metode Preparasi

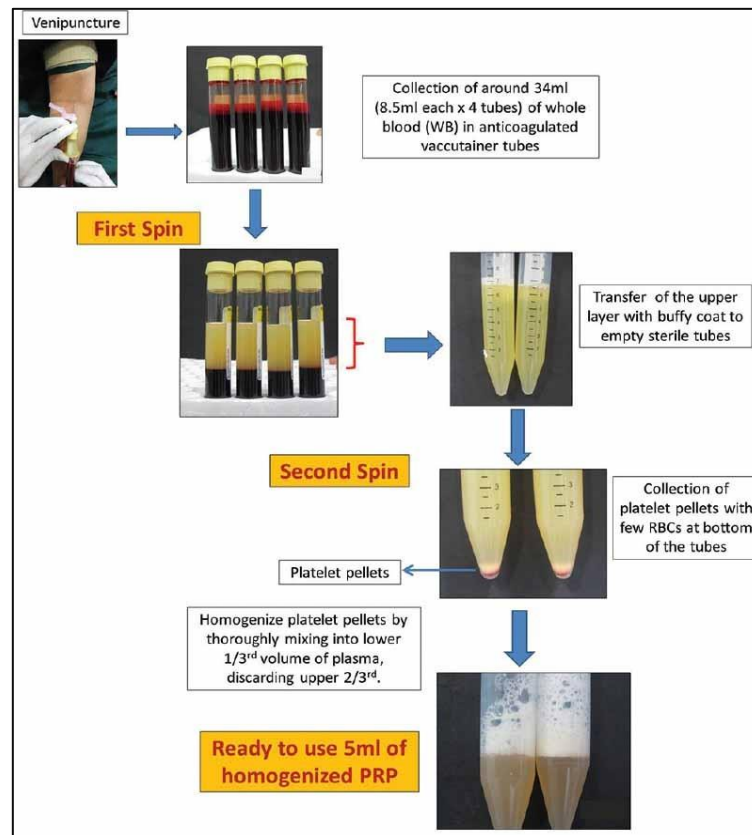
PRP disiapkan dengan proses yang dikenal sebagai sentrifugasi diferensial. Dalam sentrifugasi diferensial, gaya percepatan disesuaikan untuk mengendapkan konstituen seluler tertentu berdasarkan berat jenis yang berbeda. Ada banyak cara untuk menyiapkan PRP. Ini dapat dibuat dengan metode PRP atau dengan metode buffy-coat. (Dhurat R, dkk., 2014)

Dalam metode PRP, sentrifugasi awal untuk memisahkan sel darah merah (RBC) diikuti dengan sentrifugasi kedua untuk memusatkan trombosit, yang tersuspensi dalam volume plasma akhir terkecil. Sentrifugasi ini dapat tunggal atau ganda, dengan gaya sentrifugal antara 350 dan 2000 g dan waktu sentrifugasi 3 hingga 15 menit tergantung pada metode yang digunakan. Dengan demikian, darah dibagi menjadi fraksi bawah sel darah merah, lapisan tipis leukosit atau mantel buffy, dan akhirnya fraksi plasma dengan trombosit, yang secara bertahap menurunkan jumlahnya di area paling atas. Lapisan terakhir ini akan membentuk PRP, dan tergantung pada proses sentrifugasi, jumlah trombosit dapat bervariasi. Namun, jumlah trombosit yang lebih tinggi tidak secara ketat dikaitkan dengan peningkatan efek PRP. Faktanya, beberapa penelitian telah melaporkan bahwa konsentrasi trombosit yang berlebihan mungkin memiliki efek penghambatan pada proliferasi atau diferensiasi sel dalam populasi seperti tenosit atau sel induk yang diturunkan dari jaringan adiposa. Dengan demikian, konsentrasi trombosit yang optimal untuk fungsi yang dioptimalkan dianggap dua hingga tiga kali lipat dibandingkan dengan tingkat darah. (Dohan E., dkk 2012)

Darah utuh awalnya dikumpulkan dalam tabung yang mengandung antikoagulan. Langkah putaran pertama dilakukan pada percepatan konstan untuk memisahkan sel darah merah dari volume

WB yang tersisa. Setelah langkah putaran pertama, WB terpisah menjadi tiga lapisan: lapisan atas yang sebagian besar mengandung trombosit dan WBC, lapisan tipis perantara yang dikenal sebagai buffy coat dan kaya akan sel darah merah, dan lapisan bawah yang sebagian besar terdiri dari sel darah merah . Untuk produksi PRP murni (P-PRP), lapisan atas dan lapisan buffy superfisial dipindahkan ke tabung kosong steril. (Dhurat R, dkk., 2014)

Untuk produksi PRP kaya leukosit (L-PRP), seluruh lapisan buffy coat dan sedikit sel darah merah dipindahkan. Langkah putaran kedua kemudian dilakukan. 'G' untuk putaran kedua harus cukup untuk membantu pembentukan pelet lunak (eritrosit-platelet) di bagian bawah tabung. Bagian atas volume yang sebagian besar terdiri dari PPP (plasma miskin trombosit) dibuang. Pellet dihomogenisasi dalam 1/3 bagian bawah (5 ml plasma) untuk membuat PRP (Platelet-Rich Plasma). Namun, fraksi sel darah merah harus dibuang untuk menghindari adanya eritrosit di PRP. Kehadiran eritrosit di PRP memerlukan proses degradasinya sendiri seperti hemolisis dan eryptosis. Akibatnya, produk yang memicu peradangan dan stres seluler dihasilkan, yang akan menghalangi tindakan menguntungkan PRP. (Felthaus O, Prantl L, dkk., 2019)



Gambar 1.3 Flowchart yang mendeskripsikan preparasi PRP (Dhurat R, dkk., 2014)

c) Aktivasi Platelet-Rich Plasma

Langkah terakhir dalam proses untuk mendapatkan PRP adalah aktivasi trombosit, di mana kandungan trombositnya tidak hanya dilepaskan tetapi juga memicu polimerisasi fibrinogen dalam jaring fibrin yang menjebak molekul. Jadi, sistem pelepasan terkontrol yang mengirimkan molekul saat terdegradasi diperoleh. Aktivasi dapat bersifat eksogen baik dengan metode fisik seperti siklus pembekuan-pencairan atau dengan penambahan zat tertentu (kalsium klorida, trombin). Beberapa metode mengusulkan aktivasi endogen di mana PRP diberikan tanpa aktivasi sebelumnya dan

trombosit diaktifkan secara fisiologis di dalam tubuh. (Kikuchi N, dkk., 2019)

Namun, penggunaan aktivasi eksogen memungkinkan PRP yang lebih fleksibel, dan bergantung pada waktu yang telah berlalu sejak aktivasi, formulasi yang berbeda dicapai pada titik perawatan. Penambahan kalsium klorida sebagai metode aktivasi menghindari penggunaan elemen biologis eksogen seperti trombin. Ini juga mencegah hipokalsemia lokal yang dapat disebabkan oleh antikoagulan pengkelat kalsium yang sebelumnya digunakan dalam pengumpulan darah untuk mempersiapkan PRP. Jadi, PRP dapat digunakan sebagai formulasi cairan injeksi segera setelah aktivasi atau sebagai bekuan membran fibrin beberapa menit setelah menambahkan aktivator. Dalam hal ini, dan karena konsistensinya, formulasi ini dapat digunakan sebagai perancah biologis dan autologus dalam intervensi bedah yang mendorong perbaikan jaringan. (Boswell SG, dkk., 2012)

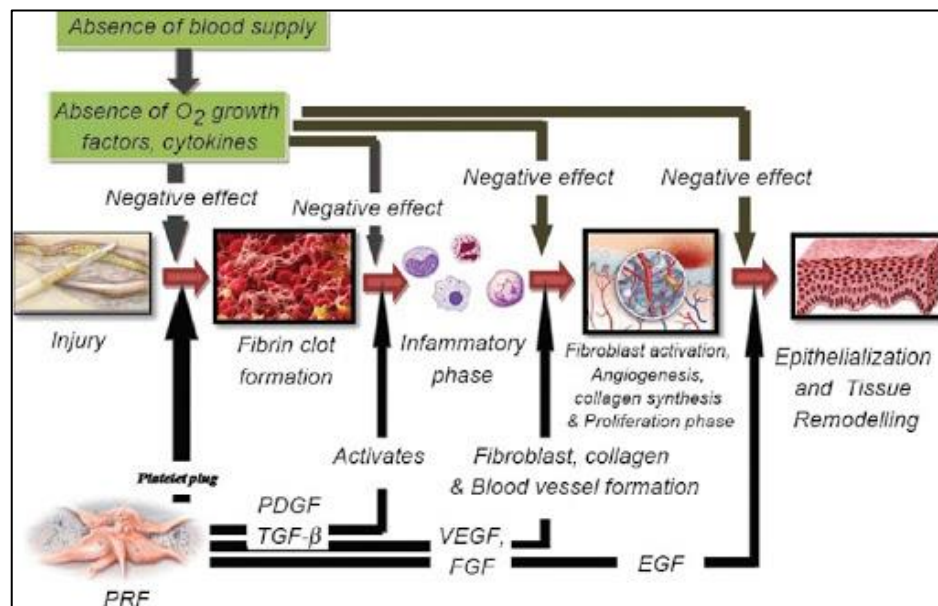
4. Peran PRP dalam penyembuhan luka

a. Mekanisme Kerja

Selama proses penyembuhan luka fisiologis, trombosit diaktifkan di lokasi cedera, dan faktor pertumbuhan serta sitokin dilepaskan seiring waktu selama retraksi fibrin. Protein-protein ini dapat mengikat matriks fibrin dan ke proteoglikan dalam matriks ekstraseluler, dengan akibat pembentukan kumpulan penyimpanan

yang dapat dilepaskan secara sekunder oleh proteinase. Setiap faktor pertumbuhan mengaktifkan satu atau beberapa jalur respons, yang bergantung pada lingkungan seluler. Begitu faktor pertumbuhan terikat pada reseptor permukaan sel, kaskade pembawa pesan kedua dipicu dan transmisi sinyal tetap aktif, bahkan ketika faktor pertumbuhan menghilang. Bergantung pada faktor pertumbuhan, sekelompok protein tertentu difosforilasi dan modifikasi aktivitas sel terjadi. (Sánchez M, dkk., 2012)

Kelompok utama faktor pertumbuhan yang dilepaskan dari trombosit dan terlibat dalam penyembuhan luka adalah sebagai berikut: EGF merangsang fibroblas untuk mensekresi kolagenase, untuk menurunkan matriks ekstraseluler selama fase renovasi; mendorong proliferasi keratinosit dan fibroblast, TGF α proinflammagenic dan chemotactic untuk keratinosit dan fibroblas, TGF β 1 dan TGF β 2 mempromosikan angiogenesis, meningkatkan produksi kolagen, menghambat degradasi, merangsang kemoatraksi sel inflamasi, VEGF merangsang angiogenesis melalui hipoksia jaringan, FGFs Sel endotel, fibroblast, dan migrasi keratinosit, masing-masing dan faktor pertumbuhan yang diturunkan trombosit (PDGF) meningkatkan migrasi makrofag dan fibroblas; mempromosikan sintesis kolagen dan proteoglikan. (Andia I, dkk., 2013)



Gambar 1.4 Mekanisme Kerja PRP dalam membantu penyembuhan luka akut.

Mengingat PRP adalah sumber faktor pertumbuhan, dan akibatnya memiliki sifat mitogenik, angiogenik, dan kemotaktik, ini merupakan pengobatan tambahan alternatif yang menarik untuk luka bandel. Selain itu, PRP memberikan protein adhesif pada luka, seperti fibrinogen, yang penting dalam proses penyembuhan.⁹ Penerapan PRP telah terbukti efektif baik pada tukak akut maupun kronis. Peningkatan laju proliferasi sel dan migrasi sel telah dikaitkan dengan peningkatan regulasi protein pengatur siklus sel yang berbeda (Kim SA, dkk., 2013).

b. Aplikasi klinis PRP pada penyembuhan luka

Penggunaan utama PRP dalam uji klinis pada manusia terkait dengan kondisi kronis, seperti ulkus diabetes, di mana penyembuhannya terganggu dan ditandai oleh peradangan yang

terus-menerus karena ketidakseimbangan antara sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi serta konsentrasi faktor pertumbuhan yang rendah. atau bahkan karena spesies oksigen reaktif berlebih. Dalam pengertian ini, faktor pertumbuhan dan sitokin memainkan peran penting dalam mengendalikan kerusakan oksidatif. Kapasitas regeneratif GFs di PRP membantu mempersingkat waktu pemulihan luka dan berbagai cedera jaringan pada mamalia. Sejalan dengan pernyataan di atas, Babaei et al. mengamati pembentukan jaringan granulasi yang sehat dan penutupan lengkap awal setiap luka pada 150 pasien dengan ulkus kaki diabetik setelah aplikasi topikal PRP.

Ulkus non-penyembuhan dari berbagai etiologi diobati dengan injeksi PRP autologus subkutan bersama dengan aplikasi topikal gel PRP dan menunjukkan potensi keamanan dan kemanjuran PRP autologus untuk ulkus non-penyembuhan kronis, menghargai pengurangan ukuran luka yang signifikan pada semua pasien yang dirawat dengan tidak ada efek samping, dan juga pengurangan rasa sakit dan peradangan di tempat cedera berkat penekanan pelepasan sitokin. (Lacci K.M., dkk., 2010)

Sebuah meta-analisis tentang penggunaan PRP pada luka kulit dibandingkan dengan terapi luka kontrol, menunjukkan bahwa PRP meningkatkan proses penyembuhan luka dan ulkus meningkat secara signifikan pada luka akut dan kronis kecil yang sulit disembuhkan dan selain itu PRP menggunakan aktivitas antimikroba

terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Selain itu, ada juga beberapa penelitian yang menilai manfaat klinis PRP dalam penuaan kulit yang menunjukkan tindakan bioregeneratif, dengan menstimulasi proliferasi fibroblast, meningkatkan faktor anti-inflamasi, faktor angiogenik, dan protein yang terkait dengan pemodelan ulang matriks ekstraseluler. Dalam sebuah penelitian di mana pasien dirawat dengan laser karbon dioksida fraksional ablatif, penggunaan PRP menunjukkan berkurangnya eritema dan percepatan proses penyembuhan. Penggunaan PRP juga dapat dianggap sebagai prosedur yang efektif untuk peremajaan kulit wajah, yang menunjukkan dalam studi klinis peningkatan penampilan umum, kekencangan kulit kendur, dan keadaan keriput. Selain itu, peran PRP dalam mendorong ketahanan rambut juga telah dibuktikan. (Carter M.J dkk., 2011)

Roubelakis dkk. mempelajari pengaruh PRP pada sifat proliferasi dan migrasi sel induk mesenchymal (MSC) dan fibroblas kulit yang menunjukkan induksi yang signifikan dari kemampuan migrasi dan laju proliferasi MSC dan fibroblas. Selain itu, mereka juga menunjukkan penyembuhan ulkus yang lebih cepat setelah pengobatan dengan pembalut PRP dan neovaskularisasi yang lebih cepat pada area yang terkena pada pasien klinis yang sebenarnya. Hasil yang juga diperoleh peneliti lain dalam studi acak, prospektif, dan retrospektif. Dengan demikian, penggunaan trombosit tampaknya

mencapai penyembuhan yang lebih cepat dibandingkan dengan metode tradisional. (Roubelakis M.G., dkk., 2014)

Hasil positif serupa diperoleh pada luka sekunder akibat infeksi jaringan lunak nekrosis setelah penggunaan topikal PRP autologus, dan bahkan pada pasien AIDS dengan ulkus krusialis kronis di mana peningkatan neovaskularisasi dan reepitelisasi telah dihargai .. Seperti yang ditunjukkan, beberapa penelitian telah dilakukan dalam pengobatan manusia untuk pengobatan luka kronis, menunjukkan beberapa derajat perbaikan yang tercermin dari pengurangan luas luka, volumen, dan penutupan luka. (Cieslik-Bielecka A., dkk., 2017).

Mengingat kelompok utama lain dari ulkus kronis, ulkus arteri dan tekanan, tidak ada uji klinis yang telah dilakukan secara khusus untuk menganalisis efek aplikasi PRP pada lesi ini. Keterbatasan yang menjadi ciri uji klinis yang diterbitkan mencegah tinjauan sistematis kuantitatif dari mendapatkan kesimpulan yang kuat dan representatif. Berbagai tinjauan sistematis dan meta-analisis telah dilakukan untuk mengevaluasi penggunaan PRP untuk pengobatan luka kulit dibandingkan dengan perawatan luka standar. Semuanya menyimpulkan bahwa terapi PRP dapat berdampak positif pada penyembuhan luka, terutama pada pasien dengan ulkus kaki diabetik yang tidak sembuh. Namun, semua ulasan ini menyoroti batasan penting dari studi yang disertakan, seperti populasi pasien yang heterogen, sampel kecil dalam uji klinis, kurangnya tindak lanjut

jangka panjang, berbagai jenis produk dan rejimen, dan dukungan studi yang sering dilakukan oleh produsen. (Cobos R., dkk., 2015)

2.4. Stromal Vascular Fraction

1. Perspektif sejarah SVF

Pada 1960-an, Rodbell dan kolaborator mengembangkan metode untuk mengisolasi sel menggunakan sampel jaringan adiposa tikus. Mereka pada dasarnya mengekstraksi dan mencincang bantalan lemak tikus, mencuci beberapa kali bidang jaringan dengan larutan garam, dan kemudian menginkubasi potongan jaringan dengan kolagenase untuk memecahkan matriks ekstraseluler yang kaya kolagen, membuat sampel jaringan yang terpisah. Langkah sentrifugasi memisahkan lapisan mengambang kuning yang mengandung minyak dan adiposit, dan semua sel lainnya membentuk pelet di bagian bawah tabung sampel. Pelet seluler berisi fraksi vaskular stroma (SVF), populasi sel yang sangat heterogen yang terdiri dari banyak jenis sel yang berbeda: sel turunan darah (eritrosit, limfosit, monosit, dll.), Sel endotel, fibroblas, dan sel progenitor lainnya (termasuk MSCs) [8]. Prosedur sederhana ini memungkinkan pemisahan semua adiposit matang (parenkim jaringan) dari semua sel pendukung lainnya (stroma). (Nelson TJ, dkk.2009)

Hampir 40 tahun kemudian ketika sekelompok ilmuwan (dipimpin oleh ahli bedah plastik) yang bekerja di Pittsburgh pada

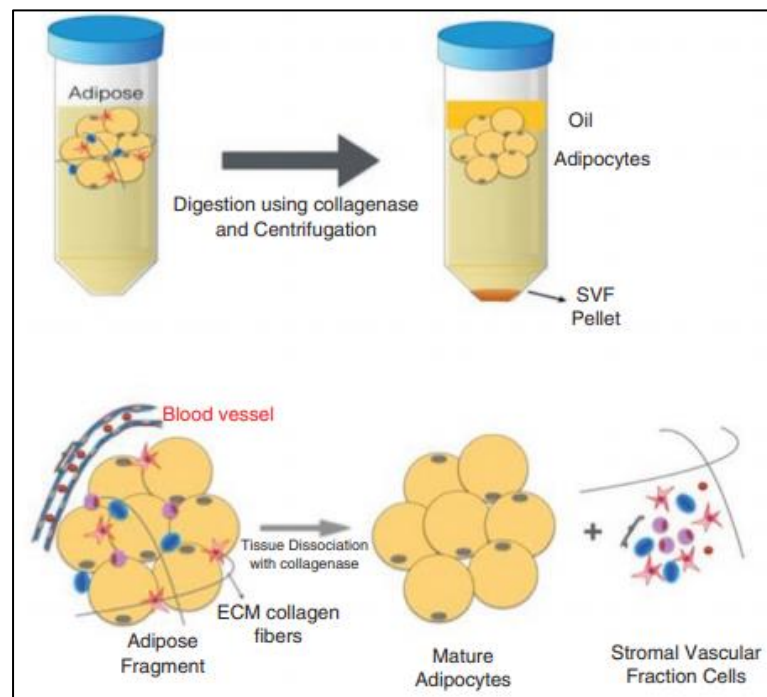
tahun 2001 menunjukkan bahwa setelah membiakkan SVF secara in vitro, sel-sel yang dapat melekat dan tumbuh dalam kultur bersifat multipoten. Mereka melaporkan bahwa sel-sel itu (yang mereka sebut PLA — sel lipoaspirat yang diproses) memiliki kapasitas untuk berdiferensiasi menuju garis keturunan adipogenik, kondrogenik, osteogenik, dan miogenik. Sel-sel tersebut sekarang dikenal sebagai ASCs (adipose stromal / stem cell) dan dapat dicirikan oleh kriteria fenotipik dan fungsional: dipilih dengan adhesi pada plastik, potensi proliferasi, ada atau tidak adanya penanda membran sel tertentu, dan kapasitas untuk berdiferensiasi menjadi sel lain. jenis. Kelimpahan relatif ASC dalam sel SVF dapat mencapai 5–10% dari semua sel SVF berinti yang diperoleh tergantung pada metode isolasi sel yang digunakan dan efisiensinya. (Murphy MB, dkk, 2013)

2. Metode preparasi SVR

a. Metode Isolasi Sel Mekanis

Metode mekanis untuk isolasi atau konsentrasi sel menggunakan sampel lipoaspirate dilakukan dengan menggunakan berbagai macam teknik yang berbeda. Ini telah ditinjau baru-baru ini oleh beberapa penulis. Sangat penting untuk menunjukkan bahwa beberapa dari mereka secara fisik mengekstrak sel fraksi pembuluh darah stroma yang diisolasi, sementara yang lain hanya menurunkan jumlah relatif dari adiposit dengan membuang sebagian besar dari mereka dalam produk yang akhirnya diperoleh. Kelompok pertama

didasarkan terutama pada pusran, getaran, atau gemetar diikuti dengan sentrifugasi untuk memusatkan sel-sel yang dilepaskan karena proses ini. Kelompok kedua mencakup perangkat atau metode yang memungkinkan konsentrasi relatif sel stroma per volume. Hal ini disebabkan pengangkatan sebagian besar adiposit karena gaya mekanis menggunakan teknik manual atau perangkat titik perawatan. Beberapa dari teknik ini telah menjadi sangat populer karena kesederhanaan / kemudahan dan waktu pengerjaan yang singkat, tetapi alasan dan dukungan ilmiah masih kurang atau sangat buruk. (Aronowitz JA, dkk., 2015; 4: 713)



Gambar 1.5 Gambaran umum prosedur isolasi Stromal Vascular Fraction. (Markarian CF, dkk., 2014)

b. Metode Isolasi Sel Enzimatik

Disosiasi jaringan enzimatik menggunakan kolagenase bakterial adalah yang pertama kali dijelaskan dan merupakan metode yang mencapai hasil tertinggi dari sel yang diisolasi menggunakan sampel jaringan adiposa. Penting untuk diketahui bahwa prosedur khusus menentukan efisiensi isolasi sel dan karakteristik biologis dari produk akhir. Banyak faktor berbeda yang memainkan peran penting dalam proses isolasi sel: potensi campuran kolagenase tertentu, konsentrasi yang digunakan, waktu pencernaan, metode pengocokan, suhu inkubasi, dan banyak lagi. (Oberbauer E, dkk., 2015)

Ada berbagai sistem isolasi yang tersedia secara komersial di pasar untuk isolasi SVF, dan jumlahnya terus meningkat. Penting untuk disoroti bahwa penggunaan klinisnya diatur dengan cara yang berbeda bergantung pada masing-masing negara. Kerangka peraturan masih belum didefinisikan secara jelas dan masih mengalami perubahan karena temuan ilmiah dan klinis baru. Beberapa dari sistem ini menyederhanakan seluruh proses dengan menggunakan perangkat medis tertentu atau sistem yang hampir sepenuhnya otomatis yang bekerja dalam sistem tertutup, sementara yang lain mengandalkan prosedur manual sepenuhnya menggunakan plastik sekali pakai. (Markarian CF, dkk., 2014)

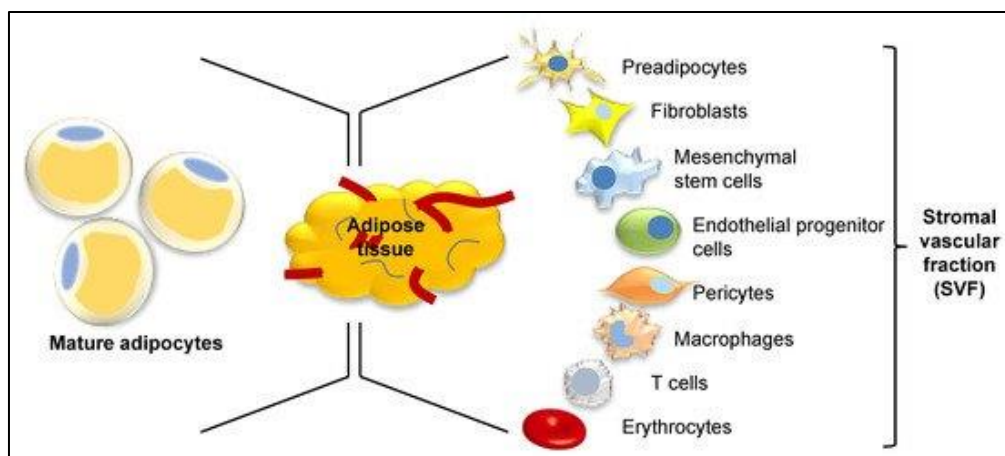
3. Komposisi Penyusun SVFs

Secara umum, SVFs dianggap meregenerasi jaringan melalui berbagai mekanisme. SVFs telah terbukti meningkatkan angiogenesis, sebagian melalui sekresi berbagai faktor pertumbuhan seperti faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF), keberadaan sel progenitor endotel (EPC) dan peran suportif ASC dengan sifat pericytic. Menariknya, SVFs mempromosikan neovaskularisasi tidak melalui angiogenesis, tetapi melalui perakitan kembali sel endotelnya menjadi pembuluh darah yang sudah ada sebelumnya. Selain itu, efek ini bergantung pada keberadaan makrofag yang menunjukkan adanya jenis sel yang berbeda di SVFs mungkin bermanfaat. SVFs juga terbukti menunjukkan efek anti-inflamasi pada model gagal jantung iskemik dan eksperimental ensefalomyelitis autoimun, meskipun mekanisme SVFs dapat menghambat inflamasi, selain memiliki populasi ASC, tetap spekulatif. (Geevarghese A, dkk., 2014)

Sediaan SVFs juga mengeluarkan tingkat IL-1 β , IL-8, dan IL-15 yang lebih tinggi, dan tingkat yang lebih rendah dari sitokin anti-inflamasi IL-10 dan IL-13 bila dibandingkan dengan ASCs, menunjukkan SVFs mungkin memiliki sifat imunomodulator yang berbeda. Akhirnya, diferensiasi in vivo dari SVFs telah dibatasi pada studi retensi cangkok lemak, di mana beberapa sel SVFs berdiferensiasi menjadi adiposit. Lebih lanjut, karena komposisi sel yang heterogen dan masih belum diketahui efek dari cross-talk antara

sel-sel yang berbeda dalam SVFs dan antara SVFs dan jaringan inang, mendefinisikan sifat terapeutik SVFs akan menjadi tantangan. (Silva K.R, dkk 2015)

Saat ini, SVFs diketahui memiliki fibroblas, sel punca mesenchymal (MSC), dan EC, serta sel otot polos, sel mural, makrofag, sel darah, dan seluruh kader fenotipe sel punca lainnya. Sementara populasi campuran ini lebih dekat merekapitulasi variasi sel yang terlihat in vivo, ada kekurangan konsensus secara keseluruhan mengenai proporsi spesifik dari konstituen ini satu sama lain. Hal ini berkontribusi pada fakta bahwa komposisi SVFs bergantung pada berbagai faktor, seperti tempat isolasi adiposa, metode pemrosesan, dan status patologis pasien sendiri.



Gambar 1.6 Komposisi sel-sel penyusun SVF yang berperan pada mekanisme regenerasi. (Silva K.R, dkk 2015)

a. Sel endotelial

Salah satu ciri khas dari sel SVFs adiposa adalah kemampuannya untuk berkumpul sendiri menjadi karakteristik *in vivo* yang hierarkis, bercabang, dan perfusi yang berhubungan dengan kematangan vaskular. Sementara kemampuan ini membutuhkan interaksi yang diatur dengan hati-hati antara beberapa jenis sel, EC dalam SVFs sangat penting menunjukkan bahwa komunikasi antara SVFs EC dan jaringan ikat sekitarnya menentukan kecenderungan sel untuk berkembang biak dan membentuk lembaran, atau untuk berkumpul menjadi struktur seperti tabung.

Pengenalan kolagen interstisial ke biakan SVFs EC memicu pembentukan lapisan tunggal dan, dengan waktu yang cukup, pembentukan struktur seperti tabung. Namun, keberadaan kolagen membran dasar mendorong formasi seperti tabung SVFs EC selama proliferasinya menjadi lapisan tunggal. Untuk pembentukan pembuluh darah fungsional. Penemuan ini menunjukkan bahwa fenotipe EC SVFs yang dikultur diatur oleh jaringan ikat. (Maijub J.G., dkk., 2015)

b. Sel adiposit

Jenis sel parenkim kunci dalam jaringan adiposa adalah sel stroma yang diturunkan dari adiposa (juga dikenal sebagai sel induk yang diturunkan dari adiposa atau sel induk adiposa; ASC), yang juga dianggap sebagai subpopulasi MSC dari SVFs.

Selain fakta bahwa ASC muncul untuk mendapatkan keistimewaan kekebalan, sel-sel ini telah terbukti bermigrasi ke tempat-tempat cedera dan melepaskan sekresi parakrin yang mengurangi peradangan.⁵¹ Sifat ini telah terlihat baik dengan suntikan intraokular dan suntikan vena ekor, di mana sel-sel tersebut menstabilkan perkembangan diabetes yang diinduksi streptozotocin. retinopati⁵¹ dan yang terakhir mengurangi peradangan sistemik, meningkatkan toleransi glukosa, mempertahankan massa sel β pankreas, dan meningkatkan proliferasi sel β dalam menghadapi pengobatan streptozotocin. (Kono T.M., dkk., 2014)

ASC juga telah terbukti memainkan peran penting dengan pembuluh darah. Ketika ditempatkan dengan EC microvessel manusia, ASC meningkatkan perakitan dan stabilitas jaringan endotel. Selain itu, karena ASC menunjukkan kelimpahan variabel — jaringan adiposa putih (WAT) diperkaya dengan ASC, misalnya sumber SVF dan subpopulasinya perlu dipertimbangkan. (Merfeld-Clauss S., dkk., 2014)

c. Sel makrofag, monosit dan imun

SVFs adiposa mengandung sebagian besar sel yang terlibat dalam fungsi imunoregulasi dan remodeling vaskular juga. Kedua fungsi tersebut memainkan peran penting dalam kemampuan SVFs untuk berkumpul sendiri menjadi pembuluh darah yang matang. Misalnya, upaya Navarro et al. menunjukkan bahwa monosit adiposa berkontribusi pada angiogenesis dan bahkan berdiferensiasi menjadi

EC. EC yang diturunkan dari monosit ini kemudian dimasukkan ke dalam jaringan vaskular yang berkembang.

Meskipun mereka menyimpulkan bahwa monosit adiposa mungkin merupakan sumber sel angiogenik baru, tidak jelas apakah fenotipe monosit ini biasanya termasuk dalam isolasi SVFs adiposa, karena yang lain telah menunjukkan bahwa SVFs adiposa tanpa EC tidak dapat membentuk jaringan vaskular. Makrofag dari SVF yang disuntikkan secara intravena ke dalam sirkulasi sistem ditemukan di lapisan adventitial arteri saphena, dan mengontrol tonus pembuluh darah arteri dengan cara yang bergantung pada H₂O₂. Jadi, ada kemungkinan bahwa makrofag ini dapat mengontrol tonisitas pembuluh darah yang diturunkan dari SVFs dengan cara yang sama. (Cawthorn W.P., dkk., 2012)

4. Mekanisme Kerja SVF

Sel induk / stroma turunan adiposa (ADSC) pertama kali dikarakterisasi pada tahun 2001, dan sejak itu telah dipelajari secara luas dan digunakan sebagai sumber utama sel dengan potensi regeneratif, dengan karakteristik yang mirip dengan sel induk / stroma mesenkimal (MSC). ADSC diisolasi sebagai bagian dari fraksi air yang berasal dari pencernaan enzimatis lipoaspirate (produk sedot lemak). Fraksi berair ini, kombinasi ADSC, sel prekursor endotel (EPC), sel endotel (EC), makrofag, sel otot polos, limfosit, pericytes, dan pra-adiposit antara lain, adalah apa yang dikenal sebagai fraksi vaskular

stroma (SVF).). ADSC, seperti MSC, telah menunjukkan harapan dalam pengobatan regeneratif dan rekonstruktif. Kemajuan terbaru di bidang regenerasi jaringan telah menempatkan SVF setara dan bahkan di atas ADSC. (Polly, S. dkk., 2019)

Keuntungan SVF dibandingkan ADSC diyakini ada di dua area fundamental. Pertama, meskipun serupa dalam sifat seperti imunomodulasi, anti-inflamasi, angiogenesis, dan sebagainya, komposisi seluler SVF yang berbeda dan heterogen mungkin bertanggung jawab untuk hasil terapeutik yang lebih baik yang diamati dalam studi hewan komparatif. Kedua, tidak seperti ADSC, SVF jauh lebih mudah diperoleh, tanpa memerlukan pemisahan sel atau kondisi kultur. Jadi, produk seluler terapeutik diperoleh secara instan dan memiliki kontak minimal dengan reagen sehingga secara komparatif lebih aman dan tunduk pada pemenuhan kriteria peraturan yang lebih rendah. Perlu dicatat bahwa, sementara ADSC menemukan kegunaan baik dalam pengobatan alogenik dan autologus, SVF, karena adanya berbagai jenis sel yang diketahui menyebabkan penolakan imunologis, cocok untuk pengobatan autologus saja. (Oberbauer E ,. dkk., 2015)

Kapasitas regeneratif SVF kemungkinan besar berasal dari heterogenitas konstituennya yang menyediakan banyak mekanisme untuk terjadinya regenerasi. SVF merupakan sumber nenek moyang dan sel punca, yang memiliki potensi untuk berdiferensiasi di sepanjang garis keturunan yang berbeda. Sejumlah penelitian

sebelumnya telah mendemonstrasikan kemampuan sel yang ditemukan dalam SVF, termasuk makrofag M2, untuk berdiferensiasi menjadi jenis sel osteogenik, adipogenik, dan kondrogenik. Salah satu jenis sel yang paling melimpah adalah pradiposit, prekursor adiposit dewasa. Bukti terbaru menunjukkan bahwa sel ini, juga digambarkan sebagai sel stroma adiposa supra-adventitial atau sel adiposa yang berdiferensiasi, memiliki banyak penanda fenotipik dan karakteristik MSC yang sama, yang melibatkan keterlibatannya dalam regenerasi. SVF juga mengandung sel progenitor endotel (EPC), yang memiliki kapasitas untuk menginduksi angiogenesis melalui pelepasan faktor pertumbuhan seperti faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) dan faktor pertumbuhan mirip insulin-1 (IGF-1). (Guo, J., dkk., .2015)

Makrofag dan monosit yang ditemukan di SVF telah terbukti memediasi respons imun melalui ekspresi berbagai sitokin, 16 dan beberapa menunjukkan kepatuhan plastis dan kemampuan untuk diferensiasi multilineage yang terlihat pada ADSCs.¹² Makrofag ini dimodulasi oleh sel regulasi T, yang dapat memiliki sifat immunosupresif.¹⁷ Selain itu, pericytes yang ditemukan dalam SVF yang diturunkan dari adiposa telah dibuktikan dapat meregenerasi jaringan otot ketika disuntikkan ke otot tikus yang rusak, 18 dan sel stroma dapat mengeluarkan komponen matriks ekstraseluler yang dapat meningkatkan kapasitas umum untuk adhesi seluler, migrasi, selektif interaksi dan regenerasi. (Polly, S. dkk., 2019)

Mekanisme kerja utama didasarkan pada hubungan kompleks populasi sel heterogen SVF dengan sel penerima, yang mengarah pada stimulasi diferensiasi sel, angiogenesis, imunomodulator, efek antiapoptosis dan, karenanya, pemulihan sel dan jaringan yang rusak. Efek imunomodulator SVF ditentukan oleh keberadaan MSCs dan populasi sel imun. Mekanisme aksi mereka dalam hal ini dapat didasarkan pada homing dan diferensiasi menjadi sel-sel yang berdiferensiasi spesifik lokasi, stimulasi sel induk jaringan (SC) penerima, dan pada efek parakrin. Selain itu, efek parakrin dari MSCs dapat disediakan baik oleh interaksi langsung dengan SC penerima dan sel-sel sistem kekebalan (kontak sel-sel), dan oleh faktor-faktor yang dapat larut. MSC menghasilkan sejumlah besar faktor pertumbuhan dan sitokin dengan efek immunosupresif, antiapoptosis, antifibrotik, dan angiogenik. Mereka mampu menghambat aktivasi sel-sel stelat hati (sumber utama dari matriks ekstraseluler) dan menginduksi apoptosis yang dimediasi Fas / FasL. Namun, pada saat yang sama, data literatur tentang spektrum sitokin yang dilepaskan masih ambigu. (Rajashekhar G, dkk., 2014)

5. Peran Stromal Vascular Fraction terhadap Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka adalah proses yang sangat kompleks yang tetap menjadi tantangan utama dalam pengobatan modern. Di antara faktor-faktor yang berkontribusi terhadap kondisi non-penyembuhan ini, penurunan produksi sitokin dan penurunan vaskularisasi

memainkan peran penting. Sitoterapi berbasis sel induk mesenkim- (MSCs-) adalah pendekatan yang menarik dalam penyembuhan luka karena potensi diferensiasi, sifat imunomodulasi, dan efek parakrin dari MSC. Di antara MSC yang tersedia, sel induk yang diturunkan dari adiposa (ASC) merupakan kandidat yang menjanjikan untuk sitoterapi karena mereka dapat dengan mudah diambil dari jaringan adiposa dan jumlahnya melimpah. (El Husseny M.W., dkk., 2017)

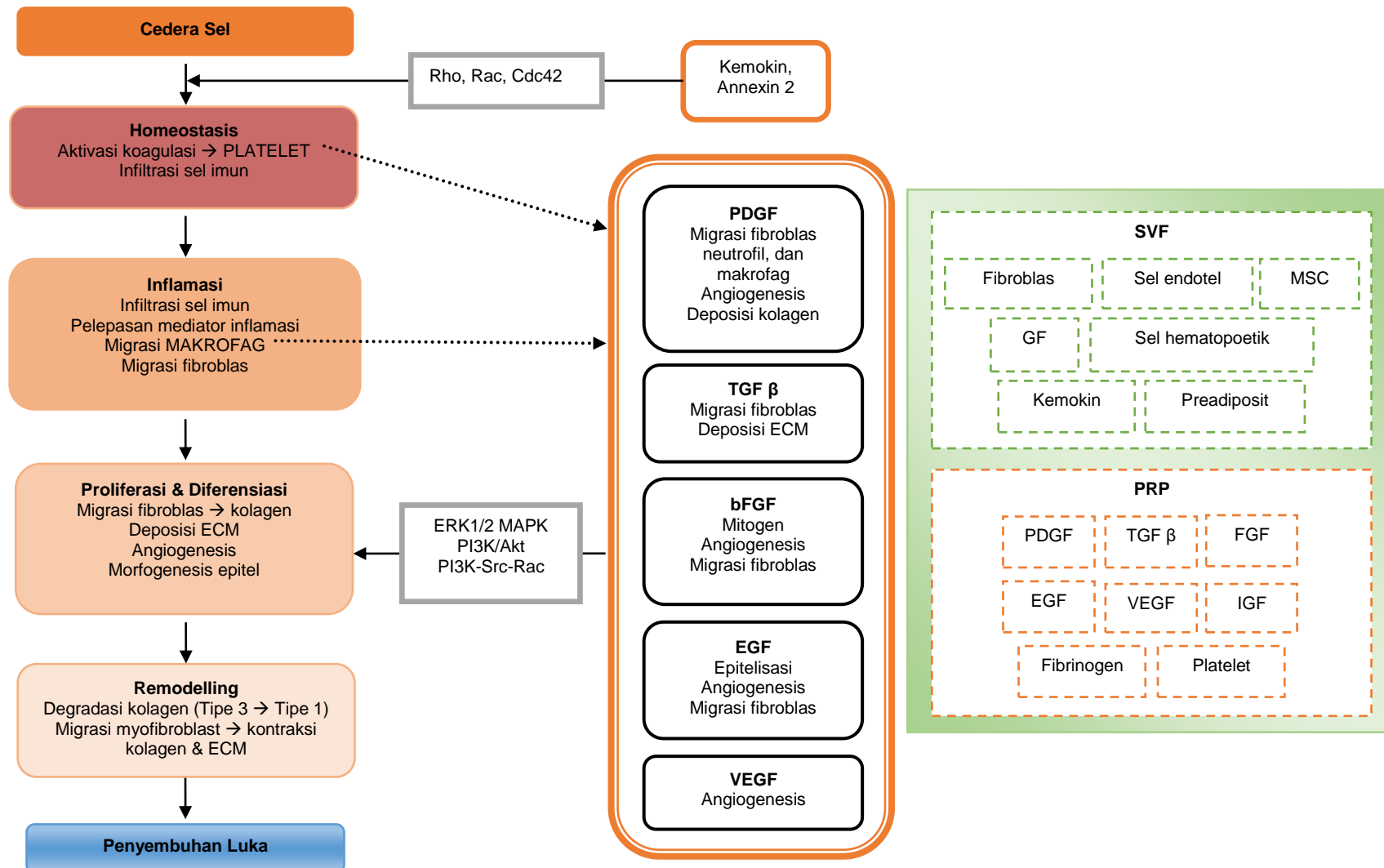
Slaresenko dkk memperoleh data yang menunjukkan jika produk seluler berkontribusi pada proses penyembuhan luka yang lebih cepat dan peningkatan pembentukan regenerator yang secara morfologis mirip dengan kulit utuh di sekitar luka (jika dibandingkan dengan kontrol). Dalam struktur regenerator, area yang direstorasi dari lapisan struktur kulit (epidermis, dermis, dan jaringan adiposit dermal) terungkap secara mikroskopis. Sebuah situs kecil dari struktur bekas luka cenderung tetap berada di bagian tengah regenerator, yang secara signifikan lebih kecil daripada di kontrol analog. Telah disimpulkan bahwa produk seluler memiliki potensi untuk meningkatkan proses regenerasi reparatif dan dapat efisien dalam penyembuhan luka kulit.

Sehubungan dengan penelitian ini, Sun dkk menunjukkan bahwa ekstrak gel ECM / SVF mendorong pembentukan tabung secara in vitro dan meningkatkan ekspresi faktor angiogenik VEGF dan bFGF dibandingkan dengan yang ada di kontrol. Ekspresi dari

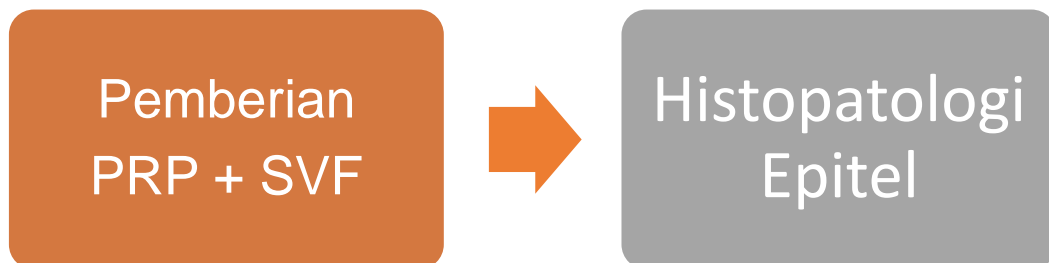
inflamasi chemoattractant MCP-1 tinggi pada gel ECM / SVF pada tahap awal dan menurun tajam selama tahap akhir penyembuhan luka. Efek angiogenik kuat yang diberikan oleh gel ECM / SVF dapat berkontribusi pada perbaikan penyembuhan luka, dan efek ini dapat dikaitkan dengan peningkatan respons inflamasi pada gel ECM / SVF selama tahap awal penyembuhan luka. (Sun, M., 2017)

Atalay dkk melakukan studi eksperimental pada wistar mous dengan menginduksi luka bakar ketebalan parsial dalam. Data mereka menunjukkan bahwa fraksi pembuluh darah stroma meningkatkan faktor pertumbuhan endotel pembuluh darah, indeks antigen inti sel berkembang biak, dan mengurangi peradangan pada luka bakar. Selanjutnya, aktivitas vaskularisasi dan fibroblastik dicapai lebih awal dan diamati pada tingkat yang lebih tinggi pada kelompok fraksi vaskular stroma. (Atalay, S., dkk., .2014

4.5. Kerangka Teori



4.6. Kerangka Konsep



Variabel Independen : Pemberian PRP & SVFs

Variabel dependen : Histopatologi EPITEL

2.4. Hipotesis

2.4.1. kombinasi PRP dan SVFs dapat mempercepat proses Epitelisasi penyembuhan trauma anus pada model tikus Wistar