

UNIVERSITAS INDONESIA

**KORELASI ANTARA *HEPATOCTYTE PROGENITOR CELL*
DENGAN *HAEMATOPOIETIC STEM CELL* BERDASARKAN
DERAJAT METAVIR DARI SEL HATI PENDERITA
HEPATITIS B KRONIK**

TESIS

**OKTO DEWANTORO
1206327481**

**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SUBSPELIALIS
PROGRAM STUDI ILMU PENYAKIT DALAM
JAKARTA
NOVEMBER 2014**

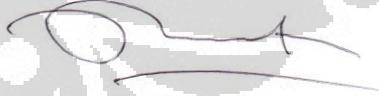
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar**

Nama : Okto Dewantoro

NPM : 1206327481

TandaTangan :



Tanggal : 20 November 2014

HALAMAN PENGESAHAN

Penelitian ini diajukan oleh :
Nama : dr. Okto Dewantoro, SpPD
NPM : 1206327481
Program Studi : Pendidikan Dokter Subspesialis
Ilmu Penyakit Dalam
Judul Penelitian :

Korelasi antara *Hepatocyte Progenitor Cell* dengan *Haematopoietic Stem Cell* Berdasarkan Derajat Metavir dari Sel Hati Penderita Hepatitis B Kronik

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Subspesialis pada Program Pendidikan Dokter Subspesialis Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

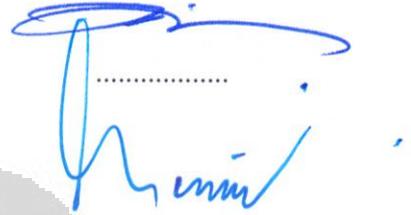
Pembimbing I : dr. Andri Sanityoso S., SpPD-KGEH
Pembimbing II: Dr. dr. Ari Fahrial Syam, SpPD-KGEH
Pembimbing Metode Penelitian :
Dr. dr. Suhendro, SpPD-KPTI
Tim Penguji : dr. E. Mudjaddid, SpPD-KPsi (Ketua)
: dr. Triyanta Yuli Pramana, SpPD-KGEH (Anggota)
: Prof. dr. Zuljasri Albar, SpPD-KR (Anggota)
: Dr. dr. C. Rinaldi Lesmana, SpPD-KGEH (Anggota)
: Dr. dr. Leonard Nainggolan, SpPD-KPTI (Anggota)
: dr. Cosphiadi Irawan, SpPD-KHOM (Anggota)

Ditetapkan di : Jakarta
Tanggal : 20 November 2014

INSTITUSI PENDIDIKAN

Kepala Departemen Ilmu Penyakit Dalam

Dr. dr. Imam Subekti, SpPD-KEMD



.....

Ketua Program Studi PPDS Ilmu Penyakit Dalam

dr. E. Mudjaddid, SpPD-KPsi

.....

Ketua Divisi Gastroenterologi

Dr. dr. Dadang Makmun, SpPD-KGEH



.....

Ketua Divisi Hepatologi

Dr. dr. Rino A. Gani, SpPD-KGEH



.....

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Kuasa atas rahmat dan penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ini.

Karya tulis ini disusun untuk memenuhi persyaratan guna menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Subspesialis Ilmu Penyakit Dalam peminatan Gastroentero-Hepatologi Departemen Ilmu Penyakit Dalam di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia / Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Dr. Cipto Mangunkusumo Jakarta (FKUI/RSCM).

Penulis menyadari bahwa pencapaian sampai saat ini, baik selama menjalani proses pendidikan di Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI/RSCM dan selama penulisan karya tulis ini tidak terlepas dari bimbingan, bantuan, kerjasama, dukungan dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. dr. Imam Subekti, SpPD-KEMD, FINASIM selaku Kepala Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI/RSCM
2. Dr. E. Mudjaddid, SpPD-Kpsi, FINASIM selaku Ketua Program Pendidikan Dokter Subspesialis Ilmu Penyakit Dalam FKUI/RSCM
3. Dr. dr. Dadang Makmun, SpPD-KGEH selaku ketua divisi Gastroenterologi Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI/RSCM
4. Dr. dr. Rino Alvani Gani, SpPD-KGEH selaku ketua divisi Hepatologi Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI/RSCM
5. Prof. dr. Marcellus Simadibrata, PhD, SpPD-KGEH selaku koordinator pendidikan subspesialis Gastroenterologi Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI/RSCM
6. Dr. Irsan Hasan, SpPD-KGEH selaku koordinator pendidikan subspesialis Hepatologi Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI/RSCM
7. Dr. dr. Andri Sanityoso, SpPD-KGEH, selaku pembimbing utama dalam karya tulis ini dan staf di divisi Hepatologi .
8. Dr. dr. Ari Fahrial Syam, SpPD-KGEH, MMB selaku pembimbing dalam karya tulis ini dan staf di divisi Gastroenterologi.

9. Dr. dr. Suhendro, SpPD-KPTI selaku pembimbing dalam karya tulis ini dan Koordinator Penelitian dan Pengembangan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI
10. Dr. Ening Krisnuhoni SpPA yang telah sangat membantu dalam penghitungan sampel preparat
11. Staf divisi Gastroenterologi : Prof. dr. Aziz Rani, SpPD-KGEH, Prof. Dr. dr. Daldiyono Hardjodisastro, SpPD-KGEH, Dr. dr. Murdani Abdullah, SpPD-KGEH, dr. Ahmad Fauzi, SpPD-KGEH, dr. Kaka Renaldi, SpPD, dr. Hasan Maulahela, SpPD, dr Amanda P. Oetari, SpPD
12. Staf divisi Hepatologi : Prof. Dr. dr. Nurul Akbar, SpPD-KGEH, Prof. Dr. dr. L.A. Lesmana, SpPD-KGEH, dr. Unggul Budi Husodo, SpPD-KGEH, Dr. dr. C. Rinaldi Lesmana, SpPD-KGEH, dr. Juferdi Kurniawan, SpPD-KGEH
13. Teman sejawat dalam Program Dokter Subspesialis Ilmu Penyakit Dalam peminatan Gastroentero-Hepatologi FKUI/RSCM yaitu dr. Titos Ahimsa, SpPD, dr. Taufiq, SpPD, dr. Ignasia Sinta Murti, SpPD, dr. Rini B, SpPD, dr. Rahman, SpPD, dr. Arles, SpPD, dr. Agustinus Taolin, SpPD, dr. Willy L, SpPD, dr. Darmadi, SpPD, dr. Agastja Wisnu, SpPD, dr. Suwito Indra, SpPD-KGEH, dr. Nella Suhuyanly., SpPD-KGEH, dr. Asep Syaiful Rohmat, SpPD-KGEH, dr. M. Yamin, SpPD-KGEH, dr. Azaky Abubakar, SpPDKGEH, dr. Ricky Tenggara, SpPDKGEH, dr Edi, SpPDKGEH, dr Maulana, SpPDKGEH
14. Seluruh peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis Penyakit Dalam yang bertugas di divisi Gastroenterologi dan divisi Hepatologi
15. Seluruh paramedis yang bertugas di poliklinik Gastroenterologi, poliklinik Hepatologi, ruang Pusat Endoskopi Saluran Cerna, ruang prosedur Hepatologi dan ruang perawatan gedung A.
16. Seluruh staf administrasi/sekretariat divisi Hepatologi Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI/RSCM.
17. Seluruh staf administrasi/sekretariat divisi Gastroenterologi Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI/RSCM.
18. Seluruh staf administrasi/sekretariat Program Pendidikan Dokter Subspesialis Departemen Penyakit Dalam FKUI/RSCM.
19. Seluruh staf administrasi/sekretariat Penelitian dan Pengembangan Departemen Penyakit Dalam FKUI/RSCM

20. Orang tua tercinta, Bapak Husodo Darussalam. dan Ibunda Suhermin dan Ibu mertua Kiswartini, istri tercinta Emmadewi Budiartini, dan anakku tersayang Iqlima Sarahdewi
21. Seluruh pasien RSCM
22. Semua pihak yang telah banyak membantu selama proses pendidikan dan penulisan karya tulis ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu

Akhir kata, penulis berharap karya tulis ini dan segala ilmu yang telah penulis pelajari selama pendidikan dokter subspesialis dapat bermanfaat bagi kemajuan ilmu kedokteran dan masyarakat. Semoga Tuhan membalas segala budi baik dan pengorbanan semua pihak yang telah terlibat dalam proses panjang ini.

Jakarta, 20 November 2014

Okto Dewantoro

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Okto Dewantoro
NPM : 1206327481
Program Studi : Pendidikan Dokter Subspesialis
Departemen : Ilmu Penyakit Dalam
Fakultas : Kedokteran Universitas Indonesia
Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti None eksklusif (Non-exclusive Royalty-Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

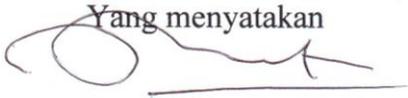
**KORELASI ANTARA *HEPATOCTYTE PROGENITOR CELL*
DENGAN *HAEMATOPOIETIC STEM CELL* BERDASARKAN
DERAJAT METAVIR DARI SEL HATI PENDERITA
HEPATITIS B KRONIK**

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non eksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : 20 November 2014

Yang menyatakan


(dr. Okto Dewantoro SpPD)

ABSTRAK

Nama : Okto Dewantoro
Program studi : Program Pendidikan Dokter Subspesialis Ilmu Penyakit Dalam
Judul : Korelasi antara *Hepatocyte Progenitor Cell* dengan *Haematopoietic Stem Cell* berdasarkan Derajat Metavir dari sel hati penderita Hepatitis B kronik

Latar Belakang : *Hepatocyte Progenitor Cell (HPC)* merupakan stem cell dari hati yang akan muncul bila terjadi kerusakan hati yang kronis hingga sirosis hati seperti pada penderita hepatitis B kronik. Aktifnya *HPC* sebagai usaha untuk meregenerasi sel hati akan diikuti oleh migrasi dari *Haematopoietic Stem Cell (HSC)* ke sel hati dengan tujuan membantu proses regenerasi sel hati

Tujuan : Penelitian ini bertujuan mengetahui adakah korelasi antara *HPC* dan *HSC* pada derajat Metavir baik nekroinflamasi ataupun fibrosis sebagai dasar untuk melakukan terapi stem cell pada penderita hepatitis B kronik dengan menggunakan *HPC* dan *HSC*.

Metode : Penderita hepatitis B kronik yang sudah memenuhi kriteria inklusi dan sudah menjalani biopsi hati diperiksa parafin bloknya kemudian dibagi berdasarkan derajat metavirnya yaitu ringan-sedang dan berat. Kemudian dilakukan pewarnaan immunohistokimia untuk *HPC* dengan CK-19 dan *HSC* dengan CD34+. setelah itu dihitung jumlah *HPC* dan *HSC* dan kemudian dianalisis datanya.

Hasil : Didapatkan 17 penderita dengan fibrosis ringan-sedang dan 13 dengan fibrosis berat, serta 21 dengan nekroinflamasi ringan-sedang dan 9 dengan nekroinflamasi berat. Pada fibrosis ringan-sedang dan berat didapatkan perbedaan kadar *HPC* yang signifikan dgn $p=0.003$ dan perbedaan kadar *HSC* yang signifikan dengan $p=0.001$. Pada nekroinflamasi ringan-sedang dan berat didapatkan perbedaan kadar *HPC* yang signifikan dengan $p=0.014$ dan perbedaan kadar *HSC* yang signifikan dengan $p=0.012$. Hanya korelasi antara *HPC* dan *HSC* pada fibrosis ringan-sedang yang signifikan dengan $p=0.003$

Kesimpulan : Rerata *HPC* dan *HSC* pada nekroinflamasi berat lebih tinggi dibandingkan pada nekroinflamasi ringan-sedang. Rerata *HPC* dan *HSC* pada fibrosis berat lebih tinggi dibandingkan pada fibrosis ringan-sedang Tidak didapatkan korelasi antara *HPC* dan *HSC* pada nekroinflamasi ringan-sedang dan berat. Terdapat korelasi antara *HPC* dengan *HSC* pada derajat fibrosis ringan-sedang. Tidak didapatkan korelasi antara *HPC* dan *HSC* pada derajat fibrosis berat.

Kata Kunci : *Hepatocyte Progenitor Cell*, *Haematopoietic Stem Cell*. Derajat Metavir

ABSTRACT

Name : Okto Dewantoro
The program of study : Education Program subspecialis Doctor of Internal Medicine
Title : Correlation between Hepatocyte Progenitor Cell (HPC) with Haematopoietic Stem Cell (HSC) based Metavir degree of liver cells of patients with chronic hepatitis B

Background :

Hepatocyte progenitor Cell (HPC) is a stem cell from the liver that will arise in the event of chronic liver damage such as chronic hepatitis B to cirrhosis of the liver. HPC as an active attempt to regenerate liver cells followed by migration of Haematopoietic Stem Cell (HSC) to liver cells with the goal of helping the regeneration of liver cells.

Aims :

This study aims to determine the correlation between HPC and HSC as the basis for the conduct of stem cell therapy in patients with chronic hepatitis B by using the HPC and HSC.

Methods:

Patients with chronic hepatitis B who meet the inclusion criteria which had undergone liver biopsies examined paraffin blocks which divided by degrees of metavir as mild and severe. Then performed immunohistochemical staining for HPC with CK-19 and HSC with CD34+ .After the calculated amount of HPC and HSC and then analyzed the data.

Results:

There were 17 patients with mild-moderate fibrosis and 13 with severe fibrosis, and 21 with mild-moderate nekroinflamasi and 9 with severe nekroinflamasi. In mild-moderate and severe fibrosis obtained mean significant HPC with $p = 0.003$ and mean significant HSC with $p = 0.001$. In nekroinflamasi obtained mean mild-moderate and severe HPC significant with $p = 0.014$ and the mean HSC significant with $p = 0.012$. There is a statistically significant correlation between HPC and HSC on mild-moderate fibrosis with $p = 0.003$.

Conclusions:

Average of HPC and HSC in severe nekroinflamasi is higher than in mild - moderate nekroinflamasi . Average of HPC and HSC in severe fibrosis is higher than in mild - moderate fibrosis There were no correlation between HPC and HSC on nekroinflamasi mild- moderate and severe . There is a correlation between HSC and HPC in the mild - moderate fibrosis . There were no correlation between HPC and HSC on the degree of severe fibrosis .

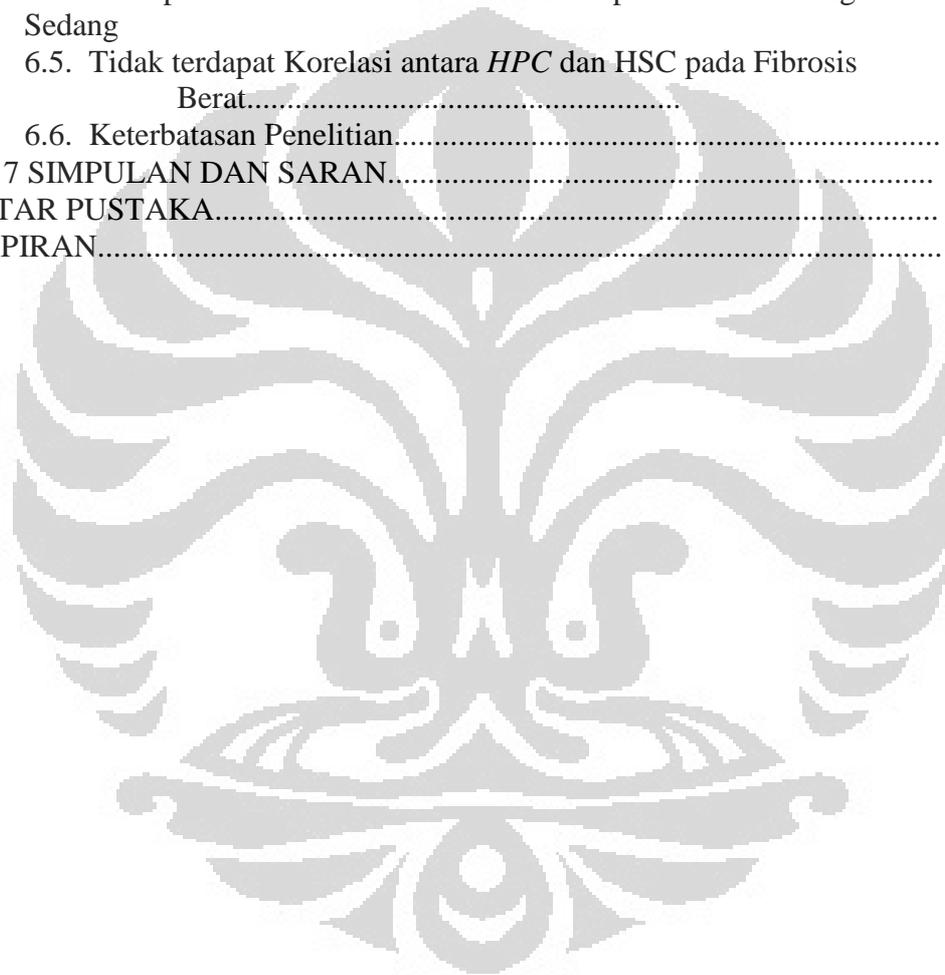
Key Word :

Hepatocyte Progenitor Cell, Haematopoietic Stem Cell. Metavir Stage.

DAFTAR ISI

JUDUL PENELITIAN.....	i
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	viii
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR DAN TABEL.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang masalah.....	1
1.2 Identifikasi Masalah.....	3
1.3 Pertanyaan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Tujuan Penelitian.....	5
1.5.1. Tujuan Umum.....	4
1.5.2. Tujuan Khusus.....	5
1.6 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Virus Hepatitis B.....	6
2.2. Inflamasi dan Fibrosis pada Penyakit Hati Kronik.....	8
2.3. Hepatic Stellate Cells (<i>HSCs</i>).....	9
2.4. Metavir.....	11
2.5. Hepatosit.....	11
2.6. <i>Hepatocyte Progenitor Cell (HPC)</i>	12
2.7. <i>Haematopoietic Stem Cell (HSC)</i>	15
2.7. Kerangka teori.....	17
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN DEFINISI OPERASIONAL.....	18
3.1. Kerangka Konsep.....	18
3.2. Definisi Operasional.....	19
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN.....	21
4.1. Desain Penelitian.....	21
4.2. Tempat dan waktu Penelitian.....	21
4.3. Populasi target dan Populasi Terjangkau.....	21
4.4. Sampel.....	21
4.5. Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	22
4.6. Identifikasi Variabel Penelitian.....	22
4.7. Cara Pengambilan Sampel.....	23
4.8. Alur Penelitian.....	23
4.9. Cara kerja Penelitian.....	24
4.10. Pengolahan dan Analisis Data.....	24
4.12. Masalah Etika.....	24
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	25

BAB 6 PEMBAHASAN.....	28
6.1. Rerata <i>HPC</i> dan HSC pada Nekroinflamasi Ringan-Sedang dan Berat.....	28
6.2. Rerata <i>HPC</i> dan HSC pada Fibrosis Ringan-Sedang dan Berat	29
6.3. Tidak terdapat Korelasi antara <i>HPC</i> dan HSC pada Nekroinflamasi Ringan-Sedang dan Berat	29
6.4. Terdapat Korelasi antara <i>HPC</i> dan HSC pada Fibrosis Ringan-Sedang	30
6.5. Tidak terdapat Korelasi antara <i>HPC</i> dan HSC pada Fibrosis Berat.....	31
6.6. Keterbatasan Penelitian.....	31
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN.....	32
DAFTAR PUSTAKA.....	33
LAMPIRAN.....	36



DAFTAR GAMBAR DAN TABEL

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Algoritme perjalanan infeksi VHB.	8
Gambar 2.2. Normal hati dan Hati sesudah inflamasi	9
Gambar 2.3. Proses Inflamasi dan Respon <i>Stellate cell</i> .	10
Gambar 5.1. Diagram Tebar <i>HPC</i> dan <i>HSC</i>	27

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1. Sebaran Karakteristik Subjek berdasarkan jenis kelamin dan Usia	25
Tabel 5.2. Sebaran subyek berdasarkan Nekroinflamasi dan Fibrosis (Derajat Metavir)	25
Tabel 5.3. Sebaran subyek berdasarkan ringan-sedang - beratnya Fibrosis dan Nekroinflamasi	26
Tabel 5.4. Rerata <i>HPC</i> dengan <i>HSC</i> pada Nekroinflamasi Ringan-Sedang dan Berat	26
Tabel 5.5. Rerata <i>HPC</i> dengan <i>HSC</i> pada Fibrosis Ringan-Sedang dan Berat	26
Tabel 5.6. Korelasi <i>HPC</i> dan <i>HSC</i> pada Fibrosis Ringan-Sedang	27
Tabel 5.7. Korelasi <i>HPC</i> dan <i>HSC</i> pada Nekroinflamasi Ringan-Sedang	27
Tabel 5.8. Korelasi <i>HPC</i> dan <i>HSC</i> pada Nekroinflamasi Berat	27
Tabel 5.9. Korelasi <i>HPC</i> dan <i>HSC</i> pada Fibrosis Berat	27

DAFTAR SINGKATAN

GF = Growth Factor

HGF = Hepatocyte Growth Factor

HPC = Hepatocyte Progenitor Cell

HSC = Haematopoietic Stem Cell-

IL = InterLeukin

INF = Interferon

MMP=MatrixMetalloProteinase

OC = Oval Cell

OSM = Oncostatin M

PDGF= Platelet Derived Growth Factor

SDF = Stromal Derived Factor

TGF =Transforming Growth Factor

TNF = Tumor Necrocing Factor

VEGF = Vasculo Endothelial Growth Factor

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit hati kronik terutama yang disebabkan oleh virus Hepatitis B adalah penyakit yang sering dan berat serta memiliki konsekuensi klinik yang timbul dari hilangnya fungsi dari hepatosit dan terbentuknya skar yang cepat. Timbulnya skar ini didahului dan dipicu oleh adanya proses nekroinflamasi di jaringan hati yang menyebabkan terjadinya perubahan pada sel hati yaitu mulai timbulnya fibrosis. Dalam perkembangannya fibrosis ini ternyata berkembang menjadi lebih buruk yaitu terjadinya sirosis hati. Perjalanan fibrosis dari yang ringan hingga yang berat diikuti dengan makin berkurangnya sel hati yaitu hepatosit. Berkurangnya hepatosit ini sejalan dengan makin beratnya fibrosis pada organ hati itu sendiri, selanjutnya hepatitis kronik akan berkembang menjadi hepatitis *compensated* dan *decompensated*.^{1,2}

Organ hati sesungguhnya memiliki kemampuan untuk memperbaiki diri sendiri (*self renewal*),²⁻¹⁰ dan pada beberapa penelitian dimana dilakukan hepatektomi parsial sebanyak 2/3 dari hati,^{3,4,5,6} maka hepatosit yang tersisa ternyata mampu untuk membentuk kembali organ hati secara utuh dan sempurna. Kemampuan hepatosit untuk melakukan *self renewal* ternyata berbeda pada keadaan penyakit hati kronik seperti pada fibrosis hati karena infeksi virus baik Virus Hepatitis B (VHB) ataupun Virus Hepatitis C (VHC), alkohol dan *hemacromatosis*. Pada keadaan dimana hepatosit tidak mampu lagi untuk melakukan perbaikan hati maka kemampuan tersebut akan diambil alih oleh *Hepatocyte Progenitor cell (HPC)*.
2-13

Hepatocyte Progenitor Cell (HPC) adalah suatu sel punca yang terdapat didalam organ hati sendiri dan hanya akan muncul bila hepatosit gagal atau tidak mampu lagi untuk melakukan perbaikan terhadap kerusakan yang terjadi pada hati. Pada hati, *HPC* terdapat di daerah *Canal of Hering* dan berada dalam keadaan *quiescent* atau dorman hingga terdapat signal adanya kegagalan hepatosit yang kemudian akan menyebabkan *HPC* melakukan diferensiasi atau memperbanyak diri

sehingga memiliki jumlah yang cukup untuk dapat menggantikan peran hepatosit sehingga kerusakan yang terjadi dan proses fibrosis dapat dihentikan.²⁻¹³

Adanya penyakit hati kronik disertai kegagalan dari hepatosit untuk pertahanan juga akan menyebabkan Bergeraknya terutama *Haematopoietic Stem Cell (HSC)* menuju sel hati untuk membantu perbaikan,^{14,15} dan ditemukannya *HSC* pada sel hati membuktikan adanya migrasi ini. Peran *HSC* pada kondisi ini adalah dengan melakukan perbaikan dan duplikasi hepatosit melalui fusi sel, membantu diferensiasi *HPC* dan membantu mengurangi fibrosis pada sel hati dengan membentuk *Matrixmetaloproteinase (MMP)*.¹⁴⁻¹⁹ Pada kebanyakan kasus penyakit hati kronis yang disertai fibrosis peran dari *HPC* dan *HSC* tampaknya tidak berjalan maksimal karena didapatkan proses fibrosis yang terus berjalan ke arah yang lebih berat (dari *compensated* berkembang menjadi *decompensated*)

Sel hati pada akhirnya akan mengalami fibrosis karena proses fibrogenesis lebih besar dan cepat daripada proses fibrolisis matrik yang biasanya akan terjadi pada penyakit kronik dimana skar yang timbul akan berlangsung terus menerus. Derajat dari fibrosis ini kemudian dapat dikelompokkan menjadi 4 skala yang disebut dengan Skala Metavir. Metavir adalah sistem skoring yang biasa dipakai pada hepatitis kronik untuk menilai nekroinflamasi dan fibrosis pada sel hati.²⁰

Semakin berat fibrosis semakin hilang kemampuan hepatosit untuk regenerasi sehingga hati semakin membutuhkan bantuan baik dari dalam hati sendiri yaitu dengan *HPC* ataupun dari luar sel hati yaitu *HSC*, dalam hal ini akan semakin banyak *HPC* di hasilkan dan semakin banyak pula migrasi dari *HSC* ke dalam hati. *HPC* akan menghasilkan *Hepatocyte Growth Factor (HGF)* dan juga *Vasculo Endothelial Growth Factor (VEGF)* dimana keduanya akan membantu proses regenerasi hati. *HSC* juga akan menghasilkan *HGF* dan *VEGF* yang akan membantu *HPC* dalam regenerasi hati disamping itu *HSC* juga akan berkembang menjadi hepatosit baik melalui fusi sel ataupun berdiferensiasi. *HSC* juga memberikan kontribusi melalui produksi *MMP* sehingga akan memudahkan terjadinya fibrolisis yang mana akan memudahkan penyebaran hepatosit baru ke dalam hati. Pada penelitian yang dilakukan secara terpisah pemberian *HGF* intra vena terbukti meningkatkan jumlah hepatosit dan pemberian *HSC intra vena* meningkatkan *MMP* secara *invivo*.

Beberapa peneliti yang melakukan injeksi autologus sel punca yaitu mengambil dan memperbanyak sel punca yang berasal dari jaringan lemak dan BM dimana bila sudah mencapai jumlah tertentu ($>10^9$) akan dimasukkan kembali

kedalam tubuh, akan tetapi sampai saat ini belum memberikan keberhasilan yang signifikan.²¹

Secara *invivo* pemberian interferon dan *Nucleoside Analog* (NA) pada penderita hepatitis B kronik akan memberikan perbaikan baik nekroinflamasi dan fibrosis ataupun perbaikan *Child Pugh Score*, hal ini akan berdampak pada terkontrolnya fibrosis hati sehingga dapat mencegah perburukan menjadi *Decompensated Cirrhosis*. Perbaikan yang terjadi terutama pada *Compensated Cirrhosis* dimana semua penelitian menunjukkan perbaikan baik dari histologi maupun dari laboratorium. Sedangkan pada *Decompensated Cirrhosis* belum ada data yang signifikan dan tetap, misal berapa penurunan *Child Pugh Score* dan berapa perbaikan derajat fibrosisnya setelah pemberian terapi. Beberapa penelitian melaporkan dimana pemberian NA pada penderita sirosis hati dekompensasi selama 5 tahun dilaporkan memberikan sedikit penurunan derajat fibrosis, tetapi beberapa peneliti mendapatkan penurunan yang tidak signifikan.^{22,23,24} Adanya *HPC* dan *HSC* ini sebagai sel punca difikirkan untuk digunakan pada terapi sirosis terutama sirosis dekompensasi.

Adanya *HPC* yang merupakan sel punca alami dari sel hati serta adanya *HSC* di sel hati disertai adanya penelitian yang mendukung seperti pemberian *HGF* yang meningkatkan jumlah *HPC* juga pemberian *GF* yang akan meningkatkan *HSC* dan selanjutnya akan meningkatkan *MMP* sehingga secara bersama sama akan memberikan regenerasi pada sel hati menimbulkan pemikiran untuk melakukan terapi pada penyakit hati kronik dengan menggunakan sel sel tersebut sebagai sel punca untuk melakukan terapi. Oleh sebab itu adanya data mengenai berapa jumlah *HPC*, berapa jumlah *HSC*, apakah derajat nekroinflamasi dan fibrosis mempengaruhi, apakah terdapat hubungan antara *HPC* dan *HSC*, kapan *GF* dapat diberikan, dan adakah faktor lain yang mempengaruhi merupakan informasi dasar yang ingin diketahui .

1.2. Identifikasi Masalah

Berdasarkan uraian diatas ternyata pada keadaan fibrosis karena penyakit hati kronis terdapat mekanisme regenerasi yang berasal dari sel punca hati sendiri yaitu *HPC* maupun oleh sel punca ekstra hati yaitu *HSC*. Tetapi belum diketahui berapa jumlah *HPC* dan *HSC* pada kondisi nekroinflamasi dan fibrosis baik yang ringan-sedang atau yang berat. Karena itu dipandang perlu untuk mengetahui jumlah rerata

dan korelasi antara *HPC* dengan *HSC* berdasarkan derajat Metavir baik nekroInflamasi ataupun fibrosis penderita hepatitis B kronik sebagai dasar untuk melakukan terapi sel punca selanjutnya.

1.3. Pertanyaan Penelitian

1. Apakah terdapat perbedaan rerata sel *HPC* dan *HSC* pada nekroinflamasi ringan-sedang dan nekroinflamasi berat sel hati penderita hepatitis B kronik?
2. Apakah terdapat perbedaan rerata sel *HPC* dan *HSC* pada fibrosis ringan-sedang dan fibrosis berat sel hati penderita hepatitis B kronik?
3. Apakah terdapat korelasi antara jumlah sel *HPC* dengan jumlah sel *HSC* pada derajat nekroinflamasi ringan-sedang dan nekroinflamasi berat sel hati penderita hepatitis B kronik?
4. Apakah terdapat korelasi antara jumlah sel *HPC* dengan jumlah sel *HSC* pada derajat fibrosis ringan-sedang dan fibrosis berat sel hati penderita hepatitis B kronik?

1.4. Hipotesis Penelitian

1. Terdapat perbedaan rerata sel *HPC* dan sel *HSC* pada nekroinflamasi ringan-sedang dan nekroinflamasi berat sel hati penderita Hepatitis B kronik.
2. Terdapat perbedaan rerata sel *HPC* dan sel *HSC* pada derajat fibrosis ringan-sedang dan fibrosis berat sel hati penderita Hepatitis B kronik.
3. Terdapat korelasi antara jumlah sel *HPC* dengan jumlah sel *HSC* pada derajat nekroinflamasi ringan-sedang dan nekroinflamasi berat sel hati penderita Hepatitis B kronik.
4. Terdapat korelasi antara jumlah sel *HPC* dengan jumlah sel *HSC* pada derajat fibrosis ringan-sedang dan fibrosis berat sel hati penderita Hepatitis B kronik.

1.5. Tujuan Penelitian

1.5.1. Tujuan Umum

Mendapatkan jumlah rerata dan korelasi antara *HPC* dengan *HSC* pada derajat Metavir Ringan-Sedang dan Berat penderita Hepatitis B kronik

1.5.2. Tujuan khusus

1. Mendapatkan rerata antara jumlah sel *HPC* dengan jumlah sel *HSC* pada nekroinflamasi ringan-sedang dan nekroinflamasi berat sel hati penderita Hepatitis B kronik.
2. Mendapatkan rerata antara jumlah sel *HPC* dengan jumlah sel *HSC* pada derajat fibrosis ringan-sedang dan fibrosis berat sel hati penderita Hepatitis B kronik.
3. Mendapatkan korelasi antara jumlah sel *HPC* dengan jumlah sel *HSC* pada derajat nekroinflamasi ringan-sedang dan nekroinflamasi berat sel hati penderita Hepatitis B kronik.
4. Mendapatkan korelasi antara jumlah sel *HPC* dengan jumlah sel *HSC* pada derajat fibrosis ringan-sedang dan fibrosis berat sel hati penderita Hepatitis B kronik.

1.6. Manfaat Penelitian.

1. Bagi ilmu pengetahuan : Hasil penelitian ini diharapkan dapat melengkapi patofisiologi yang sudah ada dan menjadi data yang bermanfaat bagi penelitian selanjutnya, yang bertujuan mengembangkan terapi baku pada penderita hepatitis B kronik terutama dengan menggunakan sel punca dari sel hati yaitu *HPC* dan sel punca ekstra hati yaitu *HSC*.
2. Bagi peneliti : Hasil penelitian ini akan memberi pemahaman lebih baik mengenai regenerasi sel hati pada hepatitis B kronik, sel punca dan kemungkinan terapi menggunakan sel punca dimasa depan serta membuka jalan bagi penelitian selanjutnya.
3. Bagi pasien dan masyarakat : Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk mengembangkan sistem terapi yang lebih baik dan bermanfaat bagi penderita hepatitis B kronik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Virus Hepatitis B .(VHB).

2.1.1. Epidemiologi

Infeksi virus hepatitis B telah menjadi masalah kesehatan yang serius bagi masyarakat dunia diperkirakan terdapat lebih dari 2 Milyard orang terinfeksi di seluruh dunia dan sekitar 400 juta orang yang terinfeksi kronik. dan sekitar 220 juta terdapat di Asia, diperkirakan sekitar 500ribu orang penderita meninggal akibat infeksi virus ini setiap tahunnya.²⁵ Prevalensi yang lebih tinggi didapatkan di Negara berkembang termasuk Indonesia, di Indonesia angka pengidap hepatitis diperkirakan mencapai 4.0 – 20.3% dengan proporsi pengidap di luar pulau jawa lebih tinggi daripada di pulau Jawa.²⁶ Di Indonesia prevalensi infeksi virus hepatitis B ini diperkirakan berada diantara tingkat endemitas tinggi dan sedang dengan frekuensi HBsAg dalam populasi berkisar antara 2-10% dan 10-15% pada masing masing daerah.

Infeksi VHB ini dapat berkembang menjadi sirosis dan *Hepatocelular carcinoma(HCC)* bila tidak diterapi dengan tepat. Insiden kumulatif 5 tahun sirosis pada pasien hepatitis B yang tidak diterapi dengan menunjukkan angka 8-20% dengan 20% dari jumlah itu akan berkembang menjadi sirosis hati dekompensata dalam 5 tahun berikutnya.. Sementara insiden *karsinoma hepatoselular* pada pasien yang sudah mengalami srosis mencapai 21% dalam pantauan selama 6 tahun.²⁶

Infeksi Hepatitis B ini endemis terutama di Asia dengan prevalensi rata rata kategori tinggi sekitar 16%. WHO telah membagi infeksi VHB ini menjadi tiga daerah endemis yaitu endemis tinggi, sedang dan rendah. Yang termasuk daerah endemis tinggi seperti Asia dan Afrika sekitar 8%, endemis sedang daerah Timur Tengah, dan eropa timur serta mediteranian antara 2% - 8%. Daerah endemitas rendah seperti US, Australia, Eropa Barat dan Amerika selatan kurang dari 2%. Di Indonesia prevalensi infeksi virus hepatitis B ini diperkirakan berada diantara tingkat endemitas tinggi dan sedang dengan frekuensi HBsAg dalam populasi berkisar antara 2-10% dan 10-15% pada masing masing daerah.²⁵

2.1.2. Perjalanan Penyakit VHB

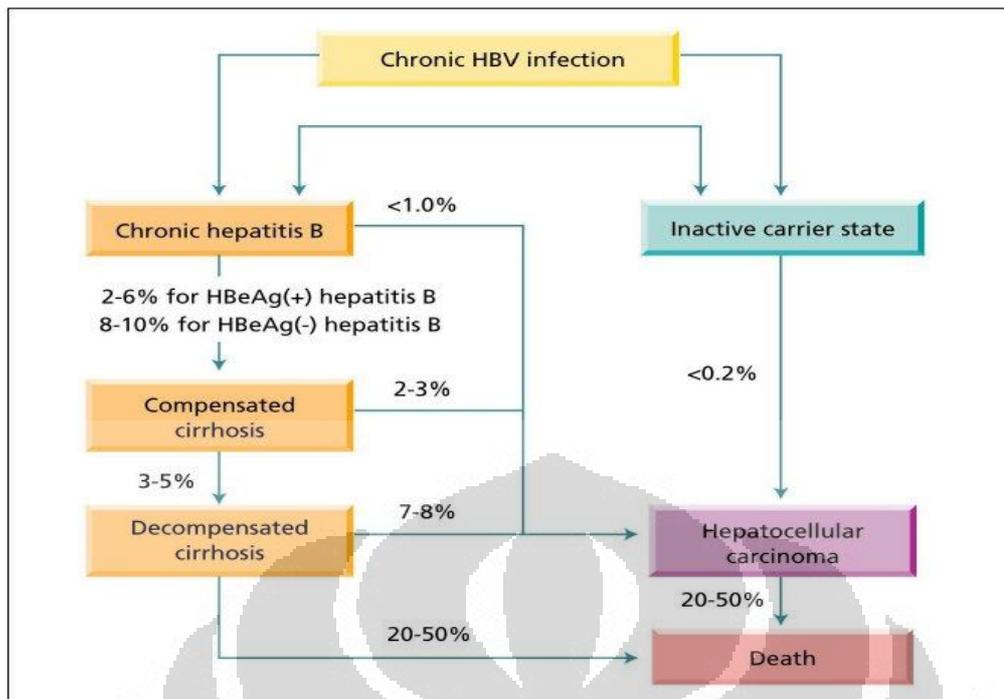
Perjalanan VHB akan melalui 2 tahap yaitu fase akut dan fase kronik. Pada fase akut dalam waktu 6 bulan sejak mulai terpajan hepatitis sebagian (95%) akan sembuh spontan dan akan membentuk kekebalan terhadap penyakit ini. Sedangkan fase akut yang tidak terjadi kesembuhan setelah 6 bulan (5%) akan berkembang dan masuk dalam fase kronik.^{25,26}

Fase kronik akan terdiri dari 4 fase yaitu fase *immune tolerant*, fase *immune clearance*, fase pengidap inaktif dan fase reaktifasi. Fase *immune tolerant* ditandai oleh kadar DNA-VHB yang tinggi dengan kadar SGPT yang normal. Fase *immune clearance* ditandai dengan berfluktuasinya kadar SGPT dan DNA –VHB yang menandakan usaha sistem imun untuk melawan virus. Setelah fase ini penderita dapat berkembang menjadi fase pengidap inaktif yang ditandai dengan rendahnya kadar DNA-VHB (<2000 IU/ml), SGPT normal dan kerusakan hati yang minimal. Dalam perjalanan penyakitnya penderita fase inaktif ini dapat mengalami fase reaktifasi dimana DNA VHB kembali >2000 IU/ml dan proses inflamasi pada hati terjadi lagi.^{25,26}

Hepatitis B kronik apabila tidak mendapatkan pengobatan yang baik maka jaringan hati dapat berkembang menjadi sirosis yang terdiri dari sirosis terkompensasi (pada awalnya) dan sirosis tidak terkompensasi (sirosis lanjut). Dari sudut klinik sirosis terkompensasi ini masih linear dengan kriteria *Child Pugh A* hingga awal *Child Pugh B*, sedangkan sirosis tidak terkompensasi linear dengan *Child Pugh C*.

Pada sirosis terkompensasi terapi dapat diberikan baik injeksi dengan Interferon (INF) maupun peroral dengan Nukleoside Analog (NA), sedangkan pada sirosis tidak terkompensasi pengobatan hanya dapat diberikan dengan NA.

Penelitian menunjukkan bahwa terapi pada keadaan awal yaitu pada hepatitis kronik dan sirosis terkompensasi akan memberikan hasil yang baik terutama pada fibrosis jaringan hati dimana terdapat penurunan yang cukup signifikan dari fibrosisnya. Sedangkan pengobatan pada sirosis tidak terkompensasi saat ini belum memberikan hasil sebaik pada awal penyakit ataupun pada sirosis terkompensasi.



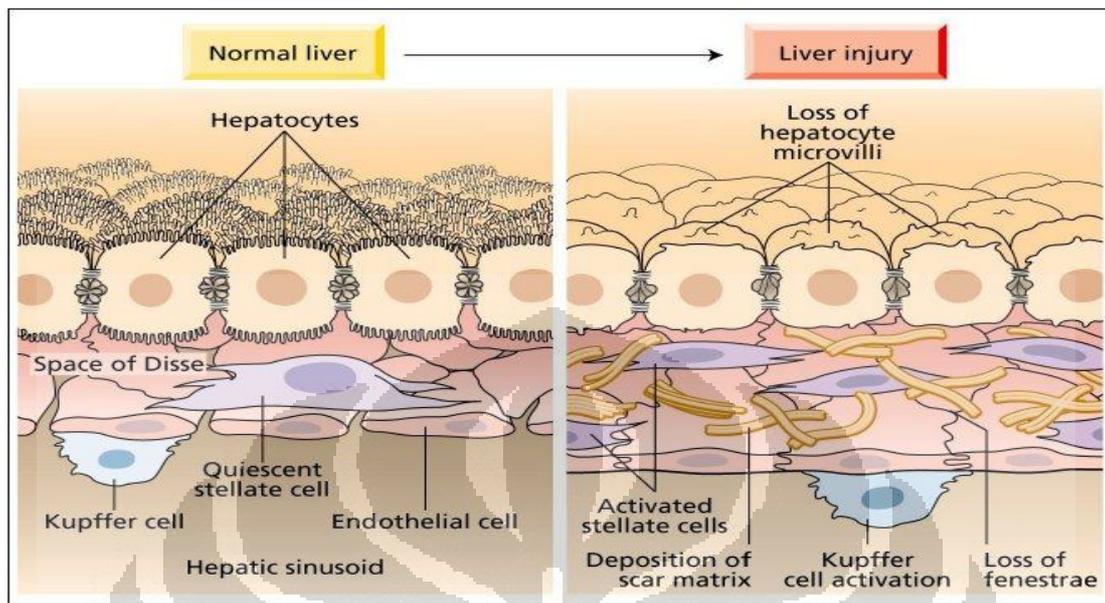
From: Dooley (ed.) *Sherlock's Diseases of the Liver and Biliary system* (12th edn) © 2011 by Blackwell publishing Ltd.

Gambar 2.1: Algoritme perjalanan infeksi VHB.

2.2. Inflamasi dan Fibrosis pada Penyakit Hati Kronik.

Fibrogenesis adalah respon penyembuhan terhadap luka atau trauma yang bersifat alami. Jaringan ikat yang dihasilkan merupakan suatu usaha untuk menghentikan dan membatasi daerah kerusakan. Perubahan dari normal hati menjadi fibrosis dan kemudian sirosis merupakan proses yang kompleks yang melibatkan komponen-komponen utama seperti perenkimal hati dan nonparenkimal hati, sistem imun, sitokin, proteinase dan inhibitorynya. Fibrosis sendiri akan terakumulasi dengan waktu tetapi prosesnya sendiri tidaklah berjalan linear dan dapat berbeda secara signifikan antara individual. Progresivitas fibrosis akan berguna untuk memperkirakan hasil terapi pasien penyakit hati.¹

Pada gambar dibawah ini tampak perbedaan jaringan hati yang normal di sebelah kiri dan jaringan hati dengan fibrosis.



From: Dooley (ed.) *Sherlock's Diseases of the Liver and Biliary system* (12th edn) © 2011 by Blackwell publishing Ltd.

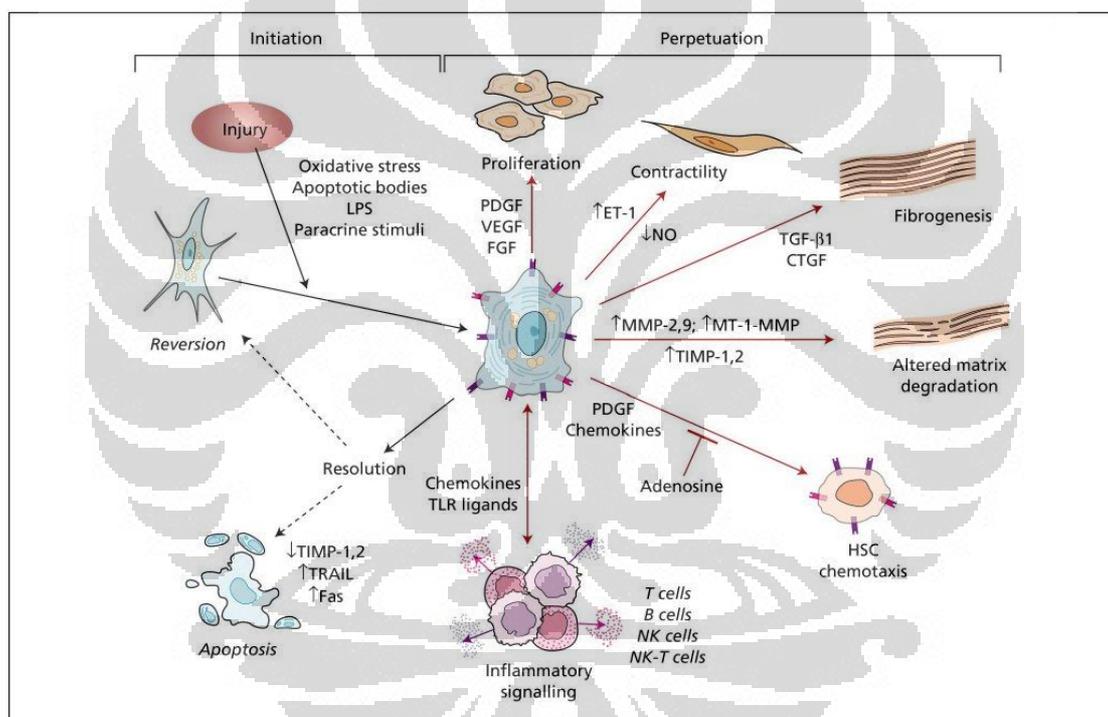
Gambar 2.2: Normal hati dan Hati sesudah inflamasi

Normal hati memiliki jaringan matriks yang mengandung kolagen tipe IV, glikoprotein dan proteoglikan. Pada saat terjadi perlukaan pd hati terjadi peningkatan sampai 8x dari matriks ekstraselular dengan komposisi didominasi oleh kolagen tipe I dan III yang lebih tinggi densitasnya. Sel yang dominan dalam proses fibrosis hingga sirosis adalah Hepatic Stellata sel.

2.3. Hepatic Stellata Cell (HStC) .

Hepatic Stellata Cell berlokasi di rongga Disse (*space of disse*) antara sel sinusoid endotel dan sel epitel hepar, adalah sel utama yang paling berperan dalam fibrogenesis. dan berjumlah 5-8% dari seluruh sel hati. Pada sel hati yang sehat sel stelata berada dalam keadaan *quiescent* (tidur) dan merupakan tempat penyimpanan vitamin A terbesar dalam tubuh berkisar antara 40-70%.¹ Dalam keadaan normal *HStC* menghasilkan kolagen tipe IV. Ketika hati terluka baik karena infeksi virus ataupun toxin hati, sel stellate hati akan menerima signal signal yang dikeluarkan oleh sel hati yang terluka dan juga sel imun tubuh, menyebabkan sel stelata ini akan berubah menjadi aktif. Sebagai sel utama yang memproduksi matrik ekstraselular dalam hati, aktifnya sel stelata ini akan membuat scar sementara pada daerah luka

untuk melindungi hati dari perlukaan lebih lanjut, sel stelat hati akan mensekresi sitokin dan *growth factor* (GF) yang akan melakukan perbaikan pada sel yang rusak tadi. Pada penyakit hati kronis pemanjangan dan berulang ulangnya kerusakan akan menyebabkan terjadinya fibrosis pada hati yang di tandai dengan makin menyebarnya skar, kerusakan arsitektur dan fungsi dari hati. Pada keadaan teraktifasi ini maka *HStC* akan menghasilkan kolagen tipe I dan III, pembentukan kolagen tipe ini akan menyebabkan terbentuknya jaringan yang kurang elastis, dan keras, sehingga akan terbentuk jaringan fibrosis pada jaringan hati. Disamping itu *HStC* akan membentuk juga enzim degradasi matrix untuk proses fibrinolisis.^{1,27,28} Secara lengkap aktivasi dari *HStC* dapat dilihat di bagan berikut ini:



From: Dooley (ed.) *Sherlock's Diseases of the Liver and Biliary system* (12th edn) © 2011 by Blackwell publishing Ltd.

Gambar 2.3: Proses Inflamasi dan Respon Stellate cell.

Sel hati pada akhirnya akan mengalami fibrosis karena proses fibrogenesis lebih besar dan cepat daripada proses fibrolisis matrik yang biasanya akan terjadi pada penyakit kronik dimana injuri yang timbul akan berlangsung terus menerus.^{1,27,28} Staging dari fibrosis ini kemudian dapat dikelompokkan menjadi 4 tingkatan yang disebut dengan Derajat Metavir.

2.4. Metavir²⁰

Metavir adalah sistem skoring yang biasa dipakai pada hepatitis kronik untuk menilai nekroinflamasi dan fibrosis.²⁰

Nekroinflamasi dimasukkan dalam 4 derajat (*Degree of Necroinflammation*).²⁰

- Grade 0: Tidak ada/ inflamasi minimal.
- Grade 1: Inflamasi portal atau lobular tanpa ada nekrosis
- Grade 2: Inflamasi ringan periportal dan sedikit nekrosis atau nekrosis hepatoselular setempat.
- Grade 3: Inflamasi periportal sedang dan sedikit nekrosis atau kerusakan sel berat setempat.
- Grade 4: Inflamasi periportal berat dan terdapat nekrosis yang berhubungan.

Fibrosis dimasukkan dalam 4 derajat (*Stage of Fibrosis*).²⁰

- Stage0 = tidak ada fibrosis
- Stage1 = Fibrosis pada traktus portal membesar
- Stage2 = Fibrosis periportal atau portal ke septa portal, tanpa ada kerusakan arsitektur.
- Stage3 = Jembatan fibrosis dengan kerusakan arsitektur tanpa sirosis.
- Stage4 = sirosis.

Untuk memudahkan dan juga dalam penelitian yang sudah ada staging ini dibagi menjadi 2 saja yaitu Metavir Ringan-Sedang dan Metavir Berat. Dalam hal ini maka nekroinflamasi grade 1 dan 2 serta fibrosis stage 1 dan 2 dimasukkan dalam katagori Metavir Ringan-Sedang sedangkan nekroinflamasi grade 3 dan 4 serta fibrosis stage 3 dan 4 dimasukkan dalam katagori Metavir Berat.

2.5. Hepatosit

Hati adalah organ dengan kemampuan regenerasi yang luar biasa, dalam kondisi normal kemampuan itu dijalankan oleh hepatosit dan kolangiosit. Hepatosit merupakan sel hati yang memiliki kemampuan untuk melakukan perbaikan diri (*selfrenewal*). Dalam keadaan hati yang normal maka hepatosit akan aktif melakukan perbaikan terhadap kerusakan yang timbul. Pada suatu penelitian dimana dilakukan hepatektomi 2/3 bagian hati, ternyata dalam waktu tertentu hepatosit akan mampu melakukan perbaikan sehingga akan mampu memperbaiki

hingga jaringan hati kembali seperti semula. Pada beberapa penelitian dikatakan bahwa kemampuan replikasi jaringan hati hanya sampai 2 kali saja sehingga diragukan mampu melakukan perbaikan, tetapi beberapa penelitian menunjukkan bahwa hepatosit ternyata mampu melakukan replikasi hingga 70 kali sehingga memungkinkan terjadinya perbaikan.³⁻⁶

Tetapi pada beberapa kondisi tertentu seperti infeksi hati kronis karena virus, penyakit hemokromatosis ataupun penyakit hati karena alkohol dapat menyebabkan hati mengalami inflamasi dan juga fibrosis. Ketika kemampuan regenerasi dari hati untuk membelah dan memperbaiki jaringan terganggu dalam hal ini hepatosit tidak mampu lagi bekerja seperti seharusnya, maka kompartemen sel punca yaitu *Hepatocyte Progenitor Cell* atau *HPC* akan diaktifkan. *HPC* ini bersifat sel punca bipotensial yaitu *HPC* akan dapat berkembang menjadi hepatosit dan cholangiosit.³⁻¹³

2.6. *Hepatocyte Progenitor Cell (HPC)*

Dalam keadaan hati normal dimana hepatosit aktif maka *HPC* berada dalam keadaan quiescent dan pada pemeriksaan patologi anatomi tidak didapatkan adanya *HPC* pada biopsi hati. *HPC* akan teraktifasi bila siklus sel dari hepatosit terganggu atau bila terjadi blokade pada proses replikasi hati, dua hal yang biasanya terjadi pada penyakit hati kronis, alkohol ataupun hemokromatosis. Setelah teraktivasi maka *HPC* akan berproliferasi, migrasi dan berdiferensiasi baik menjadi hepatosit ataupun sel biliar (*cholangiosyte*). Walaupun secara *invivo* belum jelas garis pembelahannya tetapi *in vitro* *HPC* diyakini merupakan sel bipotensial karena kemampuan mereka untuk memproduksi baik *hepatocyte* ataupun *cholangiosyte*. Walaupun asal secara molecular belum diketahui tetapi dihipotesiskan bahwa *HPC* merupakan sumber dari sel punca intra hepatic.²⁻¹³ *HPC* dikenali dari bentuknya yang relatif kecil terhadap hepatosit, nukleus yang oval dan besarnya rasio antara nukleus dan sitoplasma cell. *HPC* dapat dikenali dengan pemeriksaan imunohistokimia menggunakan marker CK-19, α -fetoprotein, M2-PK dan π -GST.⁸

Sampai saat ini mekanisme molekuler yang menarik aktivasi *HPC* belumlah dipahami dengan baik, kerusakan hati jelas salah satunya, tetapi mekanisme dimana kerusakan hati akan menyebabkan komunikasi kepada precursor *HPC* masih

belum diketahui. Lebih lanjut proses signal yang spesifik pada jenis-jenis sel hati belumlah jelas.

Beberapa mekanisme yang menggambarkan aktivasi *HPC*.^{29,30,31,32}

1. Aktivasi *HPC* terjadi dari signal langsung sel hati yang rusak kepada precursor *HPC*.
2. *HPC* teraktivasi tak langsung dari signal *hepatic stellate cell* sebagai respon terhadap kerusakan sel hati.
3. Sel sel inflamasi mungkin merupakan sel sel yang bertanggung jawab terhadap aktivasi dan proliferasi *HPC* dengan cara melepaskan sitokin sitokin.
4. Sel endotel mungkin merupakan sumber utama signal signal.
5. Multipel sel mungkin diperlukan dalam proses ini dimana masing masing memiliki kontribusi pada proses aktifasi *HPC*.

Proses yang terjadi setelah adanya injuri pada hepatosit yang mengaktifkan *HPC* adalah^{1,27-31}:

1. Aktivasi

Pada proses ini precursor *HPC* akan berubah menjadi *HPC* dimana signaling pertama muncul saat terjadi injuri dan sel kupffer akan melepaskan mediator inflamasi seperti sitokine IL-6, oncostatinM(OSM), dan Interferon- γ (IFN- γ) dan melalui JAK/STAT pathway *HPC* akan teraktivasi.

2.Proliferasi

Pada proses ini akan terjadi perbanyakan *HPC* dengan dibantu oleh growth factor seperti *Hepatocyte Growth Factor(HGF)*, *Transforming Growth Factor α (TGF α)*, *Transforming Growth Factor β (TGF β)* dan sel punca. Pelepasan growth factor ini terutama dilakukan oleh stelat sel pada saat terjadi injuri.

3.Migrasi

Pada proses ini akan terjadi migrasi dari *HPC* yang sebelumnya berada di daerah *canal of hering* akan bergerak dan menyebar di jaringan hati dan bilier. Signal sitokin yang berperan pada proses ini adalah SDF-1 dan reseptor CXCR4, serta plasmin activator seperti uPA dan tPA.

4. Diferensiasi

Pada stadium ini akan terjadi pembentukan sel dari *HPC* menjadi hepatosit atau menjadi *cholangiosite*. Selanjutnya sel *cholangiosite* akan bergerak ke biliar dan hepatosit akan menyebar ke seluruh sel hati.

Pada penyakit hati kronis baik karena virus (VHB, VHC), haemakromatosis, ataupun alkohol maka akan terjadi perlukaan jaringan hati yang diikuti dengan aktivasi stelata sel dimana akan diikuti dengan pembentukan kolagen tipe IV. Pembentukan kolagen tipe IV ini akan menyebabkan terbentuknya jaringan yang kurang elastis, dan keras, sehingga menyebabkan terbentuknya jaringan fibrosis pada jaringan hati.^{1,27,28}

Signaling pertama muncul saat terjadi injuri dimana sel kupffer akan melepaskan mediator inflamasi sitokine IL-6 dan *Transforming Growth Factor(TGF) α* yang akan mengaktifkan *Hepatic Stellata Cell(HStC)*, selanjutnya *HStC* akan melepaskan *Hepatocyte Growth Factor (HGF)* yang akan mengaktifkan hepatosit terhadap kerusakan sehingga kemampuan perbaikan diri akan bekerja dengan baik. *HStC* juga akan melepaskan matrix komponen dan *TGF β 1* yang akan menghambat pertumbuhan hepatosit. Tetapi pada keadaan kronis dimana injuri yang terjadi selalu berulang dan berlangsung lama maka kemampuan hepatosit untuk memperbaiki diri akhirnya gagal dan berhenti sehingga pada keadaan ini maka kompartemen sel punca hati yaitu *Hepatosit Progenitor Cell* terbuka. Pada keadaan ini sel stelata akan mengeluarkan *HGF* dan *TGF α* , hepatocyte bersama hepato progeitor sel (*HPC*) akan mengaktifkan endothelial growth factor dan *vascular endothelial growth factor (VEGF)* yang akan membantu dalam proses perbaikan hati, serta akan menyebabkan *HPC* berproliferasi dan berdiferensiasi, Stelate sel juga akan mengaktifkan dan memproduksi MMP-9 yang bersifat fibrinolisis sehingga proses fibrosis akan dapat berkurang dan *HPC* akan dapat bermigrasi secara luas di sel hati.²⁹⁻³⁴

2.7. Hematopoietic Stem Cell (HSC)

Sel punca diwakili oleh beberapa jenis organ termasuk *bone marrow stem cell (BMSC)*. Sel punca memiliki kemampuan untuk memperbanyak sel asal dan memperbaiki mereka selama kehidupan.¹⁴⁻¹⁸

Haematopoietic stem cell (HSC) adalah populasi sel punca utama dalam bone marrow dan memberikan pertumbuhan pada semua jalur darah matang seperti eritrosid, mielomonositic, dan precursor lymphoid. Bentuk kedua dari BMSC dalam bentuk jaringan stroma adalah *sel punca* mesenkimal dan memberikan pertumbuhan pada jaringan stomal dan dapat memberikan perbaikan pada sel berasal dari mesoderm.¹⁴⁻¹⁸

Adanya *HSC* dalam jaringan hati sudah dilaporkan oleh beberapa penelitian,^{14-17,33} akan tetapi bagaimana mekanisme sel sel ini dapat berada hati dan bagaimana fungsi dan manfaat mereka terhadap sel hati masih dalam ranah penelitian. Beberapa peneliti³⁰ melaporkan bahwa fungsi *HSC* ini terhadap *HPC* sangatlah minimal sekali, sebagian menyatakan tidak ada pengaruhnya.³⁴ Beberapa peneliti menyatakan bahwa akan terjadi fusi antara *HPC* dengan *HSC* sehingga membentuk hepatocyte.^{14,15}

Haematopoietic Stem Cell mengekspresikan reseptor CXCR4 pada permukaannya yang memiliki ligand alami berupa *SDF-1*. Pada keadaan luka baik karena irradiasi ataupun inflamasi maka jaringan hati terutama di bilier akan memproduksi *SDF-1* sebagai respon terhadap perlukaan. Meningkatnya *SDF-1* ini akan menyebabkan migrasi *HSC* menuju sel hati sebagai upaya untuk melakukan perbaikan sel hati.¹⁴⁻¹⁵

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *HSC* memberikan efek tidak hanya kepada *HPC* saja tetapi juga akan memberikan kontribusi pada degradasi matrik fibrosis dengan memproduksi MMP-9.¹⁴⁻¹⁸

Beberapa potensi *BMSC* pada penyakit hati kronis sbb:

1. Hepatocyte yang berasal dari *HSC* dapat terjadi melalui
 - Regenerasi langsung dari *HSC* (sedikit)
 - Fusion dengan hepatocyte (terbanyak)
 - Merangsang macrophage untuk mengeluarkan MMP
 - Merangsang fibrosite membentuk “collagen matrix producing cells”.
2. BM-*MSC* dapat memberikan kontribusi terhadap hati dengan cara:
 - Transdiferensiasi menjadi “collagen producing myofibroblast cell”

- Kontribusi MSC terhadap sel hepatosit hingga kini belum jelas.

3. Peran yang potensial dari *Endothelial Progenitor Cells (EPC)*:

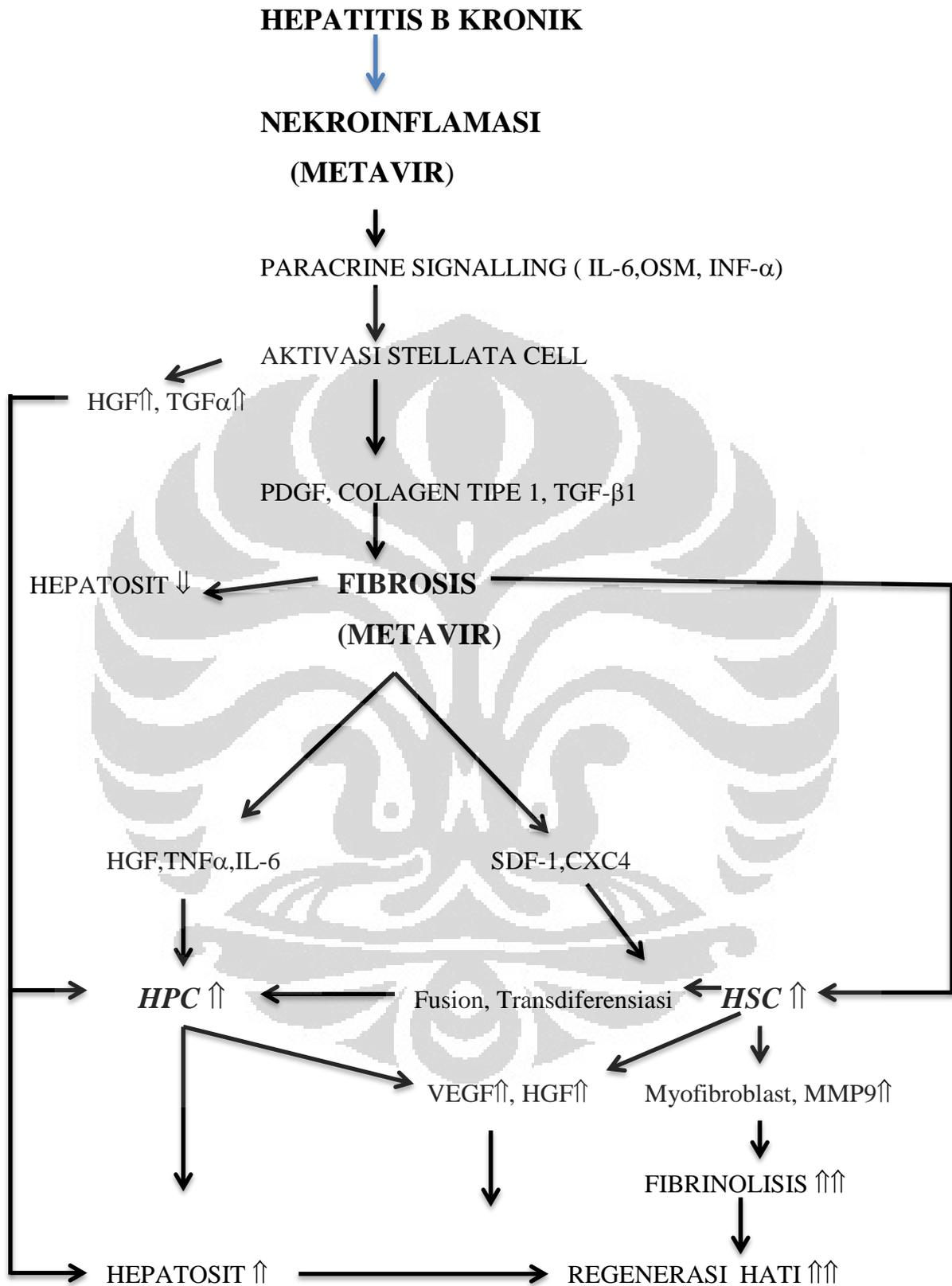
-Vasculogenesis dengan melakukan diferensiasi menjadi sinusoidal endothelial cells.

-Menghasilkan *Hepatocyte Growth Factor (HGF)* dan *Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)* yang akan merangsang regenerasi hepatosit dan menghambat deposisi dari matrik fibrous.

Beberapa penelitian untuk melihat efek BMSC terhadap hati sudah beberapa kali dilakukan dan kebanyakan menggunakan Autologus BM sebagai asal BM memberikan hasil yang baik terutama dilihat dari peningkatan albumin, bilirubin dan score Child-Pugh.²¹ HSC dapat dilihat dengan pemeriksaan imunohistokimia menggunakan marker CD34+.³³



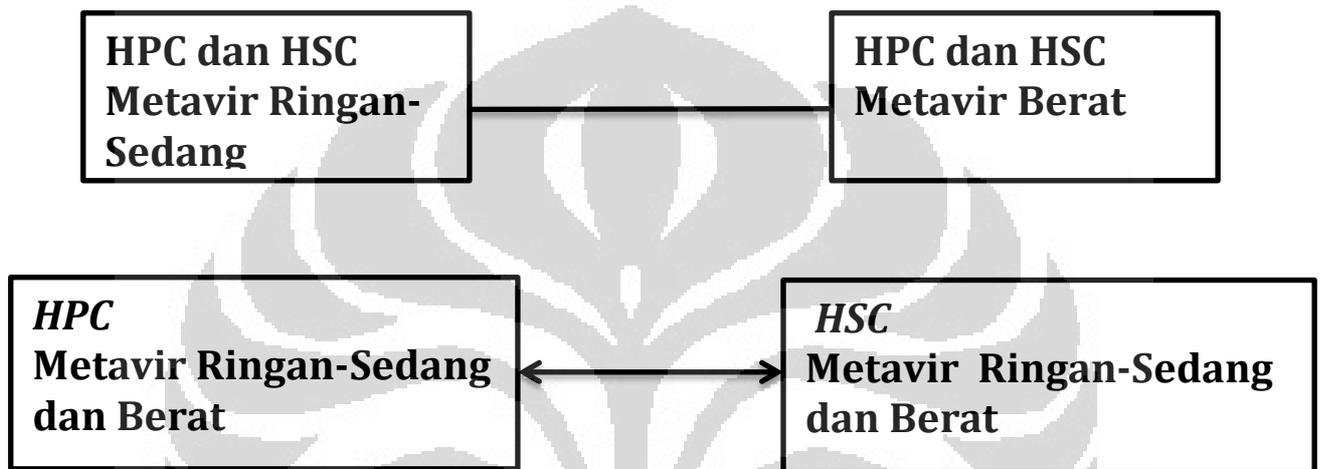
2.8.Kerangka Teori



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN DEFINISI OPERASIONAL

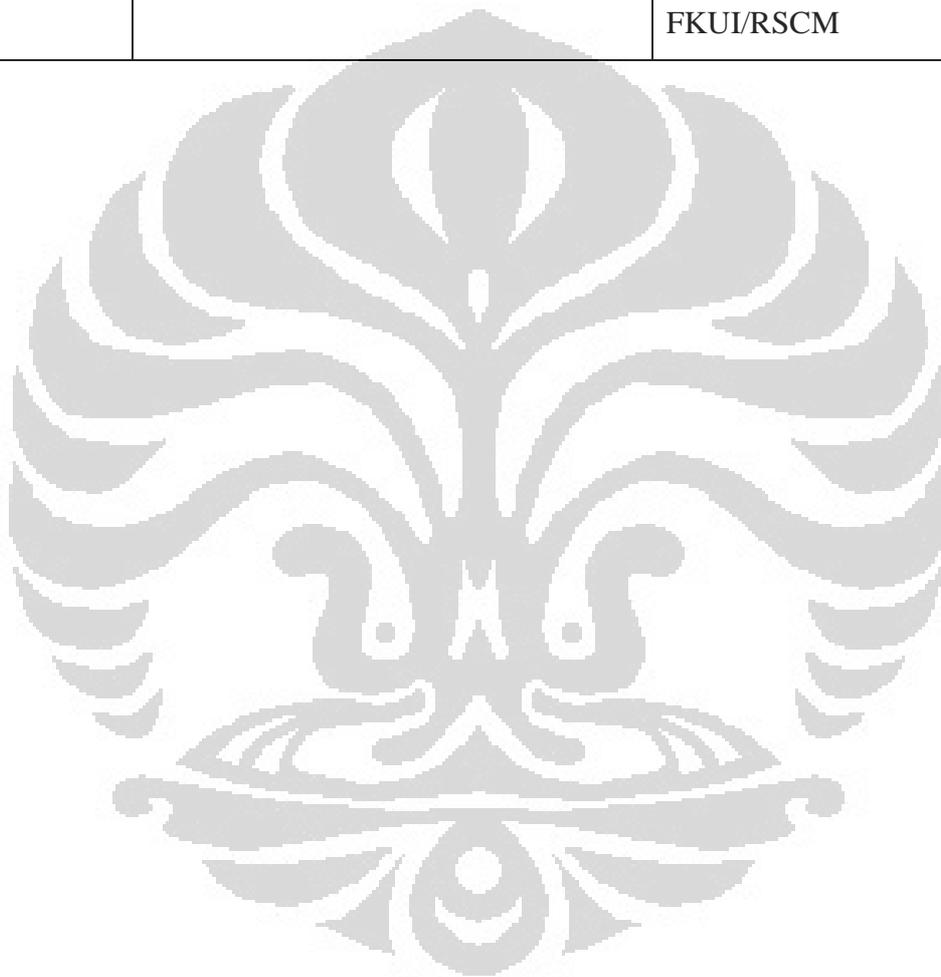
3.1. Kerangka Konsep



3.2. Definisi Operasional

NO	Variabel	Definisi	Cara Pengukuran	Skala
1	Hepatitis B kronik	Penderita hepatitis B yang ditandai dengan menetapnya HBsAg sekurang kurangnya 6 bulan. Dengan hasil pemeriksaan HBsAg(+), HBeAg(+/-), HBV DNA (+)	Memeriksa titer HBsAg, dan HBe Ag serta jumlah HBV DNA	Numerik
2	Derajat Metavir	Skoring yang digunakan untuk menilai derajat inflamasi dan fibrosis pada hati yang disebabkan penyakit hati kronik. Untuk memudahkan dan juga dalam penelitian yang sudah ada staging ini dibagi menjadi 2 yaitu Metavir Ringan-Sedang dan Metavir Berat. ⁸ Dalam hal ini maka inflamasi grade 1 – 2 atau fibrosis stage 1 2 dimasukkan dalam katagori Metavir Ringan-Sedang sedangkan inflamasi grade 3 -4 atau fibrosis stage 3-4 dimasukkan dalam katagori Metavir Berat .	Mencantumkan skor Metavir dari hasil Patologi Anatomi.	Katagorik
3	<i>HPC</i>	Adalah bila pada pemeriksaan patologi anatomi dengan imunohistokimia didapatkan gambaran sel epitel dengan inti sel berbentuk oval, kadar sitoplasma yang sedikit, serta ratio inti dengan sitoplasma sel yang tinggi.	Imunohistokimia pada paraffin blok dengan menggunakan pewarnaan marker CK19 di Laboratorium Patologi Anatomi FKUI/RSCM	Numerik

4	<i>HSC</i>	Adalah bila pada pemeriksaan patologi anatomi dengan menggunakan imunohistokimia didapatkan gambaran pluripotent cell yaitu haemopoetik <i>stem cell</i> berupa sel lymphoid.	Imunohistokimia paraffin blok dengan menggunakan pewarnaan marker CD34+ di Laboratorium Patologi Anatomi FKUI/RSCM	Numerik
---	------------	---	--	---------



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan disain Potong Lintang.

4.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo (RSCM) dengan mengambil data pasien Hepatitis B Kronik yang sudah menjalani biopsi hati.

4.3. Populasi Target dan Populasi Terjangkau

1. Populasi target penelitian ini adalah pasien Hepatitis B kronik yang dirujuk ke RSCM.
2. Populasi terjangkau adalah pasien yang menderita Hepatitis B kronik yang sudah menjalani biopsi hati di RSCM.

4.4. Sampel

1. Sampel adalah semua pasien dewasa usia diatas 18 tahun di RSCM penderita Hepatitis B kronik yang sudah menjalani biopsi hati dan yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.
Pemilihan sampel dengan cara konsekutif.

2. Estimasi besar sampel.

a. Besar sampel untuk penelitian uji hipotesis thd korelasi dua populasi independen menggunakan rumus

$$n = \left(\frac{z_{\alpha} + z_{\beta}}{0.5 \ln(1+r)/(1-r)} \right)^2 + 3$$

dimana $(Z_{\alpha} + Z_{\beta}) = 2.802$ dan

$r = 0,6$ (pada fibrosis) dan $r = 0,5$ (pada nekroinflamasi)

Pada perhitungan didapatkan besar sampel **22,6 sampel dan 30 sampel.**

b. Besar sampel untuk perbedaan rerata dua kelompok menggunakan menggunakan rumus:

$$n1 = n2 = 2 \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)S}{x1 - x2} \right]^2$$

$Z\alpha = 1.96;$

$\beta = 0.842;$

$S = 2.15$

Pada penelitian korelasi *HPC* dengan derajat metavir yang pernah dilakukan sebelumnya _didapatkan simpang baku_ $s = 2.15$ maka didapatkan jumlah $n = 6$ sampel.

Sedangkan pada korelasi *HSC* dengan metavir karena tidak didapatkan simpang baku dari penelitian sebelumnya maka dianggap merupakan *preliminary study* sehingga diambil $n = 15$ sampel. Sehingga sampel akan mengikuti jumlah terbesar maka akan didapatkan jumlah sampel 15 pada masing masing kelompok sehingga menjadi = 30 sampel

Dari dua jumlah sampel yang didapatkan (22.6 dan 30 sampel) maka diambil sampel yang terbesar sehingga **jumlah sampel penelitian ini total 30 sampel.**

4.5. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

1. Kriteria Inklusi:

-Pasien berusia di atas 18 tahun yang menderita Hepatitis B kronik

2. Kriteria Eksklusi

-Tidak menderita Hepatoma saat biopsi hati.

4.6. Identifikasi Variabel penelitian

Variabel penelitian ini terdiri dari variable bebas dan variable tergantung:

1. Variabel bebas pada penelitian ini:

-Derajat Metavir

2. Variabel tergantung :

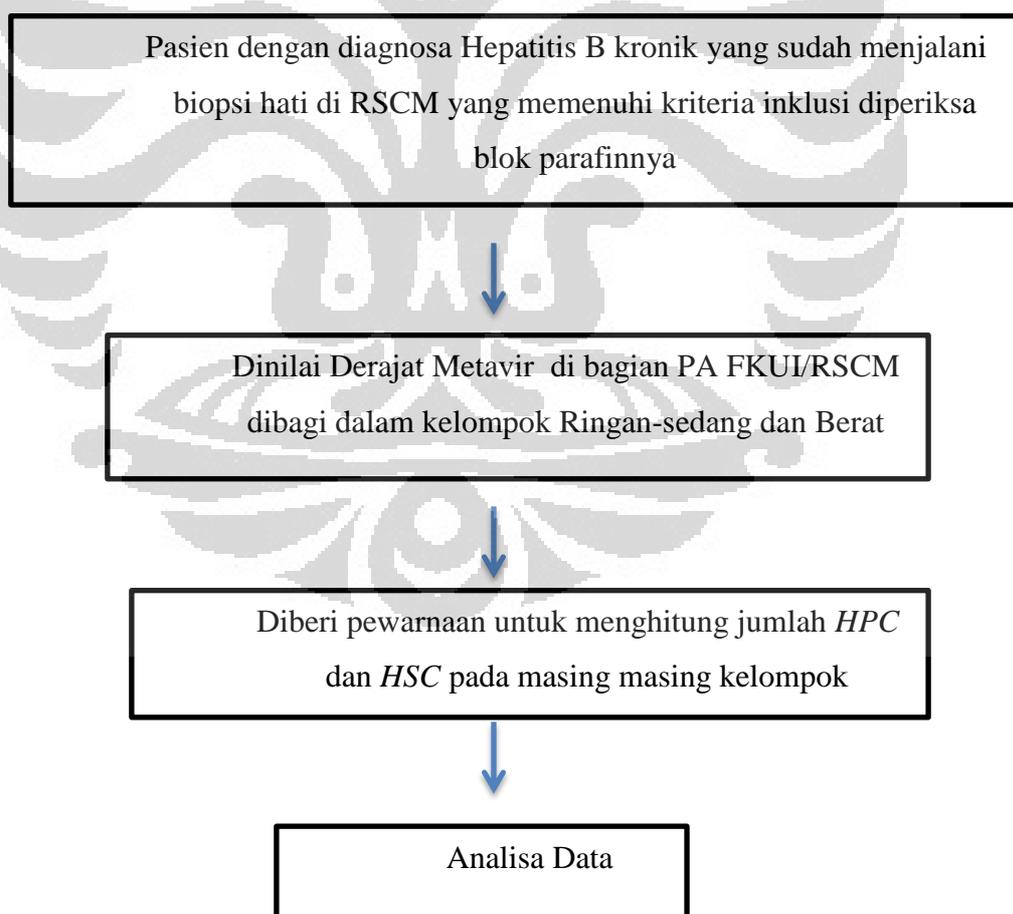
-*HPC*

-*HSC*

4.7. Cara Pengambilan sampel

Sampel penelitian diambil dengan melihat data pasien penderita Hepatitis B kronik yang sudah dilakukan USG hati dan tidak menderita Hepatoma serta biopsi hati kemudian mencari blok parafin pasien di bagian Patologi Anatomi FKUI/RSCM, dari Blok paraffin ini kemudian akan dinilai derajat Metavirnya apakah masuk derajat ringan atau berat. Selanjutnya dari tiap derajat metavirnya yaitu ringan-sedang dan berat akan diberi pewarnaan khusus untuk *HPC* dengan CK-19 dan untuk *HSC dengan CD34+*. Dari hasil pewarnaan tersebut akan dihitung jumlah sel dalam 5 lapangan pandang yang akan mewakili sebagai jumlah sel perpenderita.

4.8. Alur Penelitian.



4.9. Cara Kerja Penelitian

1. Data yang dikumpulkan dari penelitian ini adalah Jumlah *HPC*, jumlah *HSC* serta Derajat Metavir dari paraffin blok biopsi hati.
2. Instrumen yang digunakan pada penelitian ini adalah paraffin blok biopsi hati.
3. Semua paraffin blok yang diambil untuk subjek penelitian akan dilakukan pemotongan *unstain slide* untuk pewarnaan imunohistokimia setebal 4 mikron dengan menggunakan metode avidin biotin.
4. Paraffin blok yang sudah siap kemudian dinilai derajat inflamasi dan fibrosisnya .
5. Kemudian untuk pewarnaan imunohistokimia *HPC* digunakan CK19. Pewarnaan imunohistokimia *Hematopoietic Stem cell* digunakan pewarnaan CD 34+. Dari kedua pewarnaan diatas maka akan dihitung jumlah *HPC* dan *HSC*- pada 5 lapangan pandang kemudian jumlahnya akan disajikan dalam kategori numerik.

4.10. Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh akan dianalisa dengan menggunakan program komputer SPSS 20.0. Sedangkan analisis statistik yang digunakan untuk data numerik dihitung rerata dan simpang baku. Pada penelitian ini jumlah sampel < 50 sehingga perhitungan distribusi akan menggunakan Sappirow wilk. Bila distribusi sampel normal maka perhitungan uji korelasi akan menggunakan uji korelasi Pearson, sedangkan bila distribusi tak normal akan menggunakan uji korelasi Spearman. Bila distribusi normal , untuk melihat rerata 2 kelompok independen digunakan uji T tidak berpasangan. Sedangkan bila syarat uji T tidak terpenuhi maka digunakan uji Mann Whitney.

Kemaknaan yang ditentukan untuk seluruh uji hipotesis adalah $p < 0.05$ dengan interval kepercayaan 95%.

4.11. Masalah Etika

Penelitian ini sudah mendapatkan *Ethical Approval* dari Panitia Etik Penelitian Kedokteran FKUI dengan Keterangan Lolos Kaji Etik Nomor: 569/UN2.F1/ETIK/2014

BAB 5

HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini didapatkan 30 biopsi pasien hepatitis B kronik dengan jumlah laki laki 17 orang dan perempuan 13 orang. Sebaran usia didapatkan usia dibawah 40 tahun sebanyak 12 orang dan usia 40 tahun atau diatas 40 tahun sebanyak 18 orang. Dari 30 penderita Hepatitis B kronik ini maka 28 masuk dalam kriteria Child Pugh A dan 2 penderita Child Pugh B. Kedua penderita Child Pugh B tersebut berdasarkan derajat metavirnya termasuk katagori nekroinflamasi berat dan fibrosis berat.

Tabel 5.1 Sebaran Karakteristik Subjek berdasarkan jenis kelamin dan Usia

Karakteristik	Jumlah	Persentase(%)
Jenis Kelamin		
Laki-laki	17	56.7
Perempuan	13	43.3
Usia (tahun)		
<40	12	40.0
≥40	18	60.0

Berdasarkan derajat Metavirnya, maka pada nekroinflamasi ringan-sedang didapatkan 21 orang dan nekroinflamasi berat 9 orang. Sedangkan pada derajat Fibrosis Ringan-Sedang didapatkan 17 orang dan derajat fibrosis berat didapatkan 13 orang.

Tabel 5.2 Sebaran subyek berdasarkan Nekroinflamasi dan Fibrosis (Derajat Metavir)

Derajat Metavir	Jumlah	Persentase(%)
Nekroinflamasi		
Ringan-sedang	21	70.0
Berat	9	30.0
Fibrosis		
Ringan-sedang	17	56.7
Berat	13	43.3

Pada penderita dengan nekroinflamasi berat (9 orang) ternyata kesemuanya masuk dalam derajat fibrosis berat, walaupun dari 13 penderita dengan fibrosis berat 4 diantaranya merupakan penderita dengan nekroinflamasi ringan-sedang. Sehingga pada sebagian besar kasus (56.7%) penderita fibrosis ringan-sedang adalah juga nekroinflamasi ringan-sedang. Sebaran ini menunjukkan bahwa tidak ada kelompok dengan nekroinflamasi berat dan fibrosis ringan-sedang.

Tabel 5.3. Sebaran subyek berdasarkan ringan-sedang - beratnya nekroinflamasi dan fibrosis

Variabel	Nekroinflamasi	
	Ringan-sedang	Berat
Fibrosis		
Ringan-sedang	17 (100.0)	0 (0.0)
Berat	4 (30.6)	9 (69.2)

Tabel 5.4. Rerata *HPC* dengan *HSC* pada Nekroinflamasi Ringan-sedang dan Berat

Variabel	Nekroinflamasi		p value
	Ringan-sedang	Berat	
<i>HPC</i>	14.05 (SB 10.215)	24.22 (SB 8.393)	0.014
<i>HSC</i>	6.81 (SB 2.502)	11.22 (SB 4.086)	0.012

*Uji t test tidak berpasangan

Rerata *HPC* pada Nekroinflamasi Ringan-sedang dan Berat terdapat peningkatan yang signifikan dengan $p=0.014$, demikian juga pada *HSC* dengan $p=0.012$.

Tabel 5.5. Rerata *HPC* dengan *HSC* pada Fibrosis Ringan-Sedang dan Berat

Variabel	Fibrosis		p value
	Ringan-sedang	Berat	
<i>HPC</i>	11.82 (SB 6.521)	24.00 (SB 11.292)	0.003
<i>HSC</i>	6.59 (SB 2.347)	10.15 (SB 4.076)	0.001

*Uji t test tidak berpasangan

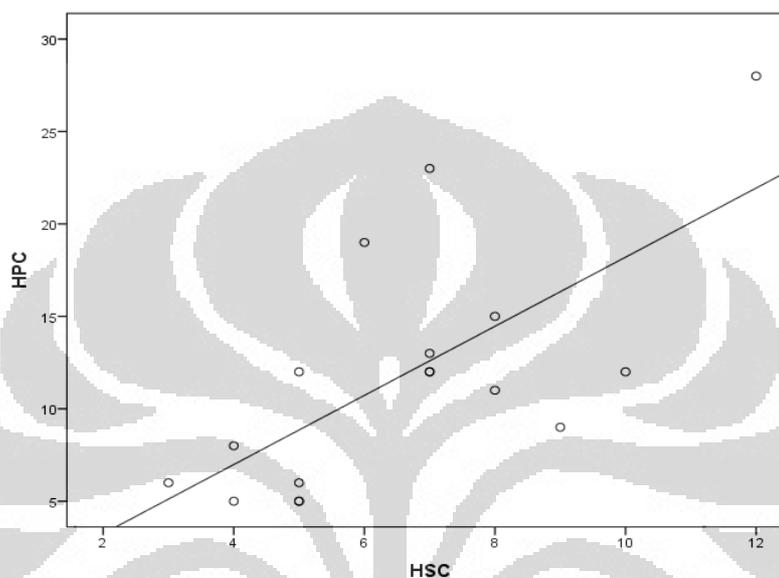
Rerata *HPC* pada Fibrosis Ringan-Sedang dan berat terdapat peningkatan yang signifikan dengan $p=0.003$, demikian juga pada *HSC* dengan $p=0.001$.

Tabel 5.6. Korelasi *HPC* dan *HSC* pada Fibrosis Ringan-Sedang

Variabel	r	p
<i>HPC-HSC</i>	0.673	0.003

*korelasi Pearson

Korelasi *HPC* dan *HSC* didapatkan pada derajat Fibrosis Ringan-Sedang dengan $p=0.003$ dan $r=0.673$

Gambar 5.1. Diagram Tebar *HPC* dan *HSC*

Dari diagram tebar di atas tampak korelasi antara nilai *HPC* dan *HSC*.

Korelasi antara *HPC* dan *HSC* tidak didapatkan pada Necroinflamasi ringan-sedang, Necroinflamasi berat dan Fibrosis yang berat karena secara statistik memiliki $p>0.05$

Tabel 5.7. Korelasi *HPC* dan *HSC* pada Nekroinflamasi Ringan-sedang

Variabel	r	p
<i>HPC-HSC</i>	0.302	0.184

*korelasi Pearson

Tabel 5.8. Korelasi *HPC* dan *HSC* pada Nekroinflamasi Berat

Variabel	r	p
<i>HPC-HSC</i>	0.567	0.111

*korelasi Pearson

Tabel 5.9. Korelasi *HPC* dan *HSC* pada Fibrosis Berat

Variabel	r	p
<i>HPC-HSC</i>	0.195	0.522

*korelasi Pearson

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1. Rerata *HPC* dan *HSC* pada Nekroinflamasi Ringan-Sedang dan Berat

Pada penelitian rerata sel *HPC* dan *HSC* pada nekroinflamasi ringan-sedang dan nekroinflamasi berat pada sel hati penderita Hepatitis B kronik, hasil yang didapat sesuai dengan hipotesis penelitian yaitu terdapat sel *HPC* dan *HSC* yang tinggi pada nekroinflamasi berat. Pada penelitian ini jumlah rerata *HPC* meningkat secara signifikan ($p = 0.014$) seiring dengan memberatnya nekroinflamasi dari nekroinflamasi ringan-sedang dengan rerata 14.05 (SB 10.215) ke nekroinflamasi berat dengan rerata 24.00 (SB 11.292). Meningkatnya *HPC* pada nekroinflamasi yang memberat juga sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Fotiadu A dkk⁸ yang mendapatkan adanya peningkatan jumlah *HPC* yang seiring dengan meningkatnya nekroinflamasi dari ringan ke berat. Hal ini juga sesuai dengan hipotesis bahwa *HPC* akan meningkat sejalan dengan memberatnya inflamasi dan fibrosis dari sel hati. Hanya saja karena pada sampel penelitian ini semua nekroinflamasi berat adalah juga fibrosis berat maka meningkatnya *HPC* dan *HSC* dalam hal ini tidak dapat dikatakan hanya karena faktor nekroinflamasi saja tetapi dapat lebih disebabkan karena faktor fibrosisnya karena dari beberapa kepustakaan disebutkan bahwa peningkatan *HPC* terjadi sesuai dengan memberatnya derajat fibrosis sebagai usaha hati untuk melakukan perbaikan diri yang akan diikuti dengan *signaling* yang akan menarik *HSC* ke hati.²⁻¹³ Lowes K dkk⁹ dalam penelitiannya tentang hubungan antara *HPC* dengan fibrosis tidak memasukkan faktor nekroinflamasi karena kesulitan dalam menghubungkan dengan penyakit dasar ke dalam penelitiannya serta derajat fibrosisnya. Hal ini menunjukkan ketidaksesuaian antara nekroinflamasi dengan fibrosisnya. Fakta bahwa 28 pasien masih masuk dalam Child Pugh A menunjukkan bahwa disamping adanya fibrosis, pada sel hepatosit masih cukup ada hepatosit normal yang dalam nekroinflamasi sehingga menjelaskan kenapa terdapat nekroinflamasi berat pada pasien dengan fibrosis berat.

6.2. Rerata *HPC* dan *HSC* pada Fibrosis Ringan-Sedang dan Berat

Pada penelitian rerata *HPC* dan *HSC* pada derajat fibrosis ringan-sedang dan fibrosis berat, hasilnya sesuai dengan hipotesis penelitian yaitu terdapat rerata sel *HPC* dan *HSC* yang semakin tinggi pada fibrosis berat sel hati penderita hepatitis B kronik. Pada penelitian ini jumlah rerata *HPC* meningkat secara signifikan ($p = 0.003$) seiring dengan memberatnya derajat fibrosis dari fibrosis ringan-sedang dengan rerata 11.82 (SB 6.521) hingga fibrosis berat dengan rerata 24.00 (SB 11.292). Jumlah rerata *HSC* juga meningkat secara signifikan ($p = 0.001$) seiring dengan memberatnya derajat fibrosis yaitu dari fibrosis ringan-sedang dengan rerata 6.59 (SB 2.347) hingga fibrosis berat dengan rerata 10.15 (SB 4.076). Meningkatnya *HPC* konsisten dengan teori bahwa proliferasi *HPC* terjadi sebagai respons terhadap memberatnya perlukaan hati dan fibrosis terutama pada kondisi penyakit hati kronik.²⁻¹³ Meningkatnya *HPC* pada fibrosis ringan-sedang ke fibrosis berat juga sesuai dengan penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya, baik oleh Fotiadu A dkk⁸ serta Lowes K dkk.⁹ Meningkatnya *HSC* juga sesuai dengan teori dari Kalis YN¹⁴ dan Mitaka T¹⁵ bahwa migrasi *HSC* ke dalam sel hati berhubungan dengan memberatnya perlukaan hati dan fibrosis.

6.3. Tidak didapatkan Korelasi antara *HPC* dan *HSC* pada Nekroinflamasi Ringan-Sedang dan Berat

Pada Nekroinflamasi baik yang ringan-sedang maupun yang berat tidak didapatkan korelasi antara *HPC* dengan *HSC* dengan $p > 0.05$. Hal yang dipikirkan adalah karena sebagian subyek adalah Child Pugh A sedangkan semua subyek dengan nekroinflamasi berat adalah juga fibrosis berat sehingga dalam hal ini maka faktor fibrosis menutupi faktor nekroinflamasi karena sesuai teori yang ada mengatakan bahwa *HPC* muncul apabila *self renewall* dari hepatosit gagal yang biasanya terjadi pada kondisi fibrosis²⁻¹⁰, yang akan diikuti oleh migrasinya *HSC* ke dalam hati^{14,15}. Tidak berkorelasinya *HPC* dan *HSC* pada nekroinflamasi kemungkinan disebabkan karena muncul dan bertambahnya *HPC* dan *HSC* tidak berhubungan dengan proses nekroinflamasi tetapi berhubungan dengan fibrosisnya.

6.4. Terdapat korelasi antara *HPC* dan *HSC* pada Fibrosis Ringan-Sedang

Pada Korelasi *HPC* dan *HSC* pada fibrosis ringan-sedang didapatkan nilai korelasi $r=0.673$ dengan kemaknaan statistik yang signifikan yaitu $p=0.003$ sehingga didapatkan korelasi antara keduanya. Meningkatnya *HPC* konsisten dengan hipotesis bahwa proliferasi *HPC* terjadi sebagai response terhadap memberatnya perlukaan hati dan fibrosis.²⁻¹³ *HPC* baru akan muncul bila kemampuan hepatosit untuk memperbaiki diri (*self renewal*) terganggu bahkan berhenti, dalam hal ini sangat dipengaruhi oleh aktifitas dari *stellate cell* dan *kufner cell* yang akan menimbulkan fibrosis dan akhirnya sirosis. Meningkatnya *HPC* dari fibrosis ringan-sedang ke fibrosis berat juga sesuai dengan penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya, baik oleh Fotiadu A dkk⁸ serta Lowes K dkk⁹ yang mendapatkan peningkatan *HPC* yang bermakna secara statistik. Meningkatnya *HSC* juga sesuai dengan teori dari Kalis YN¹⁴ dan Mitaka T¹⁵ bahwa migrasi *HSC* ke dalam sel hati berhubungan dengan memberatnya perlukaan hati dan fibrosis. Pada kondisi adanya perlukaan hati dan fibrosis yang menyebabkan gagalnya *selfrenewall* maka *HPC* akan aktif. Adanya perlukaan hati dan fibrosisnya akan mengeluarkan signal berupa peningkatan SDF-1 yang akan menempel pada reseptornya di *HSC* yaitu CXCR4 sehingga akan menarik *HSC* bermigrasi ke hati dengan maksud untuk membantu perbaikan sel hati. Pada fibrosis yang ringan-sedang korelasi antara *HPC* dengan *HSC* dapat terjadi karena belum ada fibrosis yang mengganggu migrasi *HSC* ke liver serta masih kuatnya signal dari sel hati yang memanggil *HSC* dalam hal ini masih cukup banyak produksi SDF-1 dari sel hati. Pada kondisi ini terapi dengan memanfaatkan *HPC* dan *HSC* mungkin akan memberikan respon terbaik karena masih tingginya jumlah *HPC* dan *HSC* pada saat ini. Pemberian *Hepatocyte Growth Factor* dan *Haematopoeitic Growth Factor* kelihatannya akan memberikan hasil yang terbaik pada kondisi fibrosis ringan-sedang ini dibandingkan pada kondisi fibrosis lainnya. Karena pada kondisi fibrosis ringan-sedang ini fibrosis masih berada disekitar periporta dan belum terdapat jembatan antar porta. Disamping itu pada kondisi ini jumlah *HPC* dan *HSC* masih tinggi sehingga akan lebih membantu efek dari *growth factor* yang diberikan. Meningkatnya jumlah *HPC* akan menyebabkan jumlah hepatosit baru akan semakin banyak sehingga regenerasi sel hati semakin cepat. Meningkatnya jumlah *HSC* juga akan meningkatkan jumlah *HPC* baik melalui fusi sel ataupun regenerasi langsung menjadi hepatosit. *HSC* juga akan merangsang macrophage untuk memproduksi

MMP yang akan membantu melisiskan fibrosis dalam parenkim hati sehingga penyebaran dari sel *HPC* akan lebih cepat dan merata.

6.5. Tidak terdapat Korelasi antara *HPC* dan *HSC* pada Fibrosis Berat

Pada fibrosis berat korelasi antara *HPC* dan *HSC* didapatkan $p=0.05$ yang secara statistik tidak bermakna dan tidak berkorelasi. Pada fibrosis berat injuri pada hati semakin berat sehingga respon untuk mengaktifkan *HPC* semakin besar maka jumlah *HPC* akan semakin banyak. Disisi lain *HSC* juga bertambah tetapi tidak sebanyak *HPC* karena pada kondisi fibrosis berat kemungkinan sudah terjadi jaringan fibrosis yang cukup banyak di hati sehingga menyulitkan *HSC* untuk bermigrasi kedalam hati disamping itu adanya kerusakan pada hepatosit menyebabkan produksi SDF-1 berkurang sehingga signal yang memanggil *HSC* menjadi berkurang dan melemah sehingga migrasi *HSC* ke sel hati menjadi berkurang.¹⁴ Pada perhitungan rerata *HSC* memang didapatkan peningkatan jumlah *HSC* sebesar 54% (dari rerata 6.59 menjadi rerata 10.15) tetapi tampaknya peningkatan *HSC* tidak sebesar peningkatan jumlah *HPC* yaitu 112.7% (dari rerata 11.28 menjadi rerata 24). Dua hal tersebut yaitu fibrosis dan signaling yang melemah karena SDF-1 yang berkurang dianggap sebagai penyebab tidak didaptkannya korelasi antara *HPC* dan *HSC* pada fibrosis berat. Walaupun demikian dianggap perlu untuk melakukan penelitian lebih lanjut terutama tentang kadar *HSC* pada fibrosis berat.

Tidak adanya korelasi antara *HPC* dan *HSC* pada fibrosis berat pada penelitian ini diduga karena adanya patogenesis baru yaitu **Rendahnya jumlah *HSC* pada fibrosis berat yang kemungkinan disebabkan karena rendahnya kadar SDF-1.**

6.6. Keterbatasan penelitian

Karena sampel diambil secara konsekutif, maka untuk mendapatkan sampel yang memenuhi semua kategori menjadi sulit. Pada penelitian ini tidak didapatkan sampel dengan kategori nekroinflamasi berat dan fibrosis ringan-sedang. Hal ini menyebabkan kesulitan dalam menilai pengaruh nekroinflamasi dan efeknya terhadap *HPC* dan *HSC*.

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1. SIMPULAN

1. Rerata *HPC* dan *HSC* pada nekroinflamasi berat lebih tinggi dibandingkan pada nekroinflamasi ringan-sedang.
2. Rerata *HPC* dan *HSC* pada fibrosis berat lebih tinggi dibandingkan pada fibrosis ringan-sedang.
3. Tidak didapatkan korelasi antara *HPC* dan *HSC* pada nekroinflamasi ringan-sedang dan berat.
4. Terdapat korelasi antara *HPC* dengan *HSC* pada derajat fibrosis ringan-sedang. Tidak didapatkan korelasi antara *HPC* dan *HSC* pada derajat fibrosis berat.

7.2. SARAN

1. Dapat dilakukan penelitian uji klinis untuk melihat apakah *HPC* dan *HSC* dapat berperan dalam terapi hepatitis B kronik terutama pada sirosis hati yaitu dengan memberikan *growth factor* tertentu seperti *Hepatocyte Growth Factor* dan *Haematopoietic Growth Factor*.
2. Perlu dilakukan penelitian untuk melihat hubungan antara *SDF-1* dengan *HSC* dan perannya pada patofisiologi migrasi *HSC* ke hati terutama pada fibrosis berat.
3. Perlu dilakukan penelitian untuk melihat hubungan nekroinflamasi berat dengan *HPC* dan *HSC* pada derajat fibrosis ringan-sedang

DAFTAR PUSTAKA

1. Bansal MB, Friedman SL. Hepatic fibrogenesis. In Dooley JS, Lok ASF, Burroughs AK, Heathcote EJ Eds. *Sherlock's Disease of the Liver and Biliary System* 12th Ed. UK Wiley-Blackwell 2011:p. 94-102
2. Alison MR, Islam S, Lim S. Stem cells in liver regeneration , fibrosis and cancer: the good, the bad and the ugly. *J Pathol.* 2009; 217: 282-298
3. Duncan AW, Dorrel C, Grompe M. Stem cell and liver regeneration. *Gastroenterol.* 2009; 137: 466-481
4. Fausto N, Cambell JS. The role of hepatocyte and oval cells in liver regeneration and repopulation. *Mech Dev.* 2003; 120: 117-130
5. Fausto N. Liver regeneration and repair: hepatocytes, progenitor cells, and stem cells. *Hepatology.* 2004; 39(6): 1477-87
6. Bird TG, Lorenzini S, Forbes SJ. Activation of stem cell in hepatic disease. *Cell Tissue Res.* 2008; 331: 283-300
7. Forbes S, Vig P, Poulson R, Thomas H, Alison M. Hepatic stem cell. *J Pathol.* 2002; 197: 510-518
8. Alison M, Sarraf C, Hepatic stem cells. *J Hepatol.* 1998; 29: 676-682
9. Fotiadu A, Tzioufa V, Vrettou E, Koufogiannis D, Hytioglou P. Progenitor cell activation in chronic viral hepatitis. *Liver Int.* 2004; 24: 268-274
10. Lowes KN, Brennan BA, Yeoh GC, Olynyk JK. Oval cell numbers in human chronic liver disease are directly related to disease severity. *Am J Pathol.* 1999; 154: 537-541
11. Conigliaro A, Brenner DA, Kisseleva T. Hepato progenitor for liver disease: current position. *Stem Cell and Cloning: Adv Appl.* 2010; 3: 39-47
12. Stefanopoulou CS. Oval cell in the liver: postulated stem cell derivatives or facultative stem cell? *Hellenic J Gastroenterol.* 2000; 13: 18-19
13. Russo FP, Parola M. Stem and progenitor cells in liver regeneration and repair. *Cytotherapy.* 2011; 13: 135-144

13. Faris RA, Konkin T, Halpert G. Liver stem cell: a potential source of hepatocytes for the treatment of human liver disease. *Artif Organs*. 2001; 25: 513-521
14. Kalis YN, Alison MR, Forbes SJ. Bone marrow stem cell and liver disease. *Gut*. 2007; 56: 716-724
15. Mitaka T. Hepatic stem cells: from bone marrow cells to hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001; 281: 1-5
16. Dorrell C, Grompe M. Liver repair by intra- and extrahepatic progenitor. *Stem Cell Rev*. 2005; 1: 61-64
17. Kubota K, Soeda J, Misawa R, et al. Bone marrow-derived cell fuse with hepatic oval cells but are not involved in hepatic tumorigenesis in the choline-deficient ethionine-supplemented diet rat model. *Carcinog*. 2008; 29: 448-454
18. Oh SH, Witek RP, Bae SH, Zheng D, Jung Y, Piscaglia AC, Petersen BE. Bone marrow-derived hepatic oval cell differentiate into hepatocytes in 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy-induced liver regeneration. *Gastroenterol*. 2007; 132: 1077-87.
19. Menthena A, Deb N, Oertel M, Dabeva MD. Bone marrow progenitor are not the source of expanding oval cells in injured liver. *Stem Cell*. 2004; 22: 1049-61
20. Sandt L. Liver disease progression. In John TMS, Sandt L Eds. *Hepatitis C Choices 4th Ed*. Caring Ambassador Program 2008: 23-34.
21. Terai S, Ishikawa T, Omori K, Aoyama K, Sakaida I. Improved liver function in patients with liver cirrhosis after autologous bone marrow cell infusion therapy. *Stem Cell*. 2006; 24: 2292-98.
22. Calvaruso V, Craxi A. Regression of fibrosis after hbv antiviral therapy. Is cirrhosis reversible? *Liver Int*. 2014; 85-90
23. Wang J, Shao L, Hu X, Yang C, Shen L, Weng X Zhang W. Histological improvement of long term antiviral therapy in chronic hepatitis b patients with persistently normal alanine aminotransferase levels. *J Viral Hepat*. 2013 ; 20: 328-35.
24. Villeneuve JP. Lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis b and cirrhosis. *Expert Opin Pharmacother*. 2006; 7: 1835-43.

25. Lok ASF. Hepatitis b In Dooley JS, Lok ASF, Burroughs AK, Heathcote EJ Eds. *Sherlock's Disease of the Liver and Biliary System* 12th Ed. UK Wiley-Blackwell 2011:p.367-392
26. PPHI.Konsensus nasional penatalaksanaan hepatitis b di Indonesia. 2012
27. Yin C, Evason KJ, Asahina K, StainerDYR. Hepatic stellate cells in liver development, regeneration and cancer. *J Clin Invest.* 2013; 123: 1902-10.
28. Pintilie DG, Shupe TD, OH SH, Salganik SV, Darwiche H, Petersen BE. Hepatic stellate cells involvement in progenitor-mediated liver regeneration. *Labor Invest.* 2010; 90: 1199-1208.
29. Lowes KY, Croager EJ, Olynyk JK, Abraham LJ, Yeoh GCT. Oval cells mediated liver regeneration: role of cytokines and growth factor. *J Gastrol Hepatol.* 2003; 18: 4-12
30. Erker L, Grompe M. Signaling network in hepatic oval cell activation. *Stem Cell Res.* 2008;1:90-102
31. Roskams T. Relationships among stellate cells activation, progenitor cell, and hepatic regeneration. *Clin Liver Dis.* 2008; 12: 853-860
32. Lysy PA, Campard D, Smets F, Najimi M, Sokal EM. Stem cells for tissue repair:current knowledge and perspectives. *World J Gastroenterol.* 2008; 14: 864-875
33. Zhao Q, Ren H, Zhu D, Han Z. Stem/progenitor cells in liver injury repair and regeneration. *Biol Cell.* 2009; 101: 557-571
34. Tonkin JN, Knight B, Curtis D, Abraham LJ, Yeoh GCT. Bone marrow cells play only a very minor role in chronic liver regeneration induced by acholine-deficient, ethionine-supplemented diet. *Stem Cells Res.* 2008; 195-204

LAMPIRAN 1.



**Komite Etik Penelitian Kesehatan
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo**



Health Research Ethics Committee
Faculty of Medicine Universitas Indonesia
Cipto Mangunkusumo Hospital

Jalan Salemba Raya No. 6, Jakarta Pusat 10430. Telp. 021-3157008. E-mail: ec_fkui@yahoo.com

Nomor : *569* /UN2.F1/ETIK/2014

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the Protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the research protocol entitled:

"Korelasi antara Hepatocyte Progenitor Cell dengan Haematopoietic Stem Cell Berdasarkan Derajat Metavir dari Sel Hati pada Penderita Hepatitis B Kronik".

Peneliti Utama : dr. Okto Dewantoro, SpPD
Principal Investigator

Nama Institusi : Ilmu Penyakit Dalam FKUI/RSCM
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut di atas.
and approved the above mentioned protocol.



Prof. Dr. dr. Rianto Setiabudy, SpFK

* *Ethical approval* berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan.
** Peneliti berkewajiban

1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian.
2. Memberitahukan status penelitian apabila
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical approval* harus diperpanjang.
 - b. Penelitian berhenti di tengah jalan.
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*).
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan *informed consent*.