

BAB 2

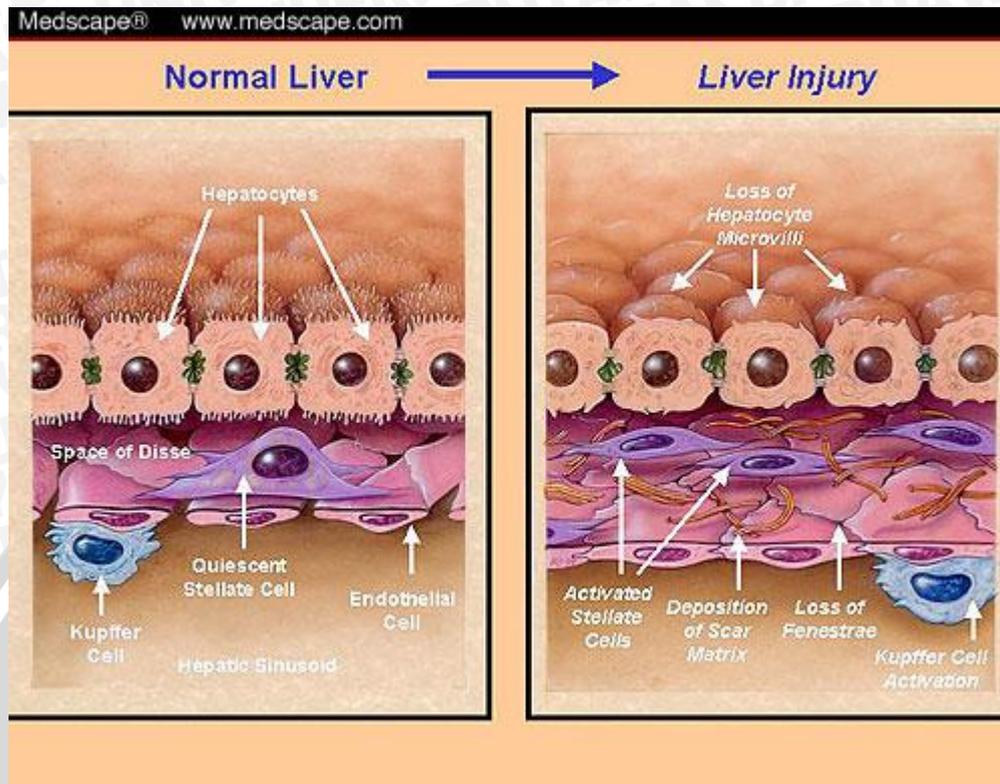
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fibrosis Hepar

2.1.1 Definisi dan Etiologi Fibrosis Hepar

Fibrosis hepar adalah akumulasi dari protein *extracellular matrix* (ECM) yang diakibatkan oleh kerusakan hepar yang kronis. Penyebab utama dari fibrosis hepar adalah infeksi virus kronis, ketergantungan alkohol, *nonalcoholic steatohepatitis* (NASH). Akumulasi dari protein *extracellular matrix* (ECM) menyebabkan terbentuknya jaringan fibrosis yang mengakibatkan terjadinya perubahan dari struktur hepar. Bila fibrosis berjalan secara progresif dapat menyebabkan sirosis hati (Bataller, 2005). Fibrosis hepar menyebabkan sekitar 1,5 juta kematian per tahun di seluruh dunia (WHO, 2008).

Pada kerusakan hepar akut, sel parenkim akan beregenerasi dan menggantikan sel yang mengalami nekrosis ataupun apoptosis. Apabila kerusakan hepar tersebut berlanjut, proses regenerasi hepar mengalami kegagalan, dan ruangan pada hepar akan diisi oleh *extracellular matrix* (ECM), salah satunya material kolagen fibrosa, yang terakumulasi dan terdeposit sehingga menimbulkan fibrosis hepar. Akumulasi tersebut merubah struktur hepar menjadi abnormal dan bernodul sehingga dapat berkembang menjadi sirosis hepar (Bataller, 2005).



Gambar 2.1 Fibrosis Hepar (Medscape,2002)

Perubahan yang dapat terbentuk pada fibrosis hepar adalah terjadinya perubahan pada seluler dan matriks. Proses ini terjadi sebagai respon dari kerusakan pada sel hepar sehingga dapat terjadi perubahan dalam *space of disse* subendotelial dan sinusoid berupa perubahan komposisi komponen sel hepar dan matriks ekstraseluler. Hal tersebut dapat menyebabkan hilangnya mikrovili hepatosit dan fenestrat dari sel endotel sinusoidal. Keadaan tersebut menyebabkan terjadinya penurunan fungsi hepar.

2.1.2 Patogenesis Fibrosis Hepar

Fibrosis hepar terjadi karena kegagalan didalam respon penyembuhan luka pada hepar akibat kerusakan yang berulang atau kronis. Pada saat hepar mengalami kerusakan akut, misalnya akibat virus hepatitis, maka sel parenkim akan beregenerasi dan menggantikan sel yang mengalami nekrosis ataupun

apoptosis. Proses ini berhubungan dengan respon inflamasi dan deposisi dari *extracellular matrix* (ECM). Jika kerusakan pada hepar terjadi secara terus menerus, maka regenerasi yang terjadi akan mengalami kegagalan didalam respon terhadap perbaikan hepar. Hal ini akan mengakibatkan sel hepatosit dan menggantikan akumulasi dari *extracellular matrix* (ECM)(Bataller, 2005).

Hepatic stellate cells (HSCs) merupakan sel penghasil *extracellular matrix* (ECM) dan penanda terjadinya kerusakan hepar. Pada hepar yang normal, *hepatic stellate cells* terdapat pada *disse* dan merupakan tempat penyimpanan utama dari vitamin A. Akibat adanya kerusakan pada hepar, *hepatic stellate cells* menjadi aktif atau mengalami diferensiasi menjadi seperti sel myofibroblast yang bersifat proliferasi, fibrogenik dan kontraktif. *Hepatic stellate cells* yang telah aktif akan bermigrasi dan terakumulasi pada jaringan hepar yang mengalami perbaikan, mengatur sekresi dan degradasi dari *extracellular matrix* (ECM)(Bataller, 2005).

Interaksi yang kompleks diantara sel hati yang berbeda memiliki peranan masing masing didalam menghasilkan fibrosis pada hepar. Hepatosit merupakan target utama dari semua jenis agen hepatotoksik, termasuk virus hepatitis, metabolik alkohol dan asam empedu. Kerusakan dari sel hepatosit akan menghasilkan ROS, mediator fibrogenik dan merangsang pengeluaran sel darah putih oleh *inflammatory cells*. Apoptosis dari hepatosit yang mengalami kerusakan akan menstimulasi proses fibrogenik dari myofibroblas di hepar. *Inflammatory cells* akan mengaktifkan *hepatic stellate cells*(HSCs) untuk mensekresi kolagen. Pada akhirnya, perubahan kompleks yang terjadi pada sel hepar akan menyebabkan terjadinya akumulasi *extracellular matrix* (ECM)

seperti kolagen, secara langsung akan menyebabkan terjadinya fibrosis hepar (Bataller, 2005).

Sel hepatosit merupakan sel aktif metabolik yang berperan didalam regulasi zat biokimia dan fungsi metabolic. Sel hepatosit berperan didalam sintesis berbagai macam zat yang ada didalam tubuh seperti faktor pembekuan darah, protein transpor, kolesterol dan komponen empedu. Sel hepatosit menyimpan glukosa, mineral dan vitamin yang diambil dari pembuluh darah portal dan sistemik. Selain itu sel hepatosit juga berperan didalam mengatur kadar kolesterol dan glukosa yang ada didalam darah dan mempertahankan homeostasis tubuh (Liver zone, 2013).

2.1.3 Gejala Klinis Fibrosis Hepar

Pada fase awal dari fibrosis hepar, hanya beberapa orang saja yang merasakan adanya gejala disebabkan fungsi dari hepar yang masih baik. Fibrosis merupakan fase awal dari terbentuknya jaringan parut pada hepar. Pada fase awal dari perkembangan fibrosis pasien seringkali tidak memiliki gejala dan hidup seperti orang normal lainnya. Bahkan seseorang yang berada pada fase awal dari fibrosis hepar tidak mengetahui bahwa dirinya mempunyai penyakit hepar. Perkembangan dari jaringan parut pada fibrosis hepar yang disebabkan karena proses inflamasi akan menyebabkan gangguan metabolic pada fungsi hepar. Jika penyakit ini berlanjut maka fibrosis hepar akan berubah menjadi sirosis. Sirosis menyebabkan terbatasnya aliran darah pada hepar dan menyebabkan terganggunya fungsi dari hepar. Gejala yang ditimbulkan pada keadaan sirosis adalah hipertensi portal, *variceal bleeding*, asites, *portosystemic encephalopathy*, sirosis dapat menyebabkan *fatal liver failure* (Civan, 2013; Liver Support, 2016)

2.1.4 Diagnosis Fibrosis Hepar

Diagnosis fibrosis hepar dimulai dari anamnesis, pemeriksaan fisik, pemeriksaan laboratorium dan pemeriksaan radiografi. Hal yang perlu diketahui dari anamnesis pasien adalah gejala dan tanda yang terjadi pada pasien dan faktor resiko dari penyakit hepar kronis yang dimiliki pasien seperti mengkonsumsi alcohol atau terinfeksi hepatitis B dan hepatitis C. Pada pemeriksaan fisik dapat dilihat adanya tanda yang permanen dari penyakit hepar kronis seperti asites, asteriksis, hepatomegali, *jaundice*, *gynecomastia*, *clubbing* dan *hypertrophic osteoarthropathy*. Pemeriksaan laboratorium perlu dilakukan meskipun hasilnya tidak spesifik menunjukkan fibrosis hepar. Pemeriksaan mengetahui apakah ada peningkatan pada SGPT(*Serum Glutamic Pyruvic Transaminase*), SGOT(*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*), dan hasil positif marker serologis dari penyakit liver. Pemeriksaan radiologi yang dapat dilakukan adalah *abdominal Ultrasonography*, CT-scan dan MRI untuk melihat kelainan pada hepar seperti nodul atau permukaan irregular pada hepar (Heidelbaugh dan Bruderly, 2006).

Tahap awal dari fibrosis hepar sulit untuk didiagnosis, hal ini disebabkan karena kondisinya yang *asymptomatic*. Jika pemeriksaan darah mengindikasikan fibrosis hepar, maka biopsi hepar harus dilakukan. Biopsy hepar membutuhkan jarum untuk mengambil jaringan dari hepar untuk mengetahui kerusakan pada hepar dan derajat dari fibrosis hepar. Biopsi hepar merupakan *gold standard* untuk menilai tingkat kerusakan jaringan hepar. Metode ini masih digunakan sampai saat ini meskipun mempunyai beberapa komplikasi seperti nyeri, infeksi dan perdarahan(Liver Support, 2016).

Beberapa skala digunakan untuk menentukan derajat fibrosis hepar. Klasifikasi skala yang paling sering digunakan ada pada tabel dibawah ini :

Tabel 2.1 Kriteria Derajat Keparahan Fibrosis Hepar pada Biopsi Hepar Berdasarkan Kriteria Metavir

Derajat	Kriteria
Derajat 0	Tidak terdapat fibrosis
Derajat 1	Terdapat adanya fibrosis pada area portal
Derajat 2	Terdapat jembatan fibrosis yang menghubungkan area-area porta
Derajat 3	Terdapat banyak jembatan fibrosis yang menghubungkan area-area porta dan vena sentralis
Derajat 4	Sirosis

2.1.5 Tatalaksana Fibrosis Hepar

Beberapa fokus terapi fibrosis hepar telah diusulkan pada rantai patogenesisnya, mulai dari inhibisi sintesis kolagen, modulasi *Stellate Cell*, hingga blok deposisi kolagen. Kortikosteroid dan *penicillamine* sebagai modulator sel, saat ini masih digunakan sebagai terapi farmakologis fibrosis hepar. Namun penggunaan jangka panjang memiliki efek ketergantungan dan toksik bagi tubuh penderita (Civen, 2013). *Colchicine* sebagai antifibrosis bekerja dengan menghambat sintesis dan deposisi kolagen (Rockey, 2008). Akan tetapi, sampai sekarang khasiat yang ditampakkan masih sangat minim (Civen, 2013). Target lain yang diusulkan adalah blok aktivasi fibrogenik dan produksi matriks ekstraseluler oleh myofibroblast. Namun cara ini menimbulkan efek samping yang sangat berat akibat kurangnya spesifisitas jenis myofibroblast (Schuppan

dan Kim, 2013). Jika fibrosis hepar sudah mencapai sirosis hepar tahap akhir, transplantasi hepar merupakan terapi pilihan yang ada saat ini. Akan tetapi, transplantasi hepar memiliki pendonor yang terbatas, kemungkinan mortalitas dan morbiditas post-operasi yang tinggi, kemungkinan penolakan oleh sistem imun tubuh, biaya operasi yang mahal, serta efek samping jangka panjang (Fausto, 2006).

2.2 Karbon Tetraklorida (CCL_4)

Karbon tetraklorida (CCL_4) merupakan zat toksik yang dapat menghasilkan kondisi hepatotoksisitas dan sering digunakan dalam penelitian. Radikal bebas yang terdapat pada CCL_4 dapat menyebabkan kerusakan hati. Aktivitas metabolisme dari sitokrom P450 dihati dapat mengubah CCL_4 menjadi metabolit yang lebih toksik, sehingga dapat menyebabkan kerusakan hati pada hewan coba atau manusia. Pembentukan radikal bebas akibat CCL_4 yang berlebihan akan mengakibatkan stress oksidatif, yang pada akhirnya menimbulkan gangguan pada hati. Antioksidan tambahan dari luar tubuh diperlukan untuk mengurangi stress oksidatif yang berlebihan (Lestari, 2008). Karbon tetraklorida (CCL_4) merupakan zat yang terbukti mampu menginduksi fibrosis dan sirosis (Domitrović, 2009).

Kerusakan hepar yang diakibatkan induksi Karbon tetraklorida (CCL_4) timbul karena toksisitas CCL_4 dimediasi oleh zat reaktifnya, yaitu triklorometil (CCl_3^\cdot). Triklorometil (CCl_3^\cdot) dihasilkan dari pembelahan homolitik CCL_4 melalui reaksi antara CCl_3^\cdot dan O_2 dan perubahan biotransformasi ini dikatalisa oleh enzim sitokrom P450. Bahan metabolit reaktif berupa triklorometil (CCl_3^\cdot) dan hasil reaksi biotransformasi berupa triklorometilperoksi ($\text{Cl}_3\text{COO}^\cdot$) bersifat radikal

bebas. Interaksi antara radikal bebas ini akan memicu reaksi berantai yang menyebabkan kerusakan struktur dan gangguan fungsi membran sel. Apabila jumlah CCL_4 yang terpapar cukup banyak, maka terjadi peningkatan Ca^{2+} intraseluler yang mengakibatkan terjadinya kematian sel (Tirkey *et al.*, 2005).

Sehingga induksi CCL_4 pada hewan coba dapat menyebabkan gangguan hati yang berujung pada fibrosis hepar yang disebabkan oleh zat radikal bebas.

2.3 Hematopoietic Stem Cells (HSC)

Bone marrow merupakan sumber terbesar *multipotent stem cell* yang memiliki ciri khas terus tumbuh serta memiliki kemampuan berdiferensiasi menjadi bentuk sel apapun dan berkembang hingga menjadi sel matang. Salah satu jenis *multipotent stem cell* adalah *Hematopoietic Stem Cells* (HSC). HSC merupakan turunan dari *bone marrow stem cell* (BMSC).

Granulocyte colony-simulating factor (G-CSF) adalah *hematopoietic growth factor* yang memediasi mobilisasi HSC ke darah perifer dan merupakan agen yang banyak digunakan. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa mobilisasi HSC dengan G-CSF berkontribusi dalam regenerasi hepar pada hewan coba model kerusakan hati akut maupun kronis. Penelitian yang dilakukan juga oleh Tsolaki (2014) mengungkapkan bahwa G-CSF berpotensi paling besar sebagai agen anti fibrosis sebagai agen mobilisasi HSC (Tsolaki *et al.*, 2014).

Hematopoietic stem cell (HSC) merupakan sel yang mengekspresikan *C-X-C chemokine receptor type 4* (CXCR4). Molekul CXCR4 yang terdapat pada HSC tersebut memiliki ligan berupa molekul kemokin *Stromal cell-derived factor 1* (SDF-1) atau yang biasa dikenal dengan sebagai CXCL12. (Lanza *et al.*, 2009) SDF-1 merupakan kemokin utama yang berperan didalam migrasi dari HSC.

SDF-1 akan selalu diekspresikan didalam endothelium sumsum tulang. Pada keadaan homeostasis HSC dipertahankan didalam sumsum tulang akibat tingginya kadar SDF-1. Jaringan yang mengalami iskemia akan melepaskan SDF-1 dan menstimulasi mobilisasi HSC dari sumsum tulang. Mobilisasi HSC oleh jaringan iskemia terjadi akibat tingginya kadar SDF-1 melalui mekanisme *niche* (Smart dan Riley, 2008).

2.4 CD34⁺

CD34⁺ adalah antigen permukaan yang diekspresikan pada *Hematopoietic Stem cells* atau *Progenitor cells*. CD34⁺ tidak memiliki fungsi definitif, tapi memiliki peran dalam proses adhesi antara satu sel dengan sel lain dan juga memiliki peran didalam transduksi sinyal untuk mengatur ekspresi dari haemopoiesis lainnya. CD34⁺ merupakan penanda untuk menentukan jumlah *Hematopoietic Stem cells* dalam sumsum tulang dan darah perifer (Holyoake dan Alcorn, 1994).

2.5 Beta Glucan

Beta glucan adalah sebuah serat alami terlarut yang telah dikenal masyarakat dapat digunakan untuk meningkatkan fungsi pengembangan produk makanan dan sayuran untuk kesehatan. Banyak dari jenis glucan yang telah diisolasi dari jamur dan gandum. *Beta 1,3D-Glucan* secara intensif dipelajari dan diteliti untuk mengetahui efek farmakologis dan imunologis. *Beta 1,3D-Glucan* merupakan struktur penyusun dari dinding sel *yeast*, *grain*, *seaweed*, *mushroom*, dan tumbuhan lainnya (Akramiené, et. al., 2007). Pemberian *beta glucan* secara oral lebih potensial dibandingkan dengan pemberian secara intrakutan (Sandvik et al., 2007). Selain itu, diketahui bahwa *Yeast-beta glucan* dapat dikonsumsi sebagai suplemen makanan (European Food Safety Authority, 2011).

Beta-glucan telah digunakan dalam dunia medis, terutama digunakan untuk mengurangi kadar kolesterol LDL, mengurangi resiko penyakit jantung koroner, dan mengurangi perkembangan diabetes tipe-2 (Barclay, *et al.*, 2008). *Beta-glucan* secara langsung meningkatkan pertumbuhan dan diferensiasi dari HSC di *bone marrow*. *Beta-glucan* juga telah teridentifikasi dapat meningkatkan mobilisasi HSC dari *bone marrow*. *Beta-glucan* memiliki efek yang signifikan dalam proses hematopoiesis pada tubuh (Franzke, 2006). *Beta glucan* mempengaruhi peningkatan granulosit dan mobilisasi granulosit serta progenitornya dengan menstimulasi produksi G-CSF (Ito *et al.*, 2009). Dengan meningkatnya kadar G-CSF pada tubuh, maka terjadi peningkatan pelepasan HSC dari *bone marrow* ke aliran darah (Franzke, 2006). Beberapa penelitian eksperimental lain juga telah menunjukkan sifat biologis *beta1,3D-glucan*, terutama sebagai imunomodulator, antioksidan, dan efek antitumor (Akramiene *et al.*, 2007; Pelizon *et al.*, 2005).

Dectin-1 merupakan salah satu anggota *C-type lectin domain* yang dikode oleh gen CLEC7A. *Dectin-1* merupakan reseptor utama dari *beta glucan* yang terdapat pada sel monosit, makrofag, dendritik dan leukosit (Brown *et al.*, 2002). Ikatan antara *beta glucan* dan *Dectin-1* dapat menstimulasi asam arakidonat dan *cyclooxygenase 2* (COX2) pada makrofag sehingga mengaktifkan respon pro-inflamsi dari makrofag (Akramiene *et al.*, 2007).

2.6 *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae merupakan mikroorganisme yang sangat dikenal masyarakat luas sebagai ragi pada roti (*baker's yeast*). Ragi *Saccharomyces cerevisiae* pada roti ini selain digunakan dalam pembuatan makanan dan minuman karena bersifat nonpatogenik dan nontoksik. Ragi

Saccharomyces cerevisiae (Gambar 2.2) mengandung suatu struktur yang disebut dengan *Beta*1,3*D*-glucan. *Beta* glucan ini banyak terkandung pada ragi, jamur, gandum, namun kandungan terbanyak ada pada ragi *S. cerevisiae* dengan jumlah kandungan murni sebanyak 60% (Mason, 2004). *Saccharomyces cerevisiae* termasuk khamir uniseluler yang tersebar luas di alam dan merupakan galur potensial penghasil *beta* glucan karena sebagian besar dinding selnya tersusun atas *beta* glucan (Lee *et al.*, 2001). Jenis *beta* glucan yang paling banyak ditemukan pada *Saccharomyces cerevisiae* adalah jenis 1,3- β -Glucan (Kwiatkowski *et al.*, 2009).

Berikut ini adalah Taksonomi Ragi *S. cerevisiae* menurut Sanger (2004) sebagai berikut:

Kingdom: Eukaryota

Filum: Fungi

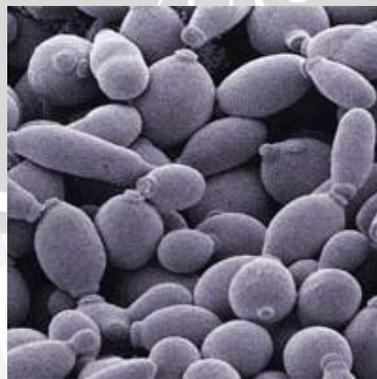
Kelas: Ascomycota

Ordo: Saccharomycetes

Famili: Saccharomycetaceae

Genus: *Saccharomyces*

Spesies: *Saccharomyces cerevisiae*



Gambar 2.2 Ragi *Saccharomyces cerevisiae* (Sanger, 2004)