

PENGARUH ISKEMIA TERHADAP PENINGKATAN KOLAGEN PADA KORPUS Kavernosum

Sabilal Alif

ABSTRACT

Objective: To demonstrate that ischemia causes elevation of collagen in cavernous body. **Material & Method:** Sample used in this study were male adult rabbits (*Oryctolagus Cuniculus*) 6 - 9 months of age. Partial ligation of both common iliac arteries was performed in this study to induce cavernous body ischemia. **Results:** Collagen mean for 7 x 24 hours ligation group (group B) increased to 113,83/200 compared to the collagen mean for the 2 x 24 hours ligation group (group A) which was 91,08/200 and collagen mean for control group (group C) which was 86,90/200. There was collagen elevation on treatment group which caused by ligation (Anova, F value = 12,110 and $p=0,0001$). **Conclusion:** Ischemia may elevate collagen in cavernous body.

Keywords: *Oryctolagus cuniculus*, arterial ligation, corpus cavernosum

Correspondence: Sabilal Alif, c/o: Departemen/SMF Urologi, FK Universitas Airlangga/RSU Dr. Soetomo Surabaya. Jl. Prof. Dr. Moestopo 6 - 8 Surabaya 60286.

PENDAHULUAN

Kolagen adalah kelompok protein berserat yang mempunyai karakteristik khusus, didapatkan pada semua binatang multisel, serta disekresi oleh sel jaringan ikat dan berbagai sel yang lain. Gambaran karakteristik dari molekul kolagen berupa suatu struktur tripel heliks yang panjang dan kuat yang terdiri dari 3 rantai α polipeptida yang dirangkai seperti tambar. Sampai sekarang telah dikenal lebih dari 25 macam rantai α kolagen yang masing-masing disandi oleh gen yang berbeda, dan dari 25 macam rantai tersebut dapat disusun lebih dari 10.000 tipe kolagen, tetapi hanya ± 15 tipe kolagen yang telah dikenal.¹

Serabut kolagen ditemukan pada semua tipe jaringan ikat, dan terdiri dari protein kolagen. Serabut kolagen berjalan lurus atau sedikit bergelombang, panjangnya tak terbatas dengan ikatan yang longgar atau padat tergantung pada lokasi dan kebutuhan fungsi. Dalam keadaan segar, serabut kolagen lunak dan fleksibel, relatif elastik dengan *tensile strength* yang tinggi. Serabut ini transparan dan homogen tetapi samar-samar menunjukkan garis longitudinal. Dalam potongan jaringan, serabut kolagen berupa eosinofil, berwarna merah dengan pewarnaan *picrofuchsin* dari Van Gieson, berwarna biru ungu dengan anilin biru dari pewarnaan *Mallory*, dan berwarna hijau dengan pewarnaan *Masson's trichome*.²

Sintesis kolagen semula dikira hanya terbatas di fibroblas, kondroblas, osteoblas, dan odontoblas, namun ternyata dapat disintesis oleh berbagai macam sel.³ Sebagian besar kolagen disintesis di fibroblas, tetapi kolagen tulang diproduksi oleh osteoblas dan kolagen tulang rawan diproduksi oleh kondroblas. Prinsip dari sintesis kolagen telah dipelajari pada fibroblas, sedangkan proses dalam sel lain yang bisa membentuk kolagen diduga sama.²

Jika diperlukan, suatu sel akan menghasilkan kolagenase yang akan bekerja utamanya pada kolagen. Enzim ini mengkatalisis pemecahan proteolitik ketiga rantai dari monomer serat kolagen. Hasil dari pemecahan akan larut dalam larutan fisiologik dan tidak stabil dalam suhu fisiologik. Konsekuensi dari kerja kolagenase pada substratnya adalah terjadinya solubilisasi dan denaturasi yang cepat yang akan didegradasi oleh protease yang kurang spesifik yang terdapat di jaringan.

Hipoksia adalah kekurangan O_2 ditingkat jaringan. Hipoksia dibagi menjadi 4 tipe (1) Hipoksia hipoksik, yakni kadar O_2 di darah arteriole yang menurun, (2) Hipoksia anemik, PO_2 di darah normal tetapi Hbnya rendah, (3) Hipoksia iskemik, aliran darah yang mengalir ke jaringan rendah meskipun PO_2 dan Hb normal, (4) Hipoksia histotoksik, akibat adanya bahan toksik dalam jaringan, maka jaringan tidak dapat menggunakan O_2 yang

sampai di jaringan.⁴ Diantara ke empat hipoksia tersebut, iskemia merupakan jejas sel yang paling sering ditemui.⁵

Dalam keadaan normal, terdapat kesetimbangan antara banyaknya jaringan ikat yang dibentuk dengan banyaknya jaringan ikat yang dihilangkan dari jaringan.⁶

Sitokin dan faktor pertumbuhan diyakini memainkan peran kunci dalam regulasi sintesis dan penyusunan protein jaringan ikat. TGF- β_1 adalah sitokin pleiotrofik yang merangsang ekspresi matriks ekstrasel dan menghambat pertumbuhan sel otot polos vaskular, yang mana kedua hal tersebut merupakan perubahan fenotip penting yang ditemukan dalam fibrosis korpus kaverosum.⁷

Hipoksia terbukti menghambat produksi prostaglandin dalam kultur organ dari korpus kaverosum kelinci.⁸ Kolagen sebagai komponen penting dari jaringan ikat dalam jaringan erektile menduduki porsi 50 - 58% dari seluruh area jaringan erektile.⁹⁻¹² Satu aspek yang penting diteliti dari mekanisme fisiologi ereksi adalah bagaimana sel otot polos mengatur sintesis dan degradasi dari jaringan ikat.¹³ Diduga fibrosis korpus kaverosum merupakan akibat gangguan pengaturan sintesis kolagen dan degradasinya.¹³

TUJUAN PENELITIAN

Membuktikan iskemia yang terjadi akibat ligasi parsial arteri iliaka komunis dapat menyebabkan meningkatnya kolagen dalam korpus kaverosum.

BAHAN DAN CARA

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental, dengan menggunakan binatang coba kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) dengan usia 6 - 9 bulan. Eksperimen ini

dilakukan dengan melakukan ligasi parsial kedua arteri iliaka komunis pada hewan coba, sehingga akan terjadi iskemia korpus kaverosum. Cara penghitungan kolagen dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali yang gambarnya dipantulkan ke layar, yang telah digambarkan 25 titik dengan jarak masing-masing 2 cm yang membentuk bujur sangkar. Jumlah titik yang berimpit dengan otot polos dihitung pada 8 lapangan pandang yang berbeda, 4 lapangan pandang pada korpus kaverosum kanan dan 4 lapangan pandang pada korpus kaverosum kiri yang merupakan titik sudut dari suatu bujur sangkar dengan arteri kaverosa sebagai titik pusat.

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) berjumlah 34 ekor, yang dikelompokkan dalam 3 kelompok, yaitu kelompok perlakuan ligasi 2 x 24 jam sebanyak 12 ekor (kelompok A), kelompok ligasi 7 x 24 jam sebanyak 12 ekor (kelompok B), dan kelompok *sham operation* sebagai kelompok kontrol berjumlah 10 ekor (kelompok C). Seluruh kelinci tersebut diamati sampai penelitian selesai (Tabel 1).

Analisis pada tabel 2 bertujuan untuk melihat apakah perlakuan pada ketiga kelompok yang diteliti memberikan pengaruh yang berbeda pada variabel kolagen. Karena kondisi awal dari ketiga kelompok perlakuan homogen, maka uji statistik analisis varian digunakan untuk menunjukkan perbedaan yang terjadi dimana perbedaan itu disebabkan oleh perlakuan ligasi. Rangkuman hasil analisis dapat dilihat pada tabel 2.

Hasil analisis pada tabel 2 memperlihatkan bahwa ada variasi antara kelompok perlakuan ligasi dengan nilai $F = 12,110$ dan $p = 0,0001$. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah pada kelompok perlakuan yang disebabkan oleh perlakuan ligasi.

Tabel 1. Hasil rerata variabel penelitian

Variabel	Ligasi 2 x 24 jam (Kelompok A)		Ligasi 7 x 24 jam (Kelompok B)		Kontrol (Kelompok C)	
	Rerata	SD	Rerata	SD	Rerata	SD
Kolagen (p)	91,08	13,77	113,83	17,50	86,90	8,87

(p) = jumlah titik pada layar yang berimpit dengan kolagen, dari total 200 titik yang diamati

Tabel 2. Hasil analisis varian untuk variabel kolagen

Sumber Variasi	Jumlah Kuadrat	db	Varian	F	p
Antar Kelompok	4814,046	2	2407,023	12,110	0,0001
Dalam Kelompok	6161,483	31	198,758		
Total	10975,53	33			

PEMBAHASAN

Kolagen pada kelompok A (ligasi 2 x 24 jam) belum meningkat. Kenaikan produksi kolagen setelah pemberian TGF- β_1 mencapai maksimum pada 16 - 24 jam, kemudian menurun perlahan-lahan,¹⁴ sedangkan pada kelompok B ligasi berlangsung 7 x 24 jam mengalami peningkatan kolagen yang bermakna.

Korpus kavernosum mendapatkan oksigen dengan tekanan yang berbeda-beda tergantung status ereksi dari penis. Tekanan O₂ dalam korpus kavernosum flasid antara 20 - 40 mmHg sedangkan saat ereksi tekanan O₂-nya meningkat sampai 80 - 100 mmHg.⁷

Aterosklerosis menyebabkan iskemia korpus kavernosum, sehingga meningkatkan deposisi jaringan ikat yang mengakibatkan terganggunya veno oklusi.^{15,16} Komponen TGF- β menginduksi sintesisnya sendiri merupakan kunci fibrosis yang kronik dan progresif.¹⁶

Perubahan serabut elastik atau tipe kolagen akan mengundang perubahan mekanis penis yang akan mengurangi elastisitas dan *compliance* penis. Kolagen yang banyak didapatkan dalam penis adalah tipe I, III dan IV. Meskipun ada satu studi yang melaporkan menurunnya rasio kolagen tipe III, tetapi studi yang lain tidak menunjukkan hasil yang sama. Perubahan dalam konfigurasi kolagen yang ditemukan mungkin ada hubungan dengan jalur lain dari produk glikosilisasi tingkat lanjut.¹⁷ Serabut elastik berkurang pada penis hewan lanjut usia.¹⁸

Kecepatan produksi kolagen ini secara intrinsik dikendalikan oleh 3 mekanisme, yaitu modulasi dari jumlah mRNA, pengaturan kecepatan translasi mRNA, dan variasi jumlah degradasi molekul intra sel yang baru terbentuk. Mungkin juga signal ekstraseluler juga mempengaruhi kecepatan biosintesis makromolekul ini, bisa jadi dengan cara mengubah satu atau lebih dari mekanisme intrinsik yang tersebut diatas.⁶

Mekanisme patofisiologi yang tepat dari fibrosis korpus kavernosum akibat iskemia masih belum jelas, tetapi sangat mungkin ekspresi yang berlebihan dari TGF- β_1 akibat iskemia memegang peran yang penting. Produksi TGF- β_1 yang berlebihan akan menurunkan rasio otot polos terhadap jaringan ikat dengan cara merangsang ekspresi kolagen, fibronectin dan proteoglikan, sekaligus menghambat pertumbuhan otot polos dan aktifitas kolagenase.¹⁹

Dalam kondisi iskemia, TGF- β akan menginduksi mRNA nya sendiri yang akan meningkatkan sintesis TGF- β

yang akan memperberat fibrosis yang terjadi.²⁰ Pengukuran ekspresi mRNA dari berbagai *growth factor* pada jaringan penis tikus muda dan tua menunjukkan bahwa TGF- β_1 lebih tinggi pada tikus tua daripada tikus muda. Hal ini menunjukkan bahwa atrofi otot polos digantikan oleh jaringan fibrosis.²¹

Selain itu, TGF- β menstimulasi sintesis dari komponen matriks termasuk fibronectin, tenascin, kolagen dan proteoglikan yang secara simultan menghambat proses degradasi matriks dengan menurunkan sintesis protease dan meningkatkan protease inhibitor. Seluruh rangkaian kejadian di atas membantu proses perbaikan jaringan, namun timbunan matriks ekstrasel di tempat terjadinya kerusakan jaringan dapat menyebabkan timbulnya jaringan parut dan fibrosis.²²

Apabila kerusakan jaringan yang terjadi luas terutama pada jaringan yang tidak dapat regenerasi, maka resolusi tidak mungkin terjadi, yang terjadi adalah reparasi. Reparasi adalah penggantian jaringan yang rusak dengan jaringan parut yang terdiri dari kolagen. Kolagen mengisi ruangan yang ditinggalkan, dapat menggantikan kekuatan tensil tetapi tidak dapat menjalankan fungsi fisiologi dari jaringan yang telah rusak.²²

SIMPULAN

Iskemia jaringan erektile korpus kavernosum dapat meningkatkan sintesis kolagen.

DAFTAR PUSTAKA

1. Albert B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. Molecular biology of the cell. 3rd ed. Garland Publishing Inc; 1994. p. 977 - 85.
2. Leeson R, Leeson TS, Paparo AA. Text book of histology. Philadelphia: W.B. Saunders; 1985. p. 100 - 98.
3. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Basic histology. 7th ed. Stamford: Appleton and Lange; 1992. p. 66 - 231.
4. Ganong WF. Review of medical physiology. 14th ed. Connecticut: Appleton and Lange; 1999. p. 60 - 79.
5. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins: Pathologic basis of disease. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1999. p. 1 - 30.
6. Varga J, Rosenbloom J, Jimenez SA. Transforming growth factor- β (TGF- β) causes a persistent increase in steady-state amounts of type I and type III collagen and fibronectin mRNAs in normal human dermal fibroblast. Biochem J 1987; 247: 597 - 604.
7. Moreland RB, Traish A, Mcmillin MA, Smith B, Goldstein I, De Tejada IS. PGE1 suppresses the induction of collagen synthesis by transforming growth factor- β_1 in human corpus cavernosum smooth muscle. J Urol 1995; 153: 826 - 34.

8. Daley JT, Brown ML, Farber H, Saenz de Tejada L. Prostaglandin production during hypoxia in rabbit corpus cavernosum. *J Urol* 1993; 149: 285A, abstract 288.
9. Wespes E, Goes PM, Schiffmann S. Computerized analysis of smooth muscle fibers in potent and impotent patients. *J Urol* 1991; 146: 1015.
10. Virag R, Shoukry K. Re: Computerized analysis of smooth muscle fibers in potent and impotent patients. Letter to the editor. *J Urol* 1992; 147: 896.
11. Hall SJ, Basile G, Bertero EB, de las Morenas A, Goldstein I. Extensive corporeal fibrosis after penile irradiation. *J Urol* 1995; 153: 372.
12. Nehra A, Hall SJ, Basile G, Bertero EB. Systemic sclerosis and impotence: A clinicopathological correlation. *J Urol* 1995; 153: 1140.
13. Nehra A, Goldstein I, Pabby A. Mechanisms of venous leakage: A prospective clinicopathological correlation of corporeal function and structure. *J Urol* 1996; 156: 1320 - 9.
14. Penttinen RP, Kobayashi S, Bornstein P. Transforming growth factor increases mRNA for matrix proteins both in the presence and in the absence of changes in mRNA stability. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1988; 83: 1105 - 8.
15. Azadzoi KM, Park K, Andry C, Goldstein I, Siroky MB. Relationship between cavernosal ischemia and corporal veno-occlusive dysfunction in an animal model. *J Urol* 1997; 157: 1011 - 7.
16. Azadzoi KM, Krane RJ, Goldstein I, Siroky MB. Ischemia induced alteration in cavernosal eicosanoids and TGF- β_1 impairs nitric oxide pathway and relaxation of cavernosal tissue. *Int J Impot Res* 1996; 8: 107.
17. Jiaan DB. Age-related increase in an advanced glycation end product in penile tissue. *World J Urol* 1995; 13: 369 - 75.
18. Akkus E. Structural alterations in the tunica albuginea of the penis: Impact of Peyronie's disease, aging and impotence. *Br J Urol Int* 1997; 79: 47 - 53.
19. Tarcan T, Azadzoi KM, Siroky MB. Age-related erectile and voiding dysfunction: The role of arterial insufficiency. *Br J Urol*; 82 (Suppl.1): 26 - 33.
20. Moreland RB. Is there a role of hypoxemia in penile fibrosis: a viewpoint presented to the society for the study of Impotence. *Int J Impot Res* 1998; 10: 113 - 20.
21. Dahiya R. Differential gene expression of growth factors in young and old rat penile tissues is associated with erectile dysfunction. *Int J Impot Res* 1999; 11: 201 - 6.
22. Rote NS. Inflammation. In: McCance KL, Huether SE (eds). *Pathophysiology: The biologic basis for disease in adults and children*. 2nd ed. Baltimore: Mosby. p. 234 - 67.