

DISERTASI

**EKSPRESI mRNA GEN NITRIT OKSIDA SINTASE, RHO KINASE,
KALDESMON DAN HISTOPATOLOGIS KORPUS KAVERNOSUM
PADA TIKUS DENGAN OBSTRUKSI KANDUNG KEMIH YANG
DIBERIKAN ALFA BLOKER**



**CHARLES MARTAMBA
C013182016**

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

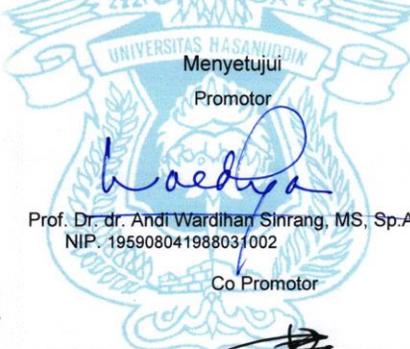
DISERTASI

**EKSPRESI MRNA GEN NITRIT OKSIDA SINTASE, RHO KINASE, KALDESMON
DAN HISTOPATOLOGIS KORPUS KAVERNOSUM PADA TIKUS DENGAN
OBSTRUKSI KANDUNG KEMIH YANG DIBERIKAN ALFA BLOKER**

Disusun dan diajukan oleh

**CHARLES MARTAMBA
C013182016**

*Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Ujian Disertasi dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal 30 November 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*



Menyetujui
Promotor

Prof. Dr. dr. Andi Wardihan Sinrang, MS, Sp.And
NIP. 195908041988031002

Co Promotor



Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)
NIP. 195704161985031001

Co Promotor



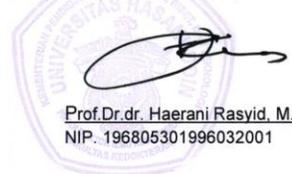
Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK
NIP. 196805301996032001

Ketua Program Studi Doktor
Ilmu Kedokteran,



Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
NIP. 19671103 139802 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,



Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK
NIP. 196805301996032001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN

Jl. Perintis Kemerdekaan Kampus Tamalanrea Km. 10 Makassar 90245
Telp. (0411) 586010, 585836, 586200 Psw. 2767 Fax. (0411) 586297

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : **Charles Martamba**
Nomor Pokok : C013182016
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulis saya berjudul : **Ekspresi mRNA Gen Nitrit Oksida Sintase, Rho Kinase, Kaldesmon dan Histopatologis Korpus Kavernosum Pada Tikus Dengan Obstruksi Kandung Kemih yang diberikan Alfa Bloker**

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

Apabila dikemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 20 Oktober 2022

Charles Martamba menyatakan,



Charles Martamba

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena atas rahmat dan karunia Nya penulis dapat menyelesaikan disertasi yang berjudul **EKSPRESI mRNA GEN NITRIT OKSIDA SINTASE, RHO KINASE, KALDESMON DAN HISTOPATOLOGIS KORPUS KAVERNOSUM PADA TIKUS DENGAN OBSTRUKSI KANDUNG KEMIH YANG DIBERIKAN ALFA BLOKER** ini. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar besarnya kepada Prof. Dr. dr. Andi Wardihan Sinrang, MS, Sp.And sebagai Promotor, Prof. dr. Mochammad Hatta, PhD, Sp.MK(K) dan Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, FINASIM, Sp.GK sebagai Co-Promotor yang telah mencurahkan waktunya untuk membimbing, memberikan kritik, saran dan perbaikan, serta memberikan dorongan secara terus-menerus kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan disertasi ini. Terima kasih penulis ucapkan kepada seluruh penguji yang telah meluangkan waktunya dan memberi masukan yang sangat berharga buat disertasi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat Dekan Fakultas Kedokteran Unhas dan Ketua Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran FK Unhas yang telah memfasilitasi proses pendidikan sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan S3 di Fakultas Kedokteran Unhas Makassar. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat Rektor UPH dan Dekan FK UPH yang telah memberikan ijin belajar kepada penulis untuk menempuh pendidikan S3. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada seluruh teman-teman seangkatan 2018 Akhir atas dukungannya dalam menyelesaikan pendidikan doktor ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua, istri tercinta dan anak-anak atas motivasi, dorongan, dan pengertiannya sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini. Tidak lupa ucapan terima kasih kepada seluruh staf prodi Pak Akmal, Pak Mumu dan Pak Rahmad yang telah membantu administrasi sehingga proses pendidikan saya dapat berjalan lancar. Akhir kata mohon maaf apabila terdapat kesalahan dalam penulisan disertasi ini, semoga bisa bermanfaat bagi banyak orang.

Makassar, 28 November 2022



Charles Martamba

ABSTRAK

CHARLES MARTAMBA. *Eksresi mRNA Gen Nitrit Oksida Sintase, Rho Kinase, Kaldesmon, dan Histopatologis Korpus Kavernosum pada Tikus dengan Obstruksi Kandung Kemih yang Diberikan Alfa Bloker* (dibimbing oleh Wardihan Sinrang, Mochammad Hatta, dan Haerani Rasyid).

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian alfa bloker terhadap histopatologi otot polos korpus kavernosum, ekspresi mRNA gen nitrit monoksida (NO), rho kinase (ROCK) dan CaD pada tikus yang mengalami obstruksi kandung kemih. P pembesaran prostat jinak/*benign prostate hyperplasia* (BPH) dan disfungsi seksual termasuk disfungsi ereksi (DE) sering dialami pria usia lanjut. LUTS/BPH dan DE disebabkan oleh penurunan kadar NO atau *nitrit oxydase syntase* (NOS) pada otot polos prostat dan otot polos korpus kavernosum, hiperaktivitas otonom, peningkatan aktivitas ROCK otot polos prostat dan otot polos korpus kavernosum, iskemik prostat dan penis (aterosklerosis). Metode yang digunakan ialah metode eksperimental. Subjek sebanyak 36 tikus jantan yang dibagi dalam 3 kelompok yaitu: kelompok operasi sham, kelompok operasi placebo, dan kelompok operasi alfa bloker yang diamati selama delapan minggu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keadaan pBOO akan meningkatkan indikator-indikator prokontraksi otot polos korpus kavernosum, yaitu nitrit oksida sintase, rho kinase, dan kaldesmon. Pada minggu ke-8 pascapemberian alfa bloker terjadi perbaikan keadaan pBOO yang dibuktikan dengan penurunan berat kandung kemih dan peningkatan indikator-indikator pro relaksasi otot polos korpus kavernosum. Ditemukan bahwa keadaan pBOO akan meningkatkan indikator-indikator pro kontraksi otot polos korpus kavernosum. Pemberian alfa bloker pada pBOO akan meningkatkan indikator-indikator pro relaksasi otot polos korpus kavernosum.

Kata kunci: *nitrite oxide synthesis*, rho kinase, kaldesmon histopatologis, obstruksi kandung kemih, alfa bloker



ABSTRACT

CHARLES MARTAMBA. *mRNA Expression of Nitrite Oxide Synthesis, Rho Kinase, Caldesmon and Histopathological Genes of The Corpus Cavernosum in Rats with Bladder Obstruction and Alpha-Blockers Treatment* (Supervised by Wardihan Sinrang, Mochammad Hatta, Haerani Rasyid).

The purpose of this study is to determine the effect of alpha blockers on the histopathology of corpus cavernosum smooth muscle, NO, ROCK and CaD gene mRNA expression in rats with bladder obstruction. Benign Prostate Hyperplasia (BPH) and sexual dysfunction including erectile dysfunction (ED) are common in elderly men. LUTS/BPH and DE are caused by decreased levels of Nitric Monoxide (NO) or Nitric Oxydase Synthase (NOS) in prostate and corpus cavernosum smooth muscle, autonomic hyperactivity, increased Rho-Kinase (ROCK) activity of prostate and corpus cavernosum smooth muscle, or prostate and penis ischemia (atherosclerosis). This experimental study used 36 male rats as subjects that were divided into three groups: the sham surgery group, the placebo surgery group, and the alpha-blocker surgery group which were observed for eight weeks. The results show that pBOO condition would increase pro-indicators of corpus cavernosum smooth muscle contraction, including nitric oxide synthase, Rho kinase, and caldesmon. In week 8 after alpha-blockers intervention, there is an improvement in pBOO condition marked by a decrease in bladder weight and an increase in indicators of pro-relaxation of the corpus cavernosum smooth muscle. In this study, it is found that the pBOO state would increase the pro-indicators of smooth muscle contraction of the corpus cavernosum, administration of alpha blockers on pBOO would increase the pro-indicators of smooth muscle relaxation of the corpus cavernosum.

Keywords: nitrite oxide synthesis, rho kinase, caldesmon, histopathology, bladder obstruction, alpha-blockers



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	1
HALAMAN PENGESAHAN	2
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI	i
KATA PENGANTAR	ii
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Penelitian	1
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Pertanyaan Penelitian	5
1.4 Tujuan Umum dan Khusus.....	5
1.5 Manfaat.....	6
BAB II.....	7
TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Anatomi Penis, Vaskularisasi dan Persarafan	7
2.2 Hemodinamika Ereksi	13
2.3 Mekanisme Molekuler dari Ereksi Penis.....	16
2.4 Mekanisme seluler Kontraksi dan Relaksasi Otot Polos Korpus Kavernosa....	19
2.5 Alfa Bloker	29
2.6 Mekanisme BPH menyebabkan Disfungsi Ereksi	33
2.7. Hewan Coba	35
BAB III	39
KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP.....	39
3.1 Kerangka Teori.....	39
3.2 Kerangka Konsep	40
3.3 Hipotesis.....	40
3.4 Variabel	41

3.4.1 Variabel Bebas	41
3.4.2 Variabel Antara	Error! Bookmark not defined.
3.4.3 Variabel Terikat.....	41
3.4.4 Definisi Operasional.....	42
BAB IV	46
METODE PENELITIAN.....	46
4.1 Desain.....	46
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	46
4.3 Bahan dan Cara	47
4.4 Populasi dan Sampel Penelitian	57
4.5 Cara Pengambilan Sampel	57
4.6 Cara Perhitungan Sampel	57
4.7 Kriteria inklusi dan Eksklusi.....	57
4.8 Alur Penelitian.....	58
4.9 Pengolahan Data.....	60
4.10 Uji Statistik.....	60
4.11 Jadwal Kegiatan	60
4.12 Rincian Anggaran.....	60
4.13 Masalah Etika.....	60
BAB V	61
HASIL PENELITIAN	61
5.1 Gambaran Karakteristik Sampel Penelitian	61
5.2 Gambaran Karakteristik Variabel Terikat	66
BAB VI.....	107
PEMBAHASAN	107
6.1 Gambaran Karakteristik Sampel Penelitian	107
6.2 Berat Kandung Kemih Tikus.....	108
6.3 Obstruksi Kandung Kemih atau pBOO (partial Bladder Outlet Obstruction)	108
6.4 Histopatologi Korpus Kavernosum Penis Tikus dan Pemeriksaan Semi Kuantitatif Indeks Fibrosis Korpus Kavernosum Penis Tikus	109
6.5 Ekspresi mRNA gen NO/NOS	118
6.6 Ekspresi mRNA gen Rho Kinase (ROCK)	119

6.7 Ekspresi mRNA gen Kaldesmon.....	120
6.8 Hubungan pBOO dan faktor-faktor pro kontraksi/relaksasi otot polos korpus kavernosum	121
BAB VII	
KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1 Kesimpulan.....	1235
7.2 Saran.....	1255
DAFTAR	
PUSTAKA.....	126

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Seiring meningkatnya angka harapan hidup dan jumlah populasi masyarakat lanjut usia, pengetahuan akan penyakit yang berhubungan dengan proses penuaan sangat diperlukan. Beberapa penyakit yang sering dialami pria usia lanjut adalah pembesaran prostat jinak/*Benign Prostate Hyperplasia* (BPH) dan disfungsi seksual termasuk disfungsi ereksi (DE). Prevalensi BPH secara epidemiologi adalah 8% pada usia 31-40 tahun dan insidensi penyakit tersebut terus meningkat dengan bertambahnya usia hingga menjadi 90% pada dekade ke-9 kehidupan laki-laki.¹ Sementara prevalensi DE di Asia adalah 7-15% untuk usia 40-49 tahun dan 39-49% untuk usia 60-70 tahun.² Data prevalensi DE di Indonesia menurut survey dari *Asia Pacific Sexual Health and Overall Wellness* (AP SHOW) yang dilakukan di 13 negara termasuk Indonesia, didapatkan bahwa 1 dari 4 pria mengalami DE.³

Pasien dengan BPH mengalami sumbatan pada saluran keluar kandung kemih, hal ini dikenal sebagai *partial Bladder Outlet Obstruction* (pBOO). Selanjutnya pBOO akan mengakibatkan gangguan pengosongan urin yang dikenal sebagai gejala saluran kencing bagian bawah/*Lower Urinary Tract Symptoms* (LUTS). Kejadian LUTS sedang (24%) dan LUTS berat (6%) akibat BPH di usia 55-74 tahun.⁴

Selain LUTS, pasien dengan BPH juga akan mengalami DE. Studi epidemiologi yang mencakup sampel besar menyatakan bahwa BPH merupakan salah satu faktor resiko independen terjadinya DE.⁵ Hal lain dari studi ini menemukan bahwa derajat beratnya LUTS mempunyai korelasi positif dengan derajat beratnya DE.⁵

Beberapa studi membuktikan bahwa hubungan LUTS/BPH dan DE disebabkan oleh penurunan kadar Nitrit Monoksida (NO) atau *Nitrit Oxydase Syntase* (NOS) pada otot polos prostat dan otot polos korpus kavernosum, hiperaktivitas otonom, peningkatan aktivitas *Rho-Kinase* (ROCK) otot polos prostat dan otot polos korpus kavernosum, dan iskemik prostat dan penis (aterosklerosis).⁶

Ereksi penis adalah suatu mekanisme yang terkait dengan proses hemodinamika.⁷ Faktor-faktor hemodinamika pada proses ereksi meliputi penurunan resistensi intrakavernosa, peningkatan aliran darah ke arterial melalui dilatasi pembuluh darah dan restriksi aliran vena akibat kompresi intrakavernosa dan pleksus vena subtunika. Aliran darah ke pembuluh darah penis akan meningkat 10 kali lipat dibanding keadaan normal.⁷

DE adalah ketidakmampuan seorang pria mengalami ereksi atau mempertahankan ereksi saat berhubungan seksual.⁸ Untuk terjadinya ereksi diperlukan peningkatan aliran darah arteri penis ke dalam sinusoid korpus kavernosum dan relaksasi otot polos korpus kavernosum untuk tujuan penambahan kapasitas ruang dalam sinusoid korpus kavernosum.⁹ Jadi semua proses yang dapat menimbulkan gangguan relaksasi otot polos korpus kavernosum akan mempengaruhi kualitas ereksi.

Salah satu faktor penyebab terjadinya gangguan relaksasi otot polos korpus kavernosum adalah karena jumlah pembentukan NO yang rendah, sebagai contoh karena akibat ekspresi nitritmonoksida sintase (NOS) yang tidak adekuat atau karena hilangnya serabut saraf nitrengik kavernosa. NO adalah *neurotransmitter* yang dihasilkan oleh seluruh endotel yang melapisi sinusoid, pembuluh darah penis, dan ujung serabut saraf non adrenergik non kolinergik dari nervus yang mempersarafi kavernosa.¹⁰ Senyawa ini memiliki peran besar, yakni sebagai mediator utama dalam proses terjadinya ereksi.^{11 12}

Dalam proses ereksi, NO akan terlepas dan bekerja untuk relaksasi otot polos dan pembuluh darah korpus kavernosum, sehingga ereksi terjadi.¹³ Pada orang dengan disfungsi endotel, produksi NO akan menurun dan kelompok tersebut memiliki risiko mengalami disfungsi ereksi.¹⁴ Perihal hubungan dengan penuaan, penelitian dengan hewan uji tikus, menunjukkan perbedaan ekspresi NO sintase mRNA pada pria usia tua dan muda tidak signifikan. Sehingga, berdasarkan penelitian tersebut, hubungan disfungsi ereksi dengan usia mungkin bukan disebabkan oleh penurunan dari aktivitas NOS.¹⁵

Selain NO, ROCK juga dapat mempengaruhi ereksi melalui jalur peningkatan sensitisasi Ca²⁺, dimana pada peningkatan aktivitas ROCK akan

memperkuat kontraksi otot polos korpus kavernosum sehingga mengganggu proses ereksi.¹⁶ Dengan menggunakan agen farmakologi penghambat ROCK (Y-27632) yang diberikan pada tikus, terjadi relaksasi korpus kavernosum dan peningkatan tekanan intra kavernosum sebagai tanda awal terjadinya ereksi tanpa dipengaruhi NO.¹⁷

Pada otot polos korpus kavernosum, ditemukan kadar ROCK yang tinggi, hal ini menunjukkan aktivitas ROCK mengambil peran penting dalam kontraksi-relaksasi otot polos korpus kavernosum dan mekanisme terjadinya ereksi. Konsentrasi ROCK dalam otot polos korpus kavernosum 17 kali lebih tinggi dari pada konsentrasi pada otot polos ileum.¹⁸

Beberapa penelitian terbaru menyatakan bahwa selain NO dan ROCK, terdapat protein lain yang mempengaruhi proses relaksasi otot polos korpus kavernosum sehingga terjadinya ereksi. Terdapat hal lain yang mengatur keadaan kontraksi otot polos korpus kavernosum seperti Kaldesmon (CaD) yang bekerja pada fase *latch* yang mempertahankan terjadinya kontraksi otot polos pada keadaan Myosin terfosforilasi rendah.¹⁹

Secara klinis keterkaitan dua penyakit tersebut sangat penting, sehingga penatalaksanaan LUTS harus memperhitungkan DE demikian juga sebaliknya. Atau dalam kata lain kedua penyakit tersebut tidak dapat dipisahkan dan harus ditangani dengan cara komprehensif.

Penatalaksanaan terapi medikamentosa pada LUTS/BPH dimulai dengan pemberian alfa bloker pada LUTS sedang-berat.²⁰ Setelah pemberian alfa bloker akan terjadi perbaikan pBOO/LUTS. Dari beberapa studi ditemukan bahwa pada penderita dengan LUTS/BPH yang diberikan terapi alfa bloker akan mengalami perbaikan gejala LUTS dan menemukan bahwa pengobatan LUTS secara tidak langsung memperbaiki DE.^{21 22} Pemberian Doxazozin sebuah alfa bloker korpus kavernosum manusia akan menimbulkan relaksasi pada korpus kavernosum tersebut.²³

Peranan sistem saraf simpatik dalam mengontrol flasid dan ereksi penis sudah dapat dijabarkan dengan jelas di berbagai studi dan α_1 -AR diekspresikan terutama di korpus kavernosus manusia. Pada penis, peningkatan tonus alfa adrenergic meng-augmentasi kontraksi korpus kavernosum dan menurunkan

aliran darah. Jika α_1 -adrenoceptors diblok maka akan terjadi kontraksi korpus kavernosus dan memfasilitasi respons erektil.

Salah satu fungsi alfa bloker memperbaiki fungsi ereksi adalah dengan cara mempengaruhi NO pada otot polos korpus kavernosum. Alfuzozin sebuah alfa bloker, memperbaiki fungsi ereksi dengan cara normalisasi *bioavailability* NO dan mengembalikan ikatan endotelial NOS (eNOS).²⁴ Sementara peran alfa bloker dalam relaksasi otot polos korpus kavernosum adalah meningkatkan aktivitas enzim neuronal NOS (nNOS) sehingga meningkatkan produksi nNOS dan pelepasan nNOS.²⁵

Selain NO diduga alfa bloker juga akan mempengaruhi kerja ROCK pada relaksasi otot polos korpus kavernosum. Pemberian Doxazosin dan Y-27632 (penghambat ROCK) akan menimbulkan efek relaksasi pada otot polos korpus kavernosum manusia.²³

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, patofisiologi kedua perjalanan penyakit tersebut dapat dirumuskan menjadi:

DE pada pasien LUTS karena pBOO adalah keadaan yang mempunyai patofisiologi yang sama yaitu gangguan relaksasi otot polos. Sehingga berdasarkan patofisiologi tersebut dapat disimpulkan, LUTS dengan pBOO terjadi karena gangguan relaksasi otot sfingter kandung kemih, dan DE terjadi karena adanya gangguan relaksasi otot polos korpus kavernosum.

Peneliti melihat bahwa pBOO menyebabkan gangguan relaksasi otot polos pada kedua tempat tersebut (sfingter kandung kemih dan korpus kavernosum) sehingga peneliti mengharapkan pemberian alfa bloker yang telah terbukti akan memperbaiki relaksasi otot polos sfingter kandung kemih juga akan memperbaiki relaksasi otot polos korpus kavernosum. Hal ini coba dilihat dengan perubahan nilai ekspresi NO, ROCK, CaD sesudah pemberian alfa bloker. Terjadinya perbaikan relaksasi otot polos korpus kavernosum atau meningkatnya rasio perbandingan otot polos korpus kavernosum (kualitas ereksi) dapat digambarkan oleh tiga nilai diatas yaitu, NO, ROCK, dan CaD. Sehingga timbul pertanyaan penelitian oleh peneliti: “Bagaimana pengaruh pemberian

alfa bloker pada penderita dengan pBOO terhadap perubahan ekspresi nilai NO, ROCK, dan CaD pada korpus kavernosum?"

Dari uraian di atas dan dengan tema sentral masalah penelitian yang telah dirumuskan maka diidentifikasi beberapa masalah :

1. Gangguan fungsi ereksi pada pasien dengan pBOO.
2. Perubahan histopatologi, nilai NO, ROCK dan CaD pada otot polos korpus kavernosum yang mengalami pBOO.
3. Perbaikan fungsi ereksi pada pasien pBOO dengan pemberian alfa bloker.
4. Perubahan histopatologi nilai NO, ROCK, dan CaD pada otot polos korpus kavernosum setelah pemberian alfa bloker.

1.3 Pertanyaan Penelitian

- Gangguan fungsi ereksi yang diakibatkan obstruksi kandung kemih.
- Adanya perubahan histopatologi, Nitrat Oksidase (NO), Rho-Kinase (ROCK) dan Kaldesmon (CaD) pada otot polos korpus kaverosa yang mengalami obstruksi kandung kemih.
- Alfa bloker dapat memperbaiki disfungsi ereksi (DE) pada obtruksi kandung kemih.
- Adanya pengaruh alfa bloker terhadap histopatologi, NO, ROCK dan CaD pada otot polos korpus kaverosa.

1.4 Tujuan Umum dan Khusus

a. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian alfa bloker terhadap histopatologi otot polos korpus kavernosum, ekspresi mRNA gen NO, ROCK dan CaD pada tikus yang mengalami obstruksi kandung kemih.

b. Tujuan Khusus

- Mengetahui histopatologi otot polos korpus kavernosum pada tikus yang mengalami obstruksi kandung kemih setelah pemberian alfa bloker.

- Mengetahui ekspresi mRNA gen NO pada tikus yang mengalami obstruksi kandung kemih setelah pemberian alfa bloker.
- Mengetahui ekspresi mRNA gen Rho-Kinase (ROCK) pada tikus yang mengalami obstruksi kandung kemih setelah pemberian alfa bloker.
- Mengetahui ekspresi mRNA gen CaD pada tikus yang mengalami obstruksi kandung kemih setelah pemberian alfa bloker.
- Mengetahui hubungan ekspresi mRNA gen NO, ROCK dan CaD pada tikus yang mengalami obstruksi kandung kemih setelah pemberian alfa bloker.
- Mengetahui hubungan ekspresi mRNA gen NO, ROCK dan CaD dengan gambaran histopatologis (Rasio otot polos/kolagen) pada tikus yang mengalami obstruksi kandung kemih setelah pemberian alfa bloker.

1.5 Manfaat

a. Manfaat untuk akademik :

Dalam bidang penelitian dan pendidikan, hasil penelitian ini diharapkan dapat berguna dalam memahami mekanisme molekuler alfa bloker pada pasien disfungsi ereksi dengan obstruksi kandung kemih.

b. Manfaat untuk individu :

Manfaat bagi penulis untuk membuat peningkatan diri dan kualitas pengetahuan tentang pengobatan BPH/LUTS yang diharapkan memiliki efek dalam perbaikan penyakit disfungsi ereksi.

c. Manfaat untuk dunia klinis :

Manfaat klinis diharapkan NO, ROCK dan CaD dapat digunakan sebagai biomarker dalam pengobatan pasien DE dengan obstruksi kandung kemih.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

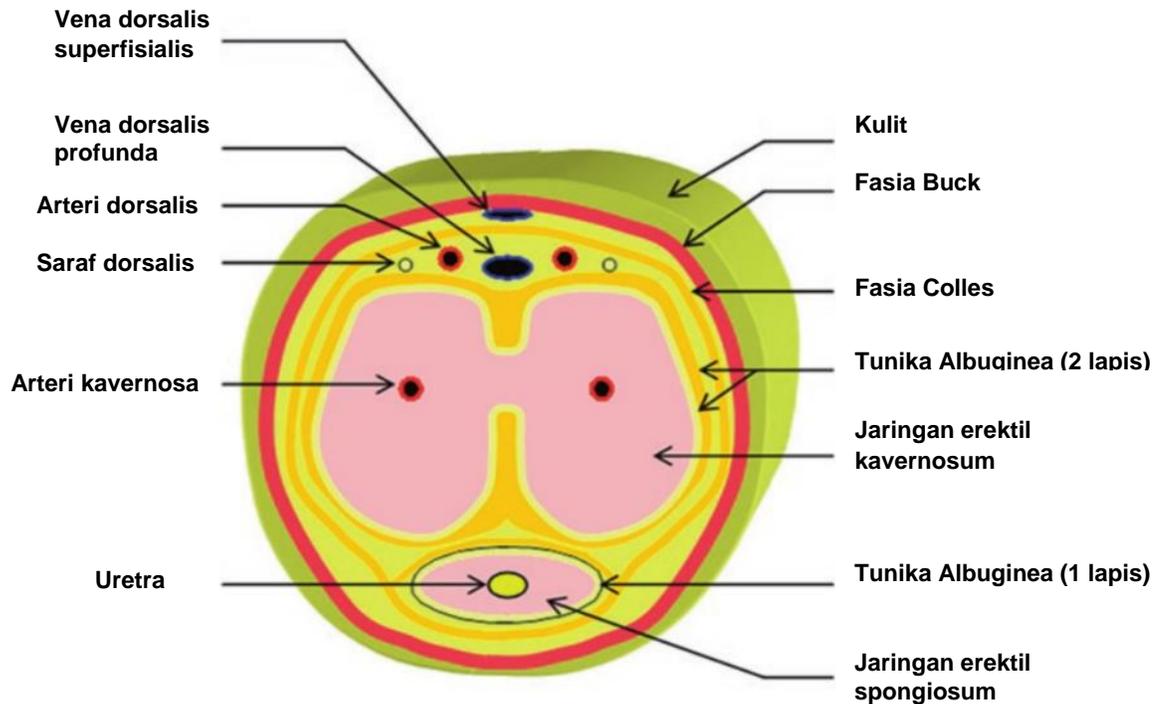
2.1 Anatomi Penis, vaskularisasi dan persarafan

2.1.1 Anatomi Penis

Penis terdiri dari sepasang korpus kavernosum di bagian dorsal dan korpus spongiosum di bagian ventral. Korpus spongiosum berisi uretra dan membentuk glans penis pada bagian distal. Masing-masing korpus diselubungi oleh suatu selubung berserat, yaitu tunika albuginea. Antara kedua korpus kavernosum terdapat suatu septum perforasi yang tidak lengkap yang memungkinkan keduanya untuk berfungsi secara bersamaan²⁴. Suatu selubung berserat tambahan bernama fasia Buck mengelilingi ketiga korpus. Pada bagian luar fasia Buck terdapat fasia Colles yang membentang dari dasar glans ke diafragma urogenital di mana fasia tersebut berdekatan dengan fasia Scarpa. Bagian luar dari fasia Colles adalah kulit (Gambar 1).

Bagian proksimal, korpus kavernosum membentuk krus penis, yang berlabuh ke ramus pubis dan ditutupi oleh otot-otot ischiokavernosus²⁴. Bagian proksimal korpus spongiosum membentuk bulbus penis, yang diselubungi oleh otot bulbospongiosus. Ligamen penyokong penis berasal dari linea alba dan simfisis pubis dan tersambung pada tunika albuginea untuk menunjang bagian penis yang tergantung²⁵.

Gambar 2.1. Penampang melintang penis.



Penampang melintang penis menunjukkan pasangan korpus kavernosum pada bagian dorsal dan korpus spongiosum pada bagian ventral. Kavernosum dikelilingi oleh tunika albuginea dua lapis (lingkaran dalam dan longitudinal luar) dan septum tidak lengkap yang memungkinkan hubungan antara dua kavernosum. Uretra berjalan di dalam korpus spongiosum dan tunika satu lapis (1 lapisan melingkar)

a. Korpus

Korpus kavernosum adalah dua silinder spons yang terutama terdiri dari sinusoid arteri dan otot polos yang dikelilingi oleh tunika albuginea. Tunika albuginea kavernosum memiliki ketebalan 2-3 mm dalam keadaan flasid dan sebagian besar terdiri dari serabut-serabut kolagen dengan sebagian kecil merupakan serabut-serabut elastis²⁶. Tunika kavernosum memiliki sebuah lapisan dalam yang melingkar dan sebuah lapisan serabut-serabut longitudinal luar²⁴.

Penampakan histologis korpus spongiosum mirip dengan korpus kavernosum dan mengandung sinusoid-sinusoid yang lebih besar. Selain itu, tunika albuginea yang mengelilingi korpus ini lebih tipis, hanya memiliki satu lapisan serat melingkar, dan mengandung lebih banyak serabut-serabut elastis²⁶.

b. Glans

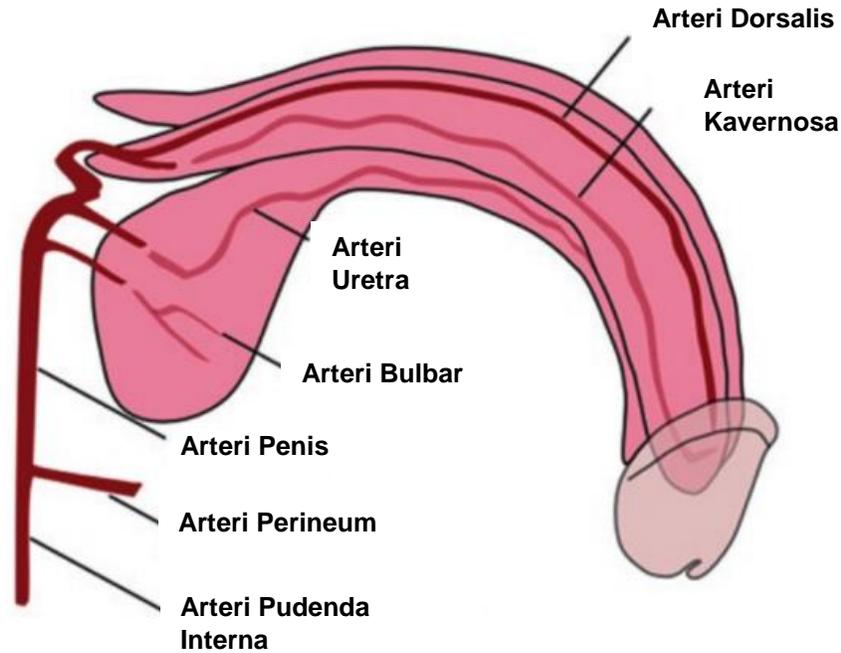
Glans membentuk bagian distal penis. Bagian ini bersebelahan dengan korpus spongiosum. Bagian ini ditutupi dengan kulit yang sangat tipis dan melekat kuat. Selain itu, tidak terdapat tunika albuginea pada glans²⁴.

2.1.2 Vaskularisasi Penis

a. Arteri

Arteri pudenda interna, cabang dari iliaka interna, berperan sebagai penyuplai darah utama ke penis²⁴. Setelah menyuplai arteri perineum, arteri tersebut menjadi arteri penis. Juga terdapat arteri-arteri pudenda tambahan, yang berasal dari arteri iliaka eksterna, obturator, vesikalis, dan femoralis, yang memberikan suplai darah untuk arteri penis pada pria²⁷. Arteri penis memiliki empat cabang terminal berpasangan: arteri kavernosum (penis profunda), dorsalis, uretra, dan bulbar^{24,27} (Gambar 2). Setiap arteri kavernosum menembus tunika albuginea kavernosum ipsilateral di hilus penis dan memasuki krus penis. Arteri tersebut berjalan sepanjang korpus kavernosum dan menyuplai banyak cabang yang berliku, yaitu arteri helisin. Arteri helisin menyuplai darah secara langsung ke sinusoid-sinusoid jaringan ereksi. Setiap arteri dorsalis terletak di bawah fascia Buck dan berjalan ke bagian distal di antara saraf-dorsalis yang berpasangan secara lateral dan vena dorsalis profunda. Mereka bertanggung jawab atas pembesaran glans selama ereksi. Arteri-arteri uretra berjalan melalui korpus spongiosum secara lateral terhadap uretra dan menyuplai darah ke korpus spongiosum, uretra, dan glans. Arteri-arteri bulbar memasuki bulbus penis dan menyuplai darah ke uretra proksimal dan kelenjar Cowper.

Gambar 2.2. Pasokan arteri ke penis.



Arteri pudenda interna membentuk arteri penis setelah percabangan arteri perineum. Arteri penis memiliki empat cabang terminal: arteri bulbar, uretra, kavernosa, dan dorsalis. Pasokan darah penis bersifat simetris bilateral; hanya satu sisi pasokan yang digambarkan dalam diagram ini.

b. Vena

Di dalam tiga korpus, venula-venula post kavernosum kecil bergabung untuk membentuk vena-vena emisaria yang kemudian menembus tunika albuginea²⁸. Pada bagian proksimal penis, vena-vena emisaria mengalir ke vena kavernosum yang kemudian bergabung dengan vena-vena periuretra dari bulbus uretra untuk membentuk vena pudenda interna. Vena-vena emisaria dari penis bagian distal dan tengah bergabung untuk membentuk vena-vena sirkumfleksa yang kemudian mengalir ke vena dorsalis profunda penis. Vena dorsalis profunda berjalan sepanjang bagian dorsal penis dan mengalir ke pleksus periprostatik. Aliran vena pada kulit dan jaringan penis subkutan melalui banyak vena superfisial yang kemudian membentuk vena dorsalis superfisial. Vena ini mengalir ke vena pudenda eksterna.

2.1.3 Persarafan Penis

Penis menerima persarafan dari jaras eferen parasimpatis, simpatis, dan somatik (Gambar 3). Persarafan parasimpatis penis terdiri dari sinyal eksitatorik utama ke penis yang bertanggung jawab untuk vasodilatasi pembuluh darah penis dan ereksi. Serabut preganglionik berasal dari nukleus parasimpatis sakral^{27,30}. Serabut-serabut ini berjalan ke pleksus pelvis melalui saraf pelvis, yang juga membawa jaras simpatis^{30,31}. Setelah bersinapsis di pleksus pelvis, serabut-serabut parasimpatis post-ganglionik muncul sebagai bagian dari saraf kavernosa³². Saraf kavernosa berjalan sepanjang bagian posterolateral prostat dalam fasia perlvvis yang menyatu dengan kapsul prostat³³. Saraf-saraf kavernosa kemudian keluar dari pelvis sebagai dua kelompok serabut³³. Kelompok pertama berjalan ke sfingter uretra untuk mengatur fungsi berkemih. Kelompok kedua berjalan ke penis. Kelompok ini bercabang lebih jauh saat mencapai penis dengan sebagian serabut mengarah ke korpus spongiosum dan serabut-serabut lainnya memasuki krus penis bersama dengan arteri penis profunda dan vena-vena kavernosa³³.

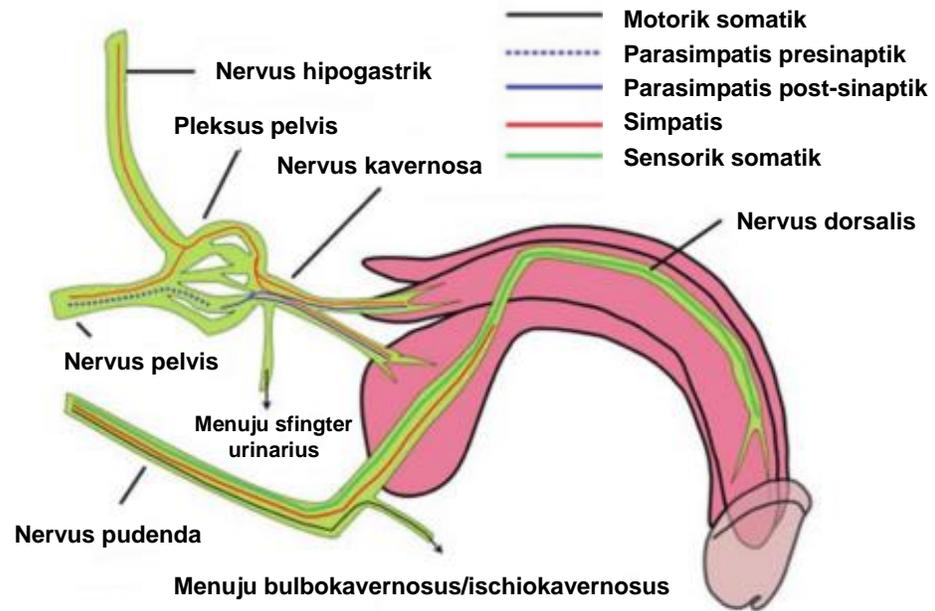
Jaras simpatis dimulai pada kolom sel intermediolateral dan nukleus tambahan pada tingkat saraf tulang belakang T9-L2^{31,34}. Serabut preganglionik muncul dan berjalan menuju sinaps pada sel-sel ganglion lumbal sakral dan kaudal dalam rantai simpatis³⁵. Saraf simpatis post-ganglionik pada penis keluar dari rantai simpatis melalui tiga jalur. Yang pertama membawa serabut simpatis melalui saraf hipogastrik menuju pleksus pelvis di mana mereka bergabung dengan saraf kavernosa untuk jarak yang tersisa ke penis. Pada jalur kedua, aliran keluar serabut simpatis post-sinaptik dari ganglia paravertebra bergabung dengan saraf pelvis, yang berjalan ke pleksus pelvis untuk bergabung dengan saraf kavernosa ke penis. Akhirnya, sebagian dari aliran keluar serabut simpatis dibawa melalui jalur langsung menuju penis dari ganglia rantai simpatis melalui saraf pudenda³². Peran neuron-neuron simpatis ini terutama sebagai bagian dari fungsi antiereksi. Mereka merangsang vasokonstriksi dan tampaknya memiliki aktivitas spontan yang menghasilkan tonus antiereksi^{32,36}. Namun, pemberantasan total sinyal-sinyal simpatis menyebabkan berkurangnya fungsi ereksi yang menunjukkan bahwa sinyal-sinyal simpatis tidak sepenuhnya antiereksi^{32,34,37}. Terdapat berbagai pendapat berbeda mengenai alasan efek ini, namun, beberapa penulis telah menawarkan ide bahwa akibat peran vital dari sinyal-sinyal simpatis pada

tonus arteri dan regulasi distribusi darah, lesi simpatis dapat mengganggu rute darah ke penis³⁷.

Saraf-saraf eferen motorik somatik muncul dari bagian ventral tulang belakang sakral (nukleus Onuf). Mereka berjalan melalui saraf pudenda untuk mempersarafi otot-otot bulbospongiosus dan ischiokavernosus³². Sinyal-sinyal saraf ke otot-otot ini pada saat penis mengalami ereksi menyebabkan peningkatan rigiditas penis³⁸. Selain itu, kontraksi otot-otot ini secara ritmis membantu pengeluaran ejakulasi³².

Sinyal-sinyal somatosensorik dari penis muncul terutama pada ujung-ujung saraf bebas dan reseptor-reseptor korpuskular. Sinyal-sinyal dibawa melalui serabut-serabut delta-C dan delta-A³⁹. Serabut-serabut ini bersatu untuk membentuk saraf dorsalis penis, yang meluas ke pelvis untuk bergabung dengan saraf pudenda. Saraf pudenda membawa sinyal-sinyal sensorik ke saraf tulang belakang melalui akar-akar spinal S2-S4 dan berakhir di materi abu-abu pada korda lumbosakral⁴⁰.

Gambar 2.3. Persarafan penis.



Serabut-serabut parasimpatis presinaptik berjalan melalui saraf pelvis ke sinaps pada pleksus pelvis, serabut-serabut post-sinaptik muncul dalam saraf kavernosa dan berjalan ke badan korpus, demikian pula dengan sfingter urinarius. Serabut-serabut simpatis berjalan melalui saraf hipogastrik dan pelvis untuk bergabung dengan saraf kavernosa saat keluar dari pleksus pelvis. Serabut-serabut simpatis juga berjalan ke penis melalui saraf pudenda. Serabut-serabut motorik somatik berjalan menuju bulbokavernosus dan ischiokavernosus melalui saraf pudenda. Sinyal-sinyal aferen sensorik somatik berjalan dari penis melalui saraf dorsalis yang kemudian bergabung dengan saraf pudenda

2.2 Hemodinamika Ereksi

2.2.1 Keadaan Flasid

Keadaan flasid penis ditandai dengan aliran darah yang hanya cukup untuk memenuhi kebutuhan nutrisi dan fisiologis, namun tidak cukup untuk ereksi penis. Selama keadaan ini, kontraksi parsial yang berkelanjutan dari sel-sel otot polos di dinding arteri, arteriol, dan trabekula korpus sangat penting untuk pembatasan aliran darah. Mekanisme molekuler yang menyebabkan kontraksi tonus otot polos dibahas di bawah ini.

2.2.2 Tumesensi dan Ereksi

Dengan adanya rangsangan seksual maka akan terjadi pelepasan mediator proereksi ke dalam otot polos korpus dan respons ereksi dimulai. Di dalam korpus kavernosum, terdapat dilatasi arteri dan arteriol sehingga terjadi peningkatan aliran darah masuk. Otot polos trabekula juga mengalami relaksasi sehingga memungkinkan ruang sinusoid korpus melebar saat terisi darah. Pembengkakan kavernosum ini mulai menekan venula subtunika sehingga mengurangi aliran keluar vena. Dengan pembengkakan lebih lanjut, tunika akan meregang dan menutupi vena emisaria di antara dua lapisan tunika yang menyebabkan aliran keluar vena menjadi minimal⁴¹. Kondisi ini meningkatkan tekanan intrakavernosum hingga mencapai 100 mmHg yang membuat penis pada posisi ereksi penuh⁴¹.

Selama peningkatan aktivitas seksual, penis memasuki fase ereksi rigid. Otot-otot ischiokavernosus berkontraksi, sebagai akibat refleks bulbokavernosus dan menekan dasar korpus kavernosum yang menyebabkan penghentian sementara aliran darah masuk dan keluar sehingga meningkatkan tekanan intrakavernosum hingga beberapa ratus mmHg⁴¹.

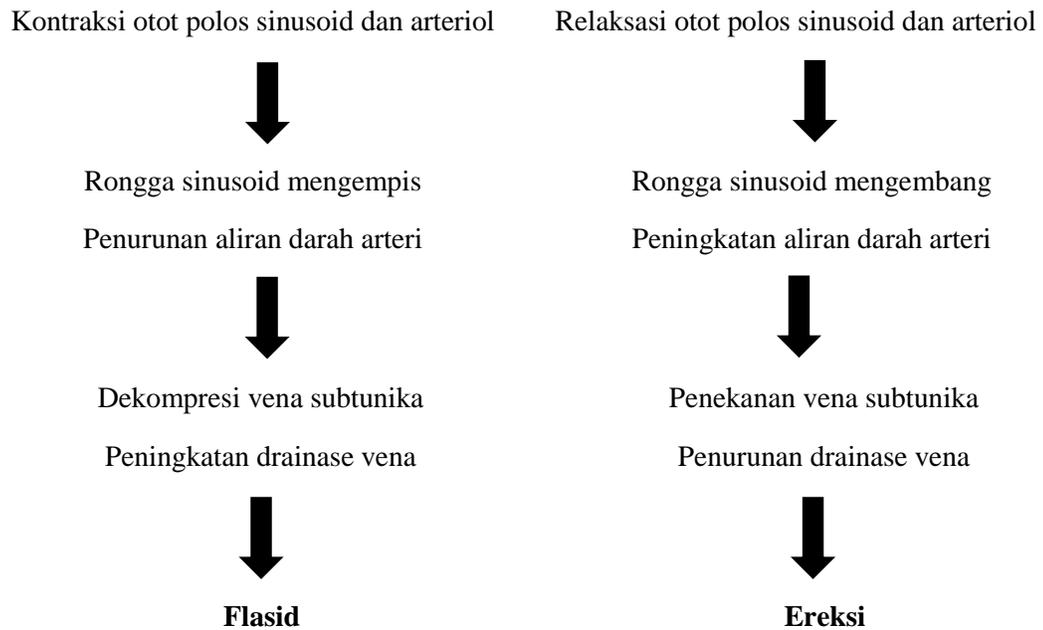
Korpus spongiosum dan glans berperilaku agak berbeda pada tumesensi dan ereksi. Aliran arteri meningkat sama seperti lokasi di kavernosum. Akibat perbedaan pada tunika albuginea, yang tipis di spongiosum dan nihil di glans, oklusi vena menjadi minimal di lokasi-lokasi ini. Hal ini menyebabkan tekanan di spongiosum menjadi hanya sepertiga hingga setengah dari tekanan di kavernosum⁴². Glans dan spongiosum dengan demikian bertindak sebagai pirau arteriovenosa selama ereksi. Mirip dengan korpus kavernosum, selama fase ereksi rigid, kontraksi otot-otot ischiokavernosus dan bulbokavernosus menekan aliran keluar vena yang menyebabkan peningkatan tekanan lebih lanjut pada spongiosum dan glans. Vena dorsalis profunda ditekan di antara kavernosum yang membengkak dan fascia Buck yang berkontribusi terhadap rigiditas glans⁴¹.

2.2.3 Detumesensi

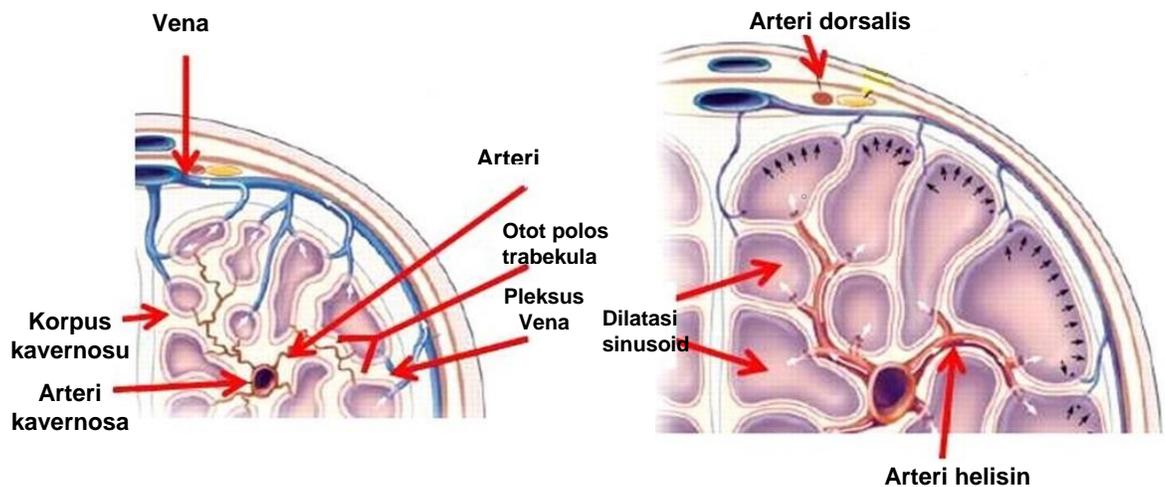
Dengan berhentinya rangsangan seksual dan penurunan aktivitas saraf yang memicu ereksi, respons ereksi berakhir. Sinyal-sinyal saraf antiereksi menyebabkan vasokonstriksi arteri di penis dan kontraksi otot polos trabekula yang menyebabkan pengurangan aliran masuk arteri dan kolapsnya trabekula⁴³. Dengan penurunan aliran masuk arteri dan

dekompresi korpus, oklusi drainase vena mereda sehingga memungkinkan aliran darah keluar dari korpus dan kembalinya kondisi fisiologis ke keadaan flasid ⁴⁴.

Gambar 2.4. Diagram hemodinamik ereksi



Gambar 4. Gambar hemodinamik ereksi



2.3 Mekanisme Molekuler dari Ereksi Penis

2.3.1 Jembatan silang

Ereksi dan detumesensi penis merupakan hasil dari proses relaksasi dan kontraksi sel otot polos (*smooth muscle cells*, SMC) yang terdapat pada dinding pembuluh darah arteri kavernosum dan percabangannya, arteri-arteri helisin (*helicine arteries*), juga pembuluh darah pada jaringan trabekula sinusoid kavernosum. Meskipun terdapat beberapa perbedaan terkait regulasi sel otot trabekula dan arteri (2/19), demi kemudahan, hal tersebut akan didiskusikan secara utuh dan secara umum sebagai sel otot polos kavernosum (*cavernous smooth muscle cells*, CSMC)⁴⁴.

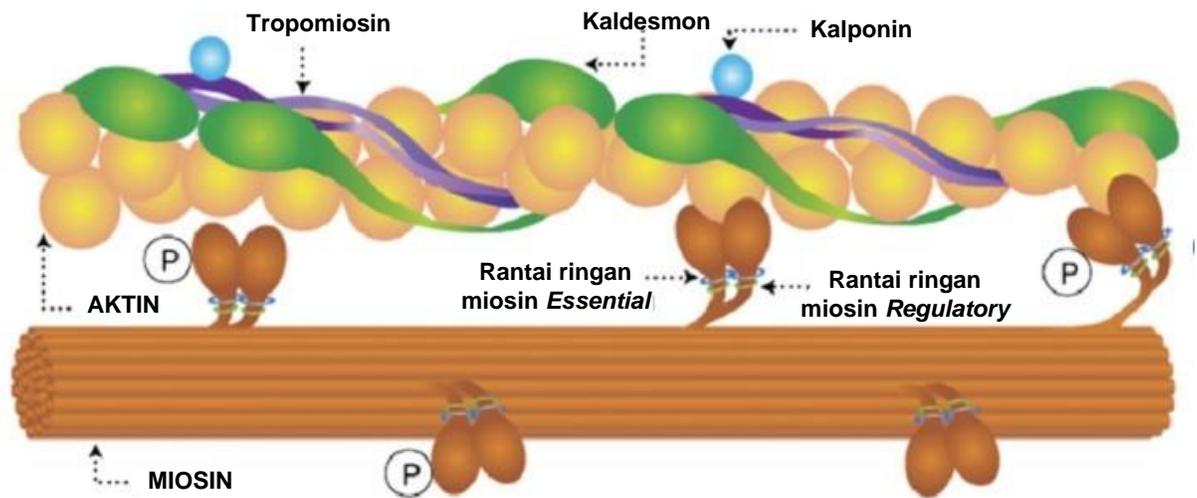
Serupa dengan jenis otot lainnya, sistem kontraksi dari CSMC secara umum terdiri atas dua tipe miofilamen yang saling tumpang tindih: miofilamen tipis dan tebal. Luasnya tumpang tindih antara dua jenis miofilamen menentukan derajat kontraksi atau relaksasi otot^{43,44}.

Filamen yang tipis dan lebih panjang tersusun dari beberapa unit protein globular yang disebut aktin. Mereka bergabung untuk membentuk struktur panjang menyerupai rantai manik. Setiap filamen tipis tersusun dari sepasang rantai aktin yang saling bertautan. Juga terdapat sedikit protein pengatur seperti tropomiosin, serupa dengan yang terdapat pada otot lurik, dan protein lainnya yang spesifik terhadap SMC seperti kaldesmon (protein pengikat kalmodulin), *y calponin* (yang memiliki efek inhibisi pada interaksi aktin-miosin). Filamen tipis melekat pada satu sisi baik dari struktur padat dalam sitoplasma atau tambalan padat pada sitoplasma (komposisi protein dari struktur ini tidak diuraikan demi kesederhanaan makalah ini). Pengaturan letak tersebut membentuk sistem jangkar yang ketika ditarik oleh filamen tipis yang bergeser, akan terjadi pemendekan SMC selama kontraksi^{44,45}.

Filamen tebal tersusun dari beberapa unit protein yang berukuran sangat besar, dinamakan miosin. Molekul miosin memiliki dua rantai besar dan berat (menyerupai dua klub golf yang saling terjalin) dan dua pasang rantai yang lebih kecil dan ringan. Rantai yang berat terdiri dari bagian “ekor” panjang berbentuk batang yang berpolimerisasi dengan molekul miosin lainnya membentuk badan dari filamen tebal, dan sebuah “kepala” bulat menonjol dari filamen untuk membentuk struktur yang dikenal sebagai “jembatan-silang”, yang berorientasi ke arah filamen tipis. Kepala dari rantai berat miosin memiliki kemampuan penting untuk mengkatalisis pemecahan ATP menjadi ADP dan fosfat, dan reaksi yang menghasilkan energi. Miosin ATP-ase akan teraktivasi oleh pengikatan molekul aktin dengan

protein filamen tipis. Aktivitas ATP-ase yang dilepaskan memicu perlekatan kepala miosin pada molekul aktin selanjutnya dengan gerakan jungkat-jungkit membentuk jembatan-silang aktomiosin yang kuat dan mampu membangkitkan energi (siklus jembatan-silang) yang menarik filamen tipis sepanjang filamen miosin, dengan demikian terjadi pemendekan serat otot. Telah disebutkan di atas bahwa molekul miosin mengandung dua pasang rantai kecil dan ringan yang melekat pada kepala rantai berat, dua disebut sebagai *Myosin Light Chain* rantai ringan miosin (MLC) “penting (*essential*)” dan pasangannya lainnya “regulasi (*regulatory*)”; yang terakhir memegang peranan penting pada regulasi kontraksi SMC.

Gambar 2.6. Jembatan Silang.



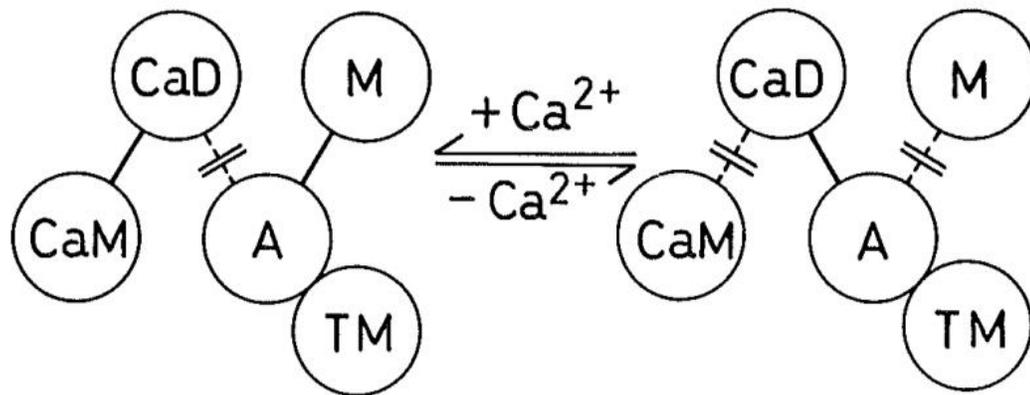
a. **Kaldesmon**

Kaldesmon (CaD) merupakan protein yang dapat dibagi menjadi tiga bagian, yakni sisi C-terminal yang memiliki peran fungsional untuk berikatan dengan aktin, kalmodulin (CaM), inhibisi aktivitas aktomiosin ATPase. Sedangkan dua sisi lainnya adalah sisi fosforilasi dan sisi N-terminal, yang berikatan dengan miosin dan berinteraksi lemah dengan aktin dan CaM²⁰. Kaldesmon merupakan protein *actin-binding site*, melalui ikatan tersebut, CaD mampu menekan aktivasi *actin-activated myosin ATPase*. Sebagai protein *actin-binding* pada sel otot polos. Ikatan CaD dengan F-actin secara in-vitro menunjukkan penurunan interaksi antara aktin dan myosin, melemahkan aktivitas *actomyosin ATPase*. Dalam kata lain CaD memiliki peran inhibisi pada kontraktibilitas otot polos.

Diluar jalur fosforilasi MLC, polimerisasi aktin, adhesi filamen aktin dengan membrane, dan interaksi aktin-myosin merupakan syarat untuk terjadinya kontraksi. Kaldesmon yang tidak aktif berikatan dengan aktin, mencegah formasi filamen aktin, perlekatan dengan membran, dan interaksinya dengan miosin. Saat teraktivasi, kaldesmon terlepas dari aktin, sehingga otot polos dapat berkontraksi. Aktivasi CaD disebabkan oleh jalur fosforilasi pada serine 789. Pada otot polos pembuluh darah, stimulasi α -1-adenoreseptor menyebabkan terjadinya fosforilasi kaldesmon, sehingga kaldesmon dianggap memiliki peran dalam kontraksi adrenergik. Kaldesmon

merupakan efektor dari alfa-1 adenoreseptor pada prostat manusia. Aktivasi dari kaldesmon merupakan faktor penting terjadinya kontraksi alfa-1 adrenergik pada prostat, dan pada terapi alfa-1 bloker⁴⁴.

Gambar 2.7. Mekanisme flip-flop pada interaksi aktomiosin dengan calmodulin-kaldesmon



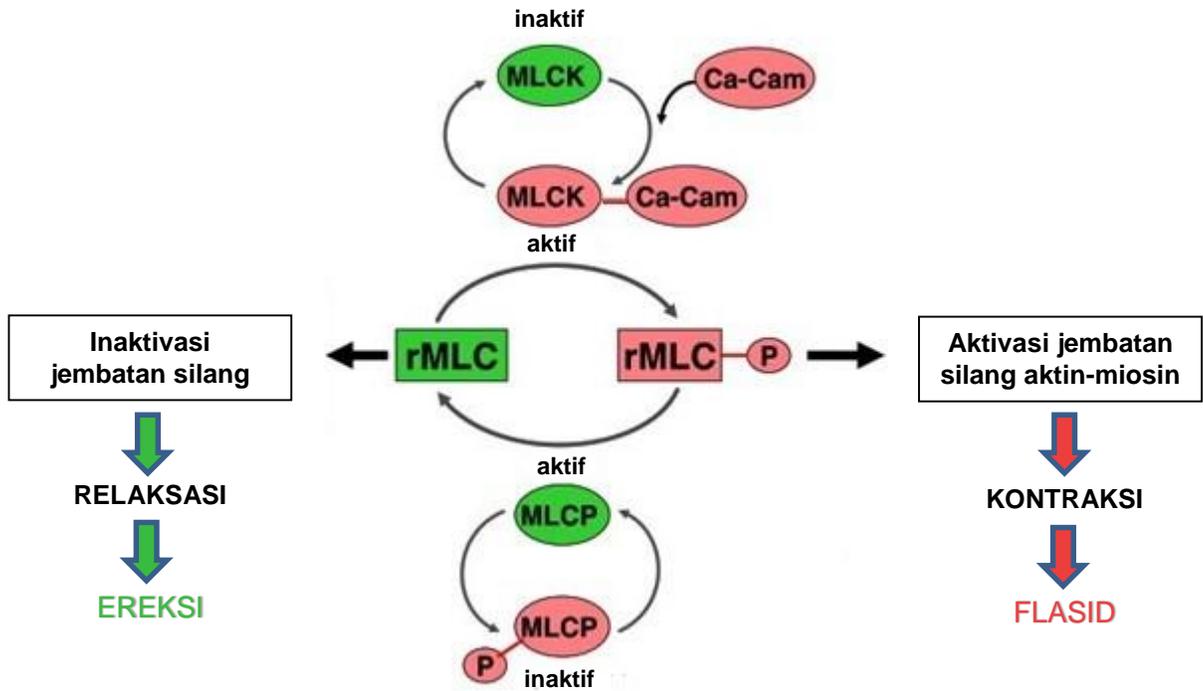
2.4 Mekanisme seluler kontraksi dan relaksasi otot polos korpus kavernosa

Pada seluruh tipe otot, baik polos maupun lurik, hal penting untuk proses kontraksi adalah peningkatan konsentrasi kalsium sitosolik $[Ca^{2+}]_i$; yang mengaktivasi ATP-ase miosin dan siklus jembatan-silang. Pada otot lurik, $[Ca^{2+}]_i$ akan meregulasi kontraksi dengan berikatan pada troponin, protein filamen yang tipis, dengan demikian menekan efek inhibisi pada interaksi aktin-miosin. Otot polos yang mengandung sedikit troponin dan aktivitas kontraksi diregulasi oleh filamen tebal, tergantung oleh situasi fosforilasi dari rantai ringan miosin *regulatory* (rMLC). Hanya ketika mereka telah mengalami fosforilasi maka kepala ATP-ase miosin rantai berat dapat diaktivasi oleh aktin dengan hasil akhirnya adalah kontraksi dari SMC⁴⁵.

Fenomena tersebut sangat penting untuk aktivitas kontraksi otot polos, yang diregulasi oleh dua enzim khusus: kinase rantai ringan miosin (*myosin light chain kinase*, MLCK) yang berperan dalam fosforilasi rMLC, dengan demikian mengaktivasi kontraksi, dan fosfatase rantai ringan miosin (*myosin light chain phosphatase*, MLCP) yang berperan dalam defosforilasi rMLC, sehingga memicu terminasi kontraksi. Dengan demikian,

keseimbangan antara aktivitas kedua enzim yang berlawanan, yakni MLCK dan MLCP, menentukan derajat kontraksi SMC. Sebagian besar mekanisme sinyal yang meregulasi kontraksi atau relaksasi otot polos pada akhirnya bekerja melalui aktivasi atau inhibisi dari kedua enzim tersebut (Gambar 6)⁴⁵.

Gambar 2.8. Mekanisme dasar regulasi dari kontraksi dan relaksasi otot polos korpus kavernosum



Mekanisme dasar regulasi dari kontraksi otot polos menunjukkan fungsi penting regulasi rantai ringan miosin (rMLC) yang status fosforilasinya menentukan interaksi aktin-miosin. Enzim dan kofaktor dilambangkan dengan bentuk elips. Konformasi prokontraksi atau kondisi fosforilasi ditunjukkan dengan warna merah; status pro-relaksasi dengan warna hijau. Ca-Cam: *calcium-calmodulin complex*; MLCK: *myosin light chain kinase*; MLCP: *myosin light chain phosphatase*.

Aktivitas yang seimbang antara MLCK dan MLCP ditentukan oleh interaksi berbagai pembawa sinyal interseluler di mana berbagai jenis otot polos, termasuk CSMC^{42,45,49}, dapat memberikan respons (Tabel 2.1).

Tabel 2.1. Pembawa sinyal interseluler utama yang mengatur aktivitas kontraksi otot polos kavernosus

Konstriktor	Relaksan
Noradrenalin (NA)	Oksida nitrat (<i>nitric oxide</i> , NO)
Neuropeptida Y	Asetilkolin*
Endotelin I	Peptida Intestinal Vasoaktif
Angiotensin II	TP, Adenosin**
Prostanoid (PGF2 α , ...)	Prostanoid (PGEs, ...)

*Secara tidak langsung, menstimulasi endotel untuk melepaskan NO dan menghambat pelepasan NA dari persarafan simpatis.

**Tampaknya bekerja secara langsung pada sel otot polos (karena mereka berekspresi pada reseptor purinergik P2Y) dan dengan menstimulasi endotel untuk melepaskan NO.

MLCK, di mana aktivitas fosforilasinya pada MLC diperlukan untuk kontraksi otot polos, akan teraktivasi oleh pengikatan dari protein kalmodulin sitosolik (*cytosolic protein calmodulin*, Cam), saat mengandung 3 atau 4 ikatan atom Ca²⁺ (kompleks Ca-Cam). Hal ini terjadi saat kadar (Ca²⁺)i meningkat dari kadar basal (~ 100 nM) sampai pada 500-700 nM. Ikatan dari kompleks Ca-Cam dengan MLCK memicu perubahan konformasi yang memberi paparan kepada pusat katalitiknya yang tersembunyi saat kondisi inaktif, kemudian menjadi aktif dan selanjutnya membuat kompleks tersebut memfosforilasi rMLC (Gambar 2.8).

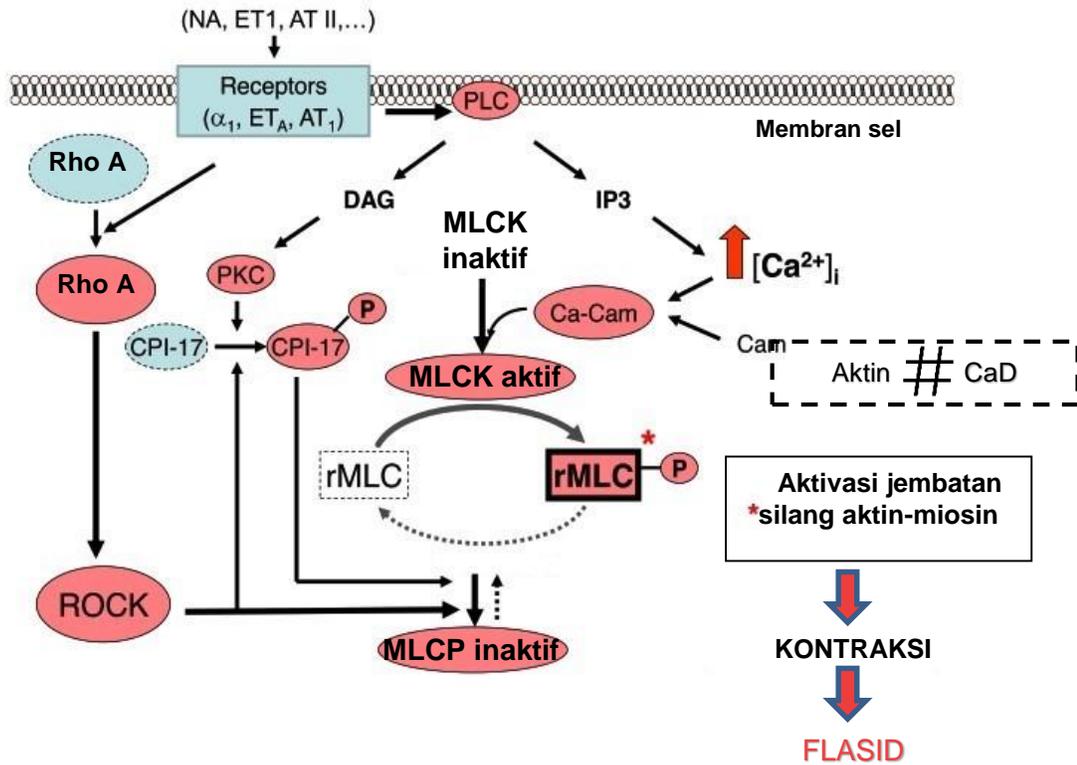
2.4.1 Kontraksi otot polos korpus kaverosa

Proses awal terjadinya kontraksi otot polos adalah hasil kerja dari substansi agonis seperti neurotransmitter simpatis noradrenalin (NA), dan peptida vasokonstriktor yang dihasilkan endotel seperti endotelin I atau angiotensin II, atau prostanoid vasokonstriktor^{45,48,50}. Beberapa dari substansi tersebut, secara khusus NA, tampaknya memiliki aktivitas tonik fisiologis yang mempertahankan penis dalam kondisi flasid.

Meskipun substansi agonis tersebut di atas bekerja pada reseptor spesifik di dalam membran sel otot polos, pada akhirnya mereka akan mengaktivasi fosfolipase (*phospholipase*, PLC), sebuah enzim yang menghidrolisis fosfolipid membran untuk menghasilkan inositol trifosfat (*inositol triphosphate*, IP3). Pembawa sinyal intraselular ini melepaskan Ca²⁺ dari retikulum endoplasma dan menghasilkan kompleks Ca-Cam akan mengaktivasi MLCK untuk memicu

fosforilasi rMLC. Hal tersebut mengacu pada aktivasi dari aktivitas ATP-ase miosin, siklus jembatan-silang dan kontraksi muskular (Gambar 2.9).

Gambar 2.9. Mekanisme molekuler dari kontraksi otot polos kavernosum.



Regulasi dari kontraksi otot polos kavernosum yang terinduksi oleh substansi agonis. (i) Kanan: jalur tergantung Ca²⁺; (ii) Kiri: mekanisme sensitisasi kalsium. Substansi agonis yang berikatan dengan reseptor membran akan mengaktifasi PLC yang selanjutnya menghasilkan IP₃ dan DAG. (i) IP₃ melepaskan Ca²⁺ dari retikulum endoplasma, dengan demikian meningkatkan (Ca²⁺)_i. Selanjutnya, kalmodylin (*calmodulin*, Cam) berikatan dengan Ca²⁺ dan kompleks Ca-Cam akan mengaktifasi MLCK. Hal tersebut akan memicu fosforilasi rMLC dan dengan demikian terjadi aktivasi siklus jembatan-silang miosin-aktin dan kontraksi otot. (ii) Interaksi substansi agonis – reseptor juga memicu aktivasi protein regulasi RhoA yang selanjutnya mengaktifasi enzim Rho-kinase (ROCK) yang akan memfosforilasi MLCP. ROCK juga secara tidak langsung menghambat MLCP, melalui aktivasi protein inhibisi PI-17. Protein kinase C (PKC), yang diaktifasi oleh DAG yang dihasilkan dari substansi agonis, juga dapat mengaktifasi PI-17. Hasil akhirnya adalah rMLC tetap dalam kondisi terfosforilasi (inaktif), dan sel otot polos korpus kavernosum tetap berkontraksi bahkan setelah (Ca²⁺)_i kembali ke tingkat basal. Reseptor dan rMLC ditunjukkan dengan bentuk kotak, enzim dengan bentuk elips. Konfigurasi molekuler dan enzim yang memicu kontraksi ditunjukkan dengan warna merah.

Peningkatan (Ca²⁺)_i yang terinduksi oleh substansi agonis biasanya hanya berlangsung singkat, sedangkan kontraksi otot polos kerap bertahan untuk periode lebih lama. Dengan demikian, ketika mekanisme tergantung Ca²⁺ di atas tampaknya memicu kontraksi SMC, untuk bertahannya aktivitas kontraksi seperti yang ditunjukkan oleh banyak jenis

SMC, seperti pada sel otot polos yang menyusun dinding pembuluh darah dan CSMC khususnya, maka diperlukan tambahan mekanisme yang tidak dipengaruhi kadar Ca^{2+} (independen Ca^{2+}). Selain itu, kontraksi yang ditimbulkan oleh substansi agonis secara khusus menunjukkan rasio kekuatan kontraksi/ $(Ca^{2+})_i$ yang lebih besar daripada yang dihasilkan oleh hanya proses depolarisasi membran sel (contohnya oleh kalium klorida) (8-9,28,29).

Fenomena tersebut merefleksikan bahwa substansi agonis secara simultan juga memicu mekanisme “sensitisasi-kalsium” tambahan yang melibatkan inhibisi MLCP. Terkait efek tersebut, substansi agonis mengaktifasi protein regulasi RhoA yang selanjutnya mengaktifasi Rho-kinase (ROCK), suatu enzim yang memfosforilasi MLCP, yang menjaga enzim fosfatase pada kondisi inaktif (10-11/30,31). Harus diperhatikan bahwa CSMC mengekspresikan RhoA pada tingkat yang lebih tinggi daripada yang diekspresikan oleh sel otot polos organ lain (12). Sebagai tambahan untuk inaktivasi langsung dari MLCP, ROCK juga mengaktifasi dengan proses fosforilasi CPI-17, sebuah protein inhibisi MLCP yang berkontribusi pada inaktivasi MLCP. Selain itu CPI-17 juga difosforilasi (diaktivasi) oleh protein kinase C (PKC), sebuah enzim yang diaktivasi oleh pembawa sinyal intraseluler penghasil diasilgliserol (*diacylglycerol*, DAG), bersama dengan IP₃, dari aktivitas PLC yang distimulasi oleh substansi agonis. Secara singkat, sebagai akibat dari jalur aktivasi RhoA/ROCK, maka rMLC tetap terfosforilasi lama setelah telah terjadi penurunan $(Ca^{2+})_i$, dengan demikian jembatan-silang tetap teraktifasi, dan terdapat kontraksi yang berkelanjutan dari SMC. Pada tingkat korpus kavernosum, hal ini diterjemahkan sebagai kondisi flasid. Mekanisme tambahan lain di mana ROCK dapat mempertahankan kondisi kontraksi adalah dengan inaktivasi protein regulator kalponin (terkait filamen tipis) yang, seperti telah dijelaskan di atas, memiliki aksi inhibisi pada interaksi aktin-miosin (13/33). Jalur sinyal RhoA/ROCK yang terpicu secara abnormal kini dianggap berperan penting dalam patofisiologi gangguan pembuluh darah yang serius, seperti hipertensi atau spasme pembuluh darah dan juga disfungsi ereksi (10-12,30-32)⁴⁵.

2.4.2 Relaksasi otot polos korpus kavernosa

Relaksasi dari CSMC adalah awal terjadinya proses ereksi penis dan dapat ditimbulkan oleh pembawa sinyal interseluler yang berbeda dari berbagai sumber. Pembawa sinyal interseluler dilepaskan oleh persarafan splangnik pelvis, seperti oksida nitrat (*nitric*

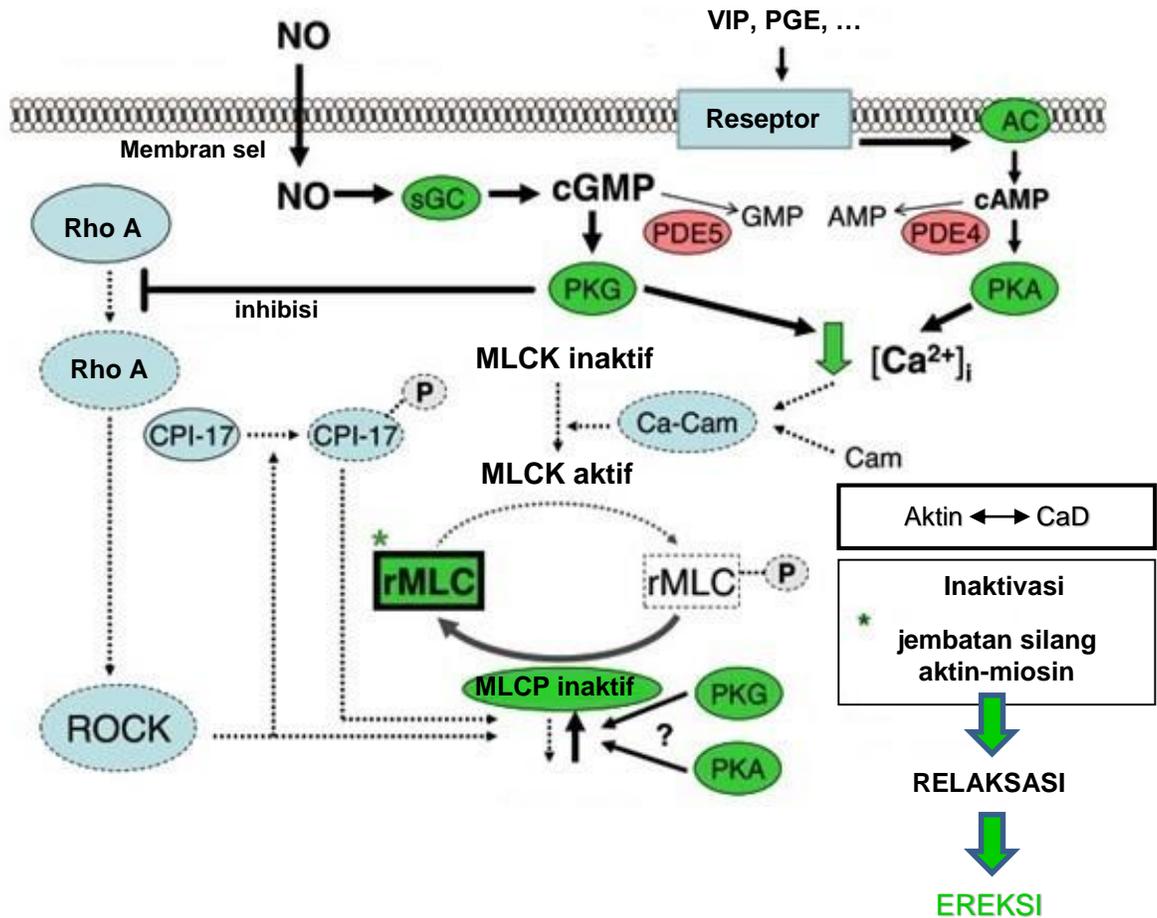
oxide, NO), peptida intestinal vasoaktif (*vasoactive intestinal peptide*, VIP), ataupun dihasilkan oleh endotel seperti NO atau prostanooid vasodilator (contohnya prostaglandin E) ²⁷ (Tabel 2.1). Mereka berikatan dengan reseptor spesifik pada lokasi yang berbeda pada CSMC menghasilkan pembawa sinyal intraseluler kedua yang beraksi pada berbagai sistem protein dan enzim yang memicu relaksasi dari aparatus kontraksi (Gambar 8). Telah disetujui secara umum bahwa jalur NO/cGMP/PKG mewakili sistem utama sinyal fisiologis untuk ereksi penis ^{42, 45-48,57,59}.

NO dihasilkan dari asam amino L-arginin dan oksigen molekuler dalam reaksi yang dikatalisis oleh enzim sintase NO (NO *synthase*, NOS). Terdapat isoform NOS yang berbeda yang diekspresikan secara konstitutif dalam saraf kavernosa (nNOS) dan sel endotel (eNOS). Mereka akan diaktivasi oleh pengikatan kompleks Ca-Cam (yang juga meregulasi berbagai fungsi sel). Dengan demikian depolarisasi dari ujung saraf kavernosa oleh potensial aksi meningkatkan (Ca²⁺)_i yang berikatan dengan Cam dan mengaktivasi nNOS. NO yang dihasilkan selanjutnya berdifusi keluar menuju CSMC dan memulai relaksasi. Hal ini dianggap sebagai bagian pertama dari serangkaian kejadian yang menentukan respons ereksi fisiologis pada tingkat korpus kavernosum. Sebagai tambahan, saraf kavernosa melepaskan asetilkolin yang bekerja pada reseptor muskarinik dalam sel endotel sehingga meningkatkan kadar (Ca²⁺)_i dan Ca-Cam. eNOS akan teraktivasi dan hasil NO yang diproduksi oleh endotel akan menjadi tambahan untuk proses yang berasal dari persarafan, sehingga respons ereksi akan terpelihara (Gambar 4). Selain itu, dari asetilkolin yang dihasilkan oleh persarafan, beberapa sinyal kimia dan biomekanis meregulasi aktivitas eNOS; kemungkinan peningkatan oleh stimulus gerak yang ditimbulkan oleh gerak masuk darah, dan kemungkinan oleh gerakan friksi yang terjadi pada penis, tampaknya memiliki relevansi khusus⁵⁰.

NO merupakan gas dengan sifat sangat lipofilik yang dengan mudah berdifusi melalui membran sel untuk mencapai sitosol CSMC. Di situ NO akan berikatan dengan enzim siklase guanilil terlarut (*soluble guanylyl cyclase*, sGC) yang selanjutnya mengaktivasi enzim ini untuk menghasilkan *cyclic guanosin monophosphate* (cGMP), mediator intraseluler utama pada aksi fisiologis dari NO. Pembawa sinyal interseluler lainnya yang merelaksasikan CSMC bekerja melalui pengikatan dengan protein G pada reseptor membran. Selama proses pengikatan dengan ligan spesifik, mereka mengaktivasi siklase adenil yang menghasilkan pembawa sinyal kedua lainnya, *cyclic adenosin monophosphate* (cAMP). Pembawa sinyal kedua di atas selanjutnya akan bekerja dengan mengaktivasi dua jenis enzim protein kinase

(protein kinase G yang diaktivasi cGMP dan protein kinase A yang diaktivasi cAMP). Kedua protein kinase ini, G dan A, mampu merelaksasi CSMC melalui fosforilasi berbagai protein target, terutama enzim dan pompa serta kanal ion (Gambar 2.10).

Gambar 2.10. Mekanisme molekuler dari relaksasi otot polos kavernosum.



Pengikatan pembawa sinyal interseluler dengan reseptor spesifik (sGC untuk NO dan reseptor membran terasosiasi dengan adenil-siklase untuk lainnya) menghasilkan nukleotida siklik cGMP dan cAMP. “Pembawa sinyal intraseluler kedua” ini mengaktifasi kinase protein (PKG y PKA) yang memfosforilasi beberapa protein termasuk kanal ion dalam membran dan pompa yang mengirim Ca^{2+} kembali ke retikulum endoplasma. Hal tersebut menurunkan $(Ca^{2+})_i$ dan Ca-Cam, menghentikan aktivasi MLCK. Selain itu, PKG menghambat RhoA, dan juga aktivitas ROCK (jalur sensitisasi-kalsium), menyebabkan MLCP berubah menjadi kondisi defosforilasi (aktif). MLCP yang telah teraktivasi akan mendefosforilasi rMLC, yang akan merelaksasi CSMC. Meskipun kurang didokumentasikan (?), terdapat kemungkinan bahwa PKG y PKA secara lebih langsung juga mengkatalisis proses defosforilasi MLCP. Aksi pro-relaksasi dari cGMP dan cAMP dibatasi oleh enzim fosfodiesterase (ditunjukkan dengan warna merah). Aktivitas dan kondisi molekuler enzim yang memfasilitasi relaksasi CSMC ditunjukkan dengan warna hijau. Panah dan batas yang lurus dan terputus mengindikasikan sinyal dan jalur yang masing-masing teraktivasi atau terinhibisi.

Mekanisme tersebut secara umum diajukan untuk menjelaskan bagaimana peningkatan kadar cGMP atau cAMP akan memicu relaksasi SMC dengan melibatkan penurunan dari $(Ca^{2+})_i$ dengan hasil menghilangnya aktivasi MLCK oleh kompleks Ca-Cam. Namun demikian, seperti telah dijelaskan di atas, kontraksi yang diinduksi oleh substansi agonis biasanya tetap berlangsung setelah peningkatan inisial dari $(Ca^{2+})_i$ telah surut^{28,29}. Selama kondisi penis yang flasid, kebanyakan CSMC mungkin dikategorikan dalam kondisi “fase rumatan” dari kontraksi sehingga membuatnya tidak mungkin mekanisme fisiologis dari ereksi yang terinduksi NO/cGMP/PKG (atau mekanisme ereksi yang terinduksi secara farmakologis melalui jalur cAMP/PKA) akan menimbulkan penurunan lebih jauh dari $(Ca^{2+})_i$, yang telah dalam kondisi kadar rendah sampai hampir mencapai kadar basal³⁰.

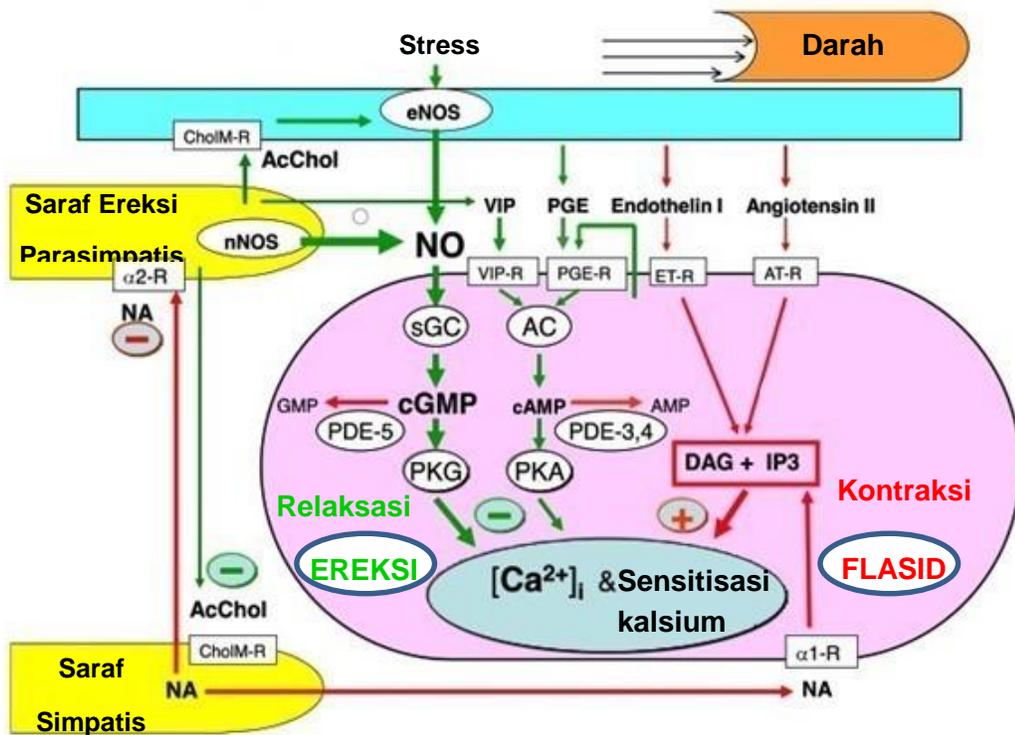
Mekanisme alternatif lain adalah NO/cGMP yang diaktifkan oleh PKG (dan mungkin cAMP yang diaktifkan oleh PKA) menghambat mekanisme sensitisasi kalsium RhoA/ROCK, dengan demikian menghambat inaktivasi MLCP (17) (Gambar 8); proses tersebut menimbulkan peningkatan laju defosforilasi rMLC yang akan memicu relaksasi SMC. Relevansi fisiologisnya bagi ereksi penis didukung oleh respons ereksi terhadap penyuntikan inhibitor ROCK secara intrakavernosum yang ditemukan pada hewan coba (10-11, 18). Selain itu, telah diketahui bahwa MLCP dapat secara langsung diaktifkan oleh PKG dan PKA, melalui mekanisme “fosforilasi kompetitif”³⁶.

Sinyal intraseluler oleh nukleotida siklik di atas diterminasi oleh sekumpulan enzim, yang dinamakan fosfodiesterase (*phosphodiesterases*, PDE), yang mengkatalisis proses hidrolisis dari cincin siklik fosfat pada molekul cGMP dan cAMP yang menghasilkan nukleotida inaktif GMP dan AMP (20-21). Setidaknya 11 keluarga PDE dikodekan oleh gen yang berbeda telah diidentifikasi pada mamalia. Mereka saling berbeda satu sama lain pada beberapa aspek termasuk spesifisitasnya terhadap substrat. Dengan demikian, beberapa PDE spesifik untuk cGMP (PDEs 5, 6, dan 9), sementara yang lain untuk cAMP (PDEs 4, 7, dan 8), dan beberapa lainnya menghidrolisis kedua nukleotida (PDEs 1, 2, 3, 8, 9, 10, dan 11) meskipun dengan afinitas dan/atau efisiensi katalitik yang bervariasi; sebagai contoh, PDE3 tampaknya lebih efektif untuk menghidrolisis cAMP daripada cGMP. Terdapat juga beberapa perbedaan terkait regulasi mereka oleh nukleotida siklik dan/atau fosforilasi, juga dengan ekspresi mereka pada berbagai jenis jaringan yang berbeda. Korpus kavernosum pada penis manusia mengekspresikan PDEs 5, 3, dan 4; PDE yang disebutkan lebih awal berjumlah lebih banyak dan memiliki signifikansi fungsi yang lebih tinggi^{37,38}. Hal ini sejalan dengan konsep yang umum diterima bahwa sistem sinyal fisiologis utama untuk ereksi penis pada

laki-laki adalah jalur NO/cGMP/PKG, yang diregulasi oleh PDE5. Juga bisa dijelaskan terkait efikasi tinggi yang ditunjukkan oleh obat oral yang menghambat enzim ini (PDE5Is) dalam membantu ereksi penis pada manusia normal maupun pada pasien dengan keluhan disfungsi ereksi ³⁹.

Terdapat reaksi-silang antara jalur sinyal cGMP dan cAMP ^{40,41}. Sebagai contoh, PDE5Is tidak hanya meningkatkan kadar cGMP intraseluler, namun juga secara tidak langsung meningkatkan cAMP, karena kedua nukleotida tersebut berkompetisi pada pusat katalitik dari PDE3; juga cAMP dapat bertindak sebagai inhibitor kompetitif dari PDE5. Di sisi lain, penyuntikan PGE1 secara intrakavernosum, yang secara primer akan mengaktivasi jalur cAMP/PKA (Gambar 10), meningkatkan ekspresi eNOS dan nNOS serta memicu pelepasan NO dan meningkatkan tekanan intrakavernosum (ereksi) sebagai respons terhadap stimulasi saraf kavernososa pada model hewan coba ⁴². Fenomena tersebut mengandung arti peningkatan jalur NO/cGMP dan kemungkinan efek tambahan dari PDE5Is. Sejalan dengan hipotesis ini, banyak pasien dengan disfungsi ereksi yang pada awalnya gagal berespons terhadap PDE5Is dapat diubah menjadi “responder” yang efisien setelah mengikuti program penyuntikan PGE1 secara intrakavernosum.

Gambar 2.11. Ringkasan dari sinyal inter- dan intraseluler utama yang meregulasi aktivitas kontraksi CSMC.



Inhibisi presinaptik resiprokal antara persarafan ereksi dan anti-ereksi ditunjukkan di sisi kiri. Pada kondisi terbangun dan tidak terangsang secara seksual maka sinyal pro-kontraksi dominan akan menahan penis pada kondisi flasid. Hal tersebut termasuk pembawa sinyal neural seperti NA dan sinyal parakrin (seperti endotelin I atau angiotensin II). Mereka bekerja pada reseptor membran CSMC untuk mempertahankan kontraksi mungkin melalui kombinasi dari mekanisme tergantung Ca^{2+} dan sensitisasi-kalsium. Rangsangan seksual menentukan pelepasan NO oleh persarafan ereksi dan endotelium. Pelepasan NO dari endotelium distimulasi oleh asetilkolin yang dihasilkan oleh saraf dan kemungkinan sinyal biomekanis sebagai stres geser. NO meningkatkan kadar cGMP pada CSMC sehingga terjadi relaksasi CSMC dan ereksi penis. Jalur NO/sGC/cGMP/PKG ini secara umum memegang peran utama pada fisiologi ereksi penis. Jalur cAMP/PKA, yang diaktivasi oleh pembawa sinyal seperti peptida intestinal vasoaktif (*vasoactive intestinal peptide*, VIP) dan prostaglandin E (PGE), mungkin memiliki peran tambahan. Kedua nukleotida siklik diinaktivasi oleh berbagai fosfodiesterase (*phosphodiesterases*, PDEs) dengan spesifisitas yang berbeda-beda. Pada CSMC manusia, cGMP diinaktivasi oleh PDE-5 dan cAMP oleh PDEs 3 dan 4. Reseptor ditunjukkan dengan bentuk segi empat, enzim dengan elips. Panah hijau dan merah menunjukkan jalur serta sinyal pro-ereksi dan anti-ereksi.

2.5 Alfa Bloker

Alfa bloker adalah golongan obat antagonis simpatis yang bekerja dengan cara menduduki reseptor alfa yang terdapat di neurovaskular *junction*, sehingga mengakibatkan norepinefrin tak dapat bekerja⁴³.

Alfa bloker terdiri atas 3 golongan:

1. Alfa-bloker Nonselektif (alfa-1 dan alfa-2)

Contoh obat golongan ini contohnya adalah fenoksibenzamin dan fentolamin. Kedua obat ini digunakan pada kejadian krisis hipertensi pada saat operasi pengangkatan pheochromocytoma.

2. Alfa-1 Bloker Selektif

Contoh obat golongan ini alfuzosin, doxazosin, terazosin, tamsulosin, and prazosin. Obat-obatan ini digunakan untuk pengobatan BPH dan hipertensi. Ini akan dibahas lebih lanjut dengan penamaan alfa bloker.

3. Alfa-2 Bloker Selektif

Contoh obat golongan ini adalah yohimbin. Yohimbin dulu banyak digunakan untuk pengobatan DE, namun karena efektifitanya mulai diragukan, maka sekarang penggunaanya mulai ditinggalkan.

2.5.1 Mekanisme kerja alfa bloker

Alfa-bloker menghasilkan efek farmakologis dengan menghambat sistem saraf simpatik. Ada dua jenis reseptor alfa-adrenergik: alfa-1 dan alfa-2. Sebagian besar reseptor adrenergik alfa-1 terletak di otot polos pembuluh darah (di kulit, sfingter sistem gastrointestinal, ginjal, dan otak) dan menyebabkan vasokonstriksi bila diaktifkan oleh katekolamin seperti epinefrin dan norepinefrin (NE). Vasokonstriksi menyebabkan peningkatan tekanan darah arteri sistemik dan resistensi perifer. Norepinefrin memiliki afinitas yang lebih tinggi untuk reseptor ini daripada epinefrin. Reseptor adrenergik alfa-2 terletak di ujung saraf perifer dan menghambat pelepasan NE saat diaktifkan; ini memberikan mekanisme umpan balik bagi NE untuk menghambat pelepasannya.

Antagonis alfa-adrenergik nonselektif menyebabkan vasodilatasi dengan memblokir reseptor alfa-1 dan alfa-2. Penyumbatan reseptor alfa-2 akan meningkatkan pelepasan NE, yang akan mengurangi kekuatan vasodilatasi yang disebabkan oleh blokade reseptor alfa-1.

Obat-obat ini bekerja paling baik ketika ada peningkatan aktivitas simpatik seperti selama stres atau ketika ada peningkatan katekolamin yang bersirkulasi, membuat obat-obatan ini berguna untuk pasien dengan pheochromocytoma.

Antagonis adrenergik alfa-1 selektif menyebabkan vasodilatasi dengan mencegah NE mengaktifkan reseptor alfa-1, menghasilkan penurunan tekanan darah, memungkinkan alfa-1 bloker digunakan untuk hipertensi. Alfa-1 bloker juga menyebabkan relaksasi otot polos di prostat, yang memungkinkan urin mengalir lebih bebas melalui uretra, membuat obat ini berguna untuk pengelolaan Benign Prostatic Hyperplasia (BPH).

2.5.2 Efek Samping alfa bloker

Efek samping dari alfa-bloker nonselektif adalah hipotensi, takikardia, dan gemetar. Hipotensi disebabkan oleh penghambatan reseptor alfa-1, yang menyebabkan relaksasi otot polos pembuluh darah dan vasodilatasi. Efek samping yang tersisa terjadi karena peningkatan pelepasan norepinefrin ketika reseptor alfa-2 menjadi antagonis secara bersamaan. Pelepasan ini menghasilkan stimulasi reseptor beta karena limpahan norepinefrin dan menghasilkan perasaan gemetar dan takikardia.

Efek sistemik yang merugikan seperti takikardia dan gemetar kurang umum dengan alfa-1 bloker selektif. Meskipun dapat menyebabkan hipotensi pada dosis pertama, sinkop, pusing, dan sakit kepala akibat vasodilatasi dan relaksasi otot polos pembuluh darah. Takikardia refleks dapat terjadi karena penurunan tekanan darah secara tiba-tiba. Efek samping ini cenderung lebih sering terjadi pada lansia dan meningkatkan risiko jatuh. Untuk menghindari efek samping ini, pasien harus minum obat di malam hari.

Flasiditas penis diatur oleh sistem saraf simpatis melalui pelepasan norepinefrin oleh saraf adrenergik. Norepinefrin akan berikatan reseptor alfa-1 yang terdapat pada otot polos korpus kaverosum dan otot polos arteri kaverosa. Ikatan ini akan mengakibatkan perubahan konformasi pada molekul reseptor 7-transmembran dan selanjutnya menimbulkan aktifasi Protein Gq/11 heterotrimerik dan peningkatan disosiasi GDP. Perubahan GDP menjadi GTP akan memicu proses hidrolisis *phosphatidylinositol 4,5-bis-phosphate* (PIP2) menjadi 1,4,5-inositol trisphosphate (IP3) dan diacylglycerol (DAG). IP3 berdifusi ke dalam sitoplasma dan berikatan dengan reseptor spesifik pada retikulum endoplasmik yang mengakibatkan pelepasan Ca²⁺ dari penyimpanan intra selular. Peningkatan Ca²⁺ akan memulai proses kontraksi otot polos korpus kaverosum akan berlangsung seperti yang dijelaskan sebelumnya dan keadaan penis akan tetap flasid.

Penghambatan neurotransmitter simpatis norepinefrin pada reseptor alfa adalah dasar pengobatan pada kelainan urogenital⁴⁴. Alfa bloker merupakan inhibitor kompetitif norepinefrin untuk menduduki reseptor alfa sehingga mengakibatkan jalannya proses kontraksi terhambat. Namun secara spesifik mekanisme relaksasi akibat penghambatan reseptor alfa pada korpus kavernosum masih menjadi pertanyaan, apakah bekerja hanya pada tingkat reseptor dan atau pada tingkat kaskade Ca²⁺.

2.6 Benign Prostate Hyperplasia (BPH) dan Lower Urinary Tract Symptoms (LUTS)

Benign prostatic hyperplasia (BPH) adalah diagnosis histologis yang terkait dengan proliferasi jaringan ikat, otot polos, dan epitel kelenjar yang tidak diatur dalam zona transisi prostat⁴⁵. Jaringan prostat terdiri dari dua elemen dasar: Elemen kelenjar yang terdiri dari saluran sekretori dan asinus; dan elemen stroma yang terutama terdiri dari kolagen dan otot polos. Pada BPH, proliferasi seluler menyebabkan peningkatan volume prostat dan peningkatan tonus otot polos stroma. McNeal menjelaskan dua fase perkembangan BPH. Fase pertama terdiri dari peningkatan nodul BPH di zona periuretra dan yang kedua peningkatan signifikan ukuran nodul kelenjar⁴⁶.

BPH dapat menyebabkan penekanan pada uretra dan akan mengakibatkan obstruksi kandung kemih (*Bladder Outlet Obstruction*) (BOO) melalui dua mekanisme yang berbeda: Pertama, peningkatan volume prostat, yang disebut komponen statis; kedua, peningkatan tonus otot polos stroma, yang disebut komponen dinamis. BOO, pada gilirannya, dapat muncul secara klinis sebagai gejala saluran kemih bagian bawah (Lower Urinary Tract Symptoms; LUTS), infeksi saluran kemih, retensi urin akut, disfungsi ereksi, hematuria, gagal ginjal, dan batu kandung kemih⁴⁷.

Ada 2 kategori besar faktor risiko yang terkait dengan BPH dan LUTS: Tidak dapat dimodifikasi (usia, geografi, dan genetika) dan dapat dimodifikasi (hormon steroid seks, sindrom metabolik, obesitas, diabetes, aktivitas fisik, diet, dan inflamasi).

Meskipun volume prostat tidak berkorelasi langsung dengan keparahan gejala, pertumbuhan prostat adalah penyebab utama. Faktor risiko untuk perkembangan LUTS dan prostat volume yang lebih besar dikaitkan dengan peningkatan risiko perkembangan klinis

BPH, retensi urin dan kebutuhan untuk operasi prostat^{48,49}. Insiden LUTS juga meningkat di antara pria yang lebih tua. Dalam kohort studi fraktur osteoporosis pada pria, sebuah studi prospektif dari 6000 pria yang tinggal di komunitas di atas usia 65 tahun di AS, 29% dari mereka yang tanpa LUTS pada awal mengembangkan LUTS yang signifikan secara klinis dalam 2 tahun masa tindak lanjut; di antara mereka yang berusia 80 tahun, proporsi ini meningkat menjadi 34%⁴⁸.

Dalam kohort US Olmsted County, 14% pria tanpa LUTS pada awal kemudian melaporkan gejala sedang atau berat dalam 18 bulan masa tindak lanjut dan 22% melaporkan gejala sedang atau berat dalam 42 bulan masa tindak lanjut. Demikian pula, 21% orang Jepang, 26% orang kulit hitam Amerika dan 20% pria Austria tanpa atau LUTS ringan pada awal melaporkan gejala yang memburuk setelah 3, 4 dan 5 tahun masa tindak lanjut. Sebuah studi baru-baru ini, mengikuti 9628 pria untuk perkembangan LUTS selama 18 tahun berdasarkan I-PSS dan mengamati bahwa insiden dan tingkat perkembangan LUTS meningkat tajam seiring dengan bertambahnya usia pria, dengan tingkat perkembangan yang lebih tinggi daripada tingkat insiden⁴⁸⁻⁴⁹.

Prevalensi dan kejadian BPH dan LUTS di AS meningkat terus antara tahun 1994 dan 2000.³⁰ Antara tahun 1998 dan 2007, prevalensi BPH yang disesuaikan dengan usia di antara pasien rawat inap di AS hampir dua kali lipat. Khususnya, peningkatan prevalensi dan insiden BPH dan LUTS terjadi dalam konteks populasi global yang menua. Pada tahun 2030, misalnya, 20% dari populasi AS akan berusia 65 tahun atau lebih, termasuk lebih dari 20 juta pria. Secara signifikan, segmen populasi lansia yang tumbuh paling cepat adalah kelompok usia tertua: Mereka yang berusia di atas 85 tahun. Perkiraan saat ini adalah bahwa jumlah individu 80 tahun dan lebih tua di AS akan meningkat dari 9,3 juta pada tahun 2000 menjadi 19,5 juta pada tahun 2030, meningkat lebih dari 100%⁴⁹.

Studi dari *Geography International* juga telah menunjukkan heterogenitas geografis dalam volume prostat dan prevalensi LUTS. Volume prostat yang lebih rendah secara signifikan telah diamati pada pria dari Asia Tenggara dibandingkan dengan populasi barat. Namun, volume yang lebih kecil tidak selalu berkorelasi dengan penurunan prevalensi LUTS: volume prostat yang lebih rendah, tetapi nilai rata-rata IPSS yang lebih tinggi pada populasi 2406 pria India dibandingkan dengan pria di wilayah barat.

2.7 Mekanisme BPH menyebabkan Disfungsi Ereksi

Beberapa model eksperimental telah dibuat untuk mempelajari hubungan antara ED dan LUTS/BPH.

Chang dan rekan telah membuat model eksperimental menggunakan obstruksi parsial leher vesika untuk membentuk model LUTS dan mengidentifikasi bahwa hewan yang dioperasikan menunjukkan peningkatan tonus pada awal di otot polos tubuh kavernosa, terkait dengan peningkatan tingkat fosforilasi miosin di usus halus. Otot. Selain itu, mereka mengamati peningkatan aktivitas kinase dan penurunan aktivitas fosfatase dalam ekstrak sel tubuh kavernosa yang diisolasi pada hewan dengan obstruksi parsial kandung kemih. Akhirnya, mereka melaporkan peningkatan ekspresi dua isoform Rho-kinase (alfa dan beta). Peningkatan fosforilasi basal, yang diperlukan untuk kontraksi otot polos, dimediasi oleh ekspresi dan aktivitas Rho-kinase yang lebih tinggi, akan membuat otot polos kavernosa lebih tahan terhadap relaksasi dan, akibatnya, akan menghambat ereksi. Ini bisa menjadi penjelasan untuk LUTS/BPH dan ED terjadi bersamaan.

Gur dan rekan juga mempelajari bagaimana obstruksi vesika parsial, melalui ligatur parsial uretra, dapat mempengaruhi fungsi ereksi tikus. Mereka mempelajari hewan *in vivo* dengan memantau hubungan antara tekanan intrakavernosa dan tekanan arteri rata-rata, dan juga mengevaluasi serat otot yang terisolasi dalam studi mandi organ. Mereka menemukan bahwa tikus dengan obstruksi parsial kandung kemih memiliki respons ereksi yang lebih rendah dibandingkan dengan hewan kontrol. Di sisi lain, serat otot polos hewan yang dioperasi menunjukkan lebih sedikit relaksasi sebagai respons terhadap rangsangan listrik terhadap asetilkolin, serta lebih sedikit kontraksi yang disebabkan oleh fenilefrin. Sebuah studi imunohistokimia menunjukkan penurunan ekspresi neuronal nitric oxide synthase (nNOS) dan peningkatan ekspresi protein dari endothelial nitric oxide synthase (eNOS) dan induksi nitric oxide synthase (iNOS) dalam serat otot hewan yang dioperasi. Mereka menyimpulkan bahwa perubahan fungsi ereksi hewan yang dioperasi terjadi karena perubahan ekspresi dan bioavailabilitas NO.

Penelitian oleh Kobayashi dan rekan juga menunjukkan obstruksi parsial leher kandung kemih pada tikus menyebabkan memburuknya berkemih yang signifikan dengan peningkatan residu pasca berkemih dan mengurangi efisiensi kontraksi vesika. Menilai fungsi

ereksi melalui tekanan intracavernous dan arteri selama stimulasi listrik saraf kavernosa secara dramatis terhambat 16 minggu setelah menciptakan obstruksi. Selain itu, ekspresi eNOS dalam korpus kavernosa berkurang secara signifikan, menunjukkan lagi bahwa, setidaknya pada tikus, obstruksi uretra dapat mempengaruhi produksi NO di penis dan akibatnya mengganggu fungsi ereksi. Dalam model serupa tetapi menggunakan kelinci, Lin dan rekan menunjukkan bahwa obstruksi parsial kandung kemih menghasilkan peningkatan ekspresi TGF beta 1 secara progresif di penis, 2 minggu setelah obstruksi. Selain itu, penulis mendeteksi adanya biomarker stres oksidatif pada penis hewan dengan obstruksi vesika bila dibandingkan dengan hewan kontrol. Peningkatan TGF beta 1 dan biomarker stres oksidatif akibat obstruksi kandung kemih dapat menimbulkan DE.

2.7.1 Peningkatan respon adrenergik dapat menyebabkan ED dan LUTS/BPH

Baik fungsi berkemih maupun ereksi dapat dipengaruhi oleh perubahan tonus otot polos yang disebabkan oleh peningkatan respons adrenergik. Simpatotomi unilateral pada tikus menyebabkan peningkatan homolateral pada prostat. Tikus transgenik yang mengalami hipertensi spontan karena tonus adrenergik yang lebih besar menunjukkan karakteristik urodinamik yang mirip dengan laki-laki dengan LUTS (interval interkontraksi vesika berkurang dan output urin menurun, dan peningkatan kontraksi nonvoiding). Selanjutnya, tikus menunjukkan respon ereksi yang kurang terhadap stimulus listrik saraf kavernosa.

Beberapa penulis menunjukkan ada persarafan nitroergik yang intens di epitel kelenjar prostat, stroma fibromuskular dan pembuluh darah kelenjar normal; persarafan ini berkurang pada BPH. Di sisi lain, pentingnya oksida nitrat dalam menjaga fungsi ereksi sudah diketahui.

2.7.2 Insufisiensi arteri panggul

Arteriosklerosis sangat sering terjadi pada pria lanjut usia, dan insufisiensi arteri panggul yang menyebabkan hipoksia dapat meningkatkan ekspresi transforming growth factor (TGF) beta fibroblas dan mengganggu produksi prostanoid, menggantikan otot polos penis, vesika dan prostat dengan kolagen dan fibrosis. Perubahan ini dapat menyebabkan hilangnya kepuasan vesika, obstruksi aliran urin dan menghambat relaksasi otot polos sinusoid kavernosa, yang menyebabkan LUTS/BPH dan DE.

2.8. Hewan Coba

2.8.1. Penggunaan Hewan Bagai Model pBOO dan Disfungsi Ereksi

Pemahaman mengenai saluran kencing dan bagian bawah masih belum lengkap, hal ini disebabkan penelitian menggunakan subjek manusia masih sangat terbatas, Penelitian menggunakan manusia sebagai subjek penelitian tidak terlalu banyak karena mempunyai implikasi hukum, etik dan moral. Kemajuan terapi medis dan bedah di bidang kedokteran khususnya urologi saat ini merupakan suatu hasil pengembangan dan pemanfaatan hewan model dalam penelitian. Secara historis, Eckhard, pada tahun 1863 menunjukkan pentingnya saraf pelvis untuk fungsi ereksi dengan melakukan stimulasi listrik dari saraf erigentes pada anjing yang diberikan anestesi untuk mendapatkan ereksi penis sedangkan penelitian untuk melihat gangguan saluran kencing bawah menggunakan hewan coba dimulai sejak tahun 80-an.^{65,66,67}

Banyak terapi medis dan bedah saat ini di bidang kedokteran seksual dan disfungsi saluran kemih bawah lainnya adalah hasil dari pengembangan dan pemanfaatan model hewan dalam penelitian pengobatan seksual. Secara historis, akhir abad ke-19 membawa penemuan penting di bidang kedokteran seksual melalui karya beberapa peneliti penting yang mengembangkan model hewan untuk menyelidiki anatomi kotor dan neurofisiologi ereksi penis. Sejak itu, penggunaan model hewan terus menjelaskan dan memajukan pemahaman kita tentang bidang kedokteran seksual terutama yang berkaitan dengan disfungsi ereksi (DE), penyakit Peyronie, dan baru-baru ini priapism. Pemilihan berbagai model hewan dalam studi kedokteran seksual telah berkembang selama bertahun-tahun. Banyak studi in vivo di masa lalu dilakukan pada hewan yang lebih besar seperti monyet, anjing, dan kucing. Namun, selama dua dekade terakhir, hewan pengerat telah menjadi model utama untuk studi semacam itu.^{79,80}

Penggunaan hewan model pada penelitian mempunyai beberapa kriteria, yaitu: reliabilitas, *face validity*, validitas etiologi, validitas prediksi.⁶⁸ Reliabilitas artinya model hewan mendapatkan hasil yang konsisten. *Face validity* artinya memiliki fenotip yang mirip dengan kondisi manusia yang akan diteliti.⁷⁰ Validitas etiologi artinya keadaan hewan model didapatkan dari etiologi yang sama pada manusia dengan kondisi tersebut. Validitas prediksi artinya penggunaan hewan model dapat memberikan prediksi keluaran klinis jika dilakukan pada manusia.^{69,70}

Penggunaan hewan model untuk penelitian efek pBOO dan disfungsi ereksi pada manusia telah banyak dilakukan. Berbagai macam spesies hewan model itu seperti: anjing, kucing, kelinci, marmut, tikus dan hamster. Penggunaan berbagai spesies hewan model tersebut mempunyai kelebihan dan kekurangan masing-masing.⁷¹

Penelitian pBOO menggunakan hewan model telah banyak dan umum dilakukan. Penelitian ini dibagi dua berdasarkan daerah yang mengalami gangguan yaitu perifer seperti: cedera langsung pada kandung kemih, uretra, cedera pada persarafan atau pembuluh darah saluran kencing bagian bawah, hipertensi dan hiperlidemia. Sedangkan daerah pusat seperti: cedera medula spinalis, batang otak atau pusat persarafan yang lebih tinggi dan Parkinson.⁶⁹

Cara yang digunakan untuk mendapatkan keadaan pBOO pada hewan coba untuk menyerupai keadaan obstruksi kandung kemih karena pembesaran prostat pada manusia sudah dilakukan pada beberapa penelitian. Cara tersebut menggunakan teknik operasi ligasi pada uretra hewan coba. Berdasarkan bagian uretra yang dilakukan ligasi, teknik ini dibagi menjadi: obstruksi uretra *midprostatic* (transperitoneal), obstruksi uretra bulbosa (transperineal) dan meatus uretra⁶⁷. Sedangkan indikator keberhasilan yang digunakan untuk menilai efek pBOO pada hewan model adalah pemeriksaan urodinamik⁷¹, berat kandung kemih⁷, perubahan histopatologis otot polos kandung kemih dan prostat⁷¹ dan bercak urin (*voided stain on paper VSOP*)⁷². Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menilai teknik operasi keadaan pBOO berdasarkan indikator mendapatkan hasil bahwa penelitian menggunakan hewan coba sudah menyerupai (*mimicry*) keadaan pBOO karena BPH pada manusia.^{68,69,70} Teknik operasi transperineal mempunyai beberapa keuntungan yaitu *mimicry* BPH terpenuhi, cedera saraf dan pembuluh darah yang lebih rendah, teknik operasi yang lebih sederhana, waktu operasi yang lebih cepat dan kematian hewan model yang lebih rendah.^{72,73,74}

Keadaan pBOO pada hewan model dibagi menjadi fase *compensated* dimana sudah terjadi peningkatan massa kandung kemih namun kemampuan kontraksi masih terjaga yaitu dalam 4 minggu. Sedangkan fase *decompensated* dalam 8 minggu yaitu massa kandung kemih masih dapat meningkat namun kemampuan kontraksi sudah sangat berkurang.⁷³

Sedangkan penggunaan hewan model untuk menilai fungsi ereksi juga sudah banyak dilakukan dengan hasil mulai terjadi gangguan fungsi ereksi pada minggu ke empat pasca ligasi.⁷⁵

Hewan coba untuk menyerupai keadaan BPH dibagi menjadi tiga kategori yaitu hewan coba besar (mamalia) yang terdiri dari anjing dan primate, hewan intermediet yaitu: kelinci. Sedangkan hewan coba kecil yaitu terdiri dari tikus dan mencit.⁷⁴

Dari kedua kategori tersebut yang paling mendekati persamaannya dengan manusia adalah primata. Namun penggunaan primata sebagai hewan coba memiliki beberapa kekurangan diantaranya primata memiliki harga yang cukup mahal jika dibandingkan dengan hewan coba lain, biaya pemeliharannya pun lebih mahal, selain dilihat dari segi harga, penggunaan primata sebagai model BPH memiliki keterbatasan protokol dan metode spesifik untuk membuat bentuk pBOO-nya.⁷⁶

Sedangkan penggunaan anjing sebagai hewan coba pBOO juga sudah banyak digunakan. Karena anjing merupakan mamalia besar, sangat mudah untuk mengamati perilaku seksualnya serta terdapat beberapa persamaan anatomi antara anjing dan manusia. Namun terdapat beberapa kelemahan penggunaan anjing sebagai hewan coba diantaranya adalah hewan ini tidak rentan dengan gangguan kardiovaskular, jika dalam pembuatan hewan coba BPH melibatkan adanya keadaan aterosklerosis, maka model anjing tidak tepat. Selain itu, hambatan yang akan ditemui jika menggunakan hewan coba berupa anjing adalah anatomi penis anjing. Penis anjing adalah jenis yang memiliki struktur pengeras yang disebut baculum, membantu proses ereksi. Pada manusia tidak ada yang disebut baculum, manusia melakukan ereksi semuanya dengan bantuan struktur lunak dan pembuluh darah yang ada di penis. Perbedaan besar ini membuat anjing menjadi kandidat yang kurang tepat untuk mengamati disfungsi seksual yang disebabkan oleh BPH.^{76,77}

Hewan intermediet dapat digunakan sebagai opsi lain dalam membuat model pBOO yaitu kelinci. Dengan ukurannya yang tidak terlalu besar dan juga tidak terlalu kecil, kelinci merupakan kandidat yang baik dalam mengamati fungsi ereksi yang serupa dengan manusia. Kelinci juga memiliki beberapa faktor yang sama dengan manusia dalam mempertahankan tonus ereksi.⁷⁷

Namun sayangnya untuk model pBOO belum banyak yang digunakan, karena kelinci banyak dipakai secara spesifik untuk mengamati disfungsi ereksi yang disebabkan oleh aterosklerosis. Kelinci memiliki fisiologi yang baik dalam pembuatan hewan coba yang diinduksi oleh penimbunan lipid.⁷⁷

Hewan coba dengan ukuran kecil merupakan kandidat terbaik untuk mengamati disfungsi ereksi yang disebabkan oleh keadaan yang menyerupai BPH. Tikus sendiri merupakan hewan yang membuat pengetahuan tentang ereksi berkembang dengan baik. Kelistrikan yang melibatkan saraf untuk ereksi pertama kali diamati pada tikus pada tahun 1989 oleh Quinlan et al.⁷⁶ Banyak keuntungan yang dapat diperoleh dengan menggunakan model tikus diantaranya adalah tikus sangat mudah didapat di Indonesia, harga beli yang relative murah jika dibandingkan dengan hewan coba lain, ukuran yang kecil sehingga dapat menekan biaya pemeliharaan dan proses penanganan yang relative mudah, usia yang tidak terlalu panjang sehingga dapat dilakukan studi longitudinal, serta yang terpenting adalah sudah banyak berbagai model yang tersedia untuk mengamati disfungsi ereksi pada tikus, baik dengan manipulasi berupa pBOO, mencederai saraf ataupun dengan menggunakan model atherosclerosis.^{77,78}

Pada model pBOO dapat dilakukan dengan beberapa cara, namun yang paling sering digunakan adalah transperineal dan transperitoneal. Kedua teknik ini masing masing memiliki kekurangan dan kelebihan sendiri. Pada transperitoneal, bagian perut tikus harus dibuka dengan insisi midline dan kemudian jaringan disekitar kandung kemih harus disayat lalu uretra diligasi dengan benang silk.⁷⁹ Sedangkan teknik transperineal adalah dengan meneluarkan bagian penile uretra dan diikat dengan benang silk. Menurut penelitian Woo Hyun Kim et al pada tikus yang mengalami pBOO dengan transperineal ketika kandung kemihnya diukur dengan cystometography, memiliki interval kontraksi yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol dan transperitoneal.¹⁰ Kemudian jika dilihat secara kadar stress oksidatif dan factor-faktor peradangan, tidak ada perbedaan diantara kedua model tersebut. Namun jika dilihat secara histologi, terdapat perbedaan yang cukup signifikan diantara keduanya. Pada tikus yang dilakukan ligase transperitoneal menunjukkan adanya progresi fibrosis yang luas dan cepat, serta kurangnya jumlah otot polos yang menandakan proses peradangan yang hebat. Juga pada tikus dengan transperitoneal selalu akan ada risiko infeksi dan kematian akibat luka yang cukup besar di area abdomen. Oleh karena itu model dengan hewan coba tikus menggunakan metode ligase transperineal dapat dikatakan merupakan yang paling aman, mudah dan berisiko rendah.^{76,79}