

DISERTASI

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI 5 α REDUKTASE INHIBITOR DAN ESTROGEN PADA PROLIFERASI JARINGAN PROSTAT

Penelitian Eksperimental Laboratoris Pada Tikus Putih



SOETOJO

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2004**

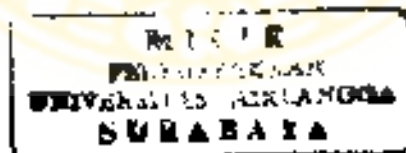


**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI
5 α REDUKTASE INHIBITOR
DAN ESTROGEN PADA PROLIFERASI
JARINGAN PROSTAT**

Penelitian Eksperimental Laboratoris Pada Tikus Putih

DISERTASI

Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga
Telah dipertahankan di hadapan
Panitia Ujian Doktor Terbuka
Pada hari : Selasa
Tanggal : 30 November 2004
Pukul 10.⁰⁰ WIB



Oleh :

SOETOJO
NIM. 090114571 D

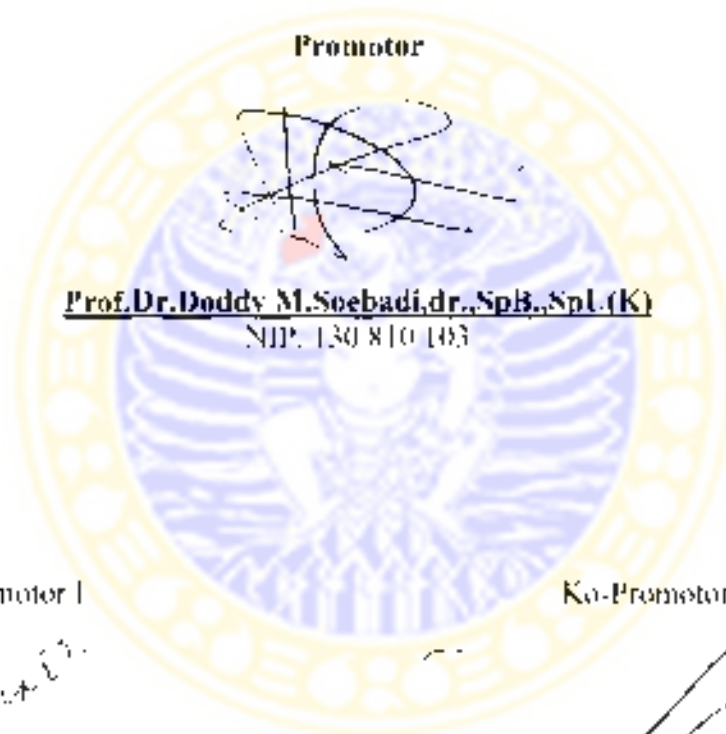
LEMBAR PERSETUJUAN

Disertasi ini Telah Disetujui

Tanggal 03 Desember 2004

Oleh

Promotor



Prof. Dr. Doddy M. Soebadi, dr., SpB., SpL. (K)
NIP. 130 810 103

Ko-Promotor I

Ko-Promotor II

Prof. Dr. Hendromartono, dr., Sp.PD-KEMD
NIP. 130 517 193


Dr. I Ketut Sudiana, Drs., M.S.
NIP. 130 877 636

Telah diuji pada Ujian Doktor Tahap I (Tertutup)

Tanggal 30 September 2004

PANITIA PENGUJI DISERTASI

- Ketua : 1. Prof.Dr.P.G.Konthen, dr.,SpPD
Anggota : 2. Prof.Dr.Doddy M.Soebadi,dr,SpB,SpU(K)
3. Prof.Dr.Hendromartono,dr,SpPD-KEMD
4. Dr. I Ketut Suidiana, Drs,M.S
5. Prof.Rachmat Santoso, dr,SpPA
6. Prof.Kuntoro,dr.MPH,Dr.PH
7. Dr.Akmal Taher,dr,SpU (K)



Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Rektor Universitas Air Langga
Nomor : 7505/J03/PP/2004
Tanggal 07 Oktober 2004

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya ucapkan Alhamdulillah robbil aalamin atas segala berkat dan rahmatNya, sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan disertasi ini.

Pada kesempatan ini, perkenankanlah saya menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang setulusnya kepada :

Prof.Dr. Doddy M. Soebadi, dr., SpB.Spl: (K) atas kesediaan beliau menjadi Promotor yang dengan penuh kesabaran menumbuhkan rasa percaya diri dan semangat selama menjalani studi pendidikan program doktor sampai dapat terselesaikannya penulisan disertasi ini.

Prof.Dr. Hendromartono, dr., SpPD-KEMD atas kesediaan beliau sebagai ko-promotor I yang dengan penuh kesabaran telah memberikan bimbingan sehingga selesainya pendidikan ini.

Dr. I Ketut Sudiana, Drs, M.S. atas kesediaan beliau sebagai ko-promotor II, meskipun dalam kesibukan yang sangat padat, masih berkenan meluangkan waktu untuk membimbing, memberi petunjuk dan dorongan moral yang tiada hentinya.

Perkenankanlah pada kesempatan ini saya menyampaikan ucapan rasa terima kasih kepada :

Rektor Universitas Airlangga, Prof.Dr.Med. Puruhito, dr., SpBTKV, yang telah memberi kesempatan untuk mengikuti dan menyelesaikan Program Pendidikan Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Prof.Dr.H. Muhammad Amin, dr.SpP, Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Program Doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Prof.Dr. Mandoyo Rukmono, drg.,MSc.,SpKCi, selaku Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran S-3 Pascasarjana Universitas Airlangga. Prof.Dr. Juliatu Hood Alsagoff, dr.MS, SpPA, FIAC mantan Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran S-3 Pascasarjana Universitas Airlangga yang telah membantu dalam kelancaran proses pelaksanaan ujian kualifikasi, ujian proposal dan disertasi.

Prof.Dr. H. MS Wiyadi, dr.SpTHT, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan kepada saya mengikuti pendidikan Doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Slamer Riyadi Yewono, dr., DFM & MARS, Direktur RSUD Dr. Soetomo dan Abdus Syukur, dr, SpBD, mantan Direktur RSUD Dr. Soetomo serta Prof. H.M. Dikman Angsar, dr.SpOG, mantan Direktur RSUD Dr. Soetomo yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Prof. Kuntoro, dr, MPH, Dr. PH, yang telah memberi bimbingan dan saran yang sangat berharga dalam metode penelitian dan analisis data hingga penyelesaian penulisan disertasi ini.

Budiono Kasirin, dr., MS., teman saya yang telah banyak membantu untuk konsultasi bidang statistik.

Sugiantoro, Drs., Apt., M.S., staf dosen Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, yang telah membantu pelaksanaan dalam perlakuan pemberian obat Estrogen dan Finasterid.

Para Pengajar Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya : Prof.H. Bambang Rahino Setokoesoemo, dr; Prof. Dr. Pitono Soeparto, dr., SpA (K). (alm); Prof.H. Eddy Pranowo Soedibjo, dr., MPH (Alm); Prof.Dr. H.J. Glinka SVD; Prof. Dr. Koento Wibisono; MPA; H. Fuad Amsyari, dr., MPH., PhD; Prof. Dr. Sarmanu, drh., M.S; Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr., SpBK; Prof. Rachmat Santoso, dr., SpPA; Prof. Soegeng Sockanto, dr., M.S., SpPA., PhD (Alm); Prof. Dr. A. Zainuddin, Apt; Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr., M.S.; Prof. Dr. PG Konthen, dr., SpPD; Siti Pariani, dr., M.S., PhD; Dr. L. Dyson, Drs., MA; Dr.F.M. Judayana, dr., SpPK; dr., SpPK; Dr. I Ketut Suidiana, Drs., M.S; Prof. Kuntoro, dr., MPH., DrPH; Widodo J Pudjirahardjo, dr., M.S., MPH., DrPH yang telah menambah dan meningkatkan wawasan keilmuan saya selama pendidikan Doktor.

Para dosen penguji usulan penelitian disertasi Prof. Dr. Doddy M Soebadi, dr., SpB., SpU (K); Prof. Widjoseno Gardjito, dr., SpB., SpU(K); Prof. Kuntoro, dr., MPH., DrPH; Prof. Dr. Suwandi Sugandi, dr., SpB., SpU (K); Prof. Dr. PG Konthen, dr., SpPD; Prof. Rachmat Santoso, dr., SpPA; Dr. I Ketut Suidiana, Drs., M.S atas segala koreksi dan asupan perbaikan sehingga penelitian disertasi ini dapat dieruskan.

Para penguji Penilaian Naskah Disertasi yaitu, Prof. Dr. Doddy M Soebadi, dr., SpB., SpU (K); Prof.Dr.Hendromartono,dr.,Sp.PD-KEMD; Dr. I Ketut Suidiana, Drs., M.S; Prof. Rachmat Santoso, dr., Sp PA.; Dr. Akmal Taher, dr., SpU (K); Prof. Kuntoro,

dr., MPH., DrPH.; Prof. Dr. PG Konthen, dr., SpPD, yang telah memberi saran atau masukan serta bimbingan untuk memperbaiki disertasi saya.

Ketua Bagian / SMF Urologi Prof. Dr. Doddy M Soebadi, dr., SpB., SpU (K) beserta semua staf medik, Prof. Widjoseno Gardjito, dr., SpB., SpU (K); Dr. Sunaryo Hardjowijoto, dr., SpB., SpU (K); Adi Santosa, dr., SpB., SpU (K); Dr. Sabilal Alif, dr., SpU (K); Tarmono, dr., SpU.; Wahjoe Djatisesanto, dr., SpU., dan para Peserta Pendidikan Dokter Spesialis di Bagian/SMF Urologi yang telah mendorong dan mendukung pendidikan saya serta keikhlasan memberikan kelonggaran dalam pelaksanaan tugas sehari-hari.

Ketua Bagian Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof. Soetjipto, dr., M.S., PhD., juga mantan Ketua Bagian Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr., SpBK., yang telah memberikan ijin kepada saya untuk menggunakan fasilitas Laboratorium Biokimia untuk melaksanakan penelitian disertasi.

Ketua GRAMIK Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga RSU Dr. Soetomo, Prof. Dr. Pitono Soeparto, dr., SpA (K). (alm), yang telah memberi ijin menggunakan fasilitas Laboratorium Patobiologi GRAMIK Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga RSU Dr. Soetomo untuk penyimpanan jaringan dan pewarnaan imunohistokimia, sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

Prof. HR. Santoso, dr., Kepala UPT. Mikroskop Elektron Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah mengizinkan saya untuk menggunakan fasilitas ruang laboratorium serta para stafnya yaitu Dr. I Ketut Sudiana, Drs., MS., Dra. Tania Ardiani,

Sdri. Indah Suyani yang telah banyak membantu saya dalam proses pengamatan dengan menggunakan mikroskop cahaya.

Dr. I Ketut Sudiana, Drs., MS. Dan Sdri. Lenny Irawati dari Laboratorium Patobiologi Gramik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga RSUD Dr. Soetomo yang telah banyak meluangkan waktu dan tenaganya untuk membantu pemeriksaan imunohistokimia dalam penelitian ini.

Para aktivis di Gramik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga RSUD Dr. Soetomo yaitu, Sri Mustalina, Dra., M.Kes., Atika S.S., M.Kes., Gondo Mastutik, drh., M.Kes., Rini Astuti A.Md., Moh. Zuhdy S.Sos., yang telah banyak membantu saya dalam mencari informasi ilmiah melalui internet.

Semua staf sekretariat Program Pascasarjana Universitas Airlangga, khususnya saudari Siswati, Nur Wilujeng dan saudara Supriyanto, SH., yang telah banyak membantu dalam penyelesaian administrasi selama saya mengikuti program pendidikan Doktor ini.

Pada kesempatan ini, saya juga mengucapkan terima kasih kepada Hery Sumantoro dan Choirul Anwar, staf Laboratorium Biokimia yang merawat binatang percobaan (tikus putih) dan yang membantu saya dalam melakukan penelitian

Kepada guru dan dosen saya sejak saya di Sekolah Dasar, Sekolah Menengah Pertama, Sekolah menengah Atas, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Program Pendidikan Pasca Sarjana Universitas Airlangga, saya sampaikan penghargaan dan terima kasih yang sebesar-besarnya atas pendidikan dan bimbingan yang telah diberikan kepada saya. semua ini tidak akan dapat kami capai tanpa peranan beliau.

Seluruh teman di Program Studi Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga angkatan tahun 2001/2002, yang selalu membantu dan saling memberi motivasi untuk selesainya pendidikan ini.

Para PPDS I Urologi yang telah banyak membantu penelitian dan persiapan penulisan disertasi.

Devita D, Emi M, Sukma RR, Era P, Ariani, Istiana, Hartono, Hesti, dan Dian sekretaris di Lab/SMF Urologi, serta Pak Kasbun dan Ponimin atas semua bantuan dan kerjasamanya selama pendidikan saya.

Akhirnya pada kesempatan ini saya sampaikan rasa hormat dan kasih sayang kepada :

Orang tua saya Ayahanda Moes Wirjopranoto dan Ibunda Soepinah, yang telah mendidik saya dengan tulus dan penuh kasih sayang serta doa restunya, sehingga saya bisa mengikuti pendidikan Doktor ini.

Mertua saya Ayahanda Soemarli (alm) dan Ibunda Soetarmi, yang telah mendidik saya dengan tulus dan penuh kasih sayang serta doa restunya, sehingga saya bisa mengikuti pendidikan Doktor ini.

Kakak dan adik saya yang tercinta, kakak saya Letkol Ir. Soemarno, adik saya Ir. Soegyarto, M.M., Dth. Sri Hartati dan Dra. Mudji Rahayu yang telah memberi motivasi dan rasa percaya diri sehingga dapat terselesaikan pendidikan ini.

Kepada istri saya Dwi Retnaningtyas, drg., SpProst dan semua anak saya Shinta, Dian dan Bagus atas pengertian, dukungan dan pengorbanan selama pendidikan dan penyelesaian disertasi ini.

Pada manusia yang mengalami ketuaan, maka fungsi testis khususnya sel-sel Leydig menurun, testosteron menurun juga sehingga DHT menurun. Bila DHT menurun maka pembentukan DNA, mRNA dan protein termasuk Growth Factor akan menurun. Apabila Growth Factor menurun, maka TGF β -1, EGF, FGF dan proliferasi menurun, sehingga tidak terjadi BPH; tetapi untuk menjaga homeostasis dengan menurunnya testosteron maka kelenjar adrenal memproduksi androstenedion, kemudian terjadi proses aromatisasi androstenedion ini menjadi estrogen. Estrogen diproduksi oleh testis, kelenjar adrenal dan dari hasil aromatisasi lemak. Receptor Estrogen banyak terdapat pada stroma prostat, khususnya receptor β . Peningkatan estrogen maka stroma prostat membentuk FGF sehingga terjadi proliferasi dan akan memicu KGF serta IGF, yang berperan memicu proliferasi sel epitel prostat, sedang TGF β -1 menghambat proliferasi dan memicu apoptosis. Estrogen akan menekan ekspresi TGF β -1 sehingga TGF β -1 tidak bisa menghambat proliferasi dan tidak bisa memicu apoptosis, akibatnya proliferasi makin bertambah banyak dan lama-lama terjadi BPH. Hasil analisis menunjukkan bahwa pemberian estrogen dapat menurunkan TGF β -1 secara bermakna baik pada 1 bulan maupun pada waktu 2 bulan ($p < 0,05$), estrogen juga dapat meningkatkan EGF secara bermakna pada waktu 2 bulan pengamatan ($p < 0,05$), estrogen juga dapat meningkatkan proliferasi pada jaringan prostat baik pada pengamatan 1 bulan maupun 2 bulan secara bermakna ($p < 0,05$), tapi estrogen tidak bisa meningkatkan FGF secara bermakna baik pada pengamatan 1 bulan maupun 2 bulan. Pada penelitian ini estrogen tidak bisa meningkatkan EGF secara bermakna, hal ini mungkin disebabkan waktunya kurang lama atau dosis estrogen yang digunakan kurang sensitif terhadap FGF. Dari hasil analisis regresi linier berganda TGF β -1, EGF, FGF dan estrogen terhadap proliferasi, hanya TGF

β -1 yang berpengaruh negatif pada proliferasi, artinya bahwa dengan menurunnya TGF β -1, maka proliferasi akan meningkat dan sebaliknya bila TGF β -1 meningkat maka proliferasi menurun. Estrogen berpengaruh positif pada proliferasi, artinya bahwa peningkatan estrogen dapat meningkatkan proliferasi. Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa estrogen meningkatkan proliferasi sel prostat dan EGIT secara bermakna serta menurunkan ekspresi TGF β -1 secara bermakna (yang berfungsi menghambat proliferasi), makin lama perlakuan semakin banyak terjadi proliferasi lama-lama terjadi BPH.



SUMMARY**THE EFFECT OF 5 α REDUCTASE INHIBITOR AND ESTROGEN IN
PROSTAT PROLIFERATION****An Experimental Study In Rat****SOETOJO**

This study was an experimental study with post test control group design using experimental animals, i.e. Rattus Norwegicus Wistar Strain white rats. The study was aimed to know the mechanism of BPH to explain BPH in elderly. Sample for this study were divided randomly into 2 groups (1 month and 2 month groups) with 26 rats each. Each group was divided into 2 groups which were subjected to the combination of estrogen with finasteride and finasteride only (13 rats each). The dose of estrogen was 0.011 mg daily and the dose of finasteride was 0.090 mg daily. For the next 1 and 2 months we examined prostat specimen from each group and then TGF β -1, EGF, FGF and proliferation were measured. The measurement of TGF β -1, EGF and FGF level was carried out using immunohistochemistry method, while for proliferation we used graticule. Analysis used in this research was univariate analysis with 2 sample t test because there was no correlation between TGF β -1, EGF and FGF. Rats used as model study were "old" rats (by giving finasteride). After giving finasteride, DHT, (growth Factor, TGF β -1, EGF, FGF and proliferation were found to decrease significantly (preliminary research).

In elderly, the function of testis, especially Leydig cells, decreased so that testosterone and DHT would decrease as well. DHT binding androgen receptor in the nucleus induced DNA to transcript to become mRNA and then produced protein,

including Growth Factor and PSA. If Growth Factor decreased TGF β -1, EGF, FGF and proliferation would also decrease. However, when testosterone decreased, to maintain homeostasis, adrenal gland would produce androstenedion which with aromatization process, it becomes estrogen.

Estrogen was produced by testis, adrenal gland and aromatization process from fat. Estrogen receptor, especially β receptor, is mostly found in prostatic stroma. Increasing estrogen would make prostatic stroma to form FGF, KGF and EGF, which would induce proliferation. In contrast, TGF β -1 would inhibit proliferation and induce apoptosis. Estrogen would suppress TGF β -1 expression, so that TGF β -1 could not inhibit proliferation and could not induce apoptosis, so that the final result would be the occurrence of proliferation that eventually leads to BPH.

Analysis result showed that estrogen could reduce TGF β -1 significantly in 1 months and 2 month groups ($p < 0.05$) and estrogen also stimulated increasing EGF significantly in 2 month group ($p < 0.05$). Estrogen also increased proliferation significantly in both 1 and 2 month groups ($p < 0.05$) but estrogen did not increase FGF significantly in both groups. These phenomena may result from analysis in a short period or because the FGF was not sensitive with the dose of estrogen.

Double regression analysis on the effect of TGF β -1, EGF, FGF and estrogen on proliferation revealed that only TGF β -1 had negative feedback. This indicated that decreased TGF β -1 made proliferation increased. Estrogen had positive impact in proliferation, showing that increased estrogen would increase proliferation. In conclusion, estrogen increased the proliferation of the prostate cell and EGF significantly and

decreased the expression of TGF β -1 significantly which has function to inhibit proliferation and finally may cause the occurrence of BPH



ABSTRACT**THE EFFECT OF 5 α REDUCTASE INHIBITOR AND ESTROGEN IN PROSTAT PROLIFERATION****An Experimental Study In Rat****SOETOJO**

This study was an experimental study with post test control group design using experimental animals, i.e., the Rattus Norwegicus Strain Wistar white rats. The study was aimed to know the mechanism of Benign Prostatic Hyperplasia (BPH) to explain BPH in elderly. Sample for this study were divided randomly into 2 groups (1 month and 2 month groups.) with 26 rats each. Each group was divided into 2 groups which were subjected to get combination of estrogen with finasteride and finasteride only (13 rats each). After 1 and 2 months, prostatic specimen in each rats were examined and TGF β -1, EGF, FGF and prostatic proliferation were measured. Measuring of TGF β -1, EGF and FGF level was carried out using immunohistochemistry method, while for proliferation we used graticule. Data analysis used in this research was univariate analysis with 2 sample t test.

Analysis result showed that estrogen could reduce TGF β -1 significantly in 1 month and 2 month groups ($p < 0.05$) and estrogen also stimulated significant increase of EGF in 2 month groups ($p < 0.05$). Estrogen also increased proliferation significantly in both 1 and 2 month groups ($p < 0.05$) but estrogen did not increase FGF significantly in both groups.

Double regression analysis on the effect of TGF β -1, EGF, FGF and estrogen to proliferation revealed that only TGF β -1 had negative feedback. This indicated that TGF β -1 decreased, so that the proliferation increased. Estrogen had positive impact in proliferation, indicating that increased estrogen would also increase proliferation. In

conclusion, estrogen increased the proliferation of the prostate cell and EGF significantly and decreased the expression of TGF β -1 significantly, leading to the inhibition of proliferation, and finally it may cause the occurrence of BPH

Keywords : Prostat, Estrogen, TGF β -1, EGF, PGE, BPH



DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Dalam Disertasi	i
Lembar Persetujuan	ii
SK Rektor.....	iv
Ucapan Terima Kasih.....	v
Ringkasan.....	xii
Summary	xv
Abstract.....	xviii
DAFTAR ISI	xx
DAFTAR TABEL	xxiii
DAFTAR GAMBAR	xxiv
DAFTAR LAMPIRAN	xxvi
DAFTAR SINGKATAN	xxviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Kelenjar Prostat	7
2.2 Peranan Androgen pada Prostat	9
2.3 Enzim 5 α reduktase	14
2.4 Peranan Estrogen pada Prostat	19
2.5 Growth Factor pada Prostat	25
2.5.1 Peranan EGF dan FGF pada Prostat	27
2.5.2 Transforming Growth Factor- β (TGF- β)	37
2.5.3 a. Sebagai sitokin dalam anti-inflamasi	37
2.5.3 b. Peranan TGF β sebagai factor pertumbuhan	38
2.6 Proliferasi Sel	47
2.7 Apoptosis	50
2.7.1 Reseptor Kematian (Death receptor / DR)	51
2.7.2 Struktur Caspase	51
2.7.3 Mekanisme Apoptosis	53
2.7.3.1 Sinyal CD-95 (Fas)	55
2.7.3.2 Sinyal TNFR-1	57
2.7.3.3 Sinyal DR-3	59
2.7.3.4 Sinyal melalui DR-4 dan DR-5 dan Modulasi oleh Decoy Receptor	60

	2.8 Benign Prostatic Hiperplasia (BPH)	62
	2.8.1 Gejala Klinis Benign Prostatic Hiperplasia (BPH)	65
	2.8.2 Terapi Benign Prostatic Hiperplasia (BPH).....	66
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	68
	3.1 Kerangka Konseptual	68
	3.2 Hipotesis Penelitian	70
BAB 4	METODE PENELITIAN	71
	4.1 Jenis Penelitian.....	71
	4.2 Rancangan Penelitian	71
	4.3 Jumlah Sampel	72
	4.4 Identifikasi Variabel dan Pengukuran Variabel.....	73
	4.4.1 Hubungan antar variabel	73
	4.4.2 Klasifikasi Variabel	73
	4.4.3 Definisi Operasional Variabel	73
	4.4.4 Model Penuaan Tikus	75
	4.4.5 Tempat dan Waktu Penelitian.....	75
	4.5 Uji Statistik	75
BAB 5	HASIL DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN	76
	5.1 Analisis Hasil Penelitian.....	76
	5.1.1 Pemodelan Tikus.....	76
	5.1.2 Berat Badan Tikus.....	77
	5.1.3 Uji distribusi normal terhadap variabel penelitian.....	78
	5.1.4 Korelasi antara TGF β -1, EGF dan FGF pada.....	
	kelompok kombinasi estrogen finasteride dan.....	
	kelompok finasteride.....	80
	5.1.5 Analisis terhadap TGF β -1.....	81
	5.1.6 Analisis terhadap EGF.....	82
	5.1.7 Analisis terhadap FGF.....	84
	5.1.8 Analisis terhadap Proliferasi.....	85
	5.1.9 Analisis regresi linier berganda TGF β -1, EGF, FGF	
	dan estrogen terhadap proliferasi.....	86
	5.2 Gambar dari hasil pewarnaan imunohistokimia.....	87

BAB 6	PEMBAHASAN	92
	6.1 Korelasi antara TGF β -1, EGF, FGF	92
	6.2 Transforming growth factor β	93
	6.3 Epidermoid growth factor	96
	6.4 Fibroblast growth factor	98
	6.5 Proliferasi	100
BAB 7	TEMUAN BARU	103
BAB 8	KESIMPULAN DAN SARAN	104
	7.1 Kesimpulan	104
	7.2 Saran	105
	DAFTAR PUSTAKA	106
	LAMPIRAN	119



DAFTAR TABEL.

Tabel 2.1	: Karakteristik dari 5 alpha-reduktase enzim	15
Tabel 5.1	: Uji homogenitas berat badan tikus putih	77
Tabel 5.2	: Diskripsi statistik variabel TGF β -1,EGF,FGF dan..... Proliferasi tiap kelompok perlakuan dan waktu.....	78
Tabel 5.3	: Uji distribusi normal dengan uji kalogorov-smirnov satu sample data TGF β -1, EGF, FGF dan proliferasi tiap kelompok perlakuan dan waktu pengamatan.....	79
Tabel 5.4	: Uji korelasi pearson antara TGF β -1, EGF, FGF pada..... kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride dan kelompok finasteride.....	80
Tabel 5.5	: TGF β -1 tiap kelompok perlakuan dan waktu pengamatan pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride dan kelompok finasteride.....	81
Tabel 5.6	: EGF tiap kelompok perlakuan dan waktu pengamatan pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride dan kelompok finasteride.....	82
Tabel 5.7	: FGF tiap kelompok perlakuan dan waktu pengamatan pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride dan kelompok finasteride.....	84
Tabel 5.8	: Proliferasi tiap kelompok perlakuan dan waktu pengamatan Pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride dan Kelompok finasteride.....	85
Tabel 5.9	: Analisis regresi linier berganda TGF β -1,EGF,FGF pada Proliferasi	86

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Hubungan antara berat prostat dan umur dari hasil otopsi 25 orang	8
Gambar 2.2	Endokrinologi Kelenjar Prostat	10
Gambar 2.3	Penurunan total testosterone pada proses ketuaan	13
Gambar 2.4	Pengaruh 5 α reduktase inhibitor pada prostat.....	17
Gambar 2.5	Struktur kimia estrogen	20
Gambar 2.6	Proses biosintesis dan metabolisme estrogen	21
Gambar 2.7	Mekanisme kerja estrogen	22
Gambar 2.8	Sumber sel dan efek TGF β	37
Gambar 2.9	Siklus sel	48
Gambar 2.10	Apoptosis melalui sinyal CD 95. DD, death domain; DED, death effector domain.	57
Gambar 2.11	Sinyal pro-apoptotik dan antiapoptotik melalui TNFR-1 dan DR-3	59
Gambar 2.12	Keseimbangan antara sel yang mengalami proliferasi dan sel yang mati	65
Gambar 3.1	Kerangka konsep penelitian	68
Gambar 4.1	Rancangan Penelitian.....	71
Gambar 5.1	Sayatan jaringan prostat tikus putih wistar yang diwarnai dengan immunohistokimia menggunakan antibody monoclonal TGF β pada kelompok perlakuan finasteride selama 2 bulan.....	87
Gambar 5.2	Sayatan jaringan prostat tikus putih wistar yang diwarnai dengan immunohistokimia menggunakan antibody monoclonal TGF β pada kelompok perlakuan estrogen dengan finasteride selama 2 bulan	88

Gambar 5.3	Sayatan jaringan prostat tikus putih wistar yang di warnai dengan imunohistokimia menggunakan antibody monoclonal FGF pada kelompok perlakuan finasteride selama 2 bulan.....	88
Gambar 5.4	Sayatan jaringan prostat tikus putih wistar yang di warnai dengan imunohistokimia menggunakan antibody monoclonal FGF pada kelompok perlakuan estrogen dengan finasteride selama 2 bulan.....	89
Gambar 5.5	Sayatan jaringan prostat tikus putih wistar yang di warnai dengan imunohistokimia menggunakan antibody monoclonal FGF pada kelompok perlakuan estrogen dengan finasteride selama 2 bulan.....	89
Gambar 5.6	Sayatan jaringan prostat tikus putih wistar yang di warnai dengan imunohistokimia menggunakan antibody monoclonal FGF pada kelompok perlakuan finasteride selama 2 bulan.....	90
Gambar 5.7	Sayatan jaringan prostat tikus putih wistar yang di warnai dengan HE untuk melihat penebalan epitel prostat pada kelompok perlakuan finasteride selama 2 bulan.....	90
Gambar 5.8	Sayatan jaringan prostat tikus putih wistar yang di warnai dengan HE untuk melihat penebalan epitel prostat pada kelompok perlakuan estrogen dengan finasteride selama 2 bulan.....	91

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	: Jadwal kegiatan penelitian	119
Lampiran 2	: Tabel Konversi perhitungan dosis untuk berbagai jenis hewan dan manusia	120
Lampiran 3	: Obat perlakuan	121
Lampiran 4	: Monoklonal antibodi TGF β -1	123
Lampiran 5	: Monoklonal antibodi FGF-1	124
Lampiran 6	: Monoklonal antibodi EGF	125
Lampiran 7	: Perhitungan Dosis	126
Lampiran 8	: Prosedur Penelitian	127
Lampiran 9	: Hasil perhitungan TGF β -1, EGF, FGF & proliferasi selama 1 bulan pada kelompok pengobatan estrogen dengan finasteride dan kelompok finasteride	134
Lampiran 10	: Hasil perhitungan TGF β -1, EGF, FGF & proliferasi selama 2 bulan pada kelompok pengobatan estrogen dengan finasteride dan kelompok finasteride	136
Lampiran 11	: Hasil perhitungan TGF β -1, EGF, FGF & proliferasi selama 1 bulan pada kelompok pengobatan finasteride dan kelompok kontrol	138
Lampiran 12	: Hasil perhitungan TGF β -1, EGF, FGF & proliferasi selama 2 bulan pada kelompok pengobatan finasteride dan kelompok kontrol	140
Lampiran 13	: Hasil penelitian pendahuluan	142
Lampiran 14	: Berat badan subjek penelitian	146
Lampiran 15	: Statistik Deskriptif dan Uji Normalitas pada Pengamatan 1 bulan	148
Lampiran 16	: Statistik Deskriptif dan Uji Normalitas pada Pengamat 2 bulan	150

Lampiran 17	: Korelasi TGF β -1, EGF, FGF & proliferasi pada Pengamatan 1 bulan & 2 bulan	152
Lampiran 18	: Uji t 2 sampel bebas TGF β -1, EGF, FGF, dan Proliferasi antar kelompok pada pengamatan 1 bulan	154
Lampiran 19	: Uji t 2 sampel bebas TGF beta-1, EGF, FGF, dan Proliferasi antar kelompok pada pengamatan 2 bulan	155
Lampiran 20	: Uji t 2 sampel bebas TGF beta-1, EGF, FGF, dan Proliferasi antar kelompok pada pengamatan 1 & 2 bulan.....	156
Lampiran 21	: Uji regresi linier berganda TGF beta-1, EGF, FGF, dan dan estrogen finasteride pada Proliferasi waktu pengamatan 1 bulan	158
Lampiran 22	: Uji regresi linier berganda TGF beta-1, EGF, FGF, dan dan estrogen finasteride pada Proliferasi waktu pengamatan 2 bulan	161
Lampiran 23	: Korelasi TGF β -1, EGF, FGF & proliferasi pada pada pengamatan 1 & 2 bulan.....	163
Lampiran 24	: Uji t 2 sampel bebas TGF β -1, EGF, FGF & proliferasi pada pada kelompok finasteride dan kontrol pada pengamatan 1 bulan	166
Lampiran 25	: Uji t 2 sampel bebas TGF β -1, EGF, FGF & proliferasi pada pada kelompok finasteride dan kontrol pada pengamatan 2 bulan	167
Lampiran 26	: Uji t 2 sampel bebas TGF β -1, EGF, FGF & proliferasi antar waktu pengamatan 1 bulan & 2 bulan.....	168

DAFTAR SINGKATAN

ACTH	: Adreno Cortico Tropic Hormone
AIF	: Apoptosis Inducing Factor
Apaf-1	: Apoptosis activating factor 1
Apo	: Apoptosis
ATP	: Adenosine Triphosphate
bFGF	: Basic Fibroblast Growth Factor
BPH	: Benign Prostatic Hyperplasia
Cyto c	: Cytochrom c
CAD	: Caspase activated deoxy-ribonuclease
CBG	: Corticosteroid Binding Globulin
CD	: Cluster of Differentiation.
CZ	: Central Zone
DeR	: Decoy Receptor
DD	: Death Domain
DED	: Death Effector Domain
DHT	: Dihydro Testosteron
DNA	: Dioxy Ribonucleic Acid
DNA-PK	: DNA activated protein kinase
DR	: Death Receptor
EGF	: Epidermoid Growth Factor
ER	: Estrugen Receptor
FADD	: Fast Associated Death Domain
FAK	: Focal adhesion kinase
Fas	: Fibroblast Associated
FGFR	: Fibroblast Growth Factor Receptor
FLICE	: FADD-like interleukin converting enzyme (FADD-like ICE)
FLIP	: FADD-like ICE inhibitory protein
FSH	: Follicle Stimulating Hormone
GPI	: Glikosil Fosfatidilinositol
IAP	: Inhibitor of apoptosis protein
ICAD	: Inhibitor of CAD
IGF	: Insulin like Growth Factor
IL1	: Interleukin Satu
KGF	: Keratinocyt Growth Factor
LH	: Luteinizing Hormon
LHRH	: Luteinizing Hormon Releasing Hormon
LUTS	: Lower Urinary Tract Symptoms
MAP	: Mitogen Activated Protein
MEKK	: MAP/ Erk Kinase
mRNA	: Messenger Rebonucleic Acid
NFKB	: Nuclear Factor kB
NGF	: Nerve Growth Factor
NIK	: NF-KB Inducing Kinase

NK	: Natural Killer
PAK - 2	: P21 activated kinase-2
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
PKC	: Protein Kinase C
PSA	: Prostatic Specific Antigen
PZ	: Periferal Zone
RIP	: Receptor Interaction Protein
SHBG	: Sintetis Sex Hormon Binding Globulin
TGF β	: Transforming Growth Factor Beta
TNF	: Tumor Necrosis Factor
TNFR-1	: Tumor Nekrosis Factor Reseptor Satu
TRADD	: TNFR Associated Death Domain
TRADD	: TNF Associated of Death Domain
TRAIL	: TNF Related Apoptosis Inducing Ligand
TRAMP	: TNF Related Apoptosis Mediating Protein
TRID	: TRAIL Receptor without Intracellular Domain
TRUNDD	: Truncated Death Domain
TUIP	: Trans Urethra Incision of The Prostate
TULIP	: Trans Urethra Laser Incision of The Prostate
TURP	: Trans Urethra Resection of The Prostate
TZ	: Transisional Zone
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor





BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Seiring dengan kemajuan zaman, umur harapan hidup manusia meningkat, maka populasi manusia usia lanjut khususnya pria makin meningkat. Pria usia lanjut sering kali mengalami sakit salah satunya adalah gangguan prostat yang disebut BPH.

Adapun kelainan prostat yang sering dialami pria usia lanjut terdiri dari BPH sekitar 80% sedangkan yang lainnya kanker prostat 18% dan prostatitis 2%. Prevalensi BPH nampaknya berbanding lurus dengan usia penderita. Seperti yang dilaporkan Kirby (1994) bahwa angka kejadian BPH yang obstruktif pada usia 40 tahun sekitar 14%, pada usia 60 tahun 24%, sedangkan pada usia di atas 60 tahun sekitar 43%. Di Rumah Sakit Dr. Soetomo angka kejadian BPH yang memerlukan operasi setiap tahunnya sekitar 250 orang, dari jumlah tersebut yang terbanyak adalah usia antara 60 – 70 tahun (Sunaryo, 1999). Walaupun BPH merupakan tumor yang paling banyak pada laki-laki namun penyebab dari ini belum jelas, diduga BPH terjadi oleh pengaruh hormon androgen dan estrogen pada proses ketuaan, yaitu ketidakseimbangan antara estrogen dan testosteron pada prostat (H. Weisser, dkk, 1997). Sampai saat ini mekanisme terjadinya BPH pada usia lanjut masih diperdebatkan, oleh karena itu maka peneliti berupaya untuk mengungkap mekanisme tersebut yang kelak dapat digunakan sebagai dasar penyempurnaan dan pengembangan penanggulangan BPH.

Berdasarkan pada prevalensi BPH pada usia lanjut (60 tahun ke atas) sangat tinggi, yaitu sekitar 67% (Sunaryo, 1999), maka perlu dipikirkan cara penanggulangannya. Bila

hal ini tidak mendapatkan perhatian yang memadai maka prevalensi BPH yang obstruktif dikhawatirkan akan mengalami peningkatan yang tajam. selanjutnya penderita tersebut kemungkinan besar akan mengalami gangguan kencing, *Lower Urinary Tract Symptoms* (LUTS), mendadak tidak bisa kencing, infeksi saluran kencing yang berulang, benjolan berulang, timbul batu buli-buli, timbul divertikel buli-buli dan terjadi gangguan fungsi ginjal. Bila dibiarkan tidak mendapatkan penanganan yang baik, lama kelamaan berakhir dengan kematian.

Di Rumah Sakit Dr. Soetomo angka kejadian BPH yang memerlukan operasi setiap tahunnya sekitar 250 orang, dan dari usia tersebut yang terbanyak adalah usia 60-70 tahun (Sunaryo,1999). Demikian juga menurut laporan Berry pada tahun 1984 dan Yamanouchi tahun 1994 menyatakan bahwa insiden BPH di atas 60 tahun mencapai 90%. Berdasarkan fakta tersebut nampaknya banyak ilmuwan yang mencoba untuk mengemukakan suatu hipotesis tentang mekanisme terjadinya BPH.(Kirby,dkk.1994) antara lain:

- 1). Hipotesis dehidrotestosteron, yang menjelaskan adanya suatu peningkatan 5α reduktase dan reseptor androgen yang mengakibatkan terjadinya hiperplasia pada sel stroma dan epitelium.
- 2). Perubahan keseimbangan antara estrogen dan testosteron yang mengakibatkan terjadi stromal hiperplasia.
- 3). Interaksi faktor pertumbuhan pada epitel, yang menjelaskan adanya suatu peningkatan *epitel growth factor* (EGF), dan *fibroblast growth factor* (FGF) serta terjadi penurunan *transforming growth factor beta* (TGF beta-1) yang menginduksi terjadi hiperplasia pada sel stroma dan epitel prostat.

- 4). Penekanan proses kematian sel yang menjelaskan adanya suatu peningkatan estrogen yang mengakibatkan terjadi suatu peningkatan pertumbuhan sel stroma dan epitel.
- 5). Teori stem sel yang menjelaskan peningkatan jumlah stem sel yang transit pada prostat dan mengalami proliferasi.

Pada proses ketuaan maka kadar testosteron pada plasma dan saliva akan menurun sesuai dengan umur sedangkan menurut hasil otopsi dari 925 orang, berat prostatnya meningkat sesuai dengan umur, artinya pada proses ketuaan terjadi penurunan testosteron tetapi terjadi peningkatan berat prostat (Coccket A.T.K,dkk,1995). Dari sejumlah hipotesis dan fakta tersebut di atas nampaknya kejadian BPH sampai saat ini masih belum terungkap dengan jelas, oleh karena itu perlu dilakukan suatu kajian dan penelitian lebih lanjut untuk memperoleh hasil yang dapat digunakan sebagai dasar dalam penanganan kelainan prostat khususnya *Benign Prostatic Hyperplasia* pada peningkatan hormon estrogen dan penurunan hormon testosteron.

Kejadiannya BPH pada usia lanjut diduga sangat dipengaruhi oleh aktivitas kelenjar adrenal, karena pada usia lanjut terjadi penurunan fungsi sel Leydig sehingga produksi testosteron mengalami penurunan. Untuk mempertahankan homeostasis maka dalam kondisi tersebut kelenjar adrenal mempunyai peranan yang sangat penting, yaitu kelenjar tersebut mempunyai kemampuan mengekspresikan suatu protein yang disebut androstenedion, suatu androgen adrenal, yang merupakan precursor estrogen pria dan wanita pasca menopause (Ganong WF, 2003). Estrogen mempunyai kemampuan menekan ekspresi TGF beta-1 (Matsuda, 2001). Sedangkan TGF beta-1 ini diproduksi oleh sel prostat yang sangat berperan menghambat pertumbuhan sel atau proliferasi epitel

berbagai jaringan (Story,1995; McConnel,2002), selain itu juga dapat memicu kematian sel pada prostat (Kirby,1994). Estrogen menekan ekspresi TGF beta-1, yang berperan menghambat proliferasi dan memicu apoptosis, sehingga merangsang proliferasi epitel, proliferasi sel stroma dan hiperplasia sel stroma prostat akhirnya terbentuklah suatu keadaan yang disebut sebagai BPH (Griffiths, 2002). Telah dikembangkan pengobatan BPH dengan 5 α reduktase inhibitor (finasteride) untuk mengurangi gejala BPH yang timbul. Pada pemberian 5 mg finasteride selama 12 bulan dapat menurunkan DHT serum 75% dan volume prostat 19% serta memperbaiki pancaran urine 1,6 ml/detik (Mc. Connel,2002)

Oleh karena penelitian ini sulit diterapkan pada manusia, maka peneliti akan mencoba melakukan penelitian ini pada tikus putih (*Wistar*). Untuk membuat tikus yang mempunyai prostat usia lanjut maka tikus tersebut diberi 5 α reduktase inhibitor (finasteride), sehingga dihidrotestosteron (DHT) menurun, akibatnya Growth Factor atau faktor pertumbuhan yaitu TGF β -1, EGF dan FGF akan menurun, serta diberi estrogen yang menekan ekspresi TGF β -1, memicu ekspresi EGF dan FGF selanjutnya akan terjadi peningkatan proliferasi epitel dan stroma prostat. Berdasarkan pemikiran tersebut maka timbullah suatu masalah yang dirumuskan sebagai berikut :

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian kombinasi 5 α reduktase inhibitor dan estrogen dapat menurunkan ekspresi Transforming Growth Factor beta-1 (TGF β -1) di kelenjar prostat pada tikus putih (*Wistar*) usia lanjut ?
2. Apakah pemberian kombinasi 5 α reduktase inhibitor dan estrogen dapat meningkatkan ekspresi Epidermoid Growth Factor (EGF) di kelenjar prostat pada tikus putih (*Wistar*) usia lanjut ?
3. Apakah pemberian kombinasi 5 α reduktase inhibitor dan estrogen dapat meningkatkan ekspresi Fibroblast Growth Factor (FGF) di kelenjar prostat pada tikus putih (*Wistar*) usia lanjut ?
4. Apakah pemberian kombinasi 5 α reduktase inhibitor dan estrogen dapat meningkatkan proliferasi sel epitel prostat pada tikus putih (*Wistar*) usia lanjut ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap mekanisme terjadinya BPH pada usia lanjut

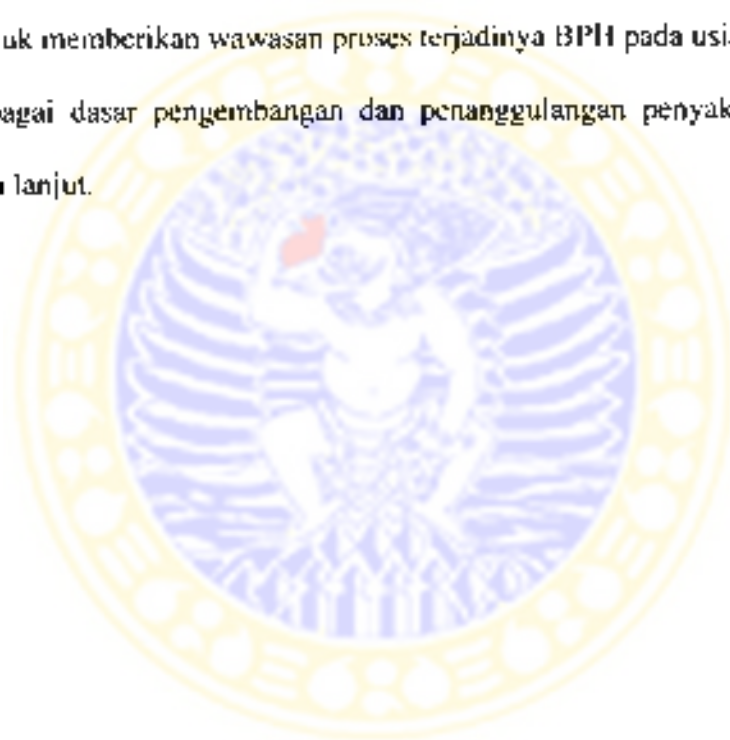
1.3.2 Tujuan khusus

1. Untuk membuktikan terjadinya penurunan TGF β -1 prostat tikus putih (*Wistar*) usia lanjut setelah pemberian kombinasi 5 α reduktase inhibitor dan estrogen.
2. Untuk membuktikan terjadinya peningkatan EGF prostat tikus putih (*Wistar*) usia lanjut, setelah pemberian kombinasi 5 α reduktase inhibitor dan estrogen.

3. Untuk membuktikan terjadinya peningkatan FGF prostat tikus putih (*Wistar*) usia lanjut, setelah pemberian kombinasi 5 α reduktase inhibitor dan estrogen.
4. Untuk membuktikan terjadinya peningkatan proliferasi sel epitel prostat tikus putih (*Wistar*) usia lanjut setelah pemberian kombinasi 5 α reduktase inhibitor dan estrogen.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Untuk memberikan wawasan proses terjadinya BPH pada usia lanjut
2. Sebagai dasar pengembangan dan penanggulangan penyakit BPH pada usia lanjut.



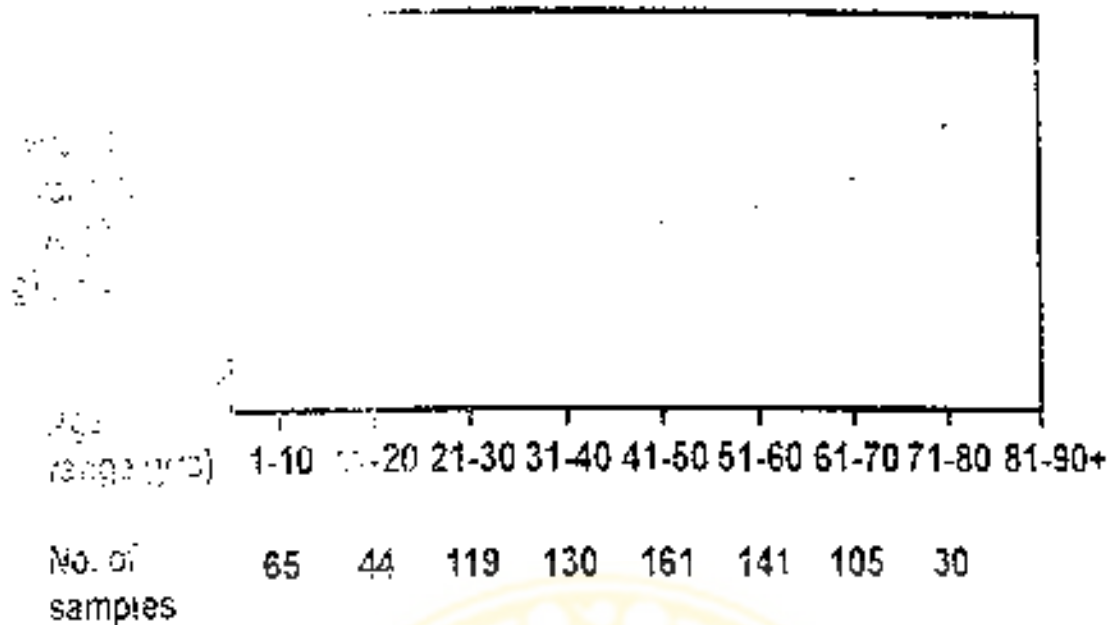
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kelenjar Prostat

Kelenjar prostat adalah alat reproduksi pria yang melekat dan menyelubungi bagian uretra proksimal, yang terletak di bawah kandung kemih. Prostat merupakan organ fibromuskuler dan glanduler berbentuk piramid. Kelenjar ini berfungsi untuk mensekresi cairan yang merupakan medium untuk sel spermatozoa yang dikeluarkan pada saat ejakulasi ke dalam uretra melalui duktus ejakulatorius.

Cairan prostat bersifat alkalis yang mengandung spermin, asam sitrat, kolesterol, fosfolipid, fibrinolisin, fibrinogenase, seng dan asam fosfatase (Ganong, 2003). Cairan ini bersama cairan dari vesikulaseminalis dan cairan kelenjar Cowperi merupakan cairan penting dalam menunjang fertilitas. Kelenjar prostat terbentuk pada saat janin umur 12 minggu dari sinus urogenital. Karena pengaruh hormon androgen dari embriolik testis maka terbentuklah kelenjar prostat (Partin Alan, W, M.D, PhD 2002). Berry 1984 dan Yamanouchi 1994 menyebutkan, perubahan ukuran prostat sejak lahir sampai masa pubertas sangat kecil. pada pubertas terjadi peningkatan ukuran prostat yang terus berlangsung sampai dekade ketiga. Kecepatan pertumbuhan prostat pada masa pubertas ini kira-kira 1,6 gram pertahun. Setelah itu terjadi penurunan laju pertumbuhan prostat menjadi sekitar 0,4 gram pertahun pada usia antara 31 – 90 tahun. Berat prostat akan bertambah sesuai dengan umur, hal ini telah dilaporkan oleh J. Stephen, 1984 yang melaporkan hubungan antara umur dengan berat prostat pada hasil otopsi 925 manusia (J. Stephen, dkk. 1984) (Gambar.2.1)



Gambar 2.1 Hubungan antara berat prostat dan umur dari hasil otopsi 925 orang dikutip dari (Cockett A. L.K.,1995)

Pada tahun 1912 Lowesley membagi kelenjar prostat menjadi lima lobus yaitu dua lobus lateral, satu lobus posterior dan satu lobus medius serta satu lobus anterior yang telah atrofi pada saat bayi. Lobus lateral membentuk sebagian besar prostat, lobus ini sering terjadi adenoma prostat yang bersifat jinak. Lobus posterior dikenal sebagai bagian dari lobus lateral yang membentuk cekungan uretra di bawah saluran keluar duktus ejakulatorius dan tumbuh ke arah posterior dan superior. Pada pemeriksaan colok dubur bagian ini mudah diraba dan merupakan tempat tersering terjadinya keganasan. Duktus ejakulatorius membagi permukaan posterior dekat di bawah buli-buli dan menembus prostat secara oblique kemudian bermuara pada uretra pars prostatika tepatnya pada feromontanum.

Kemudian pada tahun 1978 Mc.Neel membagi kelenjar prostat menjadi tiga zona yaitu Zona Perifer (PZ) yang merupakan 75% dari total volume kelenjar prostat, muara

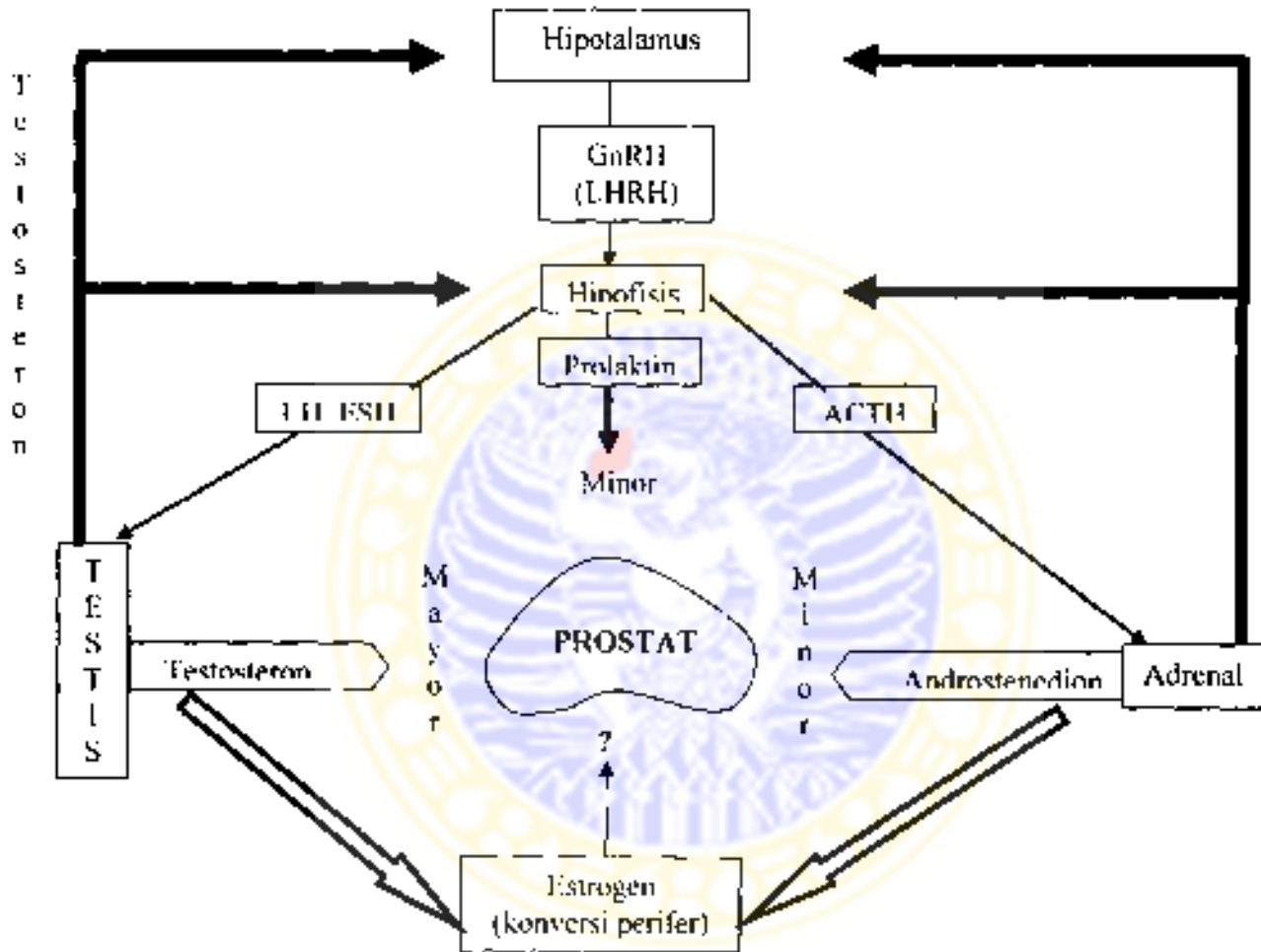
kelenjarnya pada dinding uretra dan verumontanum sampai dekat spingter eksterna, dikatakan 70% adeno karsinoma prostat berasal dari zona ini (JD. Brooks,2002). kemudian Zona Central (CZ) kira-kira 20% dari total volume kelenjar prostat, berbentuk konus dengan dasar membentuk bagian dasar prostat dan bagian apikal berada pada verumontanum. aliran kelenjarnya bermuara di sekitar muara duktus ejakulatorius. Diperkirakan 1-5% adeno karsinoma prostat berasal dari zona ini. Zona yang ketiga adalah Zona Transitional (TZ) merupakan lobus yang kecil kira-kira 5% dari total volume kelenjar prostat muara kelenjarnya merupakan daerah yang khas pada bagian proksimal uretra prostatika dekat dengan spingter eksterna. Zona ini umumnya menjadi cikal bakal munculnya BPH dan diperkirakan 20% dari adeno karsinoma prostat berasal dari zona ini (Mc Connel, 2002; JC. Presti,2000; JD. Brooks,2002).

Pembagian kelenjar prostat menurut Lowsley berdasarkan gros anatomi sedang menurut Mc.Neal berdasarkan normo dan patohistologi. Yang banyak dianut sekarang adalah menurut pembagian Mc.Neal. Zona transisional sering terjadi hiperplasi sedangkan pada zona perifer sering terjadi keganasan. Kelenjar prostat terdiri dari komponen stroma fibromuskuler dan komponen glandular. Masing-masing komponen dapat mengalami hiperplasi baik salah satu komponen maupun kedua komponen. Bila terjadi hiperplasi jinak maka terjadilah pembesaran prostat jinak (B P H).

2.2. Peranan androgen pada prostat

Di dalam testis ditemukan tubulus seminiferus, merupakan tempat produksi dari spermatozoa. di antara tubulus seminiferus ditemukan kelompok sel yang disebut sel Leydig yang menghasilkan hormon testosteron. Karena adanya hormon *Luteinizing*

Hormon Releasing Hormon (LHRH) yang dihasilkan oleh Hypotalamus merangsang Hypofise untuk menghasilkan hormon *Luteinizing Hormon (LH)*. *Luteinizing Hormon* ini merangsang sel-sel Leydig dalam testis untuk mensekresi hormon testosteron dan pregnenolon yang bersifat *reversible* (Gambar 2.2).



Gambar 2.2 Endokrinologi Kelenjar Prostat (Parin Allan.dkk,2002)

Testosteron ini dapat diubah menjadi DHT oleh enzim 5α reduktase, atau bisa berubah menjadi estrogen dengan proses aromatisasi dan proses ini bersifat *irreversible*. Estrogen memberi *negatif feed back* pada LH untuk mengurangi produksi testosteron dari testis (Kirby,1997). Testosteron adalah androgen yang kuat pada prostat, sedang peranan androstenedion dari adrenal tidak sekuat androgen dari testis pada prostat. Androstenedion dapat mengalami aromatisasi menjadi estrogen, pada kelainan kongenital hiperplasia adrenal produksi androstenedion berlebihan akan memicu pertumbuhan prostat. Testosteron yang dihasilkan oleh sel Leydig ini kira-kira 95% dari 6-7 mg testosteron yang diproduksi oleh tubuh setiap harinya, sedangkan 5% diproduksi oleh kelenjar adrenal 20 – 200 $\mu\text{g}/\text{hari}$ sedang dari metabolisme perifer 200 – 300 $\mu\text{g}/\text{hari}$ (Kirby, 1997 ; Keith, Griffiths, 2002). Pada vena spermatika 40 – 50 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, 70 kali lebih besar daripada konsentrasi sirkulasi perifer (600 ng/100ml). Bila terjadi penurunan kadar testosteron akan terjadi mekanisme umpan balik negatif pada hipotalamus sehingga kadar GnRH dan LH meningkat. Testosteron mempunyai peranan penting pada pertumbuhan dan perkembangan organ seks juga pada kelenjar prostat.

Testosteron sebagian akan mengalami perubahan menjadi estrogen, estrogen ini mempunyai efek *negative feed back* ke kelenjar hipofise untuk menurunkan sekresi *Luteinizing hormon* yang akhirnya akan menekan produksi testosteron.

Pada prostat normal maka fungsi prostat dipengaruhi oleh hormon androgen yang berasal dari testis 95% dan sisanya dari kelenjar adrenal, juga karena prolaktin dan estrogen. Sebagian estrogen diproduksi oleh testis, tapi sebagian besar berasal dari aromatisasi testosteron dan androgen adrenal di perifer.

Pada usia lanjut produksi testosteron menurun karena jumlah sel Leydig menurun dan respons testis terhadap LH juga menurun, walaupun kadar LH tinggi pada plasma. Pertambahan atau peningkatan usia dapat menyebabkan kadar estrogen pada plasma pria meningkat, karena adanya aromatisasi perifer dan androgen adrenal (Kirby,1997; Griffiths,2002).

Estrogen meningkat maka terjadi penurunan sekresi testosteron sebagai hambatan sekresi gonadotropin hipofise, juga oleh karena pengaruh langsung estrogen pada testis. Penurunan testosteron meningkatkan sintesis *Sex Hormon Binding Globulin (SHBG)* oleh hepar maka pengikatan testosteron oleh protein ini semakin tinggi akibatnya testosteron bebas dalam plasma akan menurun, sehingga rasio estrogen bebas dengan testosteron bebas meningkat.

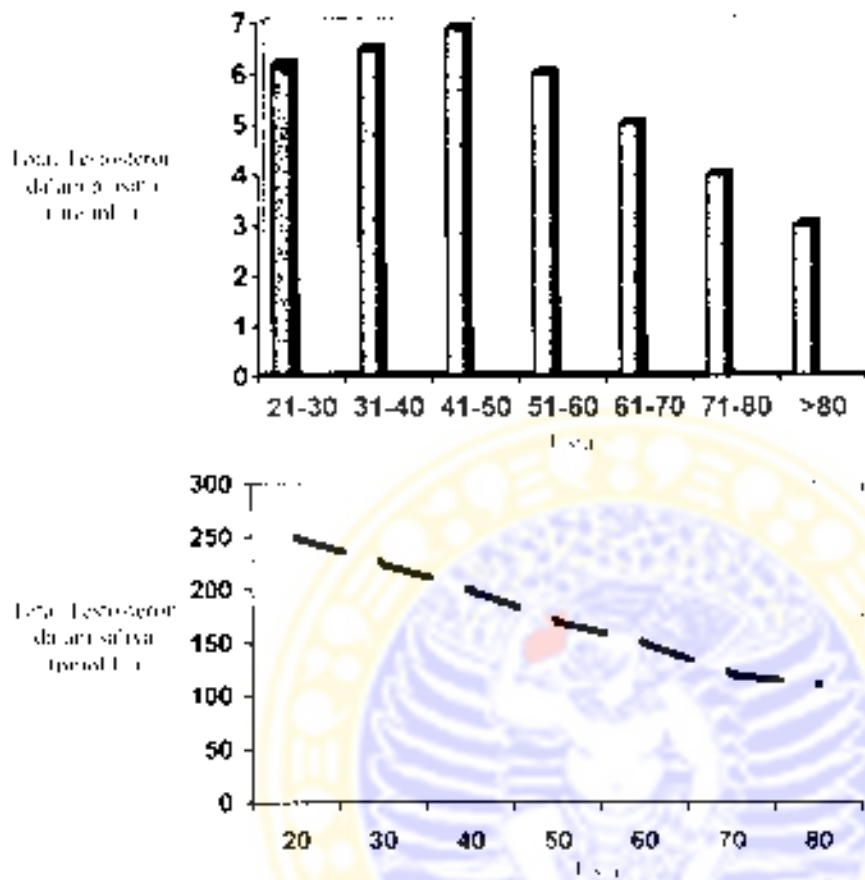
Dilaporkan oleh Vermeulus dkk, bahwa pada laki-laki usia muda 57% plasma testosteron terikat oleh SHBG, dan 40% berikatan dengan albumin, sedang 1% berikatan dengan *Corticosteroid Binding Globulin (CBG)* akibatnya ratio estrogen bebas dengan testosteron bebas meningkat (Cockett ATK,1995).

Selain testosteron testis juga membentuk oestron (E1) dan oestradiol-17 β (1:2) kira-kira 40-50% dari total estrogen yang diproduksi oleh laki-laki muda. Kadar estradiol 17 β (E2) plasma akan turun 40-50% pada karsinoma prostat yang mengalami kastrasi atau pengobatan dengan obat-obat anti androgen (Cockett A.K,1995; Griffiths,2002)

Selama proses kehidupan produksi testosteron berubah-ubah sesuai dengan usia. Testosteron mengalami penurunan dari 2% laki-laki muda dan 1,75% pada dekade kelima setelah itu 1,25% pada dekade ketujuh. Pada proses ketuaan maka jumlah sel Leydig didalam testis mengalami penurunan sehingga jumlah testosteron yang dihasilkan oleh



testis juga mengalami penurunan baik pada plasma maupun pada saliva (Cockett ATK,1995; Karby,1997; Griffiths, 2002) (gambar 2.3).



Gambar 2.3 Perurunan total Testosteron pada proses ketuaan dikutip dari (Cockett ATK,1995)

Testosteron mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan organ seksual termasuk kelenjar prostat. Dalam sel prostat testosteron berikatan dengan enzim 5α reduktase yang terdapat pada membran inti sel membentuk dihidrotestosteron (DHT). DHT ini lebih kuat afinitasnya terhadap reseptor androgen dari pada testosteron di dalam inti sel. Setelah berikatan dengan reseptor androgen akan mempengaruhi DNA dalam inti sel terus ditranskripsi menjadi mRNA selanjutnya terbentuk protein yaitu *growth factor* dan PSA. *Growth Factor* inilah yang menjadikan prostat tumbuh menjadi besar. Peranan

testosteron ini cukup besar terhadap prostat hal ini terbukti apabila anak laki-laki yang dilakukan kastrasi sebelum dewasa maka prostatnya tidak tumbuh menjadi BPH pada usia lanjut (Cockett ATK,1995; Kirby,1997; Griffiths,2002).

2.3. Enzim 5 α reduktase

Pembesaran prostat meliputi hiperplasia glandular dan fibromuskular dengan proporsi yang bervariasi. Komponen fibromuskuler diinervasi oleh saraf otonom ul adrenergik. Komponen glanduler dikendalikan secara hormonal. BPH tidak terjadi pada penderita yang menderita defisiensi enzim 5 α reduktase secara congenital, enzim ini bertanggung jawab mengubah testosteron menjadi metabolit aktif (DHT) dalam sel prostat (Jones D.A.,2001)

Pembesaran prostat kemungkinan multifaktorial, tetapi dua kondisi utama yang diperlukan yaitu adanya fungsi testis menurun dan usia tua. Laki-laki yang telah dikastrasi sebelum masa pubertas tidak mengalami BPH. Kastrasi setelah onset dari penyakit dapat juga menghentikan proses penyakit ini. Androgen tidak hanya bertanggung jawab memulai tetapi juga mempertahankan BPH, ini memelopori penelitian tentang penggunaan manipulasi hormon pada pengobatan terhadap BPH (Savage M.O.,dkk,1999). Walaupun testosteron merupakan androgen plasma yang paling utama yang merangsang pertumbuhan prostat dan jaringan seks aksesoris yang lain, juga menunjukkan fungsi sebagai prohormon dalam bentuk androgen aktif dalam prostat bukan testosteron tetapi dehidrotestosteron (DHT). Pembentukan DHT meliputi pengurangan dari ikatan ganda dari lingkaran A testosteron karena aktifitas enzim,atik 5 α reduktase. Androgen yang lebih poten dalam prostat adalah dihidrotestosteron (DHT)

dibentuk dari testosteron oleh enzim 5 α reduktase (Partin A.W.,dkk,2002). DHT dibentuk oleh testosteron pada membran inti sel yang berikatan dengan enzim 5 α reduktase. Ada 2 macam enzim 5 α reduktase yaitu enzim 5 α reduktase tipe 1 dan tipe 2, masing-masing enzim ini mempunyai karakter sendiri-sendiri. (table 2.1), 5 α reduktase inhibitor yang kita gunakan untuk penelitian ini adalah finasteride yang menghambat enzim 5 α reduktase tipe 2.

Tabel 2.1 Karakteristik dari enzim 5 α -reduktase (Mc Connell J.D .1997)

Karakteristik	Isoensim	
	Tipe 1	Tipe 2
Lokasi kromosom	5	2
Populasi pada prostat	rendah	Tinggi
PH optimum	Netral-basa	Asam
Defisiensi 5 alpha reduktase	Normal	Mutasi
Penghambatan oleh finasterid	Tidak sensitif ($K_i \geq 300 \text{ nM}$)	Sensitif ($K_i \geq 5 \text{ nM}$)
Ekspresi Prostat (protein)	Tidak ada	Banyak

Mutasi pada enzim 5 α reduktase tipe 2 menyebabkan sindroma 5 α reduktase defisiensi yang ditandai dengan tidak terbentuknya genitalia eksterna dan prostat yang normal. Enzim ini berada pada jaringan prostat dewasa, juga pada jaringan perifer seperti hati dan kulit, sedang enzim 5 α reduktase tipe 1 banyak terdapat pada hati dan kulit. Pengobatan BPH dengan enzim 5 α reduktase inhibitor, finasteride dan episteride sangat efektif menghambat aktifitas enzim 5 α reduktase tipe 2 sedangkan pada tipe 1 kurang

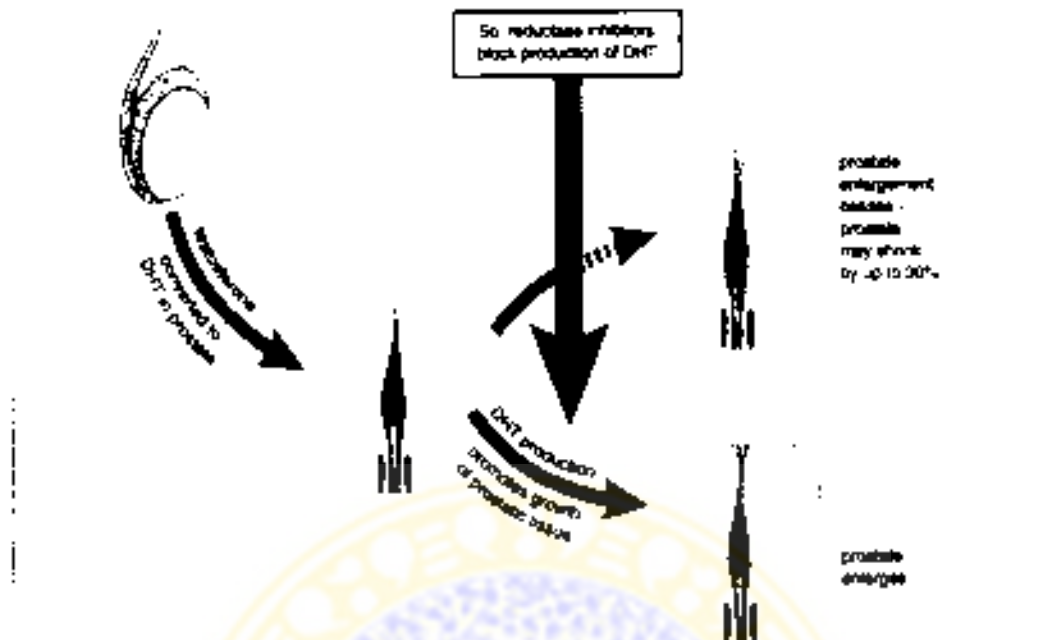
efektif. Enzim 5α reduktase tipe 2 mempunyai berat molekul 2300 dan dapat dideteksi secara spesifik pada kulit, prostat, vesiculaseminalis, epididymis dan liver. (Mc Connell, 1996)

Androgen mengatur 5α reduktase tipe 2 hal ini terbukti dengan apabila dilakukan kastrasi setelah 6 bulan kadar 5α reduktase menurun, 5α reduktase tikus tipe 2 ini dapat dideteksi dengan pemeriksaan immunohistokimia pada sel stroma prostat. Ada efek sinergis antara estrogen dan androgen pada aktifitas enzim 5α reduktase tikus (K. Suzuki, dkk. 1994; H. Yamanaka, dkk. 1975).

Glandula prostat tergantung pada androgen memerlukan testosteron untuk tumbuh berkembang diferensiasi dan berfungsinya prostat. Berkembangnya BPH terjadi oleh karena kombinasi antara pengaruh androgen, testis dan pengaruh ketuaan. Hal ini terbukti bahwa laki-laki yang dilakukan kastrasi pada usia muda maka BPH tidak akan terjadi.

Finasteride adalah enzim penghambat 5α reduktase inhibitor yang menghambat perubahan testosteron menjadi dihidrotestosteron. Pada penelitian klinik menunjukkan bahwa finasteride efektif untuk menurunkan volume prostat kemudian dapat memperbaiki gejala BPH. (Kirby, 1997) (Gambar 2.4)

The effect of 5 alpha-reductase inhibitors



Gambar 2.4. Pengaruh 5 α reduktase inhibitor pada prostate dikutip dari (Kirby, 1997)

Finasteride merupakan inhibitor kompetitif penghambat kompetitif dari enzim 5 α -reduktase. Finasteride dapat menurunkan kadar dihidrotestosteron serum dan intraprostatik. Finasteride merupakan inhibitor yang selektif dari isoenzim tipe 2. Finasteride tidak dapat menurunkan kadar dihidrotestosteron sampai kadar kastrasi karena testosteron dalam sirkulasi dapat diubah menjadi dihidrotestosteron oleh isoenzim tipe 1 yang terdapat dalam kuli dan hati (Depor A, Clowe E, 2002; Wein AJ, Rovner JS, 2001).

Finasteride ini menjadi aktif jika diberikan secara oral dan menyebabkan penurunan kadar dihidrotestosteron dalam waktu 8 jam setelah pemberian berlangsung sekitar 24 jam. Waktu paruhnya sekitar 8 jam + lebih lama pada orang yang lebih tua.

Empat puluh sampai lima puluh persen dari dosis ini dimetabolisme, lebih dari separuh diekskresi melalui faeces. Efek samping finasteride dialami oleh 12 % penderita antara lain terjadi penurunan libido (3,4-4,7%), kelainan ejakulasi (2,7%) dan disfungsi ereksi (1,7-3,7%). (Katzung BG,2002; Wein AJ, 2001), efek samping tersebut bersifat *reversible* bila dilakukan penghentian pengobatan.

Perkembangan finasteride dapat menurunkan DHT secara bermakna pada anjing yang mengalami BPH dan mengurangi volume prostat sampai 64%, juga dapat menekan DHT plasma antara 80-90% tanpa menurunkan kadar testosteron sehingga libido dan fungsi seksualnya tidak terganggu, juga dapat memperbaiki pancaran kencing secara signifikan. Pemberian terapi 5 mg finasteride selama 12 bulan dapat menurunkan DHT serum 75% dan volume prostat 19% serta memperbaiki pancaran urin 1.6 ml/detik. Pada penelitian lain selama 2 tahun 34% penderita mengalami pengurangan volume ejakulasi dan penurunan libido serta penurunan fungsi ereksi, finasteride juga dapat menekan ekspresi PSA dalam serum sampai 50% (Mc Connel, 2002). Pernah dilakukan penelitian bahwa pemberian finasteride pada tikus jantan dewasa dapat menurunkan kadar DHT prostat secara signifikan tetapi testosteron prostat dan androstenedion meningkat (F.W. George,1997). Finasteride secara signifikan menurunkan berat prostat dengan menghambat ekspresi IGF1 (*Insulin Like Growth Factor*). Pemberian finasteride 5 mg/kg bb/hari dikombinasi dengan anti estrogen 182,780 (ICI) pada tikus dengan berat badan antara 300-350 gr selama 21 hari dapat menurunkan berat prostat sampai 50% dan menyebabkan pengurangan penebalan sel epitel (Fluynh H.,dkk.,2001). 5 α reduktase inhibitor yang lain adalah episterid, pada pemberian episterid 2 mg/hari dapat menurunkan kadar DHT prostat menjadi 3,21 ng/gram, tidak ada perbedaan yang

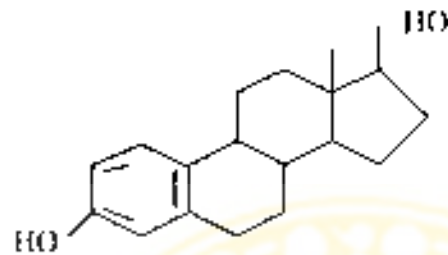
bermakna dengan pemberian placebo selama 10 hari. Apabila dosis episterid ditingkatkan 10 mg/hari kadar DHT prostat menjadi 2,13 ng/gram dan bila diberikan 80 mg/hari kadar DHT menjadi 0,85 ng/gram, sedangkan kadar testosteron dalam prostat tidak ada perbedaan bermakna antara pemberian 10 mg/hari atau 80 mg/hari selama 10 hari.

Episterid adalah selektif inhibitor pada 5α reduktase tipe 2 pada prostat manusia, tikus dan monyet. Pemberian episterid per oral pada tikus dengan dosis 25 mg/kg.bb 2 kali sehari dapat mengurangi kadar DHT prostat seperti setelah dilakukan kastrasi. Pada manusia pemberian episterid per oral mencapai level tertinggi pada plasma antara 1,5 - 3 jam, *half life* plasma = 24 jam dan klearanse plasma rendah \pm 0,33 ml/permenit/kg. (Mc Connell,1996). Pemberian finasteride 1 mg/kg BB/hari pada anjing selama 80 hari dapat menurunkan kadar dehidrotestosteron dan volume prostat secara signifikan. Pemberian 5α reduktase inhibitor, episterid dapat menyebabkan terjadinya apoptosis pada prostat tikus, ini merupakan salah satu mekanisme kerja pengobatan pada BPH (Suzuki, K.dkk,1998).

2.4 Peranan estrogen pada prostat.

Terjadinya BPH pada usia lanjut tampaknya dipengaruhi oleh kelenjar adrenal, karena pada usia lanjut fungsi testis menurun sehingga produksi testosteron menurun. Untuk menjaga homeostatis maka kelenjar adrenal akan memproduksi hormon androstenedion, yang merupakan sumber estrogen (Ganong WF,2003) pada usia lanjut. Dikatakan peneliti sebelumnya bahwa bila terjadi peningkatan rasio kadar estradiol/kadar testosteron total dalam plasma $>$ 0,003758 pg/ml kemungkinan terjadi BPH (Suwandi S.,1996). Estrogen merupakan hormon steroid dengan 18 atom C dan dibentuk terutama

dari 17-ketosteroid androstenedion. (Ganong WF,2003). Secara alamiah ada tiga bentuk estrogen yaitu 17 β -estradiol (E₂), estron (E₁), dan estriol (E₃). Struktur estrogen seperti pada gambar 2.5



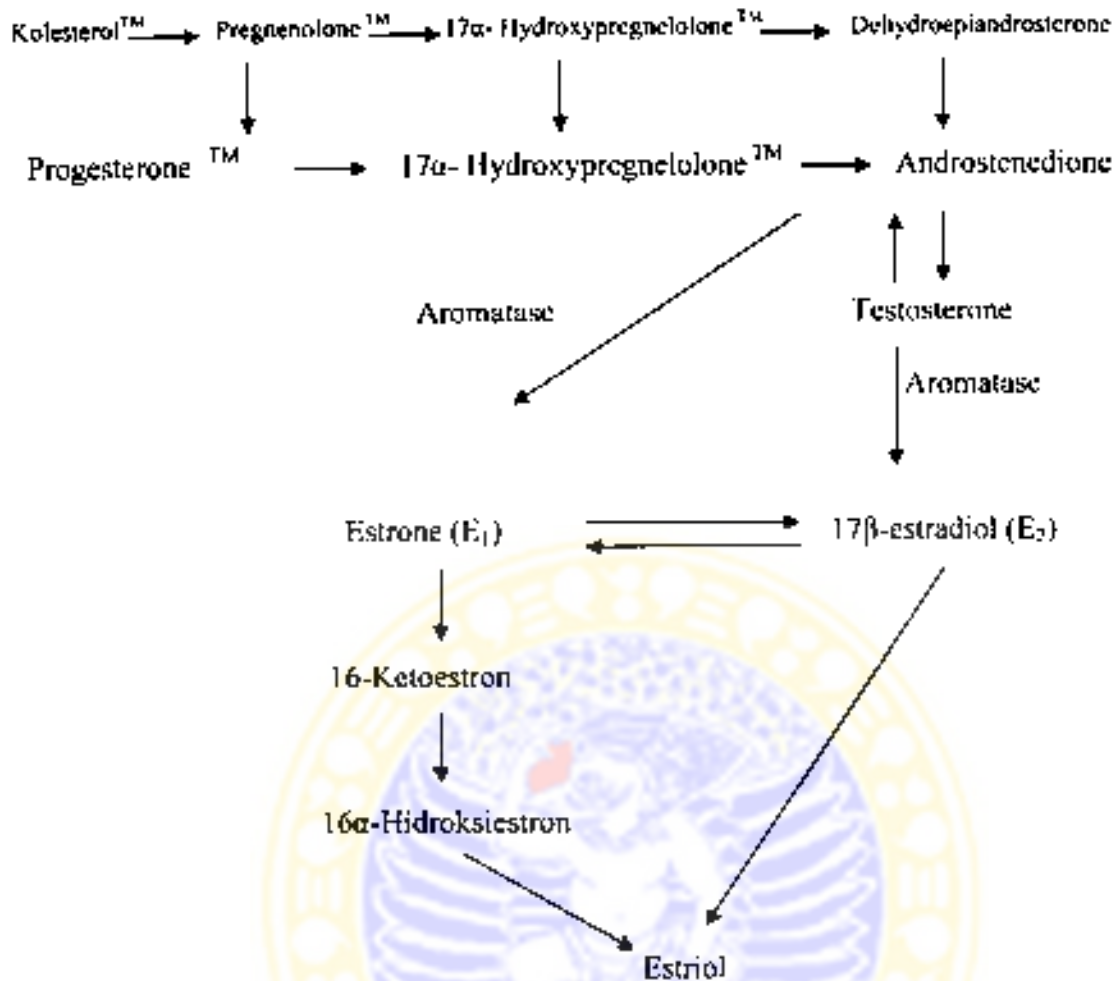
Estradiol-17 β

Gambar 2.5 Struktur kimia estrogen (Ganong WF,2003)

17 β -estradiol merupakan estrogen utama yang disekresi di dalam sirkulasi berada dalam keadaan seimbang dengan estron. Estron mengalami metabolisme lebih lanjut menjadi estriol. Estradiol adalah estrogen yang paling kuat 12 kali estron dan 80 kali estriol.

Estrogen hanya sedikit diproduksi oleh testis antara 5% - 10%. Estrogen pada plasma pria dewasa berasal dari konversi androstenedion dan testosteron menjadi estrone dan estradiol melalui aromatisasi (Griffiths,dkk,2002)

Produksi estradiol pada laki-laki antara 40 μ g - 50 μ g dan hanya 5 μ g - 10 μ g diproduksi langsung oleh testis yaitu dari sel Leydig. Kelenjar Adrenal juga menghasilkan estrogen secara langsung atau dari androstenedion oleh karena pengaruh enzim aromatisasi. (Gambar 2.6) (Ganong WF.,2003; Griffiths,dkk. 2002)



Gambar 2.6 Proses biosintesis dan metabolisme estrogen (Ganong WF, 2003; Griffiths, dkk, 2002)

Androstenedion adalah androgen adrenal diubah menjadi testosteron dan estrogen dalam sirkulasi darah. Androgen adrenal ini merupakan estrogen pada pria dan wanita pasca menopause (Ganong WF, 2003).

Mekanisme kerja seperti pada steroid lainnya, estrogen berkaitan dengan suatu reseptor protein di inti sel, dan kompleks ini kemudian berkaitan dengan DNA, mendorong pembentukan mRNA yang kemudian menyebabkan sintesis protein baru

yang memodifikasi fungsi sel (tampak pada gambar 2.7) (R. Miksicek,1999). Saat ini telah berhasil dikloning dua reseptor estrogen : reseptor estrogen α (ER α) dan reseptor estrogen β (ER β). Meskipun terjadi tumpang tindih, distribusi kedua reseptor ini berbeda. ekspresi ER α di uterus, testis, hipofisis, ginjal, epididymis, dan adrenal jumlahnya sedang sampai tinggi, sedangkan ekspresi ER β tinggi di ovarium, prostat, paru, kantung kemih, otak, dan tulang. (Miu, Liu Mdkk,2002)



Gambar 2.7
Mekanisme kerja estrogen
Dikutip (R. Miksicek,1994)

Peranan estrogen pada prostat masih belum jelas, pada penelitian awal menunjukkan bahwa estrogen mempunyai peranan terhadap patogenesis BPH, karena pada penelitian prostat anjing dan tikus ada efek sinergis antara terapi androgen dan estrogen dibandingkan dengan terapi androgen saja (Gintlich,dkk,2002; Kirby,1997). Pemberian estradiol bersamaan dengan androgen menyebabkan pembesaran prostat, yaitu khususnya pada anjing. Dikatakan pada anjing yang mengalami BPH, reseptor androgen akan meningkat oleh karena estrogen. Pada manusia reseptor estrogen terutama terdapat

pada sel-sel stroma prostat. Pada kelenjar prostat manusia yang mengalami BPH kadar oestrone dan oestradiol lebih tinggi secara signifikan pada sel stroma dibandingkan sel juga pada sel dan sel stroma prostat yang masih normal. Pemberian estradiol dan testosteron secara energis dilaporkan akan memicu pertumbuhan prostat tikus dibandingkan dengan pemberian testosteron saja (Kirby,1997;Griffiths,dkk,2002).

Dengan meningkatnya umur maka meningkatlah estrogen plasma, terdapat penumpukan estrogen pada jaringan prostat yang mengalami BPH, khususnya pada stroma prostat, tapi pada epitel juga ada. Pada jaringan prostat yang normal terdapat receptor estrogen dan progesterone pada sitoplasma, jadi hormon ini ikut berpengaruh pada perkembangan prostat. Pembentukan estrogen pada pria didapatkan dari testis, kelenjar adrenal, juga dari aromatisasi androstenedion dan aromatisasi testosteron. Dengan peningkatan usia maka kadar estradiol 17- β dan oestron dalam plasma meningkat, sedangkan testosteron menurun karena fungsi testis menurun. Pada ketuban juga terjadi peningkatan aromatisasi epitel androgen adrenal oleh lemak dan jaringan otot, sehingga pada orang yang gemuk terjadi peningkatan estrogen dan kemungkinan dapat terjadi pembesaran prostat (Griffiths,dkk,2002).

Pada laki-laki di atas 50 tahun akan terjadi peningkatan total estradiol dalam plasma sampai 50% dan hanya terjadi perubahan yang minimal pada estradiol bebas 10% hal tersebut dikarenakan adanya peningkatan kadar *Testosteron Estrogen Binding Globulin* dalam serum. Pada laki-laki usia lanjut terjadi penurunan relative androgen dan peningkatan estrogen. Pada jaringan prostat rasio estradiol dengan dihidrotestosteron (DHT) meningkat daripada dalam darah. Pada pemberian estrogen dengan androgen akan memicu terjadinya hiperplasia, metaplasia squamous, keratinisasi dan displasia epitel

prostat. Pada stroma sel prostat estrogen akan menginduksi proliferasi khususnya pada prostat anjing. estrogen juga mempunyai kemampuan menekan ekspresi TGF- β 1 (Matsuda, 2001). Reseptor estrogen dan androgen banyak terdapat pada sel stroma prostat, sehingga bila diberikan secara sinergis akan memicu Growth Factor, khususnya FGF sehingga terjadi proliferasi sel stroma. Estrogen juga menghambat kematian sel yaitu dengan jalan menekan ekspresi TGF β 1 (Matsuda,2001). Sedangkan TGF- β 1 ini diproduksi oleh sel prostat yang sangat berperan dalam menghambat Growth Factor (EGF dan FGF) dalam pertumbuhan sel atau proliferasi epitel dari berbagai jaringan (Story,1945; Mc Connel,2002). Selain itu TGF- β 1 dapat memicu kematian sel atau apoptosis sel pada prostat (Kirby,1994). Karena estrogen menekan ekspresi TGF- β 1 yang memicu apoptosis sel prostat dan menghambat Growth Factor sedang estrogen juga memicu terjadinya proliferasi sel epitel dan stroma prostat maka prostat akan membesar dan lama-lama akan terjadi BPH. Kadar estrogen dalam serum laki-laki didapatkan peningkatan seiring dengan penambahan usia dibandingkan dengan kadar testosterone. Reseptor estrogen pada prostat ada 2 macam yaitu : receptor α pada sel stroma dan receptor β pada sel epitel prostat. Pada penelitian yang dilakukan oleh Parin dkk (1991) didapatkan peningkatan kadar estrogen di sirkulasi perifer pada pasien dengan BPH, sedang penelitian yang dilakukan oleh Toshifumi dkk,2002 didapatkan receptor α pada sel stroma zona perifer dan tidak pada zona transisional sedangkan receptor β didapatkan pada sel stroma zona perifer dan zona transisional. Mengingat BPH berawal dari zona transisional maka dapat disimpulkan yang berperan pada proses terjadinya BPH adalah receptor estrogen yang tipe β (Mc. Connel,dkk,2002; Tsurusaki T.,dkk,2001).

2.5 Growth Factor pada prostat

Telah diketahui beberapa tahun yang lalu bahwa sel prostat hanya dapat berproliferasi secara *in vitro* bila terdapat serum di dalamnya. Faktor yang berada di dalam serum tersebut tidak didapatkan didalam plasma. Sehingga diketahui bahwa untuk menstimulasi pertumbuhan sel *in vitro* dibutuhkan faktor yang berasal dari proses koagulasi darah dan kemungkinan besar faktor tersebut adalah Platelet. Dengan demikian, salah satu faktor pertumbuhan pertama yang diidentifikasi dikenal sebagai *platelet derived growth factor* (PDGF) (Imberton M.,dkk.1999). Berbagai jenis faktor lain selanjutnya diidentifikasi sebagai "faktor pertumbuhan" untuk berbagai jenis peranan dalam memicu pertumbuhan baik *in vitro* maupun *in vivo*. Growth Factor sebuah molekul polipeptida yang menstimulasi atau beberapa kasus menghambat pembelahan dan differensiasi sel. Sel yang memberikan respons terhadap Growth Factor memiliki reseptor pada permukaan selnya, yang akan memberikan signal ke dalam intra sel. Interaksi antara Growth Factor dengan hormon steroid dapat mengubah keseimbangan antara proliferasi sel dengan kematian sel yang dapat menghasilkan perkembangan BPH (Partin A.W.,dkk,2002). Growth Factor akan mengikat suatu reseptor spesifik, yaitu suatu trans membran protein. Ikatan tersebut akan mengaktifkan salah satu dari enzim yang disebut kinase yaitu suatu protein (phosporilase). Kinase tersebut adalah tyrosine kinase atau serine/threonin kinase, reseptor kinase sendiri dapat mengaktifkan kinase yang lain seperti cAMP, protein kinase A, protein kinase C, dan mitogen activated protein kinase. Growth Factor akan menginduksi aktivasi kinase dan second messenger untuk menghasilkan reaksi cascade (phosporilase). Biasanya reaksi casade tersebut membawa

signal akhir ke nucleus untuk memicu sintesis DNA dan replikasi sel (Partin A.W.,dkk.2002).

Ada beberapa jenis Growth Factor yang mempunyai peranan pada perkembangan prostat normal, hiperplastik, dan kondisi neoplasma prostat. Growth factor tersebut adalah : (Chatelain dkk, 2001; Emberton M.,dkk,1999; Partin A.W.,dkk,2002; Griffiths,dkk.2002)

- Epidermal Growth Factor (EGF)
- Fibroblast Growth Factor (FGF), mempunyai 14 family
- Keratinocyte Growth Factor (KGF, FGF-7)
- Transforming Growth Factor (TGF- β), TGF α memiliki kesamaan dengan EGF.
- Insulin like Growth Factor (IGF) I dan IGF II

EGF, KGF, IGF I, IGF II, FGF I, FGF II dan TGF α memicu terjadinya proliferasi sel, sedangkan TGF β menghambat proliferasi sel epitel prostat. KGF dan FGF7 adalah mitogenik pada kultur dan sel epitel prostat yang normal tapi tidak memicu proliferasi sel stroma, sedang FGF2 (bFGF) dan FGF1 (aFGF) memicu proliferasi sel stroma tetapi tidak mempunyai efek pada pertumbuhan sel epitel. Sel stroma dan sel epitel prostat mensintesis FGF2 sedang KGF diproduksi oleh fibroblast pada kultur produksinya di regulasi oleh androgen dan efek mitogenik KGF pada sel epitel dihambat oleh TGF β .

Dari beberapa variasi Growth Factor tersebut, yang paling penting dalam stimulasi prostat adalah EGF, TGF α dan FGF. Fibroblast Growth Factor (FGF) dan EGF menstimulasi kelenjar prostat sebanyak 80% sedangkan TGF α sebanyak 20 %, sedang TGF β memiliki efek yang kuat untuk menghambat proliferasi pada sel epitel dan stroma prostat, juga memicu apoptosis pada sel epitel prostat. Tetapi pada sel stroma prostat

pada dosis rendah TGF β memicu proliferasi sel stroma sedang pada dosis tinggi akan menghambat proliferasi (Chatelain,2001). Terjadinya pertumbuhan prostat tergantung dari keseimbangan antara rangsangan yang memicu pertumbuhan dan yang menghambat pertumbuhan prostat, atau keseimbangan antara jumlah sel yang mengalami proliferasi dan yang mengalami kematian sel atau apoptosis yang dipicu oleh TGF β -1 (Griffiths Keith,dkk,2002).

2.5.1 Peranan EGF dan FGF pada prostat

Family gen EGF dan FGF masing-masing mengandung faktor yang secara struktural serupa tetapi secara fungsional berbeda yang mengikat dan mengaktifkan permukaan-sel. Kesimpulan tentang peranan fungsional *EGF- dan FGF-like factors* yang diperoleh dari penelitian yang dilakukan pada tahun 1980, yang direvisi sebagai *EGF dan FGF-related molecules*, diidentifikasi dalam prostat dan penelitian-penelitiannya dilakukan untuk menilai peranannya dalam patofisiologi dan penyakit prostat. Peranan fungsional anggota famili EGF dan FGF masih belum diketahui dengan baik, suatu problem yang semakin kompleks karena berbagai jenis *FGF- dan EGF-related factors* dan *FGF- dan EGF-receptor-related receptors* telah ditemukan belakangan ini. Sembilan anggota famili FGF telah ditemukan, tetapi hanya dua dari famili ini — *acidic FGF* (aFGF/FGF-1) dan bFGF/FGF-2— yang diteliti secara luas. aFGF/FGF-1 dan b-FGF/FGF-2 merupakan subklas famili FGF yang berbeda, karena polipeptida-polipeptida ini mempunyai sedikit sinyal sekresi pada terminal aminonya, tidak seperti FGF yang diketahui lainnya. FGF-3—isoform EGF-9 disekresi kedalam ruang ekstraseluler melalui jaras sekresi protein yang spesifik. Namun, aFGF/FGF-1 dan bFGF/FGF-2 berikatan dengan reseptor afinitas tinggi yang terdapat pada permukaan luar sel. Dengan demikian, konteks fisiologis dan regulasi yang memperantarai sekresi dua faktor ini masih belum

jelas. Perlukaan dan kematian sel, yang menyebabkan kerusakan membran sel dapat mengakibatkan pelepasan aFGF/FGF-1 dan bFGF/FGF-2 yang normalnya intraseluler keluar ke ruang ekstraseluler, sehingga menyebabkan faktor-faktor ini tersedia dalam reseptornya (Ku P.T. dkk.1995; Muthukribuan 1.. dkk.1991). Temuan ini memberikan jembatan logis antara penelitian yang dirancang untuk menentukan keadaan-keadaan kematian sel apoptosis terjadi dalam prostat dan mekanisme kerja faktor pertumbuhan dan komunikasi interseluler.

Keratinocyte growth factor (KGF/FGF-7), yaitu salah satu anggota famili FGF, baru-baru ini diidentifikasi sebagai produk sel stroma prostat (Yan G. dkk,1992). Faktor ini mempunyai makna khusus dalam hal mengidentifikasi mekanisme interaksi stroma-epitelial, karena tidak seperti semua anggota famili FGF, permukaan sel untuk *stroma-derived KGF/FGF-7* diekspresikan oleh sel epitelial. Akibatnya, KGF/FGF-7 mungkin terlibat dalam regulasi hormonal epitel prostat yang diperantarai epitel. Faktor soluble seperti ini telah lama diduga ada, atas dasar hasil eksperimen rekombinasi jaringan. *Neutralizing anti-KGF/FGF-7 antibodies* menghambat pertumbuhan vesikula seminalis yang diperantarai androgen dan morfogenesis cabang-cabang duktus dalam kultur organ, dan KGF/FGF-7 dapat menggantikan peran androgen dalam maturasi vesikula seminalis pada sistem ini (Alarid F.T. dkk,1994). Hasil ini memberi bukti langsung terhadap peranan KGF-FGF dari stroma dalam pertumbuhan dan diferensiasi yang diperantarai hormonal dalam suatu organ yang diketahui memerlukan interaksi mesenkim-epitelial untuk perkembangan normalnya. Agar dapat menentukan makna fisiologis KGF/FGF-7 lebih lanjut dalam maturasi epitelial yang bergantung androgen, perlu dipertlihatkan bahwa ekspresi faktor pertumbuhan ini diregulasi oleh androgen dan berkaitan dengan

reseptor ini juga disertai dengan upregulasi gen bFGF/FGF-2, serta gen untuk beberapa reseptor FGF lainnya. (Yan G. dkk,1993) data ini memberi kesan ke arah hilangnya regulasi oleh *stromal-derived KGF/FGF-7*, yang mungkin disertai dengan bertambahnya responsivitas sel terhadap *FGF-like factors* lainnya, mungkin menyertai pertumbuhan tumor prostat yang tidak terkontrol dan tidak bergantung stroma.

Bukti tambahan menunjukkan bahwa *FGF-like factors* terlibat dalam BPH. Bukti paling langsung kemungkinan faktor pertumbuhan menginduksi pertumbuhan hiperplastik dalam prostat adalah pembentukan garis lurus transgenik yang mengekspresikan faktor pertumbuhan int-2/FGF-3 yang ditargetkan ke kelenjar mamma dan kelenjar asesoris laki-laki. Ekspresi onkoprotein ini pada tikus jantan mengakibatkan hiperplasia epitelial atau glanduler yang sensitive-androgen yang secara histologis serupa dengan BPH manusia dan anjing (Tutrone R.F. dkk.1993). Begun dkk.1995 menggunakan pemeriksaan radioimmunoassay pada serial kelenjar prostat normal dan kelenjar dengan BPH. Kelenjar BPH menunjukkan peningkatan faktor pertumbuhan ini dua sampai tiga kali dibanding dengan kelenjar prostat normal. Hasil ini merupakan satu-satunya bukti yang menunjukkan perubahan kadar polipeptida regulator pada BPH dibanding jaringan prostat normal. Bukti baru-baru ini mengarahkan bahwa akumulasi bFGF/FGF-2 dalam jaringan prostat manusia mungkin tidak memberi respons terhadap androgen.(Geller J. dkk.1994) bFGF diberi nama sebagai 'faktor pertumbuhan prostat.' bFGF merupakan stimulator kuat baik untuk pertumbuhan fibrostromal dan angiogenesis. Angiogenesis yang diinduksi oleh bFGF memegang peranan penting dalam penyembuhan luka dan memainkan peranan dalam neoplasma.

Identifikasi faktor pertumbuhan prostat yang berasal dari stroma, seperti KGF/FGF-7, menarik perhatian. Kandidat lain faktor pertumbuhan stroma mencakup isoform *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF), yang merupakan mitogen fibroblast dan sel otot polos yang kuat. PDGF dapat mengendalikan proliferasi sebagian besar sel dalam stroma fibromuskuler prostat (misalnya fibroblast yang non-diferensiasi dan sel otot polos). Sel stroma yang berasal dari jaringan prostat manusia tampaknya mengekspresikan reseptor afinitas tinggi untuk isoform PDGF-BB dan menunjukkan peningkatan respon proliferasi terhadap PDGF-BB eksogen, (Vlahos C. dkk,1993). Sel stroma prostat manusia juga menghasilkan sitokin dan berespon terhadap bFGF/FGF-2 (Cohen P. dkk,1994; Graham C.W. dkk,1992; Story M.T. dkk,1993).

Famili EGF sekarang ini mengandung lima anggota yang diketahui dapat mengaktifkan reseptor EGF canonical (ErbB-1); kelima anggota ini adalah EGF, *Transforming Growth Factor-alpha* (TGF α), amphiregulin, *Heparin-Binding EGF-Like Growth Factor* (HB-EGF) dan betacellulin. *EGF-like factors* lainnya mengikat dan mengaktifkan tiga *EGF-receptor (EGF-R)-related tyrosine kinase* (ErbB-2/Neu, ErbB-3 dan ErbB-3). Ligand reseptor soluble yang tidak mengaktifkan EGF-R dikenal sebagai *Neu Differentiation Factors* (NDFs) atau heregulins. (Tzahar E. dkk,1995). Karena peranan fisiologis EGF-R, dan kemampuan yang baik dari molekul famili ErbB yang terlibat dalam kontrol regulasi pertumbuhan, maka *EGF-like factors* dan reseptornya merupakan kandidat baik untuk mediator interaksi stroma-epitelial dalam jaringan urogenitalis. Beberapa atau semua faktor pertumbuhan diatas terlibat dalam regulasi pertumbuhan dalam prostat. *EGF-like activities* telah didapat dalam prostat yang utuh dan dalam sekresi prostat (Gregory H. dkk,1986; Karunakaran D. dkk,1995). TGF α dideteksi

dalam prostat manusia dengan teknik imunologi dan teknik molekuler (Ching K.Z. dkk,1993; Robertson C.N. dkk,1994; Yang Y. dkk,1993). Amphiregulin, yaitu *EGF-related factor* ketiga dan EGF dengan afinitas heparin, diidentifikasi sebagai produk sel epitel prostat manusia dan ekspresinya dalam kultur diregulasi oleh androgen dalam garis sel prostat LNCaP yang berespons terhadap androgen (Schgal I. Dkk,1994). Protein ErbB-2/Neu juga telah diidentifikasi dalam jaringan prostat hiperplastik jinak dan karsinomatosa manusia. (Giri D.K. dkk,1993; Zhau H.Y.E. dkk,1992)

Heparin-Binding EGF receptor ligand kedua, yaitu HB-EGF, baru-baru ini diidentifikasi sebagai produk sel otot polos prostat *in vivo*. HB-EGF mengikat dan mengaktifkan reseptor EGF dengan kekuatan serupa dengan EGF dan TGF α ; bagaimanapun HB-EGF tampaknya juga merupakan mitogen sel otot polos yang kuat, sekuat dengan mitogen sel otot polos canonical, yaitu PDGF (Higashiyama S. dkk,1993) Stimulasi HB-EGF terhadap pertumbuhan sel otot polos tergantung dengan adanya *cell-surface heparin like molecules*, paling mungkin heparan sulfate proteoglycans. Pengecatan imunohistokimia jaringan BPH dan adenokarsinoma prostat meningkat terhadap domain sitoplasmik dari sel otot polos yang teridentifikasi oleh *membrane-anchored HB-EGF precursor*; fibroblast yang tidak berdiferensiasi, sel epitel normal dan sel adenokarsinoma prostat mengekspresikan kadar HB-EGF yang rendah atau tidak terdeteksi dalam eksperimen ini. Data ini memberi kesan ke arah bahwa HB-EGF, yang disintesis oleh sel otot polos prostat, mungkin memainkan peranan dalam perluasan kompartemen stroma pada BPH.

Bentuk HB-EGF yang terkait dengan sel juga dideteksi dalam sel epitel prostat yang tumbuh dalam kultur (Freeman M.R. dkk,1994). HB-EGF dan amphiregulin adalah

anggota famili EGF yang berbeda, dalam hal HB-EGF dan amphiregulin ini mempunyai afinitas intrinsik untuk *heparin-like molecules*, tidak seperti EGF atau TGF α . Afinitas pengikatan heparin ini kemungkinan merupakan prasyarat umum untuk aktivasi reseptor EGF oleh amphiregulin dan HB-EGF (Higashiyama S. dkk,1993; Johnson G.R. dkk,1994). Identifikasi prekursor transmembran HB-EGF sebagai produk utama sel prostat memberi kesan ke arah kemungkinan bahwa pengikatan HB-EGF terhadap reseptor permukaan-sel, dan molekul penopang seperti heparin sulfate proteoglycans, mungkin terjadi pada membran sel sebagai bagian yang dikenal sebagai mekanisme regulasi 'juxtacrine.' Faktor pertumbuhan yang tersedia dalam *Membrane-Anchored Form*, termasuk HB-EGF, amphiregulin, TGF α , *Colony Stimulating Factor-1* (CSF-1) dan *Tumour Necrosis Factor-alpha* (TNF- α), dapat mengikat dan mengaktifkan reseptor permukaan sel pada sel di dekatnya tanpa persyaratan untuk proses proteolitik permukaan sel. Kemampuan juxtacrine ini dijumpai pada beberapa faktor di atas dalam model eksperimental (Higashiyama S. dkk,1995; Stein J. dkk,199; Wong S.T. dkk,1989). Kemungkinan bahwa pemberian sinyal sel juxtacrine memerantarai aspek komunikasi interseluler dalam prostat masih belum diketahui.

Komponen penting stroma prostat yang belum diteliti luas disajikan oleh infiltrat sel inflamasi, termasuk limfosit dan *monocyte derived macrophage*. Infiltrasi yang luas sel T dalam jaringan prostat dilaporkan sering terjadi (Blotnik S. dkk,1994). Tidak adanya granulosit dalam infiltrat memberi kesan ke arah bahwa akumulasi sel mononukleus dalam prostat tidak mungkin diakibatkan oleh infeksi (reaksi terhadap antigen asing). Sel T darah perifer tampaknya dapat menghasilkan dan mensekresi *heparin-binding growth factor*; faktor pertumbuhan ini adalah HB-EGF dan bFGF/EGF-

2, (Alaric E.T. dkk,1994) serta *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), yaitu faktor angiogenik dan mitogen sel endotelial yang kuat.(Freeman M.R. dkk.1994) (bFGF/FGF-2 juga merupakan mitogen sel endotelial dan factor angiogenik yang kuat). Sintesis VEGF juga diidentifikasi sebagai produk sel T yang mengfiltrasi kanker prostat dan buli manusia. (Freeman M.R. dkk,1994). *Tumour-derived lymphocytes* manusia tampaknya dapat menghasilkan HB-EGF dan bFGF/FGF-2 bioaktif yang dapat menstimulasi pertumbuhan sel tumor payudara dan ovarium, serta sel otot polos dan fibroblast (Peoples G.E. dkk,1995). Hasil ini memberi kesan ke arah bahwa sel T mempunyai kemampuan mensekresi mitogen epitel, vaskuler dan stroma ke dalam jaringan interstisial dalam bentuk yang tidak bergantung pada sinyal munoregulator (*T-cell-receptor-dependent*). Dalam konteks BPH, hal ini dapat berarti bahwa infiltrat sel T dapat memberi andil secara langsung terhadap hiperplasia stroma serta glanduler.

Growth factor pertama yang diisolasi dari prostat adalah basic fibroblast growth factor (bFGF/FGF 2). FGF mempunyai 14 family, FGF 1, FGF 2, FGF 3, FGF 7(KGF) dan FGF 8 mempunyai peran pada pertumbuhan prostat jinak dan ganas. Growth factor ini mempunyai peran mitogenik pada sel epitel prostat dan sel stroma prostate; kecuali KGF (FGF7) yang diproduksi oleh sel stroma prostat tapi hanya memicu pertumbuhan sel epitel prostat, mempunyai 4 reseptor yaitu FGFR 1, FGFR 2, FGFR 3, FGFR 4. Pada kultur sel stroma prostat menghasilkan bFGF, KGF, FGFR 1, FGFR2 tapi bukan FGFR2-3b sebaliknya pada kultur sel epitel prostat memproduksi FGFR2 IIIb tapi bukan FGFR1. FGFR3 dan FGFR4 tidak diproduksi oleh prostat (Lee C.Cockett A.Cussenot O.Griffiths K.Isaacs W.Schalken J, 2001).

Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF, yang juga dikenal sebagai FGF-2) adalah suatu polipeptida pleiotropik yang dapat memicu proliferasi berbagai jenis sel yang dikultur, termasuk fibroblas prostat manusia. bFGF/FGF-2 juga menginduksi pertumbuhan sel endotelial *in vitro*, memicu neovaskularisasi *in vivo*, dan merupakan faktor angiogenesis tumor yang penting. (Fallon J.F. et al,1994; Steiner M.S.,1992)

Meskipun volume prostat membesar pada BPH pada manusia, perubahan-perubahan fisiologis seperti remodeling mikrovaskuler (Deering R.L. et al,1995) dan peningkatan relatif kompartemen non-muskuler (fibroblastik) dari stroma prostat juga dilaporkan. Temuan ini menunjukkan bahwa BPH merupakan proses fisiologis kompleks yang melibatkan pertumbuhan serta remodeling arsitektur jaringan (Coffey D.S,1990). Masing-masing faktor pertumbuhan mungkin mempunyai beberapa jenis peran, sedangkan faktor pertumbuhan lainnya mungkin tidak mempunyai peranan fungsional pada BPH (Bonet P. et al,1983; Glynn Jones et al,1994).

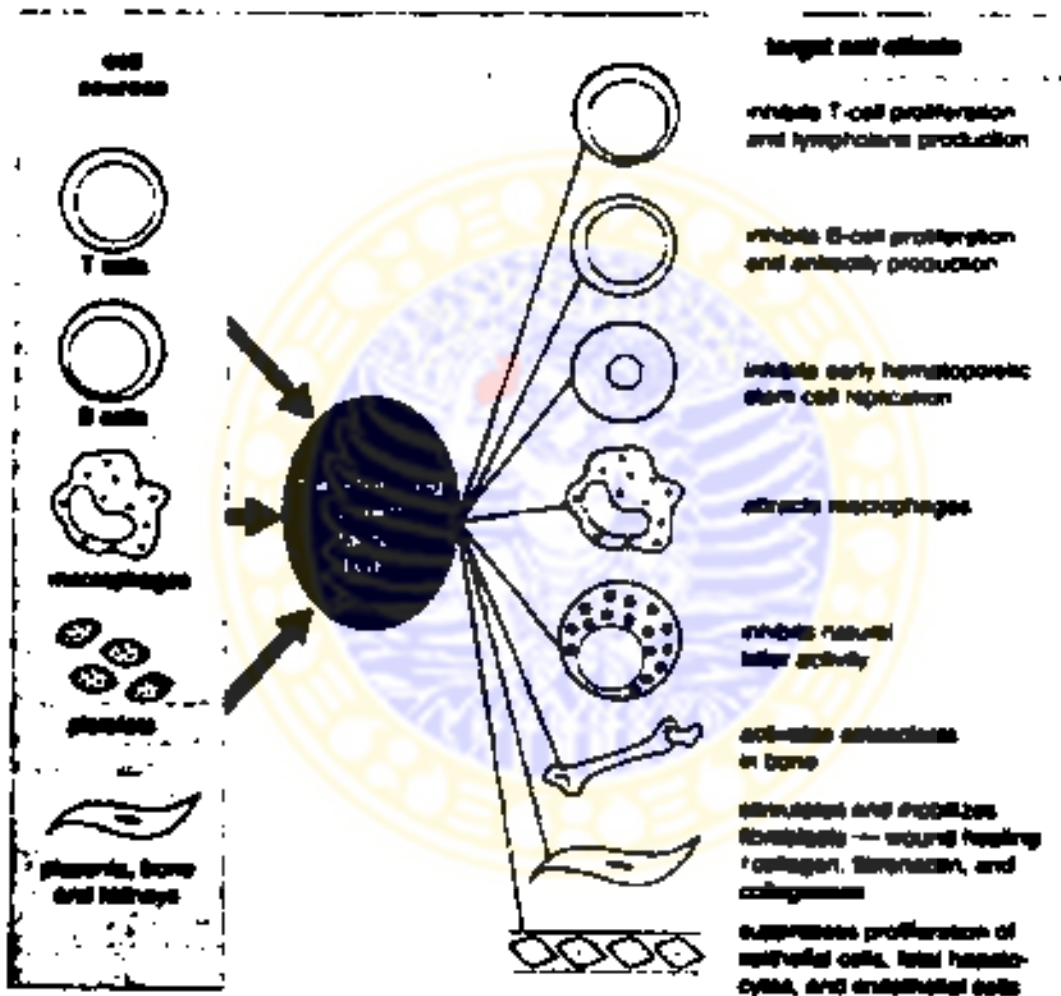
Faktor pertumbuhan yang dapat memperlantari berbagai jenis aktivitas berbeda *in vitro* dan *in vivo* adalah *Transforming Growth Factor beta-1* (TGF β 1). TGF β 1 adalah salah satu anggota faktor pertumbuhan dan diferensiasi yang mencakup isoform yang berkaitan tetap secara genetik berbeda TGF β 2 dan TGF β 3 pada mamalia, dan berbagai molekul lainnya seperti *mullerian-inhibiting substance* (terlibat dalam maskulinisasi selama perkembangan janin), aktivin, inhibin dan *bone morphogenic proteins*. Sel karsinoma, termasuk sel tumor prostat sering kali menunjukkan kehilangan pola normal inhibisi pertumbuhan sebagai respons terhadap TGF β -1 (McKeehan W.L. dkk,1988; Wright J.A. dkk,1993). TGF β -1 juga meningkatkan kemampuan invasi sel tumor (Mooradian D.L. dkk,1992).

Perubahan status TGF β -1 dalam jaringan prostat diduga memainkan peran dalam BPH. Meskipun TGF β -1 memberikan down-regulasi pertumbuhan sel stroma prostat, namun TGF β -1 juga menimbulkan up-regulasi produksi bFGF/FGF-2, yaitu suatu faktor pertumbuhan autokrin untuk sel stroma prostat (Lokeshwar B.L,1992; Story M.T. dkk,1993) Peningkatan akumulasi isoform TGF β ditemukan pada kanker prostat manusia dan tumor prostat tikus dalam beberapa sistem model.(Mersz V.W dkk,1992; Steiner M.S,1995; Thompson T.C. dkk,1993). Peranan tidak langsung TGF β dalam pertumbuhan jaringan juga didapatkan dari penelitian TGF β menyebabkan upregulasi produksi faktor angiogenik oleh sel otot polos vaskuler (Brogli E. dkk,1994; Haris S.I. dkk,1994; Milan F.A. dkk,1991; Orlandi a. dkk,1994; Timme T.L. dkk,1994).

Faktor pertumbuhan yang diidentifikasi termasuk *Epidermal Growth Factor* (EGF), FGF atau *Insulin-like Growth Factor* (IGF) juga telah diidentifikasi dalam prostat hewan pengerat atau manusia. Sebagian besar data yang telah diterbitkan berisi tentang *FGF* atau *EGF-like factors*. Dua aktivitas faktor pertumbuhan prostat yang utama yang diidentifikasi dalam pemeriksaan fungsional telah diidentifikasi sebagai *FGF-like* dan *EGF-like*. (Jacob S.C. dkk,1988;Wong S.T. dkk,1989) bFGF/FGF-2 dapat dideteksi dalam konsentrasi yang bermakna dalam prostat dan cairan prostat tikus dan manusia.(Begun F. dkk,1995; Smith E.P. dkk,1989).

2.5.2 Transforming Growth Factor- β (TGF- β)

a. *Sebagai sitokin dalam anti-Inflamasi* TGF- β adalah famili peptida yang meregulasi pertumbuhan sel, baik dengan efek stimulator maupun inhibitor pada berbagai jenis sel. TGF- β dihasilkan terutama oleh kondrosit, osteosit, fibroblas, trombosit, monosit dan sel-T (seperti pada gambar 2.8) (Parslow,dkk,2001)



Gambar 2.8 Sumber sel dan efek TGF β
Dikutip dari (Parslow,dkk,2001)

Limfosit T helper yang menghasilkan TGF- β diperkirakan mempunyai fenotipe yang dikenal sebagai T repressor (Tr-1) atau T-helper tipe 3 (T_H3). TGF- β disintesis sebagai prekursor inaktif yang memerlukan penguraian proteolitik untuk menjadi aktif. TGF- β merupakan stimulator penting fibrosis, induksi terbentuknya matriks intraseluler, dan mempercepat penyembuhan luka dan pembentukan jaringan parut. Dalam imunitas, TGF- β berperan sebagai inhibitor limfosit B serta limfosit T helper dan limfosit sitotoksik. TGF- β menghambat sekresi imunoglobulin oleh limfosit B dan sitotoksitas fagosit mononukleus dan sel NK. Umumnya TGF- β menghambat proliferasi berbagai jenis sel. Produksi TGF- β oleh sel T yang mengalami apoptosis membentuk milieu immunosupresif dan merupakan salah satu penjelasan tanpa inflamasi dan autoimunitas sebagai akibat kematian sel apoptosis. Berbeda dengan efek anti-inflamasi ini, TGF- β adalah suatu *chemoattractant* untuk makrofag dan mendukung pengalihan isotype α menjadi IgA oleh sel B. Pada inflamasi alergi, ekspresi TGF- β berkaitan dengan fibrosis yang ditemukan pada asma (Boris LK.C., 2003)

b. Peranan TGF- β sebagai faktor pertumbuhan

Faktor pertumbuhan diperkirakan memperantarai interaksi stroma epitel dalam prostat untuk mempertahankan fisiologi jaringan yang normal (Itoh N., 1989; Robson C.M.,1999). Transforming growth factor- β (TGF- β) tampaknya memengaruhi prostat dan mungkin memperantarai interaksi stroma-epitel. TGF- β diproduksi oleh prostat, menghambat pertumbuhan sel (Robson C.M., 1999). Hal ini mengarahkan pertumbuhan prostat dikontrol melalui mekanisme autokrin dan parakrin (Cardillo M.R., 2000; Lee C., 1999; Salm S.N., 2000; Story M.T., 1996). Keseimbangan yang kompleks antara kematian sel yang terprogram dan proliferasi sel mengatur pertumbuhan sel dari prostat

yang normal. Perubahan mekanisme molekuler yang meregulasi kedua proses ini melandasi terjadinya pertumbuhan abnormal kelenjar prostat, menimbulkan *Benign Prostat Hyperplasia* (BPH) atau bahkan kanker prostat (Crescioli *et al.*, 2000). Androgen memegang peranan penting dalam pertumbuhan, perkembangan, dan fungsi prostat. Kerja androgen pada prostat tampaknya diperantarai melalui interaksi stroma-epitel (Sakko A.J., 2000, Wu S.F., 2001). Beberapa faktor pertumbuhan yang diproduksi oleh sel stroma prostat sebagai respons terhadap androgen dapat mempengaruhi sel epitel prostat (Itoh N., 1989; Wu S.F., 2001). *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF), *Keratinocyte Growth Factor* (KGF), serta *insulin-like growth factor I* dan II dan *platelet derived growth factor* (PDGF) semuanya dapat menstimulasi pertumbuhan sel epitel prostat (Desgrandchamps F., 1992; Geginat J., 1991; Itoh N., 1989; Wu S.F., 2001). Pada prostat TGF- β merupakan faktor pertumbuhan yang bersifat inhibisi untuk sel epitel dan sel stroma (Itoh N., 1989). Pada beberapa literatur, dikatakan lebih tepat bahwa TGF- β dapat berperan sebagai inhibitor atau stimulator tergantung pada jenis sel, status diferensiasi dan kondisi sel, tetapi pada umumnya bersifat inhibitor (Emberton M., 1999; Itoh N., 1989). Sebaliknya, sel kanker menunjukkan overekspresi TGF- β dan menjadi resisten terhadap efek inhibisi TGF- β 1 (Wolff J.M., 1998). Androgen tampaknya meregulasi ekspresi gen faktor pertumbuhan dalam prostat (Itoh N., 1989). Diperkirakan bahwa peningkatan konsentrasi androgen dalam prostat, atau peningkatan respon androgen dapat menyebabkan BPH (Crescioli C., 2000; Itoh N., 1989). Beberapa jenis strategi ablasi androgen menghasilkan sedikit penurunan volume prostat yang hiperplastik dan efektivitasnya terbatas dalam mengurangi gejala klinis (Crescioli C., 2000). Meskipun blokade aktivitas 5 α -reduktase

tipic 2 dengan finasteride menginduksi penurunan konsentrasi dihidrotestosteron dalam prostat, tetapi terapi ini menurunkan volume prostat hanya 27% setelah 3 tahun terapi (Crescioli C., 2000). Finasteride dapat memodulasi sistem sinyal TGF- β untuk memperbesar perubahan yang menimbulkan apoptosis sel epitel dan atrofi kelenjar prostat (Sacz C., 1998). Induksi apoptosis dapat diperoleh dengan terapi doxazosin (Yang G., 1997). Faktor pertumbuhan dapat memengaruhi ekspresi faktor pertumbuhan lainnya. Misalnya TGF- β 1 meningkatkan ekspresi bFGF dalam kultur sel stroma prostat manusia (Itoh N., 1989). Dikembangkan hipotesis bahwa faktor pertumbuhan yang dihasilkan lokal diperlukan untuk pertumbuhan dan diferensiasi prostat (Dahiya R., 1996; Itoh N., 1989).

Tiga isoform TGF- β (TGF- β 1, -2, dan -3) telah diidentifikasi (Cardillo M.R., 2000; Itoh N., 1989; Merz V.W., 1994; Story M.T., 1996; Timme T.L., 1996), dan kerjanya pada sel yang dikultur mempunyai aktivitas dan kekuatan serupa. Kerja biologis TGF- β beraneka ragam dan mencakup kontrol proliferasi, adesi dan diferensiasi sel. TGF- β umumnya mempunyai efek inhibisi pada sel epitel, saraf, dan limfoid. TGF- β mengaktifkan sintesis matriks ekstraseluler, dan meningkatkan angiogenesis (Itoh N., 1989; Lee C., 1999; Wolf J.M., 1998). Diketahui bahwa inhibisi *cyclin-dependent kinase* oleh TGF- β menghasilkan henti pertumbuhan sel pada fase G₁ dari siklus sel. TGF- β mempunyai efek dramatis pada prostat melalui inhibisi pertumbuhan baik pada sel epitel maupun sel stroma. Observasi ini memberi kesan ke arah bahwa perubahan ekspresi TGF- β dapat menyebabkan ketidak-seimbangan regulasi pertumbuhan sel epitel dan stroma dalam prostat. Misalnya TGF- β dapat mempunyai peranan pada kanker prostat. Sel karsinoma termasuk sel tumor prostat, sering kali kehilangan pola inhibisi

pertumbuhan normal terhadap TGF- β 1. Seraya sel epitel prostat mengalami transformasi maligna, terjadi dua proses aksi TGF- β , yaitu : hilangnya ekspresi reseptor TGF- β fungsional dan over produksi TGF- β dalam sel maligna. Hasil penelitian Merz dkk menunjukkan bahwa ekspresi TGF- β 1 meningkat, sedangkan TGF- β 3 menurun sampai level tidak terdeteksi pada karsinoma; ekspresi c-fos mengikuti pola TGF- β 1, sedangkan ekspresi c-jun pada kanker tidak berbeda dengan BPH dan prostat normal (Merz V.W., 1994). TGF- β juga dapat meningkatkan potensi invasif sel tumor, dengan demikian mempermudah progresi maligna dengan mekanisme tidak langsung yang berkaitan dengan tidak adanya fungsi inhibisi pertumbuhan normalnya (Ivanovic V., 1995; Story m.T., 1996).

Peranan TGF- β dimediasi melalui 2 sinyal receptor yaitu tipe 1 dan tipe 2 receptor (T β RI dan T β RII), dimana kedua T β RI dan T β RII diperlukan dalam aktifitas TGF- β . TGF- β menghambat growth factor didalam sel epitel prostat, yaitu menghambat proliferasi dan memicu apoptosis pada sel epitel prostat. Pada prostat yang normal TGF- β 1 diekspresikan pada sel otot polos yang terletak berdekatan dengan sel epitel prostat. TGF- β reseptor diekspresikan terbanyak pada sel epitel, penonema ini menunjukkan aktifitas TGF- β . TGF- β juga memfasilitasi diferensiasi dari sel-sel basal ke sel luminal yang memegang peranan penting dalam homeostasis epitel. Aktifitas TGF- β dalam sel stroma prostat sangat berbeda dengan sel epitel prostat. Sel stroma prostat peka terhadap TGF- β tetapi kurang peka dibandingkan sel epitel prostat. Pada sel stroma prostat TGF- β mempunyai dua fungsi tergantung pada dosisnya, pada dosis rendah TGF- β mempunyai efek stimulasi pada sel stroma prostat sedangkan pada dosis tinggi mempunyai efek menghambat pertumbuhan sel stroma prostat. (Chatelain C. 2001).

Meskipun TGF- β bekerja sebagai inhibitor pertumbuhan sel epitel, namun TGF- β bekerja sebagai stimulator pertumbuhan sel mesenkim. Pada sebagian besar sel kanker prostat, TGF- β diketahui menghambat proliferasi sel. Namun, hasil penelitian dewasa ini menunjukkan efek proliferasi TGF- β 1 pada garis sel kanker prostat, yaitu TSU-Pr1. Sel ini tidak bergantung pada androgen. TGF- β dapat menstimulasi proliferasi sel secara tidak langsung melalui upregulasi ekspresi faktor mitogen. *Platelet-derived growth factor* (PDGF) adalah faktor pertumbuhan homo-heterodimerik yang tersusun dari rantai A dan/atau B. Terdapat 3 bentuk aktif, yaitu: PDGF-AA, -BB, dan -AB. Faktor pertumbuhan ini dapat menstimulasi proliferasi sel, diferensiasi sel, migrasi, dan angiogenesis. TGF- β tampaknya memodulasi ekspresi PDGF-A atau -B pada beberapa tipe sel.

Disamping TGF- β 1, hyaluronidase dikatakan memainkan peranan dalam timbulnya kanker prostat. Ekspresi hyaluronidase oleh sel tumor menginduksi angiogenesis *in vivo*. Pertumbuhan karsinoma dan melanoma dipengaruhi oleh hyal-1, yaitu suatu lokus yang menentukan kadar hyaluronidase dan polimorfisme.

Berbeda dengan fungsi hyaluronidase, TGF- β adalah stimulator sintesis protein matriks ekstraseluler yang kuat (Chang N.S., 1997; Itoh N., 1989; Lee C., 1999; Wolff J.M., 1998). Over ekspresi TGF- β sering kali berkaitan dengan timbulnya BPH sampai kanker prostat (Chang N.S., 1997; Sakko A.J., 2000), dan progresi kanker payudara. Sebagai enzim degradasi matriks ekstraseluler, hyaluronidase meningkatkan pemusnahan fibroblast L929 yang diperantarai oleh TNF, sel LNCaP prostat, dan sel epitel Mv1Lu. Sebaliknya, sebagai stimulator kuat sintesis matriks ekstraseluler, TGF- β 1 memblok peningkatan daya bunuh TNF yang diperantarai hyaluronidase pada sel-sel ini. Salah satu

mekanisme dimana TGF- β 1 memblok efek hyaluronidase adalah pemulihan matriks ekstraseluler yang dirusak hyaluronidase (Chang N.S., 1997).

Integritas fisik matriks ekstraseluler memegang peranan penting dalam melindungi sel kanker dari serangan obat anti-kanker dan sistem imun. Dengan demikian, terapi sel kanker dengan hyaluronidase baik *in vivo* ataupun *in vitro* meningkatkan kerentanan sel kanker terhadap obat anti-kanker. Bagaimanapun, temuan ini berbeda dengan laporan Chang sebelumnya bahwa, bilamana sel L929 dipre-terapi dengan hyaluronidase selama 12-24 jam, sel akan tahan terhadap pemusnahan oleh TNF dan antibodi anti-Fas dengan adanya obat anti-kanker seperti aktinomisin D, doxorubicin, daunorubisin, dan cycloheximide. Hal ini menunjukkan bahwa sintesis protein yang diperantarai hyaluronidase memegang peranan penting dalam kerentanan TNF pada sel ini. Disamping itu, peningkatan sensitivitas TNF pada sel L929 dan LNCaP disebabkan oleh pelepasan faktor pertumbuhan dari matriks ekstraseluler terhadap digesti hyaluronidase. Matriks ekstraseluler adalah reservoir penting faktor pertumbuhan seperti *fibroblast growth factor*. Sebagai stabilizer matriks ekstraseluler, hyaluronidase acid binding protein inter- α inhibitor memblok induksi hyaluronidase dari sensitivitas TNF pada sel L929. Sel L929 yang dipre-terapi dengan hyaluronidase, dengan paparan TNF dan/atau aktinomisin D, tidak menunjukkan ekspresi protein regulasi apoptosis, seperti Bcl-2, Bcl-x, Ich-1 dan TIAR. Pemulihan matriks ekstraseluler yang rusak karena hyaluronidase oleh TGF- β memberi andil dalam inhibisi efek hyaluronidase. Produksi yang seimbang dari hyaluronidase dan TGF- β 1 oleh kanker prostat memegang peranan dalam perkembangan kanker (Chang N.S., 1997).

Setelah ablasi androgen dengan kastrasi, ekspresi TGF- β 1 dalam prostat meningkat, dan dapat ditekan dengan terapi *in vivo* androgen. Hal ini memberi kesan bahwa ekspresi TGF- β dapat diregulasi dengan androgen pada prostat yang normal (Itoh N., 1989).

Terapi β -sitosterol banyak digunakan pada BPH. Namun, bentuk kerja substansi aktif β -sitosterol masih diteliti. Dalam penelitian didapatkan β -sitosterol dapat menginduksi ekspresi dan sekresi TGF- β 1 secara bermakna. Bagaimanapun, tidak terdapat bukti yang menandakan adanya induksi apoptosis pada prostat dengan β -sitosterol, karena ukuran kelenjar masih tetap. β -sitosterol dapat menginaktivkan PKC- α (*Protein Kinase C- α*) pada sel stroma manusia. Diperkirakan PKC- α dapat memengaruhi kontraksi sel seperti sel otot polos. Dengan demikian, efek yang menguntungkan β -sitosterol pada BPH simptomatik mungkin adalah relaksasi sel otot polos prostat (Kassen A., 2000).

Estrogen diasumsikan terlibat dalam patogenesis BPH, karena reseptor estrogen terletak dominan dalam struktur stroma prostat. Pada penelitian pada prostat anjing dan tikus, terapi kombinasi estrogen dan androgen mempunyai efek sinergis pada pertumbuhan prostat jika dibandingkan dengan terapi androgen saja.

TGF-beta memainkan peranan utama dalam perkembangan embrional, angiogenesis, dan *remodelling* fisiologis jaringan ikat selama penyembuhan luka dan repair jaringan serta karsinogenesis. Estrogen memainkan peranan penting dalam berbagai jenis proses biologis, seperti perkembangan dan pemeliharaan organ reproduksi wanita serta metabolisme tulang dan lemak. Penelitian sebelumnya menunjukkan estrogen menekan ekspresi gen yang diinduksi TGF- β , seperti kolagen tipe IV dalam sel

mesangial ginjal. Aktivitas *smad and MAD-related protein-3* (smad-3); yaitu salah satu penginduksi sinyal TGF- β intraseluler utama, ditekan oleh ER, sedangkan aktivasi transkripsi yang diperantarai ER diperkuat oleh sinyal TGF- β . Timbulnya atau berlanjutnya aterosklerosis menurun bermakna pada wanita, mungkin akibat penurunan akumulasi matriks ekstraseluler dinding vaskuler sebagai respon kerja estrogen. Pemberian estrogen menurunkan deposisi kolagen tipe IV pada aorta mamalia yang menderita hipertensi dan hiperkolesterolemia serta menurunkan sintesis kolagen oleh sel otot polos vaskuler *in vitro*. Hal ini juga berkaitan dengan angka progresi penyakit ginjal yang lebih rendah pada wanita. Dalam konteks ini, kemampuan estradiol untuk menekan sintesis kolagen mesangial dapat mengakibatkan penurunan akumulasi kolagen setelah trauma glomerulus sehingga menghambat perkembangan glomerulosklerosis. Sebaliknya, TGF- β memainkan peranan penting dalam memperantarai jejas ginjal yang progresif. Inhibisi aktivasi Smad oleh ER memberikan mekanisme molekuler efek yang bertentangan dari estrogen dan sinyal TGF- β pada beberapa penyakit. Pengembalian supresi aktivasi Smad 3 oleh Era/ER2 dengan anti-estrogen tamoxifen menunjukkan bahwa efek ini diperantarai langsung oleh ER.

Defisiensi estrogen berkaitan dengan peningkatan kecepatan resorpsi tulang dan kehilangan trabekula tulang. Meskipun kehilangan tulang pos-menopause tampaknya diakibatkan oleh ketidakseimbangan antara resorpsi dengan pembentukan tulang, namun mekanisme seluler yang memerantarai perubahan remodelling tulang yang diinduksi oleh defisiensi estrogen belum terungkap sepenuhnya. Aktivitas resorpsi dan pembentukan tulang diregulasi lokal oleh sejumlah sitokin, dan beberapa faktor ini terlibat dalam patofisiologi osteopenia yang disebabkan oleh defisiensi estrogen. Perubahan produksi

IL-1 dan TNF- α oleh mononukleus sirkulasi diperkirakan memainkan peranan dalam peningkatan *turn-over* tulang dan kehilangan massa tulang pada osteoporosis. IL-6 memerantarai stimulasi osteoklastogenesis yang diinduksi oleh kehilangan estrogen (Marie P.J., 1993).

Interaksi antara faktor pertumbuhan dengan jalur sinyal estrogen pada level ekspresi gen memainkan peranan dalam memelihara homeostasis reproduksi. TGF- β adalah anggota superfamili TGF- β . Disamping TGF- β , superfamili ini mencakup inhibin/aktivin, protein morfogenik tulang, dan anggota lainnya, seperti *Mullerian inhibiting substances* dan *Lefty*. Faktor-faktor ini meregulasi pertumbuhan, diferensiasi, apoptosis, migrasi dan sekresi molekul penting, termasuk komponen matriks ekstraseluler, molekul adesi, hormon, dan sitokin pada berbagai jenis sel, yang memengaruhi morfogenesis, repair jaringan, supresi tumor dan imunoregulasi. Sinyal TGF- β diperantarai oleh reseptor trans-membran yang terletak pada permukaan sel meningkat (Hamblin A.S., 1993; Thomas T.Z. 1998), dan dapat ditekan dengan pengobatan androgen *in vivo*. Hal ini menunjukkan bahwa ekspresi TGF- β mungkin juga diregulasi oleh androgen pada prostat yang normal (Cardillo M.R., 2000; Itoh N., 1989; Yang G., 1997), up-regulasi TGF- β menunjukkan peranan untuk ligand ini sebagai efektor induksi apoptosis sebagai respon α 1-blockade atau terapi finasteride pada penderita BPH (Bretland A.J., 2001; Fukabori Y., 1997). Meskipun TGF- β merupakan inhibitor sebagian besar epitel, namun peranan dalam kontrol proliferasi epitel prostat masih belum jelas. Pada beberapa sel, inhibisi TGF- β didapatkan dengan cara upregulasi *cyclin-dependent kinase (cdk) inhibitors*, termasuk p15, p21 dan p27, hipofosforilasi- α b dan penundaan siklus sel pada fase G1.

Pada proses ketuaan estrogen menekan ekspresi TGF- β pada prostat sedangkan TGF- β menghambat growth factor (bFGF dan FGF) dalam proliferasi sel epitel juga menginduksi terjadinya kematian sel/apoptosis pada sel prostat. Karena TGF- β menurun sehingga sel epitel yang mengalami proliferasi jumlahnya banyak dan yang mengalami kematian sel jumlahnya sedikit sehingga terjadi pembesaran prostat (BPH) (Kirby,1997) (Gambar 2.12).

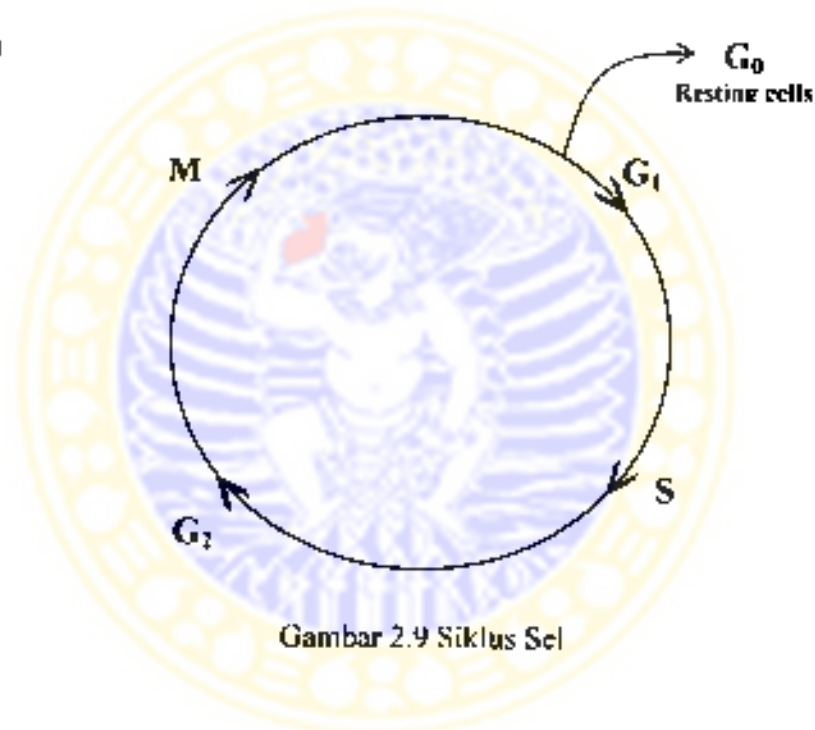
2.6 Proliferasi Sel

Sel bertambah besar membelah diri dan bertambah jumlahnya, ini disebut proliferasi (Cotran,dkk,1999). Proliferasi sel mengikuti replikasi DNA, dan pembelahan sel mengikuti siklus sel secara beraturan dan berurutan. Pembelahan sel atau mitosis, sel induk membelah dan masing-masing sel anak menerima kariotip kromosom yang identik dengan sel induk. Mitosis atau pembelahan sel merupakan bagian dari proses proliferasi. Pembelahan sel pada manusia dewasa bertujuan untuk menggantikan sel yang mati akibat apoptosis atau nekrosis. Bila sel yang mati lebih banyak akan terjadi pengecilan jaringan atau organ. Proses ini terjadi secara fisiologis pada manusia, dan apabila diproduksi terlalu banyak maka akan terjadi pertumbuhan jaringan yang terlalu berlebihan. Fase-fase dalam mitosis adalah profase, metafase, anafase, dan telofase (Ganong WF.,2003).

- a. Profase : Pada fase ini terjadi individualisasi kromosom, inisiasi gelendong mitosis, dan robeknya selaput inti.
- b. Metafase: Pada fase ini kromosom tersusun di bidang ekuator gelendong lengkap dan terjadi hilangnya selaput inti dan nucleolus.

- c. Anafase : Kromosom membelah memanjang dan pindah ke kutubnya, alur pembelahan dirintis.
- d. Telofase : Restitusi inti, pembentukan selaput inti dan nukleolar ini akhir dari pembelahan sel.

Masa antara mitosis dan interfase pada semua jaringan yang mengalami pergantian sel dikenal sebagai siklus sel. Selanjutnya siklus sel dibagi menjadi 2 tahap yaitu mitosis dan interfase. Sedangkan interfase dibagi dalam Fase G_1 (pra sintesis), S (sintesis), G_2 (pasca duplikasi DNA) dan M (mitosis). (Ganong F, 2003; Mundi dkk, 1990) seperti pada gambar 2.9



Gambar 2.9 Siklus Sel

Pada Fase S (sintesis) terjadi replikasi DNA, sedang pada Fase separasi kromosom (karyokinesis) dan pembelahan sel (sitokinesis) terjadi pemecahan DNA yang telah berduplikasi secara komplit menghasilkan 2 anak sel dengan kromosom yang diploid. Sedang pada Fase G_1 terjadi persiapan untuk sintesis DNA, terjadi pembentukan RNA dan protein yang berperan dalam proses replikasi. Pada Fase G_2 terjadi persiapan untuk

segregasi kromosom dan pembelahan sel. Fase terakhir dari proses proliferasi adalah fase M (Mitosis), ini merupakan fase yang paling cepat. Pada fase ini terjadi pemecahan DNA yang telah berduplikasi secara komplit. Proses ini akan menghasilkan 2 anak sel dengan kromosom diploid ($2n$). Pada Fase G ini penting sebagai regulasi, sedang sel yang tidak aktif membelah diri masuk kedalam Fase G_0 . di sini sel dalam keadaan istirahat tidak melakukan proliferasi (Mundi,dkk,1999; Hanahan G,dkk,2000). Proliferasi sel meliputi replikasi DNA dan pembelahan sel yang mengikuti siklus sel tersebut secara beraturan. Supaya siklus sel berjalan dengan baik harus ada suatu kontrol yang mengatur informasi genetik yang diterima yang disebut Check Point Kontrol Mekanisme. Pada siklus sel kontrol ini terdapat pada saat terjadinya pemantauan ketepatan duplikasi DNA dan segregasi kromosom. Dua Check Point utama terdapat pada perbatasan G_2 -M dan G_1 -S. Check Point ini memungkinkan memperbaiki informasi genetik bila terjadi kesalahan atau kerusakan DNA, sehingga tiap sel anak menerima informasi genetik yang tepat dan identik dengan sel induk. Apabila terjadi kerusakan DNA oleh zat-zat mutagenik atau karsinogenik, siklus sel akan berhenti untuk memberi kesempatan terjadinya proses perbaikan DNA. Kegagalan memperbaiki DNA yang rusak dapat menimbulkan kanker, siklus sel diatur oleh protein yang disebut siklin anti kinase protein yang bergantung pada siklin (Cyclin dependent protein kinase) yang memfosforisasi protein lain. Mekanisme pembelahan terjadi bila adanya ensim ini. Sel secara terus menerus harus berintegrasi dengan sinyal baik intra seluler maupun ekstra seluler untuk melanjutkan mekanisme kontrol terhadap replikasi dan pembelahan sel. (Hanahan G. dkk, 2000). Ada beberapa factor ekstraseluler yang mempengaruhi intraseluler selanjutnya mempengaruhi siklus sel, Growth Factor seperti PDGF (*Platelet Derived Growth Factor*), EGF (*Epidermoid*

Growth Factor), IGF (*Insulin like Growth Factor*) dan aFGF / bFGF (*a/b Fibroblast Growth Factor*) dan TGF α memicu pembelahan sel sedang TGF β menghambat pembelahan sel. Beberapa growth factor ini disebut protoonkogen, yaitu gen pengontrol sel yang terdapat pada genom manusia. Beberapa jenis produk protoonkogen merupakan bagian dari signal transduktion pathway (Hanahan & dkk, 2000). Jalur ini merupakan sarana komunikasi intra seluler, yang meneruskan signal eksternal ke dalam nucleus. Pada keadaan normal signal proliferasi sel sebagian besar diawali oleh rangsangan factor pertumbuhan (*Growth Factor*).

Growth Factor atau faktor pertumbuhan dapat mendorong sel dari fase G_0 untuk memasuki fase G_1 yang aktif. Proliferasi pada prostat terjadi oleh karena pengaruh hormon estrogen dan androgen yang bekerja secara sinergis atau sendiri-sendiri langsung pada sel-sel prostat atau melalui *Growth Factor* yaitu TGF α , TGF β -1, EGF, FGF dan KGF. TGF β -1 menghambat proliferasi sel prostat. (Mundi dkk, 1999).

2.7. Apoptosis

Apoptosis adalah kematian sel yang terjadi mekanisme melalui genetik yang terprogram. Terdapat dua jalur sinyal utama yang menginduksi apoptosis. Salah satu jalur dimulai dengan reseptor kematian seperti Fas (CD 95 atau Apo-1) dan TNFR-1 (p55 atau CD 120a), dan jalur lainnya diaktifkan oleh molekul yang dilepaskan dari mitokondria, yaitu generator energi dari sel. Kedua jalur tersebut akhirnya bertemu menimbulkan aktivasi efektor utama apoptosis, yaitu sekelompok protease cysteine, yang dikenal dengan caspase, yang menguraikan berbagai jenis substrat.

2.7.1. Reseptor Kematian (Death receptor/DR)

Reseptor kematian mempunyai superfamili gen reseptor *Tumor Necrosis Factor* (TNF), yang ditentukan oleh domain ekstraseluler kaya cysteine yang serupa. Selain reseptor kematian juga berisi rangkaian sitoplasma homolog yang dikenal sebagai 'domain kematian' (*death domains*). Domain kematian biasanya memungkinkan reseptor kematian untuk mengaktifkan mesin apoptosis sel, tetapi pada beberapa keadaan domain kematian memerantarai fungsi yang berbeda atau bahkan melawan apoptosis. Beberapa molekul yang menghantarkan sinyal dari reseptor kematian mengandung domain kematian itu sendiri. (Ashkenazi A, 1988).

Reseptor kematian yang paling dikenal adalah CD 95 (juga disebut sebagai Fas atau Apo-1) dan TNFR-1 (juga disebut sebagai p55 atau CD 120a). Reseptor kematian lainnya adalah avian CAR-1; reseptor kematian 3 (death receptor-3/DR-3; juga dikenal sebagai Apo-2, TRAIL-R2, TRUCK-2 atau KILLER). Reseptor NGF p75 juga mengandung domain kematian. Ligand yang mengaktifkan reseptor ini, kecuali NGF, secara structural merupakan molekul yang berhubungan dengan yang dimiliki superfamili gen TNF. Ligand CD 95 (CD 95L) mengikat CD 95, TNF dan limfotoksin α berikatan dengan TNFR-1; ligand Apo-3 (APO-31, juga disebut TWEAK) berikatan dengan DR-3; dan ligand Apo-2 (Apo-21, juga dikenal dengan TRAIL) berikatan dengan DR-4 dan DR-5. Ligand untuk CAR-1 belum diketahui. (Ashkenazi A, 1988).

2.7.2. Struktur Caspase

Apa penyebab perubahan morfologi yang kita kenal sebagai apoptosis dan perubahan biokimia yang sering menyertai fenomena ini? Jawabannya adalah protease intraseluler yang dikenal dengan caspase, (Reed JC, 2000; Suryobudoyo P, 2000; Thornberry NA,

1998; Wolf BB, 1999). Data analisis rangkaian dan kristalografi sinar-X menunjukkan bahwa semua caspase mempunyai rangkaian asam amino, struktur dan spesifisitas substrat yang serupa (Thornberry NA, 1998; Wolf BB, 1999). Masing-masing zymogen mengandung sebuah pro-domain N-terminal, subunit besar yang berisi tempat aktif cysteine di dalam motif QACXG (~20 kD), dan subunit kecil C-terminal (~10 kD). Tempat pembelahan aspartate memisahkan subunit besar dan kecil. Aktivasi melibatkan proses proteolitik diantara domain, diikuti dengan penyatuan subunit besar dan kecil membentuk heterodimer. Masing-masing tempat aktif mengandung sub unit S, yang bermuatan positif yang mengikat aspartate P1 yang bermuatan negatif. Tempat ikatan S1 ini sangat dihemat; dengan demikian, semua caspase hanya membelah setelah terbentuk residu aspartat (Thornberry NA, 1998; Wolf BB, 1999).

Masing-masing caspase mempunyai dua perbedaan struktur utama. Pertama, tempat ikatan substrat S2-S4 berbeda bermakna, dengan menghasilkan perbedaan spesifisitas substrat pada posisi P1, meskipun terdapat kebutuhan absolut aspartate pada posisi P1 (Thornberry NA, 1998; Wolf BB, 1999). Kedua, prodomain caspase mempunyai panjang dan rangkaian yang berbeda. Caspase dengan prodomain yang panjang berfungsi sebagai integrator apoptosis atau sinyal pro-inflamasi serta mengandung motif rangkaian yang memicu interaksinya dengan molekul activator. Iniator apoptotic (caspase 2, 8, 9 dan 10) biasanya bekerja pada jaras hulu (*upstream*) eksekutioner apoptotic prodomain kecil (caspase 3, 6 dan 7). Sebaliknya, caspase-1 dan caspase-11 berfungsi terutama sebagai prosesor sitokin. Caspase 4, 5, 12, 13 dan 14 lebih sedikit diketahui; namun, caspase-caspase ini menunjukkan kemiripan yang lebih besar dengan caspase -1 dari pada

caspase apoptotic. Dengan demikian, caspase-caspase ini dikelompokkan sebagai prosesor sitokin. (Wolf BB, 1999).

2.7.3. Mekanisme Apoptosis

Jarar Ekstrinsik dan Intrinsik

Mekanisme aktivasi inisiator caspase, dan kemudi gerakan mesin apoptotic berbeda. Aktivasi dapat berlangsung dengan cara autoaktivasi, transaktivasi atau proteolisis oleh protease lainnya.(Wolf BB, 1999). Namun pada dasarnya, mekanisme biokimia tampaknya sangat mirip dan dapat dijelaskan dengan satu model yang dikenal dengan *induced proximity model*. Model ini diperkirakan pada hasil observasi empiris bahwa bentuk zymogen dari caspase yang tidak diproses tidak seluruhnya inaktif tetapi lebih cenderung mempunyai aktivitas caspase yang lemah. Bilamana terbawa dalam aposisi melalui interaksi protein, zymogen tersebut dapat mentrans-proses satu sama lainnya, dengan menghasilkan protease yang aktif penuh.

Meskipun terdapat berbagai jenis jaras untuk mengaktifkan caspase, namun hanya dua jaras yang diketahui secara rinci (Reed JC, 2000; Suryohudoyo P, 2000; Thornbery NA, 1998). Salah satu aktivasi berpusat pada reseptor TNF, yang menggunakan aktivasi caspase sebagai mekanisme sinyal, sehingga menghubungkan ikatan ligand pada permukaan sel untuk induksi apoptosis. Mekanisme lainnya melibatkan partisipasi mitokondria, yang melepaskan protein pengaktif caspase ke dalam cytosol, sehingga memicu apoptosis. Jaras melalui reseptor kematian dan mitokondria kadang kala dikenal sebagai jaras ekstrinsik dan intrinsic apoptosis (Reed JC, 2000).

Berbagai jenis bukti eksperimental, termasuk eksperimental ablasi gen pada tikus, menunjukkan bahwa caspase 8 mewakili caspase apical pada jaras reseptor kematian

famili TNF, sedangkan caspase-9 berperan sebagai caspase apical dari jaras mitokondria. Dalam hal jaras ekstrinsik, jaringan interaksi protein, yang melibatkan protein adapter seperti Fadd (Mort-1), tidak langsung menghubungkan domain cytosolik dari reseptor kematian famili TNF, seperti Fas (Apo-1/CD-95) dengan bentuk zymogen dari caspase-8, dengan hasil merekrut pro-caspase-8 pada kompleks respon kematian dan mengakibatkan aktivasi caspase-8 melalui *induced proximity mechanism* (Reed JC, 2000). Pada kasus jaras intrinsic, pelepasan sitokrom c dari mitokondria akibat berbagai jenis stimuli seperti oksidan, Bax, ceramide, dan peningkatan Ca^{++} memicu aktivasi caspase dengan cara berikatan dengan protein yang mengaktifkan caspase Apaf-1, dan dengan adanya adenin nukleotida, kompleks APAF-1-cytokrom c memicu aktivasi pro-caspase. Sitokrom c dan adenin nukleotida kemungkinan menginduksi perubahan konformasi yang melibatkan domain ASPAF-1 CARD (Reed JC, 2000; Thornberry NA, 1998; Wolf BB, 1999). Domain APAF-1 CARD kembali dapat merekrut pro-caspase-9 dengan interaksi homofilik yang melibatkan CARD. Oligomerisasi pro-caspase-9 lebih lanjut dapat mempermudah autoaktivasi caspase. Bel-X2, yaitu suatu protein anti-apoptotik famili Bel-2, dapat menghambat apoptosis dengan cara memblok interaksi ini. Adapter kedua CARD, yaitu RAIDD, bergandengan dengan pro-caspase-2 pada reseptor kematian melalui interaksi CARD-CARD. Dengan demikian, interaksi protein-protein yang diperantarai adapter meluas diantara caspase apoptotic (Wolf BB, 1999).

Protein pengaktif caspase lainnya yang dilepaskan dari mitokondria adalah *apoptosis-inducing factors* (AIF), yang tampaknya memroses pro-caspase-3 in vitro. Aktivitasnya diblok oleh VAD-fmk, suatu caspase umum, yang meningkatkan kemungkinan bahwa AIF adalah caspase lainnya.

2.7.3.1. Sinyal CD-95 (Fas)

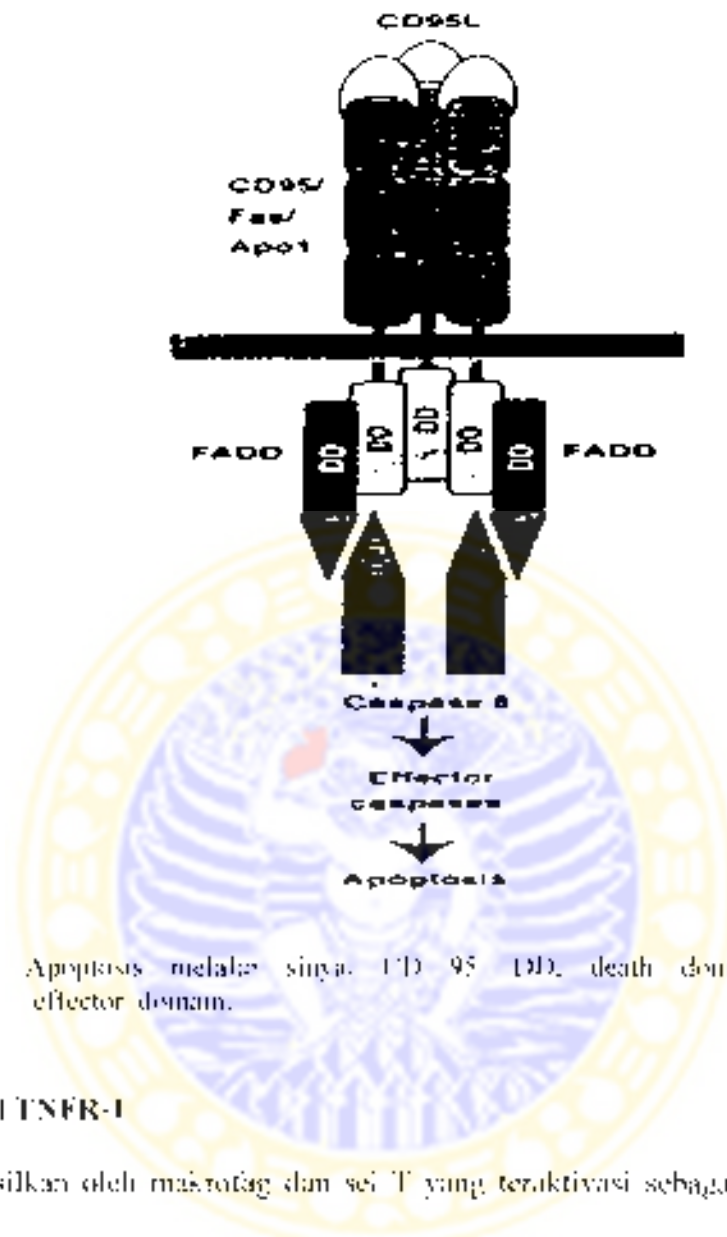
CD-95 dan CD-95L memainkan peranan penting terutama pada 3 tipe apoptosis fisiologis: (1) delesi perifer sel T matur di akhir respon imun; (2) membunuh target seperti sel yang terinfeksi virus atau sel kanker oleh sel T sitotoksik dan sel killer natural; dan membunuh sel-sel inflamasi.

Seperti anggota famili TNF lainnya, CD-95L adalah molekul homotrimerik. Karena domain kematian mempunyai kecenderungan berikatan satu sama lainnya, ligand CD-95 menimbulkan *clustering* domain reseptor kematian (Gambar 2.5). Protein adapter yang dikenal sebagai FADD (*Fas associated death domain*, juga disebut Mort-1) selanjutnya berikatan dengan domain analog yang diulang dalam pasangan dua-dua (*tandem*) dalam bentuk zymogen dari caspase-8 (juga dikenal dengan FLICE atau MACH). Saat merekrut FADD, oligomerisasi caspase-8 mengemudikan aktivitasnya melalui pembelahan diri. Selanjutnya caspase-8 mengaktifkan caspase efektor, seperti caspase-9—homolog fungsional mamalia dari CED-3—menyebabkan sel menjalani apoptosis. (Ashkenazi A, 1988)

Dua jalur utama aktivasi caspase pada sel mamalia disajikan, ekstrinsik (kiri) dan intrinsik (kanan). Jalur ekstrinsik dapat diinduksi oleh anggota famili TNF dari reseptor sitokin, seperti TNFR-1 dan Fas. Protein ini merekrut protein adapter pada DDs sitosoliknya, termasuk Fadd, yang selanjutnya mengikat pro-caspase yang berisi DEID, terutama procaspase-8. Jalur intrinsik dapat diinduksi dengan pelepasan cytotrom c dari mitokondria, yang diinduksi oleh berbagai jenis stimuli, termasuk peningkatan protein pro-apoptotik famili Bcl-1 seperti Bax. Pada sitosol, sitokrom c mengikat dan mengaktifkan Apaf-1, yang memungkinkannya berikatan dan mengaktifkan pro-caspase-

9. Caspase-9 aktif (intrinsic) dan caspase-8 (ekstrinsik) tampaknya secara langsung membelah dan mengaktifkan protease efektor, caspase-3. Caspase lainnya juga terlihat dalam jaras ini, dengan demikian, skema ini menyajikan penyederhanaan proses-proses yang terjadi *in vitro*.

Berbagai jenis stimuli seperti Bax, oksidan, peningkatan Ca, mengaktifkan caspase, dan mungkin ceramide dapat memicu mitokondria untuk melepaskan protein pengaktif caspase, yang diantaranya adalah cyto-c (lingkaran hitam) dan mungkin protein yang lain seperti AIF dan caspase intramitokondria (lingkaran terbuka). Dua mekanisme umum untuk pelepasan protein pengaktif caspase dari mitokondria telah diusulkan : salah satu melibatkan ketidakseimbangan osmotik yang menimbulkan perluasan ruang matriks, pembengkakan organela, dan selanjutnya ruptur membran luar (kiri); mekanisme lainnya diperkirakan melalui pembukaan hubungan dalam membran luar (tanpa pembengkakan organela yang menyertai), dengan demikian melepaskan cyto c dari ruang intermembranmitokondria ke dalam cytosol. Cyto c mengaktifkan caspase dengan mengikat Apaf-1, yang menginduksinya berhubungan dengan pro-caspase-9, sehingga memicu aktivasi caspase-9 dan memulai kaskade proteolitik yang menginduksi apoptosis. Sel-sel dimana mitokondria mengalami ruptur mempunyai risiko kematian melalui mekanisme non-apoptotik yang lebih lambat yang menyerupai nekrosis karena hilangnya perbedaan elektrokimia yang melintasi membran dalam, produksi ROS, dan penurunan produksi ATP.



Gambar 2.10. Apoptosis melalui sinyal CD 95 (DD, death domain, DED, death effector domain).

2.7.3.2. Sinyal TNFR-1

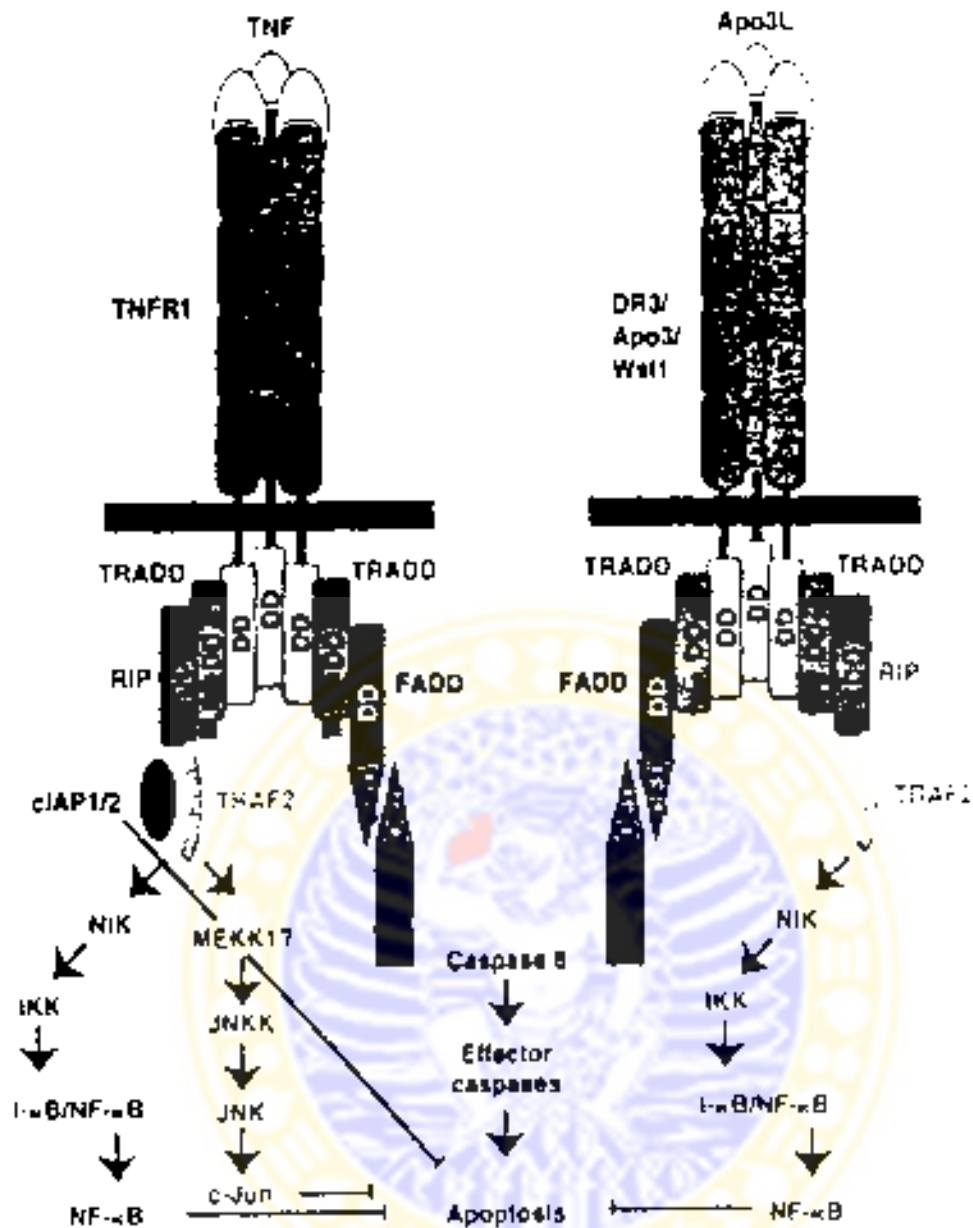
TNF dihasilkan oleh makrofag dan sel T yang teraktivasi sebagai respon terhadap infeksi. Dengan menggunakan TNFR-1, TNF mengaktifkan faktor transkripsi NF- κ B dan AP-1, yang menimbulkan induksi gen pro-inflamasi dan immunomodulasi. Pada beberapa tipe sel, TNF juga memicu apoptosis melalui TNFR-1. Tidak seperti CD-95, TNF jarang memicu apoptosis kecuali sintesis protein dihib³. Ekspresi protein spesifik ini

mungkin dikontrol melalui NF- κ B dan JNK/AP-1, seraya inhibisi masing-masing jaras mensensitisasi sel terhadap induksi apoptosis oleh TNF.

TNF membentuk trimerisasi TNFR-1 pada ikatan, dengan menginduksi hubungan domain reseptor kemauan. Selanjutnya, adapter yang dikenal sebagai TRADD (*TNFR-associated death domain*) berikatan dengan domain reseptor kematian melalui domain kematiannya sendiri. TRADD berfungsi sebagai adapter yang merekrut beberapa molekul sinyal terhadap reseptor yang diaktifkan : *TNFR-associated Factor-2* (TRAF-2) dan *Receptor-interacting protein* (RIP) memicu jaras yang menimbulkan aktivasi NF- κ B dan JNK/AP-1, sedangkan FADD memerantarai aktivasi apoptosis.

TRAF-2 dan RIP mengaktifkan *NF- κ B inducing kinase* (NIK), yang kembali mengaktifkan inhibitor kompleks κ B kinase (IKK). IKK memfosforilasi I- κ B, yang menimbulkan degradasi I- κ B dan memungkinkan NF- κ B bergerak ke nukleus untuk mengaktifkan transkripsi. Jaras dari TRAF-2 dan RIP ke JNK melibatkan suatu kaskade yang mencakup *Mitogen activated protein* (MAP) kinase MEKK1 (MAP/Erk kinase-1), JNKK (JNK kinase), dan JNK.

FADD bergabung dengan kompleks TNFR-1-TRADD untuk mengaktifkan caspase-8, dengan demikian apoptosis dimulai. Disamping FADD, TNFR-1 dapat memakai suatu adapter yang disebut RAIDD atau CRADD. RAIDD berikatan dengan domain kematian RIP melalui domain kematian dan dengan rangkaian serupa pada caspase-2 efektor melalui motif CARD, sehingga apoptosis diinduksi.



Gambar 2.11. Sinyal pro-apoptetik dan antiapoptotik melalui TNFR-1 dan DR-3.

2.7.3.3. Sinyal DR-3

DR-3 mempunyai kemiripan dengan TNFR-1. Saat overekspresi, DR-3 memicu respon yang menyerupai TNFR-1, yaitu aktivasi NF-κB dan apoptosis. Seperti TNFR-1, DR-3 mengaktifkan NF-κB melalui TRADD, TRAF-2, dan RIP dan apoptosis melalui TRADD, FADD dan caspase 8 (Gambar 2.6). DR-3 mengikat Apo3L, yang berikatan

paling erat dengan TNF. Apo3L mengaktifkan NF- κ B melalui TRADD, TRAF-2, RIP dan NIK serta memicu apoptosis melalui TRADD dan FADD, konsisten dengan sinyal melalui DR-3. Ekspresi TNF terjadi terutama pada makrofag dan limfosit, sedangkan messenger RNA Apo3L diekspresikan secara konstitutif pada banyak jaringan.

2.7.3.4. Sinyal melalui DR-4 dan DR-5 dan Modulasi oleh *Decoy Receptor*

Anggota famili TNF yang menunjukkan kemiripan terbesar dengan CD-95L, diidentifikasi oleh dua kelompok yang disebut sebagai TRAIL, atau Apo-2L, seperti CD-95L, Apo2L memicu apoptosis cepat pada banyak garis sel tumor. Tidak seperti ekspresi CD-95L, yang terbatas pada sel T dan NK, dan *immune privileged sites*, ekspresi messenger RNA Apo2L ditemukan pada banyak jaringan; namun, seperti CD-95L, transkripsi Apo2L meningkat dengan stimulasi sel T perifer.

Produksi apoptosis oleh Apo2L memerlukan aktivitas caspase. Ekspresi ektopik FADD-DN dalam jumlah cukup untuk memblokir kematian sel yang diinduksi CD-95 tidak dapat memblokir induksi apoptosis oleh Apo2L. Over ekspresi DR-4 atau DR-5, yang mengikat Apo2L, memicu apoptosis. Seperti mRNA Apo2L, transkripsi DR-4 dan DR-5 diekspresikan pada beberapa jaringan, memberi kesan ke arah bahwa mungkin terdapat mekanisme yang melindungi sel dari induksi apoptosis oleh Apo2L. Salah satu tipe proteksi didasarkan pada satu set *decoy receptors (DCRs)*, yang berkompetensi dengan DR-4 dan DR-5 untuk berikatan dengan Apo2L. DcR-1 (juga dikenal sebagai TRID, TRAIL-R3 atau DcR) adalah protein permukaan sel yang berikatan dengan glikosil fosfatidilinositol (GPI) yang menyerupai DR-4 dan DR-5. DcR-1 berikatan dengan Apo2L, dan transfeksinya ke sel yang sensitif Apo2L banyak menurunkan respon terhadap ligand. Terapi sel pembawa DcR1 dengan fosfolipase yang menggunakan GPI

mengakibatkan sensitisasi yang jelas terhadap apoptosis yang diinduksi Apo2L. Dengan demikian, DCR-1 tampaknya berfungsi sebagai *decoy* yang mencegah Apo2L untuk berikatan dengan reseptor kematiannya. Empat dari 6 posisi asam amino yang penting untuk apoptosis dan aktivasi NF- κ B oleh TNFR-1 tidak ditemukan pada DCR-2. Transfeksi DCR-2 menghambat induksi apoptosis oleh Apo2L; delesi DCR-2 sitoplasma tidak menghilangkan aktivitas inhibisi, yang menunjukkan bahwa reseptor ini bertindak sebagai *decoy* yang berkompetensi dengan DR-4 dan DR-5 untuk berikatan dengan Apo2L. Gen yang mengkode DR-4 dan DR-5, DCR-1 dan DCR-2 memetakan kromosom 8p21-22. Dilaporkan bahwa homolog TNFR yang dikenal dengan osteoprotegerin, yang memetakan kromosom 8q23-24 dan tidak berkaitan serta dengan 4 reseptor DR4, DR-5, DCR-1 dan DCR-2, mengikat Apo2L dan menghambat fungsi Apo2L.

Gagasan menargetkan reseptor kematian spesifik untuk menginduksi apoptosis pada tumor cukup menarik, karena reseptor kematian mempunyai jalur langsung ke mesin caspase. Tidak seperti berbagai jenis obat kemoterapi atau terapi radiasi, reseptor kematian memulai apoptosis tidak tergantung pada gen supresor tumor p53, yang di inaktifkan dengan mutasi pada lebih separuh kanker pada manusia. Meskipun ada keuntungan ini, penggunaan klinis baik TNF maupun CD-95, terhambat oleh efek samping toksis. Pemberian sistemik dosis tertentu TNF menyebabkan reaksi peradangan yang berat yang menyerupai shock septik; hal ini dinilai diperantarai terutama oleh induksi gen pro-inflamasi pada makrofag dan endotelium melalui aktivasi NF- κ B. Injeksi antibodi agonistik CD-95 pada tikus yang menderita tumor dapat letal, tampaknya karena induksi apoptosis pada hepatosit, yang mengekspresikan kelebihan CD-95.

Apoptosis pada prostat ditentukan oleh adanya peranan TGF- β sebagai penanda apoptosis, BCL₂ penghambat apoptosis dan hormon dehidrotosteron. TGF- β ditekan oleh hormon estrogen sehingga TGF- β 1 tidak bisa menghambat growth factor untuk proliferasi dan tidak bisa memicu terjadinya apoptosis dengan jalan meregulasi BCL₂ dan BCL₂ sendiri ditekan oleh DHT (dehidrotosteron). Dengan menurunnya TGF- β 1 dan meningkatnya BCL₂ maka jumlah sel yang mengalami apoptosis pada prostat sedikit sedang proliferasi prostat akan meningkat dan terjadilah pembesaran prostat jinak (BPH) (Bruckheimer EM, 2003; Hague A, 1998).

2.8. Benign Prostatic Hiperplasia (BPH)

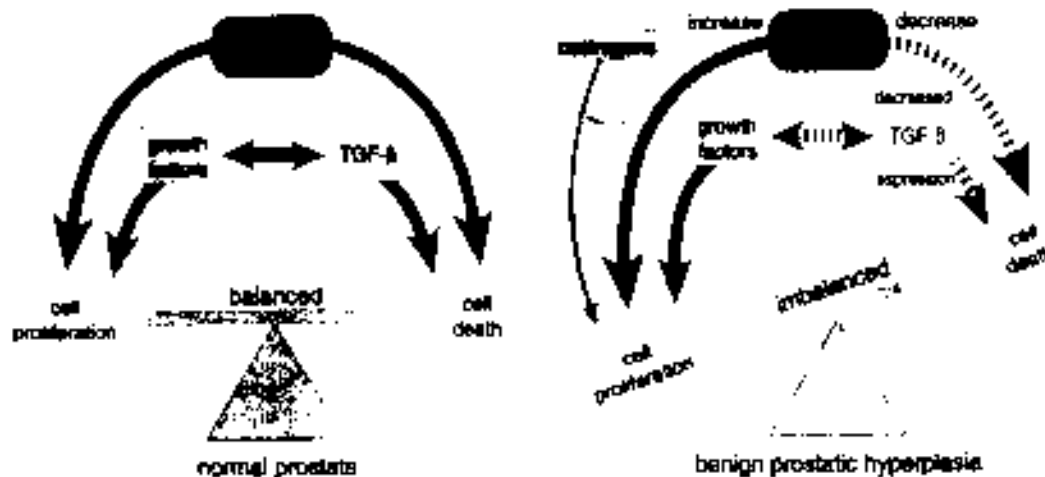
Pada dasarnya BPH dipengaruhi oleh adanya Dihydrotestosteron (DHT) dan faktor yang berhubungan dengan proses ketuaan. Hormon Testosteron kurang lebih 95% diproduksi oleh sel Leydig testis, sedangkan 5% diproduksi oleh kelenjar adrenal dan metabolisme yang lain dalam tubuh. Testosteron ini setelah berikatan dengan enzim 5 α reduktase pada membran inti berubah menjadi *Dihidrotestosteron* (DHT). Kemudian mempengaruhi DNA pada inti sel terus ditranskripsikan menjadi mRNA dan selanjutnya dibentuk suatu protein, yaitu faktor-faktor pertumbuhan dan produk lain seperti PSA (Kirby,dkk,1994; Mc.Connel,2002). DHT adalah hormon androgen yang mayoritas didapatkan pada prostat dan ini pada BPH mengalami peningkatan 3-4 kali bila dibandingkan dengan kontrol. Sedangkan pada proses penuaan jaringan prostat sangat sensitive terhadap rangsangan androgen. dan estrogen juga sangat sensitive untuk menginduksi androgen reseptor. Pada pria ditemukan adanya estrogen reseptor pada BPH. tapi kadarnya lebih rendah dari pada jaringan perifer, sehingga pada BPH

ditemukan perubahan rasio antara estrogen dan testosteron. Pada jaringan BPH dipertimbangkan adanya fibromuscular stroma. Oleh karena itu nampaknya pada BPH estrogen mempunyai peranan, yaitu : 1). menginduksi stromal sel hiperplasia, 2). menginduksi peningkatan reseptor androgen pada inti sel prostatik. Disamping itu pada BPH terjadi peningkatan gen ekspresi seperti *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Insulin like Growth Factor* (IGF) yang memicu terjadinya mitosis pada sel epitel prostat dan *Fibroblast Growth Factor* (FGF) sedangkan *Transforming Growth Factor* (TGF beta) yang menghambat aktifitas mitosis dan memodulasi efek dari *Growth Factor* lainnya. Seperti EGF reseptor dapat mengadakan ikatan dengan TGF alfa yang dapat ditunjukkan pada permukaan sel epitel prostat. Sehingga keseimbangan antara *Growth Factor* dan TGF beta-1 menentukan keseimbangan antara sel proliferasi dengan kematian sel. Apabila terjadi rasio berbeda antara testosteron dengan estrogen yaitu estrogen meningkat, maka akan terjadi gangguan keseimbangan antara proliferasi dengan kematian sel pada epitel prostat karena pengaruh estrogen lebih tinggi dari pada testosteron (Kirby,1997; Matsuda, 2001).

TGF beta-1 dapat memicu produksi ekstra seluler matrik yaitu pembentukan angiogenesis dan menghambat fungsi imun, (Lee C,1999). Pertumbuhan pada prostat diatur oleh androgen, tetapi efeknya tidak secara langsung, melainkan melalui faktor pertumbuhan, yaitu famili dari *Fibroblast Growth Factor* (FGF). Prostat stromal sel mensintesis FGF2 dan FGF7. FGF2 berperan pada pembelahan dari sel stroma, sedangkan FGF7 berperan pada pembelahan sel epitel. TGF β -1 juga disintesis oleh sel prostat, yaitu kerjanya adalah menghambat pertumbuhan sel. Jadi regulasi pertumbuhan sel tersebut dapat melalui otokrin atau parakrin. Androgen nampaknya berperan pada

pengendalian ekspresi TGF beta-1 dan FGF. Sedangkan TGF β -1 dan FGF ini yang akhirnya mengendalikan pertumbuhan stromal dan epitel prostat (Story, 1995). Pada jaringan BPH estradiol memiliki density lebih tinggi dari pada normal prostat yaitu pada BPH : 6.63 ng/g protein, sedangkan pada normal prostat sekitar 3.15ng/g protein. (Shu Jie ,2001) Androstenedion androgen adrenal diubah menjadi testosteron dan menjadi estrogen. Androgen adrenal ini merupakan sumber penting estrogen pria dan wanita. (Ganong, 2003)

Transforming Growth Factor beta-1 (TGF β -1) menghambat pertumbuhan sel epitel dan sel stroma prostat, juga menimbulkan kematian sel epitel prostat. Pada sel stroma prostat peranan TGF- β tergantung pada dosisnya, pada dosis tinggi akan menghambat proliferasi sel stroma sedang pada dosis rendah akan memicu proliferasi sel stroma prostat, (Lee C, 2001). Pada proses ketuaan fungsi sel Leydig akan menurun sehingga produksi testosteron akan menurun, untuk menjaga homeostasis maka estrogen akan meningkat. Estrogen menekan TGF β -1 dalam menginduksi ekspresi gen dan memicu terjadinya proliferasi dari sel epitel prostat secara langsung (Matsuda, 2001). Dehidrotestosteron (DHT) memicu proliferasi sel epitel prostat serta menekan Bcl-2 sebagai anti apoptosis. Bila terjadi keseimbangan antara sel epitel prostat yang proliferasi dan sel yang mengalami kematian, maka tidak terjadi BPH. Sedang bila jumlah kematian sel epitel prostat sedikit dibandingkan dengan sel yang mengalami proliferasi akibat menurunnya TGF β -1 maka terjadilah BPH (lihat gambar 2.12).



Gambar 2.12 Keseimbangan antara sel yang mengalami proliferasi dan sel yang mati
Dikutip dari (Kirby, 1997)

2.8.1. Gejala klinis Benign Prostat Hiperplasi (BPH)

Sesuai dengan anatomi kelenjar prostat maka bila terjadi gangguan kelenjar prostat timbul gejala-gejala yang berhubungan dengan pola pancaran kencing atau timbul keluhan yang lain. Kumpulan gejala yang timbul disebut sindroma prostatisme. Sindroma ini tidak patognomonik untuk BPH saja oleh karena itu istilah ini kadang-kadang diganti dengan *Lower Urinary Tract Symptoms (LUTS)*. Gejala ini dibagi dua yaitu gejala obstruktif dan gejala iritatif (Mc Cormel, 2002; Berry J.S, 1984)

Gejala obstruktif terdiri dari :

1. Hesitansi
Yaitu bila penderita ingin kencing namun tidak dapat keluar harus menunggu lama walaupun sudah ada tempat yang cocok untuk kencing
2. Pancaran kencing yang lemah
3. Kencing berulang-ulang
4. Kencing menetes
5. Terasa ada sisa setelah kencing

Gejala iritatif terdiri dari :

1. **Urgensi**
Penderita sulit untuk menahan kencing sebelum sampai pada tempatnya.
2. **Frekwensi**
Kencing lebih sering dari biasanya.
3. **Disuria**
Kencing terasa tidak nyaman.

BPH yang tidak ditangani lama kelamaan dapat menimbulkan :

1. **Infeksi saluran kencing**
2. **Terbentuknya batu buli-buli**
3. **Terbentuknya sakulasi dan divertikel pada dinding buli-buli**
4. **Menurunkan kualitas hidup**
5. **Hernia**
6. **Hemoroid**
7. **Residual urin yang makin banyak sampai retensi urin akut maupun kronis**
8. **Gangguan fungsi ginjal**
9. **Hidronefrosis**
10. **Hematuria**
11. **Inkontinensia paradoxa.**

2.8.2. Terapi Benign Prostat Hiperplasi (BPH)

Beberapa terapi BPH adalah (Berry JS.,1984;Mc. Connel,2002) :

1. Watchful waiting

Pada terapi ini hanya mengawasi saja secara berkala, tidak memberikan pengobatan.

2. Medikamentosa

Macam obat yang digunakan :

- Golongan **alpha-blocker**. antara lain : Doxazosin, Prazosin, Tamsulosin, Bunazosin, Terazosin dan Alfuzosin
- Ekstrak tanaman. beberapa macam tanaman yang ekstraknya digunakan untuk mengobati BPH adalah : - *Hypoxis rooperi* (rumput Afrika)

- Sabal serrulatum (palem kerdil)
 - Cucurbita pepo (biji waluh)
 - Pygeum africanum (plum Afrika)
 - Urica spp
 - Populus tremula
 - Echinacea purpurea
 - Secale cereale
- Supresi androgen dapat terjadi dengan memberikan :
penghambat enzim 5α reduktase (5α reduktase inhibitor), contoh : finasteride dan episterid, obat ini akan menghambat terjadinya perubahan dari testosteron menjadi dihidrotestosteron. Keuntungan obat ini tidak menurunkan kadar testosteron darah sehingga efek samping seperti hilangnya libido, impotensia, ginekomastia dan lain-lain sangat jarang.
- anti androgen
 - analog luteinizing hormone releasing hormone (LHRH)

3. Pembedahan

Pembedahan pada BPH dapat dilakukan dengan dua cara :

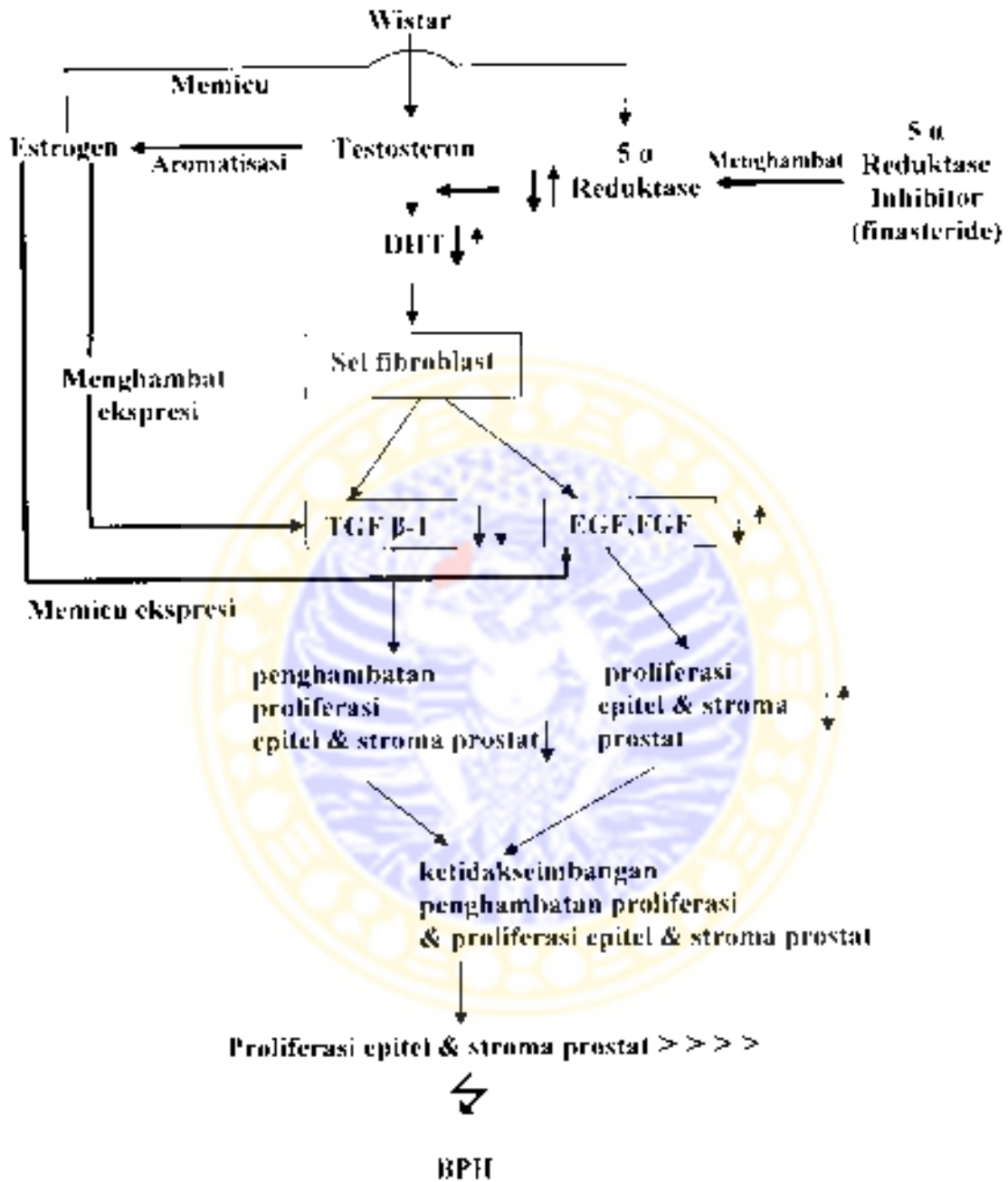
- open prostatotomy, pembedahan biasa
- TURP (Transurethral Resection of the Prostat)

4. Alternative lain

- TUIP (Transurethral Incision of the Prostat)
- TUBD (Transurethral Balloon Dilatation)
- Prostat stent
- Kriyo terapi
- Hipertermia
- Termoterapi
- TUNA (Trans Uretra Niddle Ablation)
- Terapi ultrasonic
- TULIP (Transurethral Laser Incision of the Prostat)

BAB 3
KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 KERANGKA KONSEPTUAL PENELITIAN



Gambar 3.1 Kerangka konseptual penelitian

Testosteron pada tikus jantan (Wistar) akan dirubah oleh enzim 5 α reduktase pada membran inti sel fibroblast pada prostat menjadi dihidrotestosteron (DHT) (Jones DA.,2001), enzim 5 α reduktase ini juga diaktifkan oleh estrogen dan testosteron secara sinergis (K. Suzuki,dkk,1994; H. Yamanaka,dkk,1975), kemudian mempengaruhi DNA pada inti sel fibroblast terus ditranskripsi menjadi mRNA, membentuk protein yaitu Growth Faktor (GF) antara lain TGF β -1, HGF dan FGF (Mc Connel,1996; Kirby,1994; Kirby,1997).

Untuk membuat model tikus tua, maka tikus tersebut diberi obat 5 α reduktase inhibitor (finasteride), yang menghambat enzim 5 α reduktase akibatnya DHT akan menurun, maka TGF β -1, EGF dan FGF juga akan menurun (Mc Connel,2002; FW. George,1997) ini juga terbukti pada penelitian pendahuluan (lampiran 13). Apabila EGF dan FGF menurun maka proliferasi epitel dan stroma prostat akan menurun, karena TGF β -1 menurun akibatnya penghambatan terhadap proliferasi juga menurun.

Pada proses ketuaan, fungsi testis khususnya sel-sel Leydig menurun, maka produksi testosteorone menurun, untuk menjaga homeostasis maka estrogen akan meningkat (Griffiths,dkk,2002; Mc Connel ,1996). Tikus ini juga diberi estrogen untuk memicu EGF dan FGF untuk mengadakan proliferasi (Griffiths,dkk,2002), dan menghambat ekspresi TGF β -1 (Matsuda,2001) yang berperan menghambat proliferasi, dan memicu apoptosis (Itoh N,1989; Chatelain,2001; Saez C.,1998; Bretland AJ,2001; Fukabori,1997). Karena proliferasi dipicu oleh estrogen sedang penghambatan proliferasi yang dilakukan TGF β -1 ditekan oleh estrogen maka terjadi ketidakseimbangan antara penghambatan proliferasi dengan proliferasi epitel dan stroma prostat sehingga proliferasi epitel dan stroma prostat meningkat. lama kelamaan akan terjadi BPH.

3.2 Hipotesis Penelitian

Karena adanya kendala teknis dimana pada tikus tidak mungkin dilakukan pengambilan specimen dua kali sebelum dan sesudah perlakuan, maka kelompok tikus yang diberi 5 α reduktase inhibitor (finasteride) merupakan kelompok kontrol. Dalam penelitian ini kelompok kontrol (finasteride) dianggap sebagai *pre test* (kondisi sebelum perlakuan) dan kelompok tikus yang diberi 5 α reduktase inhibitor (finasteride) dan estrogen, merupakan kelompok perlakuan dianggap sebagai *post test* (kondisi setelah perlakuan).

Dengan demikian perbedaan hasil pengukuran TGF β -1, EGF, TGF dan proliferasi antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dapat dianggap sebagai perubahan yang meningkat atau menurun, selanjutnya dibuat hipotesis penelitian sebagai berikut :

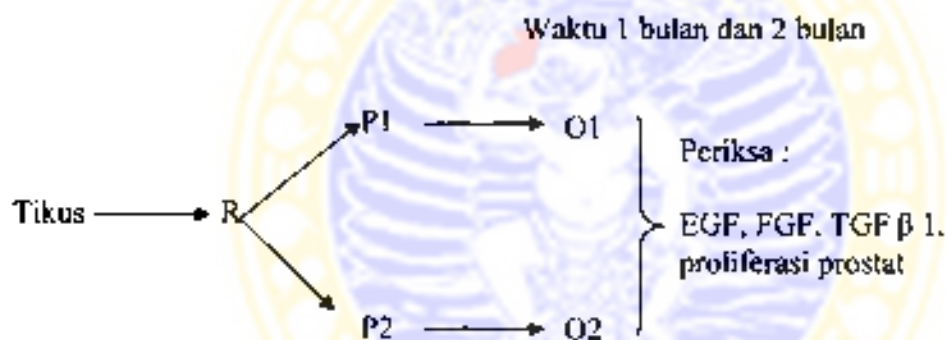
1. Pemberian kombinasi 5 α reduktase inhibitor dan estrogen menurunkan ekspresi Transforming Growth Factor beta-1 (TGF β -1) di kelenjar prostat pada tikus putih (*Wistar*) usia lanjut.
2. Pemberian kombinasi 5 α reduktase inhibitor dan estrogen meningkatkan ekspresi Epidermoid Growth Factor (EGF) di kelenjar prostat pada tikus putih (*Wistar*) usia lanjut.
3. Pemberian kombinasi 5 α reduktase inhibitor dan estrogen meningkatkan ekspresi Fibroblast Growth Factor (FGF) di kelenjar prostat pada tikus putih (*Wistar*) usia lanjut.
4. Pemberian kombinasi 5 α reduktase inhibitor dan estrogen meningkatkan proliferasi sel epitel prostat pada tikus putih (*Wistar*) usia lanjut.

METODE PENELITIAN**4.1. Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental karena melihat hasil setelah dilakukan perlakuan, menggunakan tikus putih jantan (*Wistar*).

4.2. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *the post test control group design* (Zainuddin,1995) dengan pertimbangan bahwa kondisi hewan coba homogen maka perbedaan yang timbul antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan semata-mata hanya disebabkan oleh eksperimen yang dilakukan oleh peneliti.



Gambar 4.1 Rancangan Penelitian

Keterangan :

R : Randomisasi

P1 : Pemberian 5 α reduktase inhibitor (finasteride) setiap hari sebagai kontrol

P2 : Pemberian kombinasi 5 α reduktase inhibitor (finasteride) dan estrogen setiap hari

O1 = O2 : Observasi

4.3 Jumlah Sampel

4.3.1. Jumlah Sampel

Besar sampel pada penelitian ini dengan menggunakan rumus (Higgins & Klingaum, 1985)

$$n = \frac{1}{(1-f)} \left[\frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \cdot S_c^2}{(\bar{X}_c - \bar{X}_t)^2} \right]$$

Keterangan :

n = Besar Sampel

\bar{X}_c = Mean Kelompok Kontrol

\bar{X}_t = Mean Kelompok Perlakuan

S_c = SD Kelompok Kontrol

$Z_{\alpha} 0,05 = 1,96$

$Z_{\beta} 0,05 = 1,28$

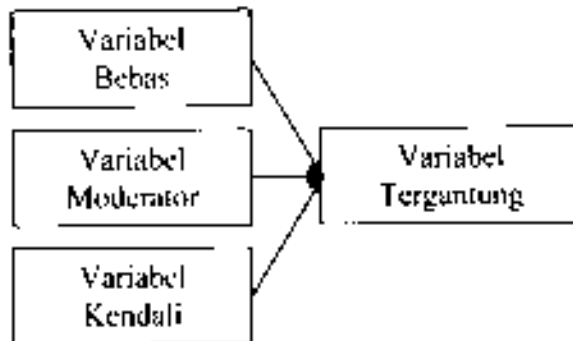
f = Proporsi Kegagalan ($f = 0$)

Berdasarkan penelitian pendahuluan didapatkan besar sampel $n = 11,37 \sim 12$

Pada penelitian ini digunakan sampel = 13

4.4 Identifikasi Variabel dan Pengukuran Variabel

4.4.1 Hubungan antar variable digambarkan sebagai berikut :



4.4.2 Klasifikasi Variabel

1. Variabel Bebas : Kombinasi 5 α reduktase inhibitor dan estrogen
2. Variabel Kendali : Jenis kelamin, jenis makanan, ras tikus putih (Wistar), berat badan, umur, dan dosis obat.
3. Variabel Moderator : Dosis makanan, air dan temperatur kandang
4. Variabel Tergantung : - Kadar TGF- β 1, EGF, FGF pada prostat
- Proliferasi sel epitel prostat

4.4.3 Definisi Operasional Variabel

- a. TGF- β 1 : adalah banyaknya sel fibroblast pada sayatan jaringan prostat yang memberikan reaksi positif terhadap antibody monoclonal TGF- β 1 / 0.01 mm² dengan menggunakan metode pewarnaan immunohistokimia.

- b. EGF : adalah banyaknya sel fibroblast pada sayatan jaringan prostat yang memberikan reaksi positif terhadap antibody monoclonal EGF / $0,01 \text{ mm}^2$ dengan menggunakan metode pewarnaan immunohistokimia.
- c. FGF : adalah banyaknya sel fibroblast pada sayatan jaringan prostate yang memberikan reaksi positif terhadap antibody monoclonal FGF / $0,01 \text{ mm}^2$ dengan menggunakan metode pewarnaan immunohistokimia.
- d. Proliferasi epitel prostat : adalah sel yang bertambah besar membelah diri dan bertambah jumlahnya, yang diukur adalah penebalan epitel dengan menggunakan micrometer.
- e. Estrogen : dosis $0,011 \text{ mg/hari}$ diberikan setiap hari selama 1 bulan dan 2 bulan pada masing-masing pengamatan.
- f. Finasteride (5α reduktase inhibitor) : $0,090 \text{ mg/hari}$ diberikan setiap hari selama 1 bulan dan 2 bulan pada masing-masing pengamatan.

Perhitungan perubahan dosis estrogen dan finasteride dari manusia ke tikus berdasarkan table konversi dari Laurence & Bacharach, 1964 (Donatus dan Nurlela 1986), dapat dilihat pada lampiran 2

- g. Usia tikus : 3 bulan
 h. Berat badan tikus : 150 – 200 gr
 i. Jenis kelamin tikus : jantan

4.4.4 Model penuaan hewan coba

Untuk membuat kondisi tikus tua maka tikus muda umur 3 bulan diberi 5 α reduktase inhibitor (finasteride), untuk mencegah perubahan testosterone menjadi DHT. Akibat menurunnya DHT maka EGF, FGF, TGF β -1 dan proliferasi menurun. Kondisi yang tercapai ini mirip dengan kondisi tua, ini telah dilakukan pada percobaan pendahuluan. Percobaan pendahuluan telah dilakukan untuk membuktikan pengaruh pemberian finasteride pada tikus muda umur 3 bulan, hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 13, yang terbukti kondisi yang dicapai serta kondisi yang diinginkan oleh peneliti.

4.4.5. Tempat waktu dan biaya penelitian

- Tempat : Laboratorium Binatang Percobaan Biokimia
 dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas
 Kedokteran Universitas Airlangga.
 Waktu : Mulai Oktober 2003 – Juli 2004

4.5 Uji Statistik

Data yang telah terkumpul diolah dengan menggunakan uji statistik Univariat (t-test).

HASIL DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN**5.1 Analisis Hasil Penelitian**

Penelitian ini menggunakan tikus putih (Wistar) jantan umur 3 bulan berjumlah 52 ekor dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok 1 bulan dan 2 bulan. Masing-masing kelompok 1 bulan dan 2 bulan dikelompokkan menjadi 2 kelompok perlakuan yaitu kelompok yang mendapat finasteride dan kelompok yang mendapat kombinasi finasteride dengan estrogen. Pada kelompok 1 bulan mendapat perlakuan, tiap hari selama 30 hari dan kelompok 2 bulan mendapat perlakuan selama 60 hari. Setelah selesai perlakuan pada kelompok perlakuan 1 bulan diperiksa kadar TGF- β , EGF, FGF dan proliferasi pada jaringan prostatnya, begitu juga dengan kelompok perlakuan 2 bulan.

5.1.1 Pemodelan Tikus Tua

Pada tikus yang mengalami ketuaan, maka fungsi sel Leydig akan menurun sehingga produksi testosteron juga akan menurun. Karena testosteron menurun maka dehidrotestosteron (DHT) juga akan mengalami penurunan. Dengan menurunnya DHT maka produksi Growth Faktor, yaitu TGF β -1, EGF dan FGF akan mengalami penurunan akibatnya proliferasi epitel dan stroma prostat tidak terjadi sehingga tidak terjadi BPH (pembesaran prostat). Pada penelitian ini menggunakan model tikus muda yang dituaikan dengan memberikan finasteride. Dengan pemberian finasteride DHT akan menurun, maka Growth Faktor menurun sehingga TGF β , EGF dan FGF menurun sehingga proliferasi menurun akibatnya tidak terjadi BPH. Tetapi dengan menurunnya testosteron

untuk menjaga homeostatis maka produksi estrogen dari kelenjar adrenal dan aromatisasi dari zat lemak dan androstenedion ditingkatkan. Estrogen menekan ekspresi TGF β -1, yang berperan untuk menghambat proliferasi dan memicu apoptosis juga memicu EGF dan FGF untuk proliferasi pada sel epitel prostat dan stroma prostat serta menghambat apoptosis sel prostat, akibatnya proliferasi epitel dan stroma prostat akan bertambah banyak, lama-lama terjadi BPH. Untuk membuktikan mekanisme kejadian BPH pada manusia sangat sulit dilakukan, sehingga peneliti menggunakan tikus sebagai hewan model, dengan memberikan finasteride supaya kondisi tikus seperti tua (penelitian pendahuluan lampiran 13).

5.1.2 Berat Badan Tikus

Sebelum dilakukan analisis statistik terhadap variabel penelitian terlebih dahulu perlu diketahui kondisi berat badan tikus sebelum perlakuan pada tiap kelompok oleh karena perbedaan berat badan akan mempengaruhi perbedaan pada variabel penelitian. Untuk itu dilakukan analisis varians dengan hasil sebagai berikut :

Tabel 5.1 Uji homogenitas berat badan tikus putih wistar penelitian sebelum perlakuan antar kelompok.

Kelompok	N	Berat Badan (gram) ($\bar{X} \pm SD$)	Analisis Varians	
			F	P
Pengamatan 1 bulan Finasteride+Estrogen Finasteride	13	159,08 \pm 18,98	0,772	0,515
	13	153,77 \pm 14,85		
Pengamatan 2 Bulan Finasteride+Estrogen Finasteride	13	160,92 \pm 15,70		
	13	162,54 \pm 12,26		

Hasil analisis varians untuk mengetahui kesamaan berat badan tikus putih wistar didapatkan ($p>0.05$) yang berarti tidak ada perbedaan yang bermakna berat badan tikus putih wistar antar kelompok yang akan dilakukan penelitian. Hasil ini menggambarkan bahwa berat badan awal subjek penelitian tidak mempengaruhi hasil perlakuan pada analisis statistik selanjutnya.

Tabel 5.2 deskripsi statistik variabel TGF β , EGF, FGF dan proliferasi tiap kelompok perlakuan dan waktu

	Estrogen Finasteride		Finasteride	
	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD
I. Pengamatan 1 bulan				
a. TGF β -1	2.3077	1.4367	4.0000	1.5811
b. EGF	5.6154	2.3288	4.2308	1.7394
c. FGF	7.0769	4.9743	5.0769	2.6602
d. Proliferasi	33.3462	4.5110	30.6154	4.0060
II. Pengamatan 2 bulan				
a. TGF β -1	1.6923	1.3156	2.8462	1.0682
b. EGF	14.5385	6.0775	7.0769	3.9678
c. FGF	8.2308	4.8331	6.6154	3.0149
d. Proliferasi	43.3077	5.6845	27.6923	2.8762

Pada pengamatan 1 bulan rerata TGF β -1, pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride lebih rendah dibandingkan dengan rerata TGF β -1, pada kelompok finasteride. Sedangkan rerata EGF, FGF dan proliferasi pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride lebih tinggi dibandingkan dengan rerata EGF, FGF dan proliferasi pada kelompok finasteride. Pada pengamatan 2 bulan rerata TGF β -1, pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride lebih rendah dibandingkan dengan rerata TGF β -1, pada kelompok finasteride, sedangkan rerata proliferasi pada kelompok

kombinasi estrogen dengan finasteride lebih tinggi dibandingkan dengan rerata proliferasi pada kelompok finasteride.

Bila dibandingkan antara pengamatan 2 bulan dan pengamatan 1 bulan maka pada pengamatan 2 bulan untuk TGF β , lebih rendah dari pada kelompok 1 bulan, sedang untuk EGF, FGF dan proliferasi pada kelompok 2 bulan lebih tinggi daripada kelompok 1 bulan.

5.1.3 Uji distribusi normal terhadap variabel penelitian

Tabel 5.3. Uji distribusi normal dengan uji Kolmogorov – Smirnov satu sampel data TGF β -1, EGF, FGF dan proliferasi tiap kelompok perlakuan dan waktu pengamatan.

Variabel	Harga p	
	Estrogen Finasteride	Finasteride
I. Pengamatan 1 bulan		
a. TGF β -1	0.656	0.984
b. EGF	0.762	0.856
c. FGF	0.669	0.789
d. Proliferasi	0.785	0.813
II. Pengamatan 2 bulan		
a. TGF β -1	0.884	0.393
b. EGF	0.989	0.452
c. FGF	0.962	0.955
d. Proliferasi	0.397	1.000

Pada table 5.3 tampak bahwa semua harga ($p > 0,05$) baik pada pengamatan 1 bulan dan 2 bulan dari semua variabel pada perlakuan kombinasi estrogen dengan finasteride dan finasteride. Berarti semua data berdistribusi normal sehingga memenuhi persyaratan menggunakan uji parametrik antara lain uji t 2 sampel bebas, korelasi Pearson dan regresi linier berganda.

5.1.4 Korelasi antara TGF β -1, EGF dan FGF pada kelompok kombinasi estrogen finasteride dan kelompok finasteride

Akibat perlakuan kombinasi estrogen dengan finasteride yang diberikan, maka sel fibroblast pada prostat akan mengekspresikan TGF β -1, EGF dan FGF. Korelasi TGF β -1, EGF dan FGF perlu dilakukan untuk memilih uji statistik multivariat atau univariat. Asumsi untuk menggunakan uji multivariat antara lain variabel terikat yang lebih dari satu saling berkorelasi. Hasil uji korelasi Pearson dapat dilihat pada tabel 5.4 sebagai berikut :

Tabel 5.4 Uji Korelasi Pearson antara TGF β -1, EGF dan FGF pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride dan kelompok finasteride

	Kelompok Perlakuan			
	Estrogen Finasteride		Finasteride	
	EGF	FGF	EGF	FGF
Pengamatan 1 bulan TGF β -1	$r = -0,236$ $p = 0,438$	$r = 0,370$ $p = 0,214$	$r = 0,030$ $p = 0,922$	$r = 0,198$ $p = 0,516$
EGF		$r = -0,299$ $p = 0,320$		$r = 0,356$ $p = 0,233$
Pengamatan 2 bulan TGF β -1	$r = 0,366$ $p = 0,218$	$r = 0,641$ $p = 0,018^*$	$r = 0,544$ $p = 0,050^*$	$r = 0,187$ $p = 0,540$
EGF		$r = -0,010$ $p = 0,973$		$r = 0,213$ $p = 0,484$

Keterangan :

* = Signifikan

Hasil korelasi pearson didapatkan sebagian besar harga ($p > 0,05$) baik pada pengamatan 1 bulan dan 2 bulan, semua variabel yang diberi perlakuan kombinasi estrogen dengan finasteride dan yang diberi perlakuan finasteride yang berarti tidak ada korelasi antara

TGF β -1, EGF dan FGF. Ada 2 harga p yang kurang dari 0,05 terjadi pada pengamatan selama 2 bulan perlakuan antara TGF β -1 dengan FGF pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride dan TGF β -1 dengan EGF pada kelompok finasteride. Secara keseluruhan hasil didapatkan gambaran bahwa antara TGF β -1, EGF dan FGF tidak saling berkorelasi, sehingga dengan demikian uji statistik yang digunakan adalah univarian.

5.1.5 Analisis terhadap TGF β -1

Tabel 5.5 TGF β -1 tiap kelompok perlakuan dan waktu pengamatan pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasterid dan kelompok finasterid

Waktu Pengamatan	Kelompok Perlakuan		Harga p Uji t 2 sampel (antar kelompok)
	Estrogen Finasteride ($\bar{X} \pm SD$)	Finasteride ($\bar{X} \pm SD$)	
1 Bulan	2.31 \pm 1.44	4.00 \pm 1.58	0,009
2 Bulan	1.69 \pm 1.32	2.85 \pm 1.07	0,022
Harga p Uji t 2 sampel (antar pengamatan)	0.266	0.039	

Pada pengamatan selama 1 bulan rerata TGF β -1 kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride lebih rendah dibandingkan dengan kelompok finasteride. Hasil uji t 2 sampel rerata TGF β -1 menunjukkan ($p < 0,05$) yang berarti ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride dan kelompok finasteride.

Pada pengamatan selama 2 bulan rerata TGF β -1 pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride lebih rendah dibandingkan dengan kelompok finasteride. Hasil uji t-2 sampel rerata TGF β -1 menunjukkan ($p < 0,05$) yang berarti ada perbedaan

yang bermakna antara kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride dan kelompok finasteride.

Rerata TGF β -1 baik pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride maupun kelompok finasteride pada pengamatan 2 bulan lebih rendah dibandingkan pada pengamatan 1 bulan. Perbedaan TGF β -1 yang diamati selama 1 bulan dan 2 bulan menggunakan uji t 2 sampel bebas, oleh karena subyek pengamatan 1 bulan dan 2 bulan berbeda. Hasil uji t 2 sampel bebas hanya menunjukkan bahwa pada kelompok Finasteride ada perbedaan bermakna ($p < 0.05$), rerata TGF β -1 antara pengamatan 1 bulan dan 2 bulan sedangkan pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0.05$). Analisis terhadap TGF β -1 dapat dibuktikan bahwa estrogen dan finasteride keduanya dapat menurunkan kadar TGF β -1 secara bermakna.

5.1.6 Analisis terhadap EGF

Tabel 5.6 EGF tiap kelompok perlakuan dan waktu pengamatan pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride dan kelompok finasteride

Waktu Pengamatan	Kelompok Perlakuan		Harga p Uji t 2 sampel (antar kelompok)
	Estrogen Finasteride ($\bar{X} \pm SD$)	Finasteride ($\bar{X} \pm SD$)	
1 Bulan	5.62 \pm 2.33	4.23 \pm 1.74	0,099
2 Bulan	14.54 \pm 6.08	7.08 \pm 3.97	0,001
Harga p Uji t 2 sampel (antar pengamatan)	0,0001	0,030	

Pada pengamatan selama 1 bulan rerata EGF pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok finasteride. Hasil uji t 2 sampel rerata EGF menunjukkan ($p>0,05$) yang berarti tidak ada perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok perlakuan.

Pada pengamatan selama 2 bulan rerata EGF pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok finasteride. Hasil uji t 2 sampel rerata EGF menunjukkan ($p<0,05$) yang berarti ada perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok perlakuan. Rerata EGF pada pengamatan 2 bulan lebih tinggi dibandingkan pada pengamatan 1 bulan, baik pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride maupun kelompok finasteride. Hasil uji t 2 sampel menunjukkan pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride ada perbedaan yang bermakna ($p<0,05$), pada kelompok finasteride juga ada perbedaan yang bermakna, rerata EGF antara pengamatan 1 bulan dan 2 bulan ($p<0,05$). Analisis terhadap EGF dapat dibuktikan bahwa estrogen dan finasteride keduanya dapat meningkatkan EGF secara bermakna.

5.1.7 Analisis terhadap FGF

Tabel 5.7 FGF tiap kelompok perlakuan dan waktu pengamatan pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasterid dan kelompok finasterid

Waktu Pengamatan	Kelompok Perlakuan		Harga p Uji t 2 sampel (antar kelompok)
	Estrogen Finasteride ($\bar{X} \pm SD$)	Finasteride ($\bar{X} \pm SD$)	
1 Bulan	7.08 ± 4.97	5.08 ± 2.66	0.217
2 Bulan	8.23 ± 4.83	6.62 ± 3.01	0.317
Harga p Uji t 2 sampel (antar pengamatan)	0.554	0.180	

Pada pengamatan selama 1 bulan rerata FGF kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok finasteride. Hasil uji t 2 sampel rerata FGF menunjukkan ($p > 0.05$) yang berarti tidak ada perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok perlakuan.

Pada pengamatan selama 2 bulan rerata FGF pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok finasteride. Hasil uji t 2 sampel rerata FGF menunjukkan ($p > 0.05$) yang berarti tidak ada perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok perlakuan.

Rerata FGF pada pengamatan 2 bulan lebih tinggi dibandingkan dengan pada pengamatan 1 bulan, baik pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride dan kelompok finasteride. Hasil uji t 2 sampel menunjukkan pada kedua kelompok masing-masing pada pengamatan 1 bulan dan 2 bulan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0.05$). Analisis terhadap FGF sampai pada 2 bulan perlakuan, tidak terbukti terjadi

peningkatan ekspresi FGF secara bermakna terhadap perlakuan baik pemberian estrogen maupun finasteride walaupun terjadi peningkatan FGF setelah pemberian estrogen.

5.1.8 Analisis terhadap proliferasi epitel dan stroma prostat

Tabel 5.8 Proliferasi tiap kelompok perlakuan dan waktu pengamatan pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride dan kelompok finasteride

Waktu Pengamatan	Kelompok Perlakuan		Harga p Uji t 2 sampel (antar kelompok)
	Estrogen Finasteride ($\bar{X} \pm SD$)	Finasteride ($\bar{X} \pm SD$)	
1 Bulan	33.35 \pm 4.51	30.62 \pm 4.01	0.116
2 Bulan	43.31 \pm 5.68	27.69 \pm 2.88	0.0001
Harga p Uji t 2 sampel (antar pengamatan)	0.0001	0.043	

Pada pengamatan selama 1 bulan rerata proliferasi kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok finasteride. Hasil uji t 2 sampel rerata proliferasi menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok ($p > 0.05$).

Pada pengamatan selama 2 bulan rerata Proliferasi pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok finasteride. Hasil uji t 2 sampel rerata proliferasi menunjukkan ($p < 0.05$) yang berarti ada perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok.

Rerata Proliferasi pada pengamatan 2 bulan lebih besar dibandingkan pada pengamatan 1 bulan pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride, sedangkan

pada kelompok finasteride terjadi sebaliknya teratannya lebih rendah. Hasil uji t pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride dan kelompok finasteride ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Analisis terhadap proliferasi dapat dibuktikan bahwa pemberian estrogen dapat meningkatkan Proliferasi sedangkan finasteride menurunkan Proliferasi.

5.1.9 Analisis regresi linier berganda TGF β -1, EGF, FGF dan Estrogen terhadap Proliferasi

Untuk mengetahui peran TGF β -1, EGF, FGF dan estrogen terhadap Proliferasi epitel dan stroma prostat dilakukan analisis regresi linier berganda. Estrogen merupakan data nominal, oleh karena diberikan bersama finasteride pada dosis tetap terhadap 1 kelompok, untuk itu dibuat dummy variabel yaitu kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride diberi kode 1 dan kelompok finasteride diberi kode 0. Adapun hasil analisis regresi linier berganda dapat dilihat dalam table 5.9 seperti berikut ini

Tabel 5.9 Analisis regresi linier berganda TGF β -1, EGF, FGF dan Estrogen terhadap Proliferasi

Variabel	B	t	Harga p
Pengamatan 1 bulan			
TGF β -1	1,035	- 2,153	0,042*
Konstanta	35,244	20,525	0,0001
Pengamatan 2 bulan			
Estrogen Finasteride	15,615	8,838	0,0001*
Konstanta	27,692	22,164	0,0001

Keterangan :

* - Signifikan

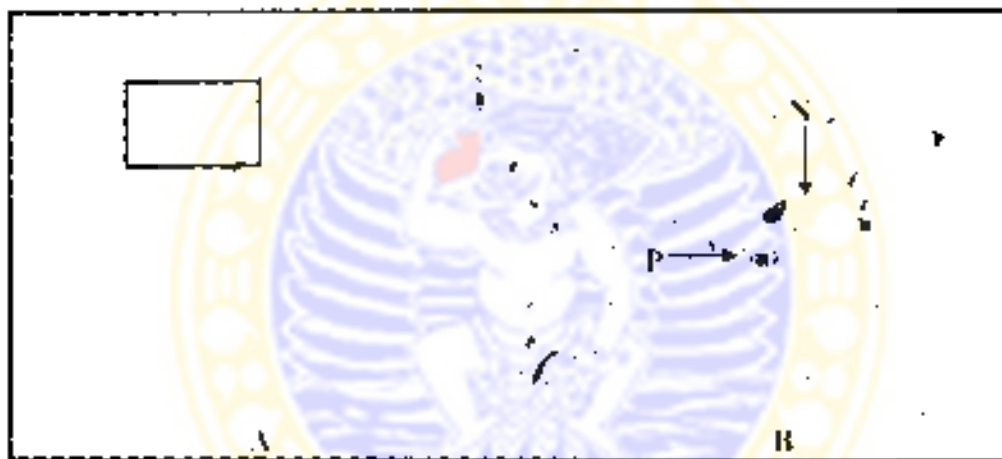
B = Beta / Slope

t = hasil uji t

Analisis regresi linier berganda dengan metode stepwise didapatkan hasil pada pengamatan 1 bulan hanya TGF β -1 yang berpengaruh negatif terhadap proliferasi. Dalam penelitian ini rendahnya TGF β -1 mempunyai peran terhadap tingginya proliferasi. Pada pengamatan selama 2 bulan hanya estrogen yang berpengaruh positif terhadap proliferasi.

5.2 Gambar hasil pewarnaan imunohistokimia

Hasil pewarnaan imunohistokimia dalam penelitian ini dilakukan terhadap jaringan prostat tikus putih wistar.



Gambar 5.1 Sayatan jaringan prostat tikus putih wistar yang diwarnai dengan imunohistokimia menggunakan antibody monoclonal TGF β pada kelompok perlakuan finasteride selama 2 bulan.

A : pembesaran 100x

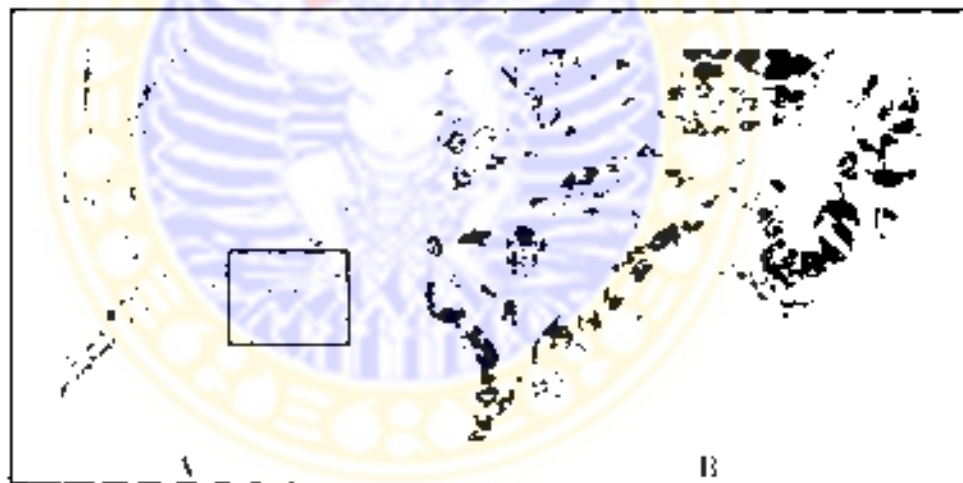
B : pembesaran 400x

N : negatif, tidak memberi reaksi warna terhadap antibody monoclonal TGF β

P : positif, memberi reaksi warna terhadap antibody monoclonal TGF β



Gambar 5.2 Sayatan jaringan prostat tikus putih wistar yang diwarnai dengan imunohistokimia menggunakan antibody monoclonal 1G11- β pada kelompok perlakuan estrogen dengan finasteride selama 2 bulan
 A : pembesaran 100x B : pembesaran 400x
 N : negatif, tidak memberi reaksi warna terhadap antibody monoclonal 1G11- β
 P : positif, memberi reaksi warna terhadap antibody monoclonal 1G11- β



Gambar 5.3 Sayatan jaringan prostat tikus putih wistar yang diwarnai dengan imunohistokimia menggunakan antibody monoclonal 1G11 pada kelompok perlakuan finasteride selama 2 bulan.
 A : pembesaran 100x B : pembesaran 400x
 N : negative, tidak memberi reaksi warna terhadap antibody monoclonal 1G11
 P : positif, memberi reaksi warna terhadap antibody monoclonal 1G11



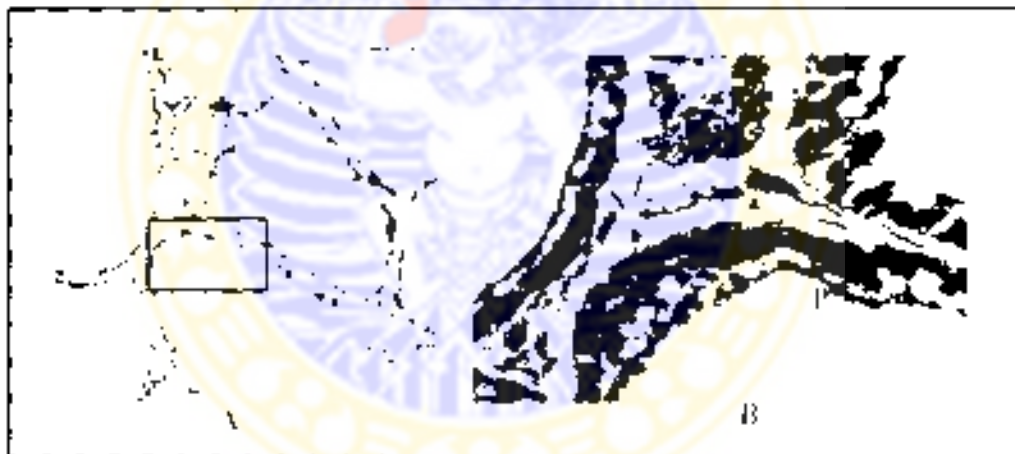
Gambar 5.4 Sayatan jaringan prostat tikus putih wistar yang diwarnai dengan immunohistokimia menggunakan antibody monoclonal EGF pada kelompok perlakuan estrogen dengan finasteride selama 2 bulan.

A : pembesaran 100x

B : pembesaran 400x

N : negatif, tidak memberi reaksi warna terhadap antibody monoclonal EGF

P : positif, memberi reaksi warna terhadap antibody monoclonal EGF



Gambar 5.5 Sayatan jaringan prostat tikus putih wistar yang diwarnai dengan immunohistokimia menggunakan antibody monoclonal EGF pada kelompok perlakuan estrogen dengan finasteride selama 2 bulan.

A : pembesaran 100x

B : pembesaran 400x

N : negatif, tidak memberi reaksi warna terhadap antibody monoclonal EGF

P : positif, memberi reaksi warna terhadap antibody monoclonal EGF



Gambar 5.6 Sayatan jaringan prostat tikus putih wistar yang diwarnai dengan imunohistokimia menggunakan antibodi monoclonal EGF pada kelompok perlakuan finasteride selama 2 bulan.
A : pembesaran 100x B : pembesaran 400x
N : negatif, tidak memberi reaksi warna terhadap antibodi monoclonal EGF
P : positif, tidak memberi reaksi warna terhadap antibodi monoclonal EGF



Gambar 5.7 Sayatan jaringan prostat tikus putih wistar yang diwarnai dengan HE untuk melihat penebalan epitel prostat (proliferasi) pada kelompok perlakuan finasteride selama 2 bulan
A : pembesaran 100x B : pembesaran 400x



Gambar 2.8. Sayatan pinggan prostat tikus putih wistar yang diwarnai dengan H&E untuk melihat penebalan epitel prostat & proliferasi \uparrow pada kelompok perlakuan estrogen dengan finasteride selama 2 bulan. A : pembesaran 100x B : pembesaran 400x



PEMBAHASAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental, menggunakan hewan coba tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar dengan berat badan : 150-200 gr umur 3 bulan sebanyak 52 buah ekor. Dibagi 2 kelompok pengamatan, yaitu kelompok pengamatan 1 bulan dan kelompok pengamatan 2 bulan, masing-masing 26 tikus. Setiap kelompok pengamatan dibagi lagi menjadi 2 kelompok pengobatan, yaitu kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride dan kelompok finasteride; diberikan obat sesuai dengan kelompoknya setiap hari selama 1 bulan dan 2 bulan. Setelah selesai perlakuan seluruh tikus masing-masing kelompok pengamatan 1 bulan dan 2 bulan diambil jaringan prostatnya dan diperiksa dengan immunohistokimia untuk melihat TGF β , EGF, FGF dan proliferasinya.

6.1 Korelasi antara TGF β -1, EGF dan FGF

Hasil korelasi Pearson didapatkan sebagian besar harga ($p > 0.05$) baik pada pengamatan 1 bulan dan 2 bulan, semua variabel yang diberi perlakuan kombinasi estrogen dengan finasteride dan yang diberi perlakuan finasteride tidak ada korelasi antara TGF β -1, EGF dan FGF. Ada 2 harga p yang kurang dari 0.05 terjadi pada pengamatan selama 2 bulan perlakuan antara TGF β -1 dengan FGF pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride dan TGF β -1 dengan EGF pada kelompok finasteride. Secara keseluruhan hasil didapatkan gambaran bahwa antara TGF β -1, EGF dan FGF tidak saling berkorelasi, tetapi antara TGF β -1 dengan FGF pada kelompok

kombinasi estrogen dengan finasteride ada korelasi. walaupun TGF β -1 dalam jaringan prostat membentuk down regulasi pada pertumbuhan sel prostat. namun TGF β -1 juga menimbulkan up regulasi produksi bFGF/FGF2 yaitu suatu faktor pertumbuhan autokrin untuk sel stroma prostat (Lokeshwar B.L. dkk, 1992)

6.2 *Transforming Growth Factor (TGF β -1)*

TGF β -1 adalah sitokin yang diproduksi oleh sel fibroblast, kondrosit, osteosis, trombosit, monosit dan sel T. TGF β -1 merupakan salah satu dari Growth Factor pada prostat. TGF β -1 mempunyai efek yang kuat untuk menghambat proliferasi pada sel epitel prostat atau stroma prostat, juga memicu apoptosis pada sel epitel prostat. Pada sel stroma prostat pada dosis rendah TGF β -1 memicu proliferasi dan pada dosis tinggi akan menghambat proliferasi sel stroma (Chatelain C, 2001).

TGF β -1 pada beberapa literatur dikatakan lebih tepat bahwa TGF β -1 dapat berperan sebagai inhibitor dan stimulator tergantung pada jenis sel, status diferensiasi dan kondisi sel. tetapi pada umumnya bersifat inhibitor (Emberton, 1999; Itoh N, 1989). Estrogen mempunyai peranan pada TGF β -1, yaitu dapat menekan ekspresi TGF β -1 (Matsuda, 2001). estrogen juga dapat mengaktifkan Growth Factor yang lain, yaitu EGF dan FGF untuk terjadinya proliferasi prostat. Finasteride adalah 5 α reduktase inhibitor type II yang menghambat perubahan testosteron menjadi dehidrotestosteron (DHT) pada membran inti sel, sehingga DHT tidak dapat berikatan dengan androgen reseptor pada inti sel untuk membentuk DNA, kemudian ditranskripsi menjadi RNA untuk membentuk protein lain dan Growth Factor, yaitu TGF β -1, EGF dan FGF. Karena finasteride menghambat DHT maka TGF β -1 akan menurun juga EGF dan FGF. Obat finasteride

sudah digunakan untuk pengobatan pada manusia yang telah mengalami pembesaran prostat (BPH). Finasteride dapat menurunkan volume prostat kemudian dapat memperbaiki gejala BPH (Kirby,1991). Pada penelitian sebelumnya pemberian 5 mg finasteride selama 12 bulan dapat menurunkan DHT sampai 75% dan volume prostat 19% serta dapat memperbaiki pancaran urin 1,6 ml/detik. Pada penelitian lain selama 2 tahun 34% penderita mengalami pengurangan volume ejakulasi dan penurunan libido serta penurunan fungsi ereksi. finasteride juga dapat menekan ekspresi PSA dalam serum sampai 50% (Mc Connell,2002). Finasteride juga dapat menyebabkan apoptosis pada sel prostat sehingga Growth Factor termasuk TGF β -1 menurun.

Finasteride merupakan kompetitif inhibitor dari enzim 5 α -reduktase, finasteride dapat menurunkan kadar dihidrotestosteron serum intraprostatik. Finasteride merupakan inhibitor yang selektif isoenzim tipe 2, sehingga tidak dapat menurunkan kadar hidrotesteron sampai kadar kastrasi karena terdapat testotesterone dalam sirkulasi diubah menjadi dihidrotestoteron oleh isoenzim tipe 1 yang terdapat dalam kulit dan hati (Lepor A. C.Lowe F, 2002; Wein AJ; Rovner ES. 2001).

Dari hasil penelitian pada kelompok 1 bulan dengan pemeriksaan imunohistokimia terhadap TGF β -1 pada kedua kelompok perlakuan; pada kelompok yang mendapatkan pengobatan kombinasi estrogen dengan finasteride didapatkan rerata TGF β -1 lebih rendah dibandingkan kelompok finasteride. Menurut hasil uji t 2 sampel rerata TGF β -1 antara kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride berbeda bermakna dari kelompok finasteride ($p < 0.05$). Hal ini sesuai dengan kepustakaan karena estrogen berperan menekan ekspresi TGF β -1 sedang finasteride menghambat atau mencegah perubahan testotesteron menjadi dihidrotestoteron (DHT), karena DHT tidak

terbentuk, maka pembentukan DNA pada inti sel prostat terganggu, akibatnya tidak terbentuk protein pembentuk Growth Factor, maka rerata TGF β -1 jumlahnya menurun. Hal ini akan menyebabkan rerata TGF β -1 pada kelompok yang mendapatkan pengobatan kombinasi estrogen dengan finasteride lebih rendah bila dibandingkan yang mendapatkan pengobatan finasteride saja.

Pada kelompok 2 bulan rerata TGF β -1 kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride lebih rendah dibandingkan dengan rerata TGF β -1 pada kelompok finasteride. Hal ini karena estrogen berperan menekan ekspresi TGF β -1 sedang finasteride menghambat atau mencegah perubahan testosteron menjadi dihidrotestosteron (DHT) yang akan memicu Growth Factor untuk menghasilkan TGF β -1, sehingga rerata TGF β -1 pada kelompok yang mendapat pengobatan kombinasi estrogen dengan finasteride lebih rendah dengan kelompok yang mendapatkan pengobatan finasteride. Apabila rerata TGF β -1 kelompok pengobatan kombinasi estrogen dengan finasteride selama 2 bulan dibandingkan dengan kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride selama 1 bulan, maka pada kelompok 2 bulan lebih rendah dari pada kelompok 1 bulan, namun secara statistik tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$). Rerata TGF β -1 pada kelompok finasteride selama 2 bulan dibandingkan dengan yang 1 bulan akan lebih rendah pada yang 1 bulan dan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Pada analisis terhadap TGF β -1, dapat dibuktikan bahwa estrogen dengan finasteride keduanya dapat menurunkan kadar TGF β -1 secara bermakna.

6.3 Epidermoid Growth Factor (EGF)

Setelah melakukan penelitian pada kelompok 1 bulan perlakuan rerata EGF pada kelompok yang mendapat finasteride lebih rendah dari pada kelompok yang mendapatkan kombinasi estrogen dengan finasteride, menurut uji t 2 sampel antara kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride dan kelompok finasteride tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$), berarti estrogen tidak bisa meningkatkan EGF pada penelitian 1 bulan, tapi pada kelompok 2 bulan estrogen bisa meningkatkan EGF secara bermakna ($p < 0,05$).

Pada kelompok finasteride nilai rerata EGF lebih rendah dari pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride, karena finasteride mencegah pembentukan DHT dari testosteron, sehingga pembentukan DNA, RNA dan protein termasuk Growth Factor yaitu EGF akan berkurang, hal inilah yang menyebabkan rerata EGF rendah, di samping itu finasteride juga menyebabkan apoptosis sel-sel prostat sehingga pembentukan Growth Factor termasuk EGF berkurang (Mc Connel,2002; Kirby,2002). Pada kelompok yang mendapatkan kombinasi estrogen dengan finasteride rerata EGF lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang mendapatkan pengobatan finasteride saja. Walaupun tidak ada perbedaan yang bermakna, hal ini disebabkan karena finasteride mempunyai peranan menghambat terbentuknya Growth Factor termasuk EGF. Receptor Estrogen (ER β) banyak terdapat pada prostat dengan adanya receptor estrogen pada Cytoplasma dan inti sel, estrogen akan mengadakan ikatan dengan DNA, kemudian mengadakan translasi membentuk mRNA terus melakukan transkripsi membentuk protein termasuk Growth Factor yaitu EGF, (Griffiths,dkk,2002; Miksicek R.,1994) sehingga kelompok yang mendapatkan pengobatan kombinasi estrogen dengan

finasteride EGF lebih tinggi. Pada pemberian estrogen dengan androgen secara sinergis menyebabkan pembesaran prostat dengan jalan memicu Growth Factor untuk tumbuh, estrogen juga meningkatkan reseptor androgen pada prostat, memudahkan ikatan antara dehidrotetosteron (DHT) dengan reseptor androgen. dengan akibat meningkatkan Growth Factor termasuk EGF (Kirby,1997; Griffith,dkk,2002)

Pada kelompok pengobatan 2 bulan rerata EGF pada kelompok yang mendapatkan pengobatan dengan finasteride lebih rendah daripada kelompok yang mendapatkan pengobatan kombinasi estrogen dengan finasteride dan ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$).

Apabila dibandingkan dengan kelompok 1 bulan dengan 2 bulan, rerata EGF pada kelompok estrogen dengan finasteride pada kelompok 2 bulan lebih tinggi daripada kelompok 1 bulan, dan secara statistik ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) juga pada kelompok yang mendapatkan pengobatan finasteride ($p < 0,05$).

Rerata EGF pada kelompok 2 bulan semua kelompok pengobatan lebih tinggi daripada kelompok 1 bulan, seharusnya pada kelompok yang mendapatkan pengobatan finasteride rerata EGF pada kelompok 2 bulan lebih rendah dari kelompok 1 bulan, karena diduga masih ada hormon testosteron yang tidak bisa dihambat finasteride. Finasteride termasuk inhibitor selektif dari isoenzim type II sedang testosteron dalam sirkulasi diubah menjadi DHT oleh isoenzim type I yang terdapat hati dan kulit, sehingga kadar DHT tidak bisa serendah kastrasi (Mc. Connel JD,1996; W.F.Ganong,2003; Lopor A, dkk,2002). akibatnya rerata EGF pada finasteride masih tinggi, hal ini mungkin juga disebabkan factor usia tikus yang semakin tua dan volume prostat relatif bertambah besar walaupun pertumbuhannya sudah dihambat oleh finasteride. Untuk kelompok

pengobatan kombinasi estrogen dengan finasteride pada kelompok pengamatan 2 bulan rerata EGF lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok pengamatan 1 bulan, karena estrogen mempunyai peranan memicu Growth Factor untuk lebih aktif (Griffith,dkk,2002), termasuk pada EGF sehingga yang mendapatkan estrogen rerata EGF lebih besar meningkat. Pada penelitian ini terbukti bahwa estrogen dapat meningkatkan EGF secara bermakna.

6.4 Fibroblast Growth Faktor (FGF)

Setelah dilakukan penelitian pada kelompok 1 bulan rerata FGF kelompok yang mendapatkan pengobatan finasteride lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok yang mendapatkan pengobatan kombinasi estrogen dengan finasteride, tetapi tidak ada perbedaan yang bermakna ($p>0,05$).

Pada kelompok yang mendapatkan pengobatan finasteride rerata FGF lebih rendah daripada kelompok yang mendapatkan pengobatan kombinasi estrogen dengan finasteride, karena pada kelompok finasteride produksi FGF dihambat oleh finasteride dengan jalan menghambat perubahan testosteron menjadi DHT karena DHT jumlahnya rendah maka pembentukan protein termasuk Growth Faktor yaitu FGF rendah (Kirby,1997; Mc. Connel,2002). Di samping itu finasteride juga memicu apoptosis pada sel-sel prostat, karena sel-sel prostat banyak yang apoptosis maka FGF juga akan turun. Pada kelompok estrogen dengan finasteride lebih tinggi daripada kelompok finasteride walaupun pembentukan FGF sudah dihambat oleh finasteride namun estrogen mempunyai peranan pada prostat yang memicu pembentukan protein Growth Faktor termasuk FGF lebih banyak daripada yang mendapatkan finasteride saja (Griffith,2002;

Kirby,1997), serta memicu proliferasi sel prostate, juga menghambat apoptosis sel prostat sehingga FGF terbentuk. Rerata FGF pada kelompok yang mendapatkan finasteride pada 2 bulan juga lebih rendah bila dibandingkan pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride tetapi secara statistik menurut uji t 2 sampel tidak ada yang bermakna ($p>0,05$).

Apabila dibandingkan antara kelompok 2 bulan dengan 1 bulan rerata FGF pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride dan finasteride pada kelompok 2 bulan lebih besar daripada kelompok 1 bulan. Pada kelompok finasteride 2 bulan rerata FGF lebih tinggi dibandingkan dengan rerata FGF 1 bulan, hal ini mungkin karena masih ada hormon testosteron yang tidak semua bisa dihambat oleh finasteride, karena finasteride adalah inhibitor selektif dari isoenzim type II sedang testosteron dalam sirkulasi dapat diubah menjadi DHT oleh isoenzim type I yang terdapat pada hati dan kulit sehingga kadar DHT tidak bisa serendah kastrasi (Lepor AC, Lowe F.,2002; Wein AJ, Rovner ES,2001), akibatnya FGF masih tetap ada, disamping itu pernah juga dilakukan penelitian, pemberian finasteride menurunkan kadar DHT pada prostat tetapi juga meningkatkan testosteron (FW.George,1997). Pada penelitian pendahuluan (Lampiran 13) terbukti bahwa finasteride dapat menurunkan FGF secara bermakna pada pengamatan 2 bulan.

Pada kelompok kombinasi estrogen dan finasteride pada pengamatan 2 bulan rerata FGF lebih tinggi dibandingkan pada pengamatan 1 bulan, namun secara statistik tidak bermakna ($p>0,05$). Pada penelitian ini estrogen tidak dapat meningkatkan FGF secara bermakna ($p>0,05$). Hal ini disebabkan diduga karena waktunya kurang lama atau dosis estrogen yang digunakan kurang sensitif terhadap FGF

6.5 Proliferasi

Setelah dilakukan penelitian selama 1 bulan rerata proliferasi kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok finasteride, tetapi secara statistik menurut uji t 2 sampel tidak bermakna ($p > 0,05$). Kelompok yang mendapatkan kombinasi estrogen dengan finasteride rerata proliferasi lebih tinggi karena estrogen berperan memicu proliferasi langsung pada sel prostat, memicu Growth Factor melalui EGF dan FGF untuk mengadakan proliferasi, mencegah ekspresi TGF β -1 dan mencegah apoptosis sehingga banyak sel-sel prostat baik pada epitel dan stroma mengalami proliferasi (Story,1995; Mc. Connel,1998; Kirby,1998; Matsuda,2001). Namun pada kelompok 1 bulan ini pertambahan proliferasinya tidak bermakna secara statistik bila dibandingkan dengan kelompok finasteride. Hal ini diduga waktunya kurang lama. Pada kelompok 1 bulan yang mendapatkan pengobatan kombinasi estrogen dengan finasteride, finasteride juga berperan menghambat terbentuknya DHT, sehingga Growth Factor khususnya EGF, FGF, dan KGF tidak bisa mengadakan proliferasi namun efek dari estrogen lebih besar dari finasteride sehingga rerata proliferasi cukup tinggi.

Pada kelompok 2 bulan, rerata proliferasi pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride lebih tinggi dibandingkan kelompok finasteride, menurut uji t 2 secara sampel bermakna ($p < 0,05$), karena estrogen berfungsi memicu proliferasi pada sel prostat, menghambat ekspresi TGF β -1, yang berperan menghambat proliferasi dan memicu apoptosis sehingga kelompok estrogen proliferasinya meningkat. Bila dibandingkan dengan kelompok 1 bulan maka pada kelompok 2 bulan rerata proliferasi pada kelompok kombinasi estrogen dengan finasteride lebih tinggi dibandingkan

kelompok 1 bulan, dan secara statistik menurut uji t 2 sampel bermakna ($p < 0,05$), karena estrogen memicu proliferasi pada sel epitel dan sel stroma prostat juga memicu Growth Factor, yaitu EGF dan FGF untuk pembentukan proliferasi. Kelompok yang mendapatkan pengobatan finasteride rerata proliferasi pada kelompok 2 bulan lebih rendah dibanding dengan kelompok 1 bulan, karena finasteride mempunyai peranan mencegah terbentuknya hormon DHT sehingga Growth Factor kurang terbentuk maka proliferasi turun, di samping itu pengobatan finasteride menyebabkan apoptosis pada sel-sel prostat, sehingga rerata proliferasi pada kelompok finasteride akan mengalami penurunan setelah 2 bulan. Pada penelitian ini dapat dibuktikan bahwa pemberian estrogen dapat meningkatkan proliferasi pada sel prostat secara bermakna, sedangkan pemberian finasteride juga dapat menurunkan proliferasi pada sel prostat secara bermakna.

Analisis regresi linier berganda didapatkan hasil pada pengamatan 1 bulan hanya TGF β -1 yang berpengaruh negatif terhadap proliferasi, karena TGF β -1 adalah salah satu Growth Factor yang menghambat proliferasi baik pada sel epitel maupun stroma prostat (Itoh N,1989). TGF β -1 juga memicu terjadinya apoptosis pada sel prostat, dikatakan juga bahwa dosis tinggi TGF β -1 pada sel stroma prostat berperan menghambat proliferasi sedangkan pada dosis rendah memicu proliferasi (Chatelain,2001) sehingga dengan penurunan TGF β -1 terjadi peningkatan proliferasi pada sel epitel dan sel stroma prostat. Sebaliknya pada sel kanker menunjukkan over ekspresi TGF β -1 dan resistan terhadap efek inhibisi TGF β -1 (Wolff JM,1998). Dalam penelitian ini penurunan TGF β -1 mempunyai peran terhadap tingginya proliferasi. Pada pengamatan selama 2 bulan hanya estrogen yang berpengaruh positif terhadap proliferasi, karena estrogen memicu proliferasi pada semua jaringan khususnya sel prostat menghambat ekspresi TGF β -1 dan

menghambat apoptosis pada semua jaringan termasuk sel prostat, sehingga bila terjadi peningkatan estrogen maka akan terjadi peningkatan proliferasi, dan sebaliknya.

Pada proses ketuaan, fungsi testis khususnya sel Leydig menurun, akibatnya testosteron menurun, dengan penurunan testosteron, untuk menjaga homeostasis maka terjadi peningkatan estrogen dari kelenjar adrenal, aromatisasi zat lemak perifer dan aromatisasi androstenedion adrenal. Estrogen berfungsi memicu proliferasi sel epitel dan stroma prostat, menghambat apoptosis dengan jalan menekan ekspresi TGF β -1. Dengan meningkatnya estrogen, maka penurunan TGF β -1 yang berperan menghambat proliferasi dan memicu apoptosis jumlahnya menurun, mengakibatkan proliferasi semakin banyak dan lama kelamaan dapat terjadi BPH.



TEMUAN BARU

Temuan baru yang dapat ditemukan berdasarkan hasil penelitian ini adalah terungkapnya mekanisme kejadian BPH, oleh karena peningkatan estrogen pada proses ketuaan, penurunan TGF β -1 dan peningkatan EGF serta peningkatan proliferasi. Semakin lama pemberian estrogen, semakin terjadi penurunan TGF β -1, semakin terjadi peningkatan EGF dan semakin terjadi peningkatan proliferasi. Bila peningkatan estrogen berlangsung lama, lama-kelamaan akan terjadi BPH.



BAB 8

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 KESIMPULAN

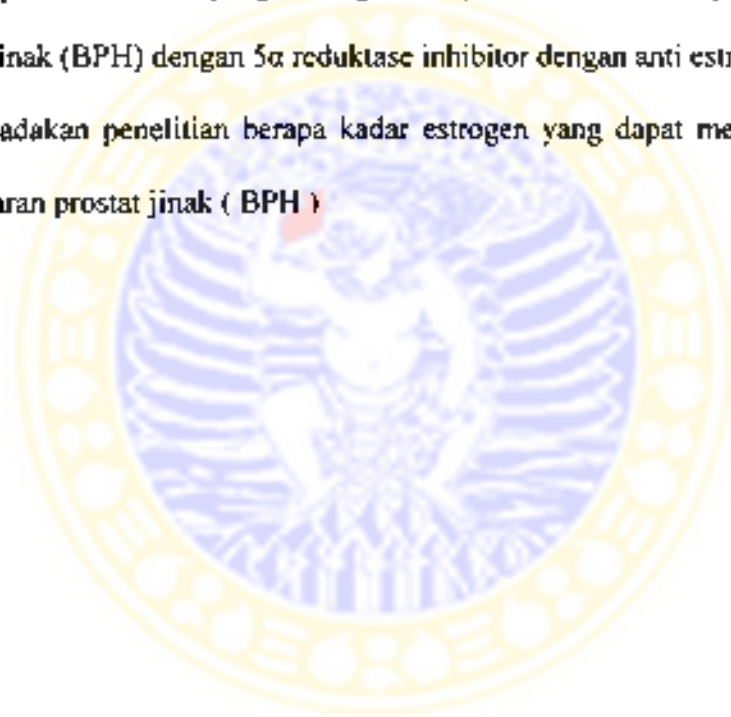
Berdasarkan hasil analisis dan pembahasan hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Pemberian kombinasi 5 α reduktase inhibitor dan estrogen dapat menurunkan ekspresi TGF β -1 di kelenjar prostat pada tikus putih (*Wistar*) usia lanjut.
2. Pemberian kombinasi 5 α reduktase inhibitor dan estrogen dapat meningkatkan ekspresi EGF di kelenjar prostat pada tikus putih (*Wistar*) usia lanjut.
3. Pemberian kombinasi 5 α reduktase inhibitor dan estrogen tidak merubah ekspresi FGF di kelenjar prostat pada tikus putih (*Wistar*) usia lanjut.
4. Pemberian kombinasi 5 α reduktase inhibitor dan estrogen dapat meningkatkan proliferasi sel epitel prostat pada tikus putih (*Wistar*) usia lanjut.
5. Bila dibandingkan pemberian estrogen 2 bulan dengan 1 bulan, maka pada pemberian estrogen selama 2 bulan TGF β -1 semakin rendah. EGF semakin tinggi dan proliferasi semakin banyak. Hal ini membuktikan bahwa peningkatan estrogen semakin lama akan semakin banyak proliferasi dan lama-kelamaan akan terjadi BPH.
6. Pada penelitian ini menggunakan tikus putih yang dituakan (menggunakan finasteride). Pada pemberian estrogen meningkatkan EGF, serta menurunkan ekspresi TGF β -1 dan meningkatkan proliferasi, sedang finasteride menurunkan

ekspresi TGF β -1, EGF dan IGF, sehingga penghambatan proliferasi epitel dan stroma menurun, sedangkan proliferasi epitel dan stroma meningkat, lama kelamaan akan terjadi BPH.

7.2 SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang terapi medikamentosa pada pembesaran prostat jinak (BPH) dengan kombinasi 5 α reduktase inhibitor dengan anti estrogen.
2. Perlu dipikirkan untuk pengembangan terapi medikamentosa pada pembesaran prostat jinak (BPH) dengan 5 α reduktase inhibitor dengan anti estrogen.
3. Perlu diadakan penelitian berapa kadar estrogen yang dapat memicu terjadinya pembesaran prostat jinak (BPH)



DAFTAR PUSTAKA

Ashkemazi A dan Dixit VM : Seath receptor : *Signaling and Modulation*. Science vol 281 (28) August 1988 : 1305-1308.

Alarid E.T., Rubin J.S., Young P. et al.: *Keratinocyte Growth Factor Functions in Epithelial Induction during Seminal Vesicle Development*. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91: 1074-1078.

A.T.K. Cocckel, S.Khoury, Y. Aso, C. Chatelain, L. Denis, K Griffiths, G. Murphy : *The Regulasi of Prostate Growth pada The 3rd International Conculatation on Benign Prostatic Hyperplasia (BPH)*. Monaco June 1995:73

Begun F., Story M.T., Hopp K., et al: *Regional Concentration of Basic Fibroblast Growth Factor inNormal and Benign Hyperplastic uman Prostates*. J. Urol 1995; 153; 839-43.

Berry JS, Coffey DS, Walsch PC, Ewing LL,1984. *Development of human benign prostatic hyperplasia with age.*, J.urol 132; 474 – 479

Blotnick S., Peoples G.E., Freeman M.R., et al.: *T Lymphocytes synthesize and export heparin-binding Epidermal Growth Factor-like Growth Factor and Basic Fibroblast Growth Factor, Mitogens for Vascular Cells and Fibroblasts: Differential Production and Release by CD4+ and CD3+ T Cells*. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91: 2890-2894.

Bonnet P., Reiter F., Bruyninx M. et al.: *Benign Prostatic Hyperplasia and Normal Prostate Aging: Differences in Type I and II 5-alpha-reductase and Steroid Hormone Receptor Messenger Ribonucleic Acid (mRNA) Levels. but not in Insulin-like Growth Factor mRNA Levels*. J.Clin Endocrinol Metab 1983; 77: 1203-1208.

Borish LK.C., Steinke J.W.: *Cytokine and Chemokines*. J. Allergy Clin Immunol ; 2003 Feb; 111(2): 460-475.

Bretland A.J., Reid S.V., Chapple C.R., Eaton C.L.: *Role of Endogenous Transforming Growth Factor Beta (TGF beta) 1 in Prostatic Stromal Cells*. *Prostat* 2001 Sep 15; 48(4): 297-304

Brogli E., Wu T., Namiki A., Isner J.M.: *Indirect Angiogenic Cytokines Upregulate VEGF and bFGF gene Expression in Vascular Smooth Muscle Cells, whereas Hypoxia Upregulates VEGF Expression only*. *Circulation* 1994; 90: 649-652.

Bruckheimer EM, Spurgers K, Weigel NL, Logothetis C, McDonnell TJ. *Regulation of Bcl-2 expression by dihydrotestosterone in hormone sensitive LNCaP-FGC prostatic cancer cells* *The J. of Urology* 2003, 169 (4) : 1553 – 1557

Brooks JD.: *Anatomy of The Lower Tract and Male Genitalia*. In wals PC, Retik AB, Vaughan ED Jr, Wein A, eds *Cambels urology*, 8th edn, Philadelphia: WB Saunders: 2002:41-79

Cardillo MR, Petrangeli E, Salvatori L, Ravenna L, Di Silverio F. *Transforming Growth Factor beta 1 and Androgen receptors in Prostatic Neoplasia*, *Anal Quant Cytol Histol* 2000 Oct;22(5) : 403-10

Chang N.S. 1997 : *Hyaluronidase Enhancement of TNF-mediated Cell Death is Reserved by TGF-β1*, *American Physiological Society*, 1987-1994

Chatelain C, Denis L, Khoury S, Mc Connell J. 2001 : *Regulation of Prostate Groups in Benign Prostatic Hyperplasia* 5th edition p. 81- 99. .

Coffey D.S., Walsh P.C.: *Clinical and Experimental Studies of Benign Prostatic Hyperplasia*. *Urol Clin North Am* 1990; 17: 461-475.

Cohen P., Pechl D.M., Baker B. et al.: *Insulin-like Growth Factor Axis Abnormalities in Prostatic Stromal Cells from Patients with Benign Prostatic Hyperplasia*. *J. Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 1410-1415.

Conran Ramzi S.M.D., Kumar Vinay M.D., F.R.C.Path., Collins Tucker, M.D.,PhD.: *Pathologic Basic of Diseases*.1999, 6th edition p.89-112

Ching K.Z., Ramsey E., Pettigrew . et al.: *Expression of mRNA for Epidermal Growth Factor, Transforming Growth Factor-alpha and their Receptor in Human Prostate Tissues and Cell Lines.* Mol Cell Biochem 1993; 67: 151-158.

Crescioli C., Maggi M., Vannelli G.B.: *Effect of a Vitamin D₃ Analogue on Keratinocyte Growth Factor-Induced Cell Proliferation in Benign Prostat Hyperplasia.* J of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2000, vol 85 (7): 2576-2583.

Dahiya R, Lee C, Haughney PC, Chui R, Ho R, Deng G. *Differential Gene Expression of Transforming Growth Factor Alpha and beta, Epidermal Growth Factor, Keratinocyte Growth Factor, and Their Receptors in Fetal and Adult Human Prostatic Tissues and cancer Cell Lines.* Urology 1996 Dec;489(6) : 963-70

Deering R.E., Bigler S.A., Brown S.A., Brawer M.K.: *Microvascularity in Benign Prostatic Hyperplasia.* Prostate 1995; 26: 111-115.

Desgrandchamps F, Tatoud R, Cussenot O, Teillac P, Le Duc A. *Prostatic Growth Factors and benign Hypertrophy of the Prostat.* Prog Urol 1992 Dec;2(6) : 1031-44

Donatus IA, Nurlaila, 1986. *Obat Tradisional dan Fitoterapi. Uji Toksikologi.* Makalah Kursus Penyegaran Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta

Emberton M and Mudy A.R : *The Prostate and Benign Prostatic Hyperplasia.* In : Scientific Basis of Urology, 199 : 257-273.

Freeman M.R., Uchida T., Soker S, et al.: *HB-EGF Expression is Decreased and VEGF is Increased in the Progression of Normal to Transformed Prostate Epithelial.* J Cell Biochem 1994; (suppl 18D): 221.

Fallon J.F., Lopez A, Ros M, et al : *FGF-2: Apical Ectodermal Ridge Growth Signal for Check Limb Development.* Science 1994; 264: 104-106.

Fukabori Y, Nakano K, Ohyama A, Yamanaka H. *Stimulative Effect of Transforming Growth Factor-beta on Collagen Synthesis by Human Prostatic Stromal Cells in Vitro.* Int J Urol 1997 Nov;4(6) : 597-602

Glynn-Jones E., Harper M.E., Goddard J., et al.: *Transforming Growth Factor Beta 1 Expression in Benign and Malignant Prostatic Tumours*. *Prostate* 1994; 25: 210-218.

Ganong WJ, 2003. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 17. Hal.362.

Geller J., Sionit L.R., Baird A., et al.: *In Vivo and In vitro Effects of Androgen on Fibroblast Growth Factor-2 concentrations in the Human Prostate*. *Prostate*. 1994; 25: 206-209.

George F.W.: *Androgen Metabolism in The Prostate of The Finasterid-Treated, Adult Rat Possible Explanation for The Differential Action of Testosterone and 5 alpha Dihydrotestosterone During Development of The Male Urogenital Tract*. *Endocrinology*.1997 Mar;138(3):871-7

Giri D.K., Wadhwa S.N., Upadhaya S.N. Talwar G.P.: *Expression of NEU/HER2 Oncoprotein (p185neu) in Prostate Tumors: an Immunohistochemical Study*. *Prostate* 1993; 23: 329-347.

Graham C.W., Lynch J.H., Djakiew D.: *Distribution of Nerve Growth Factor-like Protein and Nerve Growth Factor Receptor in Human Prostatic Hyperplasia and Prostatic Adenocarcinoma*. *J. Urol* 1992; 147: 1444-1447.

Gregory H., Willshire I.R., Kavanagh J.P., et al.: *Urogastrone-epidermal Growth Factor Concentrations in Prostatic Fluid of Normal Individuals and Patients with Benign Prostatic Hypertrophy*. *Clin Sci* 1986; 70: 359-363.

Griffiths, Denis, Turkes, 2002. *Oestrogens, Phyto-Oestrogens and the Pathogenesis of Prostatic Disease* p. 67 - 158.

Huynh H., Alpert L., Alsoufi-Jamali M.A., C.Y. Ng.: *Co-administration of finasterid and the pure anti-oestrogen ICI 182,780 act synergistically in modulating the IGF system in rat prostate*. *J Endocrinology*.2001, 171:109-108

Higgins JE, Klingaun AP, Miller P, 1985. *Introduction To Randomiser Clinical Trials. The Basics of Randomizer Clinical Trials With An Emphasis On Contraceptive Research*. Family Health International Research Triangle Park, North Carolina 27709 USA, pp.30-31

Hague A, Bracey TS, Hicks DJ, Reed JC, Paraskeva C. *Decreased level of p26-Bcl-2, but not p30 phosphorylated Bcl-2, precede TGFβ1-induced apoptosis in colorectal adenoma cells.* *Carcinogenesis* 1998, 19 (9) : 1691-1695

Hamblin A.S. : *Cytokine and Cytokine Receptors.* IRC press 1993 : 1-40.

Hanahan D, Robert A, Weinberg : *The Hallmarks of Cancer Cell,* 2000, 100 (7) : 57 – 70

Harris S.E., Harris M.A., Mahy P. et al.: *Expression of Bone Morphogenetic Protein Messenger RNAs by Normal Rat and Human Prostate and Prostate Cancer Cells.* *Prostate* 1994; 24: 204-211.

Higashiyama S., Abraham J.A., Klagsbrun M.: *Heparin-binding EGF-like growth Factor Stimulation of Smooth Muscle Cell Migration: Dependence on Interactions with Cell Surface Heparan Sulfate.* *J. Cell Biol* 1993; 122: 933-940.

Higashiyama S., Iwamoto R., Goishi K. et al.: *The Membrane Protein CD9/DRAP 27 Potentiates the Juxtacrine Growth Factor Activity of the Membrane-anchored Heparin-binding EGF-like Growth Factor.* *J. Cell Biol* 1995; 128: 929-938.

Itoh N, Patel U, Cupp AS, Skinner MK. *Developmental and Hormonal Regulation of Transforming Growth Factor-beta1 (TGFβ1),-2, and -3 Gene Expression in Isolated Prostatic Epithelial and Stromal Cells: Epidermal Growth Factor and TGFβ Interactions.* *Endocrinology* 1998 139(30) : 1378-88

Ivanovic V., Melman A., Davis J.B., : *Elevated Plasma Levels of TGF beta 1 in Patients with Invasive Prostatic Cancer.* *Nat Med* 1995 Apr, 1(4): 282-4.

Johnson G.R., Wong L.: *Heparan Sulfate is Essential to Amphiregulin-induced Mitogenic Signalling by Epidermal Growth Factor Receptor.* *J. Biol Chem* 1994; 269: 27149-27154.

Jones D.A.: *Benign Prostatic Hypertrophy and Lower Urinary Tract Dysfunction.* In: Weiss R.M., George N., O'Reilly P.H.,eds. *Comprehensive Urology 1st England* : Mosby; 2001; 541-63.

Karunakaran D., Tzahar E., Liu N. et al.: *Neu Differentiation Factor Inhibits EGIF binding. A Model for Trans-regulation within the ErbB family of Receptor Tyrosine Kinase.* J. Biol Chem 1995; 270: 9982-9990.

Kassen A, Berges R, Senge T. *Effect of beta-Sitosterol on Transforming Growth Factor-beta1 Expression and Translocation Protein Kinase C alpha in Human Prostat Stromal Cells in Vitro.* Eur Urol 2000 Jun;37(6) : 735-41

Ku P.T., D'Amore P.: *Regulation of Basic growth Factor (bFGF) Gene and Protein Expression following its Release from Sublethally Injured Endothelial Cells.* J. Cell Biochem 1995; 58: 328-343

Kirby R, Fitzpatrick, Kirby M, Fitzpatrick A. 1994. *Shared Care for Prostatic Diseases,* Oxford: MSD, p. 37-39, 40-42

Kirby RS, Christmas TJ, 1997. *Benign Prostatic Hyperplasia,* 2 nd edition, Mosby, p.15,20,113,122

Katzung BGI. *Farmakologi Dasar dan Klinik. Penerjemah dan editor Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.* Penerbit Salemba Medika; Jakarta. 2002 : 657.

Lee C, Sintich SM, Mathews EP, Shah AH, Kundu SD, Perry KT, Cho JS, Iio KY, Cronauer Mv, Janulis L, Sensibar JA. *Transforming Growth Factor-beta in Benign and Malignant Prostat.* Prostat 1999 Jun 1;39(4) : 285-90

Lepor A. C.Lowe F.: *Evaluation and Nonsurgical Management of Benign Prostatic Hyperplasia in Campbell's Urology* 8th ed. Philadelphia : WB Saunder. 2002 p1335-1378

Lokeshwar B.L., Block N.I.: *Isolation of a Prostate Carcinoma Cell Proliferation-inhibiting Factor from Seminal Plasma and its Similarity to Transforming Growth Factor Beta.* Cancer Res 1992; 52: 5821-5825.

Marie P.J., Hott M., Launay J.M. : *In Vitro Production of Cytokines by Bone Surface-derived Osteoblastic Cells in Normal and Osteoporotic Postmenopausal Women : Relationship with Cell Proliferation. J. Of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 1993, Vol 77 (3) : 824-830.

Matsuda T, Yamamoto T, Muraguchi A, Saatcioglu F, 2001. *Cross - Talk between transforming growth factor - beta and estrogen receptor signaling through Smad3. Departement of Immunology, Faculty of Medicine, Toyama medical and Pharmaceutical University, 2630 Sugitani, toyama 930-0194, Japan. J. Biol Chem* 2001 Nov 16; 276 (46) : 42908-14.

Mc Connel J.D .1996 : *5 Alpha reductase in prostate disease in Textbook of Benign Prostatic Hyperplasia* p : 85-89

Mc Connell JD, Roehrborn Claus G, MD, 2002. *Epidemiology, etiology, Pathophysiology, and Diagnosis of Binign Prostatic Hyperplasia.* In Cambell s Urology. 8th edition, Vol.2. p.1297-1372

McKeehan W.L., Adams P.S.,: *Heparin binding Growth Factor/prostatropin Attenuates Inhibition of Rat Prostate Tumor Epithelial Cell Growth by Transforming rowth Factor type Beta.* *In Vitro Cell Dev Biol* 1988; 24: 243.

Merz V.W., Miller G.J., Krebs et al.: *Role during Progression Elevated Transforming Growth Factor $\beta 1$ dan $\beta 3$ mRNA Levels are Associated with ras + myc-induced Carcinoma in Reconstituted Mouse Prostate: Evidence for a Paracrine.* *Mol Endocrinol* 1992; 6: 15-.

Merz V.W., Arnold A.M., Studer U.E. : *Differential Expression of Transforming Growth Factor beta 1 and beta 3 as well as c-fos mRNA in Normal Humun Prostate, Benign Prostatic Hyperplasia and Prostatic Cancet.* *World J. Urol.* 1994; 12(2) : 96-8.

Miksicek, R. 1994. *Interaction of Natural occurring nonsteroidal estrogen with expressed recombinant estrogen receptor.* *J Steroid Biochem Mol Biol* 49:pp153-160

Millan F.A., Denhez F., Kondaiab P., Akhurst R.J.: *Embryonic Gene Expression Patterns of TGF β 1, beta 2 and beta 3 Suggest Different Development Functions in vivo.* *Development* 1991; 111: 131-143.

Meng Liu M, Chris Albanese, Carol M. Anderson, Kristin Hilty, Paul Webb, Rosalie M. Uht, Richard G. Pestell, Peter J.Kushner.: *Opposing Action of Estrogen Receptor α and β on Cyclin D1 Gene Expression*. J.Steroid Biochem Mol Biol 2002.Vol.277No.27

Mooradian D.L., McCarthy J.B., Komanduri K.V., Furcht L.T.: *Effects of Transforming Growth Factor-beta 1 on Human Pulmonary Adenocarcinoma cell Adhesion, Motility and Invasion in vitro*. J. Natl Cancer Inst 1992; 84: 523-527.

Muthukrishnan L., Warder E., McNeil P.: *Basic Fibroblast Growth Factor is Efficiently Released from Cytosolic Storage Site through Plasma Membrane Disruptions of Endothelial Cells*. J. Cell Physiol 1991; 148: 1-16.

Orlandi A., Ropraz P., Gabbiani G.: *Proliferative Activity and Alpha Smooth Muscle Actin Expression in Cultured Rat Aortic Smooth Muscle Cells are Differently Modulated by Transforming Growth Factor beta 1 and Heparin*. Exp Cell Res 1994; 214: 528-536.

Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB 2001. *Transforming Growth Factor in Medical Immunology* 10th edition, p.161-2

Partin Alan, W, MD, PhD, Rodriguez Ronald, MD, PhD, 2002 *The Molecular Biology, Endocrinology, And Physiology of The Prostate and Seminal Vesicles in Cambell's Urology* 8th Edition Vol.2, p. 1237 -128

Peoples G.E., Blotnick S., Takahashi K. et al.: *T Lymphocytes that Infiltrate Tumors and Atherosclerotic Plaques Produce HB-EGF and bFGF: a Pathologic Role*. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92: 6547-6551.

Presti JC Jr. : *Neoplasma of The Prostate Gland*. Dalam Tanagho EA, McAninch JW,eds. *Smith's General Urology* 15th ed. International edition : McGraw Hill; 2000:399-417

Reed JC : Warner-Lambert / Parke-Davis Award Lecture. *Mechanism of apoptosis*. *American Journal of Pathology* vol 157 (5) Nov 2000 : 1415 - 1430.

Robertson C.N., Robertson K.M., Herzberg A.J. et al.: *Differential Immunoreactivity of Transforming Growth Factor alpha in Benign, Dysplastic and Malignant Prostatic Tissues*. Surg Oncol 1994; 3: 237-242.

Robson C.M., Granapragasson V., Byrne R.E.: *Transforming Growth Factor-beta 1 upregulates p15, p21 and p27 and Blocks Cell Cycling in G1 in Human Prostat Epithelium*. J. Endocrinol 1999 Feb; 160: 257-60.

Saez C., Gonzales-Baena A.C., Japon M.A., : *Regressive Changes in Finasteride-treated Human Hyperplastic Prostat Correlate with an Upregulation of TGF-beta Receptor Expression*. Prostat 1998 Oct 1; 37(2): 84-90.

Sakko A.J., Ricciardelli C., Mayne K., : *Versican Accumulation in Human Prostatic Fibroblast Cultures is Enhanced by Prostate Cancer Cell-derived Transforming Growth Factor β 1*. Cancer Research. Feb 2000, 61 : 926-930

Savage M.O., Sultan C. Intersex. In : Mundy A.R., Fitzpatrick J.M., Neal D.E. eds. *The Scientific Basis of Urology*. Oxford : Isis Medical Media; 1999; 424.

Salm S.N., Koikawa Y., Ogilvie V., : *Transforming Growth Factor-beta is an Autocrine Mitogen for a Novel Androgen-Responsive Murine Prostatic Smooth Muscle*. PSMCI. J. Cell Physiol 2000 Dec; 185(3): 416-24.

Schgal I, Bailey J., Hitzemann K. et al.: *Epidermal Growth Factor Receptor-dependent Stimulation of Amphiregulin Expression in Androgen-stimulated Human Prostate Cancer Cells*. Mol Biol Cell 1994; 5: 339-347.

Smith E.P., Russell W.F., French F.S., Wilson E.M. et al.: *A Form of Basic Fibroblast Growth Factor is Secreted into Adluminal Fluid of the Rat Coagulating Gland*. Prostate. 1989; 14: 353.

Steiner M.S., Barrack E.R.: *Transforming Growth Factor-beta 1 Overproduction in Prostate Cancer: Effect on Growth in vivo and in vitro*. Mol Nedocrinol 1992; 6: 15-25.

Steiner M.S.: *Review of Peptide Growth Factors in Benign Prostatic Hyperplasia and Urological Malignancy*. J. Urol. 1995; 153: 1085-1096.

Stein J., Borzillo G.V., Rettenmier C.W.: *Direct Stimulation of Cells Expressing Receptors for Macrophage Colony Stimulating Factor (CSF-1) by a Plasma Membrane-bound Precursor of Human CSF-1*. *Blood* 199, 76: 1308-1314.

Stephen J. Berry, Donald S., Coffey, Patrick C., Walsh, Larry L. Ewing : *The Development of Human Benign Prostatic Hyperplasia with age*. *J. Urol* 1984: 132:474-479,

Shu Jie , Chun Xiao, Xiao-Da TANG, Wan-Zhong Wang, De-Li. *Apoptosis and Hormonal Milieu in Ductal System of Normal Prostat and Benign Prostat hyperplasia*. *Asian j Androl* 2001. Jun; 3 : 131 - 134

Tsurusaki T, Aoki D dkk. *Zona - Dependent Expression of Estrogen Receptore α and β in Human Benign Prostat Hyperplasia*. Nov 25, 2001; terdapat di <http://www.medscape.com>

Sugandi S.: *Hubungan antara rasion kadar estradiol atau testosteron dalam plasma dengan volume prostat pada pria dewasa dalam kaitannya dengan usaha untuk menentukan hiperplasia prostat benigna*. 1996

Story M.T., Livingston B., Bacten L., et al.: *Cultured Human Prostate-derived Fibroblasts Produce a Factor that Stimulates their Growth with Properties Indistinguishable from Basic Fibroblast Growth Factor*. *Prostate* 1989, 15: 355-365.

Story M.T., Hopp K.A., Meier D.A., et al.: *Influence of Transforming Growth Factor Beta 1 and Other Growth Factors on Basic Fibroblast Growth Factor Level and Proliferation of Cultured Human Prostate-derived Fibroblast*. *Prostate* 1993; 22: 183-97.

Story MT, Hopp KA, Meier DA. *Characteristics of FGF-receptor Expressed by Stromal and Epithelial Cells Cultured from Normal and Hyperplastic Prostates*. *Growth Factors* 1994;10(4) : 269-80

Story MT, Hopp KA, Meir DA. *Regulation of Basic Fibroblast Growth Factor Expression by Transforming Growth Factor in Cultured Human Prostat Stromal Cells*. *Prostat* 1996 Apr;28(4) : 219-26

Story MT, 1995. *Regulation of prostatic growth by fibroblast growth factors*. World J. Urol; 13(5) : 297-305

Suryohudoyo P (2000) : *the molecular basis of apoptosis*. From basic to clinical application.

Sunaryo, 1999. *Binigna Prostat Hiperplasia*, hal. 3-4. Airlangga University Press

Suzuki K., Takezawa Y., Suzuki T., Honma S., Yamanaka H.: *Synergistic effect of estrogen with androgen on the prostate—effect of estrogen on the prostate of androgen-administered rats and 5 alpha reductase activity*. Prostate. 1994 oct; 25(4): 169-76.

Suzuki K, Okazaki H, Ono Y, Kurokawa K, Suzuki T, Onuma E, Takanashi H, Mamiya Y, Yamanaka H.: *Effect of dual inhibition of 5 alpha reductase and aromatase on spontaneously developed canine prostatic hypertrophy*. Prostate 1998 Oct 1; 37(2): 70-6

Thomas TZ, Chapman SM, Honh W, Gurusingshe C, Mellor SL, Flechter R, Pedersen J, Risbridger GP. *Prostate* 1998 Jan 1 ; 34 (1) : 34-43.

Thompson T.C., Timme T.L., Kadmon D. et al: *Genetic Predisposition an Mesenchymal-epithelial Interaction in ras+myc-induced Carcinogenesis in Reconstructed Mouse Prostate*. Mol Carcinog 1993; 7: 165-179.

Thornberry NA and Lazebnik : *Caspase enemies within*. Science vol 281 (28) August 1998 : 1313-1316.

Timme TL, Yang G, Rogers E, Kadmon D, Morganstern JP, Park SH, Thompson TC. *Retroviral Transduction of Transforming Growth Factor-beta1 Induces Pleiotropic Benign Prostatic Growth abnormalities in Mouse Prostate Reconstitutions*. Lab Invest. 1996 Apr; 74(4) : 747-60

Tutrone R.F., Ball R.A., Ornitz D.M. et al.: *Benign Prostatic Hyperplasia in Transgenic Mouse: a New Hormonally Sensitive Investigatory Model*. J. Urol 1993; 149: 633-639.

Tzahar E., Levkowitz G., Karunakaran D. et al.: *Erb B-3 and Erb B-4 function as the Low and High Affinity Receptors of All Neu Differentiation Factor/heregulin Isoforms.* J. Biol Chem 1995; 270: 9982-9990

Vlahos C., Kriauciunas T.D., Gileason P.E. et.al.: *Platelet-derived Growth Factor Induces Proliferation of Hyperplastic Human Prostatic Stromal Cells.* J. ell Biochem 1993; 52:404-413.

Wein AJ, Rovner ES. *Benign Prostatic Hyperplasia in Clinical Manual of Urology* 3rd ed. Mc Graw-Hill.2001;463-4

Weisser H., Krieg M.: *Benign Prostatic Hyperplasia- The Outcome of Age-Induce Alteration of Androgen-Estrogen Balance?* Urologe A. 1997 Jan;36(1):3-9

Wolf BB and Green DR : *Smucidal tendencies : Apoptosis cell death by caspase family protein acid.* The journal of biological chemistry vol 274 (29) July 1999 : 20049-20052

Wolff JM, Fandel T, Borchers H, Bremer B Jr, Jakse G. *Transforming Growth Factor-beta1 Serum Concentration in Patients with Prostatic Cancer and benign Prostatic Hyperplasia.* Br J Urol 1998 Mar;81(3) : 403-5

Wong S.T., Winchell L.F., McCune B.K. et al.: *The TGF α Precursor Expressed on the Cell Surface Binds to the EGF Receptor on Adjacent Cells Leading to Signal transduction* 1989; 56: 495-506.

Wright J.A., Turley E.A., Greenberg A.H.: *Transforming Growth Factor Beta and Fibroblast Growth Factor as Promoters of Tumor Progression to Malignancy.* Crit Rev Oncog 1993; 4: 473-492.

Wu S.F., Sun H.Z., Qi X.D., Tu Z.H.: *Effect of Epristeride on the Expression of IGF-1 and TGF-beta Receptors in Androgen-Induced Castrated Rat Prostat* Exp Biol Med (May Wood) 2001 Nov; 226 (10): 954-60.

Yang G., Timme T.L, Park S.H., : *Transforming Growth Factor beta 1 Transduced Mouse Prostat Reconstructions: II. Induction of Apoptosis by Doxazocin.* Prostat. 1997 Nov 1; 33(3): 157-63.

Yamanouchi.1994. *Adix International Ltd*, Osaka, p.1-21

Yamanaka H., Shimazaki J., Imai K., Sugiyama Y., Shidak.: *Effect of estrogen administration on activities of testosterone 5 alpha reductase, alkaline phosphatase and arginase in the ventral and the dorsolateral prostates of rats*. *Endocrinol Jpn.* 1975 Aug;22(4):297-302

Yan G., Fukabori Y., Nikolopoulos S. et al.: *Heparin-binding Keratynocyte Growth Factor is a Candidate Stromal-to-epithelial Cell Andromedin*. *Mol Endocrinol* 1992; 6: 2123-2128.

Yang G., Timme T.L., Park S.H., : *Transforming Growth Factor beta 1 Transduced Mouse Prostat Reconstructions: II Induction of Apoptosis by Docuzacin*. *Prostat.* 1997 Nov 1; 33(3): 157-63.

Yan G., Fukabori Y., McBride G. et al.: *Exon Switching and Activation of Stromal and Embryonic Fibroblast Growth Factor (FGF)-FGF Receptor Genes in Prostate Epithelial Cell Accompany Stromal Independence and Malignancy*. *Mol Cell iol* 1993; 13: 4512-4522.

Yang Y., Chisholm G.D., Habib F.K.: *Epidermal Growth Factor and Transforming Growth Factor alpha Concentrations in BPH and Cancer of the Prostate: their Relationship with Tissue Androgen Levels*. *Br. J Cancer* 1993, 67, 152-155.

Zainuddin M, 1995. *Metodologi Penelitian*. *Pasea Surjana Univ. Airlangga*: pp 26-57

Zhou H.Y.E., Wan, D.S., Zhou J. et al.: *Expression of c-erbB2/neu proto-oncogene in Human Prostatic Cancer Tissues and Cell Lines*. *Mol Carcinog* 1992; 5: 320-327.

Lampiran I. Jadwal Kegiatan Penelitian

Tempat : Laboratorium Binatang Percobaan Biokimia
 dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas
 Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya

Waktu : Mulai Oktober 2003 - Juli 2004

RENCANA KEGIATAN PENELITIAN

No	Kegiatan	Bulan											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.	Persiapan Reagen	x	x	x									
2.	Persiapan Hewan coba		x	x									
3.	Perlakuan Hewan				x								
4.	Pembuatan sediaan Imunohistokimia					x	x	x					
5.	Pembacaan sediaan Imunohistokimia						x	x	x	x			
6.	Analisa Data										x	x	
7.	Diskusi Hasil Penelitian										x	x	x
8.	Penulisan Naskah								x	x	x	x	x
9.	Editing												x

Lampiran 2.

**Tabel 1 : Konversi perhitungan dosis untuk berbagai jenis hewan dan manusia.
(Laurence and Bacharach, 1964 cit Donatus dan Nurlaila, 1986).**

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmot 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmot 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,076	0,32	1,0

Lampiran 3. OBAT PERLAKUAN

Obat-obat yang diberikan :

3.1 PREMARIN

Sunthi Sepuri/Wyeth-Ayerst.

C : Natural conjugated oestrogens

I : Listed in Dosage

D: Vasomotor symptoms 0.3-1.25 mg daily.

Osteoporosis 0.625 mg daily. **Atrophic vaginitis & urethritis** 0.3-1.25 mg daily.

Female hypoestrogenism 0.3-1.25 mg daily.

CI : Known or suspected estrogen-dependent neoplasia. Active thrombophlebitis/thromboembolic disorders, known or suspected breast cancer.

Undiagnosed abnormal genital bleeding; pregnancy.

SP : Cardiac/renal dysfunction, increased BP, history of thromboembolic disease.

Epilepsy, migraine, Asthma, Gallbladder disease, liver disorders, pancreatitis, Risk of endometrial hyperplasia or cancer, breast cancer, increase in size of pre-existing uterine leiomyomata, vag bleeding, Metabolic bone disease associated w/ hypercalcemia.

Surgery, Lactation. Premarin is not a contraceptive. Pre-treatment physical exam advised.

AR : Nausea, abdominal cramps; edema, wt changes, breast changes, headache, migraine, rash, chloasma, melasma, steepening of corneal curvature, intolerance to contact lenses, changes in libido, change in menstrual flo, Vomiting, Chorca, aggravation of porphayria, cholestatic jaundice, alopecia, breakthrough bleeding, spotting, amenorrhea, bloating, dizziness.

DI : Rifampicin may reduce effectiveness

P/P : Tab 0.3 mg x 28's ; 0.625 mg x 28's ; 1.25 mg x 28's.

3.2 PROSCAR

Merck Sharp & Dohme

C : Finasteride (♀ ; ♂)

I : Treatment & control of benign prostatic hyperplasia (BPH) to cause regression of enlarged prostate, improve urine flow & improve the symptoms of BPH.

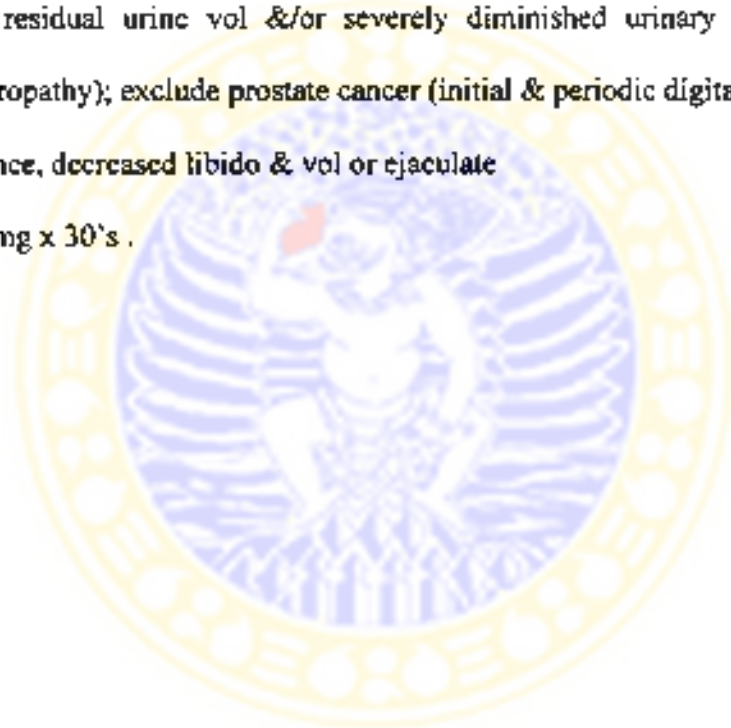
D : 5 mg once daily

CI : Women & pead patients

SP : Large residual urine vol &/or severely diminished urinary flow (monitor for obstructive uropathy); exclude prostate cancer (initial & periodic digital rectal exam).

AR : Impotence, decreased libido & vol or ejaculate

P/P : Tab 5 mg x 30's .



Lampiran 4. Monoklonal antibodi TGF β -1

Santa Cruz Biotechnology, Inc.

TGF β 1 (V): sc-146

BACKGROUND

Transforming growth factor beta (TGF β) were originally discovered due to their ability to promote autocrine independent growth of an NRK fibroblast in the presence of TGF α (1,2). It is now known that TGF β s mediate many cell-cell interactions that occur during embryonic development. Three TGF β s have been identified in mammals (3-5): TGF β 1, TGF β 2 and TGF β 3 are each synthesized as propeptides that are very similar in their ends; it cleaved to yield a E12 amino acid polypeptide that remains associated with the latent portion of the molecule (6). Biologically active TGF β requires dissociation of the monomer (usually hexameric) and release of the latent peptide portion (6,7). Overall, the mature region of the TGF β 3 protein has approximately 80% identity to the mature region of both TGF β 1 and TGF β 2; however, the NH $_2$ terminals or propeptide region of these molecules share only 27% sequence identity (5).

SOURCE

TGF β 1 (V) is provided as either a rabbit (sc-146) or goat (sc-146 G) affinity purified polyclonal antibody raised against a peptide mapping to the carboxy terminus of the pro-peptide form of TGF β 1 of human origin (identical to corresponding mouse sequence).

PRODUCT

Each vial contains 200 μ g in 1.0 ml of PBS containing 0.1% sodium azide and 0.2% gelatin.

Mapping peptide is available for competition studies (sc-146 P) (100 μ g peptide in 0.5 ml PBS with 0.1% sodium azide and 100 μ g BSA).

Also available to generate conjugate (500 μ g IgG10) + ml against TGF β 1 (V) AC: sc-146 AC.

Also available as hetero-fish peroxidase conjugate TGF β 1 (V) IIR: sc-146 IIR.

SPECIFICITY

TGF β 1 (V) is recommended for the detection of TGF β 1 of mouse, rat, human and Xenopus origin by Western blotting, immunoprecipitation and immunohistochemistry (including paraffin-embedded tissue); non cross-reaction with other TGF β 1 or TGF β 2.

Recommended dilution range for Western blot analysis: 1:100-1:1000 (goat polyclonal); 1:200-1:8000 (rabbit polyclonal)
Recommended staining dilution: 1:100 (goat polyclonal); 1:200 (rabbit polyclonal)

Molecular Weight of TGF β 1 (V): 12.5 kDa (monomer)

Western Blotting positive control: MCF7 MCL sc-2306

STORAGE

Store at 4 $^{\circ}$ C. Do not freeze, stable for one year from the date of shipment.

RESEARCH USE

For research use only, not for use in diagnostic procedures.

BACKGROUND REFERENCES

1. Anzano, M.A., Roberts, A.B., Smith, J.M., Sporn, M.B., and DeLarco, J.E. 1983. Sarcoma growth factor from conditioned medium of highly transformed cells: is composed of both type α and type β transforming growth factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 6264-6268.

2. Todaro, G.J., Fryling, C., and DeLarco, J.E. 1980. Transforming growth factors produced by certain human sarcoma cells: polypeptides that interact with epidermal growth factor receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 5258-5262.

3. Derynck, R., Jirik, J.A., Chen, F.V., Lironi, D.H., Bell, J.R., Asanin, R.K., Roberts, A.B., Sporn, M.B., and Goeddel, D.V. 1985. Human transforming growth factor- β cDNA sequence and expression in tumor cell lines. *Nature* 316: 701-705.

4. deMazis, R., Haendler, B., Moller-Warbitz, R., Gausgrub, H., Wimm, M., Schwensen, H., Seifert, J.M., Seifert, S., Fournier, A., and Haefliger, E. 1987. Complementarity DNA for human glioblastoma derived factor- β family. *EMBO J* 6: 3671-3677.

5. van Dijke, P., Hensen, P., Iwata, K.K., Fielder, C., and Gaulke, J.G. 1988. Identification of a new member of the transforming growth factor type β gene family. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 4715-4719.

6. Miller, D.A., Felton, R.W., Derynck, R., and Moses, H.L. 1990. Transforming growth factor- β : a family of growth regulatory peptides. *Ann NY Acad Sci* 592: 208-217.

7. Wakefield, J.M., Smith, D.M., Ross, S., Jackson, M., Korman, A.P., and Sporn, M.B. 1987. Recombinant TGF β 1 is specialized as a two-component latent complex that shares some structural features with the native form of TGF β 1 complex. *Cytokine* 1: 203-210.

8. van Dijke, P., Thordar, M., Strawn, A., and Iwata, K.K. 1990. Recombinant expression and purification of transforming growth factor- β 3, a potent growth regulator. *Ann NY Acad Sci* 592: 36-41.

For product information, please visit our website at www.scbt.com



Lampiran 5 Monoklonal antibodi FGF 1

Santa Cruz Biotechnology, Inc.



FGF-1 (11-125): sc-7910

BACKGROUND

Fibroblast growth factor-1 (FGF-1), also designated acidic FGF, 1-6 fibroblast growth factor 2 (FGF-2), also designated basic FGF, are members of a family of growth factors that stimulate proliferation of cells of mesenchymal, epithelial and neuroectodermal origin (1). Additional members of the FGF family include the oncogene FGF-3 (1a6) and FGF-4 (also known as Kaposi's FGF-5, FGF-6, FGF-7 (bFGF), FGF-8 (bKGF), FGF-9 (bGAF) and FGF-10 (11-8). Members of the FGF family share 30-55% amino acid sequence identity, similar gene structure, and are capable of transforming cultured cells when overexpressed in animal cells. Cellular receptors for FGFs are members of a second multigene family including four tyrosine kinases, designated Flg (FGFR 1), Ret (FGFR 2), YK7 and FGFR-3 (2).

SOURCE

FGF-1 (11-125) is a rabbit polyclonal antibody raised against a recombinant protein corresponding to amino acids 16-140 representing all but the carboxy terminal 15 amino acids of murine FGF-1 of human origin.

PRODUCT

Each vial contains 200 µg IgG in 1.0 ml of PBS containing 0.1% sodium azide and 0.2% gelatin.

SPECIFICITY

FGF-1 (11-125) reacts with FGF-1 of mouse, rat and human origin by Western blotting, immunoprecipitation, and immunohistochemistry.

Recommended dilution range for Western blot analysis: 1:200-1:1000. Recommended staining dilution: 1:100.

STORAGE

Store at 4° C, do not freeze, stable for one year from the date of shipment.

RESEARCH USE

For research use only, not for use in diagnostic procedures.

REFERENCES

1. Rifkin, D.B. and Montell, D. 1989. Recent developments in the cell biology of fibroblast growth factors. *J. Cell Biol.* **102**: 1-6.
2. Mower, R., Carey, G., Bookler, S., Dixon, M., Facci, G., and Dickson, C. 1986. Sequence, topography and protein coding potential of mouse *int-2*: a putative oncogene activated by mouse mammary tumor virus. *EMBO J.* **5**: 919-924.
3. Della Porta, F., Curiale, A.M., Kren, V.G., Green, A., Isomura, M., and Pacifico, C. 1987. An oncogene isolated by transfection of Kaposi's sarcoma DNA encodes a growth factor that is a member of the FGF family. *Cell* **50**: 729-737.
4. Zhan, X., Bircik, B., Hu, X., and Goldstein, M. 1988. The human FGF-3 oncogene encodes a novel protein related to fibroblast growth factor. *Mol. Cell Biol.* **8**: 3437-3439.
5. Meren, J., Adelaide, J., Raynaud, F., Marci, M., Coulier, F., Marche, J., Lapeyrie, O., and Birembaut, D. 1989. *Oncogene* **4**: 333-340.
6. Tanaka, A., Miyamoto, K., Mijimono, H., Yabeda, H., Sato, B., Maruo, H., and Maruyama, K. 1992. Cloning and characterization of an androgen-induced growth factor related to the androgen dependent growth of mouse mammary carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**: 8928-8932.
7. Miyazawa, M., Nawa, K., Seki, C., Matsumoto, S., Kondo, Y., and Kurokawa, T. 1993. Molecular cloning of a novel cytokine cDNA encoding the ninth member of the fibroblast growth factor family, which has a unique secretion pathway. *Mol. Cell Biol.* **13**: 4234-4237.
8. Ray, H.D., Florence, C., Chamerling, J., McGuire, L., Werner, S., and Derynck, D.B. 1997. Mouse fibroblast growth factor 10: cDNA cloning, protein characterization, and regulation of mRNA expression. *Oncogene* **15**: 2211-2218.
9. Dhanoo, C.A., Crumley, G., Bellot, F., Kaplan, J.M., Scorsone, G., Ruit, M., Burgess, W.H., Jupp, M., and Schlessinger, P. 1990. Cloning and expression of two distinct high-affinity receptors cross-reacting with acidic and basic fibroblast growth factors. *EMBO J.* **9**: 3685-3697.

Lampiran 6 Monoklonal antibodi EGF

Santa Cruz Biotechnology, Inc.



EGF (R-20): sc-1343

BACKGROUND

Epidermal growth factor (EGF) is an acid-soluble 53 amino acid protein of 6.0 kDa originally found in rodent and human (1,2). EGF has been shown to be a potent mitogen for a variety of cell types both *in vivo* and *in vitro* (2,3). It binds to the 170,000 Dalton EGF receptor on the surface of cells and mediates intrinsic phosphorylation of the receptor on tyrosine residues (4). EGF has been detected in nearly all body fluids such as urine (urogastrone), saliva, milk, and placenta-rich plasma (3,5). EGF, TGF α and vaccinia virus growth factor exhibit 30-40% amino acid homology (6,7). Recently, several additional members of the EGF/TGF family have been described; these include epidermal growth factor-like factor, amphiregulin and the heparin-binding EGF-like growth factor, each of which, except epidermal growth factor, bind to the EGF receptor (8).

SOURCE

EGF R-20 is an affinity-purified goat polyclonal antibody raised against a peptide corresponding to amino acids 29-68 mapping at the carboxy terminus of the mature form of EGF of rat origin.

PRODUCT

Each vial contains 200 μ g IgG in 1.0 ml of PBS containing 0.1% sodium azide and 0.2% gelatin.

Blocking peptide is available for competition studies (sc-1343 P) (100 μ g peptide in 0.5 ml PBS with 0.1% sodium azide and 100 μ g BSA).

SPECIFICITY

EGF (R-20) reacts with EGF of rat origin by Western blotting and ELISA; non cross-reactive with TGF α .

Recommended dilution range for Western blot analysis: 1:100-1:1000. Recommended staining dilution: 1:100.

STORAGE

Store at 4°C. Do not freeze; stable for one year from the date of shipment.

RESEARCH USE

For research use only, not for use in diagnostic procedures.

REFERENCES

1. Cantley, L. 1982. Isolation of a mouse subcutaneous gland protein accelerating mammary tumorigenesis and eyelid opening in the newborn animal. *J Biol Chem* **257**: 1555-1562.
2. Carpenter, C., and Zandbergen, J.C. 1986. Epidermal growth factor, its receptor, and related proteins. *Exp Cell Res* **166**: 1-10.
3. Gregory, H. 1985. *In vivo* aspects of urogastrone-epidermal growth factor. *J Cell Sci Suppl* **3**: 11-17.
4. Carpenter, C. 1987. Receptors for epidermal growth factor and other polypeptide mitogens. *Ann Rev Biochem* **56**: 881-914.
5. Starling, M.H., and Oth, D.H. 1967. Radioimmunoassay of human epidermal growth factor (urogastrone). *J Clin Endocrinol Metab* **27**: 1164-1165.
6. Derynck, R. 1986. Transforming growth factor- α : structure and biological activities. *J Cell Biochem* **32**: 293-304.
7. Stroobants, P., Rice, A.P., Gullick, W.J., Cheng, D.J., Kears, J.M., and Waterfield, M.D. 1985. Purification and characterization of vaccinia virus growth factor. *Cell* **42**: 383-393.
8. Giardiello, F., Kim, H., Sachs, Y., Dano, R., Presson, M.G., Flinnman, G.H., Gattigues, J., Rankin, S., Federa, G.J., and Solomon, D.S. 1991. Differential expression of epidermal growth factor-related proteins in human colorectal tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* **88**: 7792-7796.

Lampiran 7. PERHITUNGAN DOSIS

PERHITUNGAN DOSIS PEMBERIAN ESTROGEN (PREMARIN) DAN 5 α REDUKTASE INHIBITOR / FINASTERID (PROSCAR) PADA TIKUS

1. Dosis Estrogen

Dosis estrogen pada manusia = 0,625 mg/hr, pada table konversi (Laurence and Bacharach, 1964 in Donatus dan Nurlaila, 1986) dapat dilihat manusia dengan berat badan 70 kg dan tikus yang berat badan tikus 200 gr mempunyai nilai konversi = 0,018. Jadi dosis estrogen pada tikus = $0,018 \times 0,625 \text{ mg/hr} = 0,011 \text{ mg/hr}$.

2. Dosis Finasteride

Dosis finasteride pada manusia = 5 mg/hr, pada table konversi (Laurence and Bacharach, 1964 in Donatus dan Nurlaila, 1986) dapat dilihat manusia dengan berat badan 70 kg dan tikus yang berat badan tikus 200 gr mempunyai nilai konversi = 0,018. Jadi dosis finasteride pada tikus = $0,018 \times 5 \text{ mg/hr} = 0,090 \text{ mg/hr}$.

Lampiran 8. PROSEDUR PENELITIAN

A. Pemerolehan Hewan Coba dan Cara Kerja

Didalam penelitian ini hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus Norvegicus*) strain *Wistar*, wistar yang mempunyai sertifikasi persyaratan hewan coba yang diperoleh di bagian pengembangan hewan coba UGM Yogyakarta.

B. Pemeliharaan Hewan Coba dan Tahapan Penelitian

Prosedur perlakuan dalam penelitian ini melalui beberapa tahapan antara lain :

1. Mendapatkan sampel : Pengambilan sampel tikus putih (*Rattus Norvegicus strain Wistar*) jantan, dilakukan secara acak sebanyak 52 ekor dewasa, usia 3 bulan, dengan berat badan 150-200 gram, di bagian pengembangan hewan coba UGM Yogyakarta.
2. Adaptasi tikus putih : Sampel tikus (*Rattus Norvegicus strain Wistar*) putih yang baru didapatkan dari bagian pengembangan hewan coba UGM Yogyakarta, terlebih dahulu dilakukan proses adaptasi dalam kandang / lingkungannya penelitian (di Bagian kandang Biokimia FK Unair) selama 1,5 bulan.
3. Pengelompokan sample : Sampel dalam penelitian ini, dikelompokkan secara random menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok 1 bulan dan kelompok 2 bulan, masing-masing 26 ekor tikus putih (*Wistar*).
4. Masing-masing kelompok dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan :
 - a. Kelompok I diberi kombinasi estrogen dengan finasteride
 - b. Kelompok II diberi finasteride (kontrol)

5. Setelah dilakukan perlakuan / pengobatan selama 1 bulan atau 2 bulan, masing-masing tikus dilakukan operasi open prostatektomi / pengangkatan prostat, dengan membunuh tikus sebelumnya dengan Ethe.

C. Metoda Pemeriksaan immunohistokimia

Prinsip dari metode ini adalah perpaduan antara reaksi imunologi dan reaksi kimiawi. Reaksi imunologi ditandai adanya ikatan antara antigen dengan antibody. Sedangkan reaksi kimiawi ditandai adanya reaksi antara substrat dengan enzim.

1. Tehnik pemrosesan jaringan dengan metode paraffin

Rahan yang telah disolasi dari hewan coba segera difiksasi dengan formalin buffer (pH : 7,4), selama 15 - 24 jam (ketebalan jaringan sekitar 0,5 cm), setelah itu dilakukan pencucian dengan air, kemudian diproses. Adapun tahapan pemrosesannya adalah sebagai berikut :

Potongan jaringan dimasukkan berturut-turut kedalam

1. etanol 70% : 1 jam
2. etanol 80% : 1 jam
3. etanol 95% : 2 jam
4. etanol 95% : 1 jam
5. etanol absolut : 1 jam
6. etanol absolut : 1 jam
7. etanol absolut : 1 jam
8. xylol : 1 jam
9. xylol : 1 jam
10. xylol : 2 jam
11. paraffin 56-58°C : 2 jam
12. paraffin 56-58°C : 2 jam
13. paraffin 56-58°C : 2 jam

Kemudian dilakukan embedding dalam paraffin setelah terjadi blok paraffin kemudian disayat dengan ketebalan sekitar 4–6 mikron, kemudian dilakukan pewarnaan. Untuk pemeriksaan TGF dan IGF, kolagen, menggunakan immunohistokimia, sedangkan pemeriksaan apoptosis digunakan metoda *tunel assay*.

Prinsip dari metoda ini merupakan perpaduan antara reaksi imunologi dan reaksi kimiawi. Reaksi imunologi ditandai adanya ikatan antara antigen dengan antibodi, sedangkan reaksi kimiawi ditandai adanya reaksi antara substrat dengan enzim

1.1 Prosedur pemeriksaan TGF

Persiapan reagen

H₂O₂ : 3 %

Trypsin 0,025% dalam PBS

Larutan kerja DAB :

R/. Aquadestilata : 1 ml

H₂O₂ buffer substrat : 50 tetes

Larutan DAB stok : 1 tetes

Caranya pewarnaan :

Lakukan deparaffinisasi, caranya adalah dengan memasukkan sayatan jaringan berturut-turut ke dalam :

1. xylol : 2 menit
2. xylol : 2 menit
3. etanol absolut : 1 menit
4. etanol absolut : 1 menit
5. etanol 95% : 1 menit
6. etanol 95% : 1 menit
7. etanol 80% : 1 menit
8. etanol 70% : 1 menit
9. air mengalir : 10-15 menit

10. Masuk ke dalam larutan H₂O₂ 3 % : 30 menit
11. Cuci dengan PBS 3 kali (a : 2menit)
12. Trypsin 0.025% selama 6 menit pada 37°C
13. Cuci dengan PBS 3 kali (a: 2 menit)
14. Masukkan ke dalam anti TGF-β (Mouse anti Rat 1: 50) : 30 menit
15. Cuci dengan PBS 3 kali (a: 2 menit)
16. Masukkan kedalam sekunder antibody (*rabbit anti mouse biotinilated label*) : 30 menit
17. Cuci dengan PBS 3 kali (a: 2 menit)
18. Masukkan ke dalam sterptavidin HRP label : 30 menit
19. Cuci dengan PBS 3 kali (a: 2 menit)
20. Masukkan ke dalam substrat kromogen : 5 menit
21. Cuci dengan PBS 3 kali (a: 2 menit), kemudian dibilas dengan aquadestilata
22. Masukkan ke dala Mayer Hematoxylin : 6 mnit
23. Cuci dengan air mengalir
24. Mounting

1.2 Prosedur pemeriksaan FGF

Persiapan reagen

H₂O₂ : 3 %

Trypsin 0,025% dalam PBS

Larutan kerja DAB :

R/. Aquadestilata : 1 ml

H₂O₂ buffer substrat : 50 tetes

Larutan DAB stok : 1 tetes

Prosedur Pewarnaan :

1. lakukan deparaffinisasi, caranya adalah dengan memasukkan sayatan jaringan berturut-turut ke dalam :

1. xylol : 2 menit
2. xylol : 2 menit
3. etanol absolut : 1 menit

4. etanol absolut : 1 menit
5. etanol 95% : 1 menit
6. etanol 95% : 1 menit
7. etanol 80% : 1 menit
8. etanol 70% : 1 menit
9. air mengalir : 10-15 menit
10. Masukkan ke dalam larutan H₂O₂ 3 % : 30 menit
11. Cuci dengan PBS 3 kali (a : 2menit)
12. Trypsin 0,025% selama 6 menit pada 37°C
13. Cuci dengan PBS 3 kali (a : 2 menit)
14. Masukkan ke dalam anti FGF (Mouase anti Rat 1: 50) : 30 menit
15. Cuci dengan PBS 3 kali (a : 2 menit)
16. Masukkan kedalam sekunder antibody (*Rabbit anti mouse biotinilated label*) : 30 menit
17. Cuci dengan PBS 3 kali (a: 2 menit)
18. Masukkan ke dalam sterptavidin HRP label : 30 menit
19. Cuci dengan PBS 3 kali (a : 2 menit)
20. Masukkan ke dalam substrat kromogen : 5 menit
21. Cuci dengan PBS 3 kali (a : 2 menit), kemudian **dibilas** dengan aquadestilata
22. Masukkan ke dala Mayer Hematoxylin : 6 mmit
23. Cuci dengan air mengalir
24. Mounting

1.3 Prosedur pemeriksaan EGF

Persiapan reagen

H₂O₂ : 3 %

Trypsin 0,025% dalam PBS

Larutan kerja DAB :

R/. Aquadestilata : 1 ml

H₂O₂ buffer substrat : 50 tetes

Larutan DAB stok : 1 tetes

Prosedur Pewarnaan :

Lakukan deparaffinisasi, caranya adalah dengan memasukkan sayatan jaringan berturut-turut ke dalam :

1. xylol : 2 menit
2. xylol : 2 menit
3. etanol absolut : 1 menit
4. etanol absolut : 1 menit
5. etanol 95% : 1 menit
6. etanol 95% : 1 menit
7. etanol 80% : 1 menit
8. etanol 70% : 1 menit
9. air mengalir : 10-15 menit
10. Masukkan ke dalam larutan H₂O₂ 3 % : 30 menit
11. Cuci dengan PBS 3 kali (a : 2menit)
12. Trypsin 0,025% selama 6 menit pada 37°C
13. Cuci dengan PBS 3 kali (a: 2 menit)
14. Masukkan ke dalam anti EGF (Mouase anti Rat 1: 50) : 30 menit
15. Cuci dengan PBS 3 kali (a: 2 menit)
16. Masukkan kedalam sekunder antibody (*Rabbit anti mouse biotinifated label*) : 30 menit
17. Cuci dengan PBS 3 kali (a: 2 menit)
18. Masukkan ke dalam sterptavidin HRP label : 30 menit
19. Cuci dengan PBS 3 kali (a: 2 menit)
20. Masukkan ke dalam substrat kromogen : 5 menit
21. Cuci dengan PBS 3 kali (a: 2 menit), kemudian dibilas dengan aquadestilata
22. Masukkan ke dala Mayer Hematoxylin : 6 mnit
23. Cuci dengan air mengalir
24. Mounting

1.4. Untuk pengukuran proliferasi :

Pada penelitian ini adalah mengukur ketebalan lapisan epitel pada kelenjar prostat, dengan menggunakan *graticule*.



LAMPIRAN 9. Hasil penghitungan TGF β -1, EGF, FGF dan Proliferasi selama 1 bulan pada kelompok pengobatan estrogen dengan finasteride dan kelompok finasteride

TGF β -1 (1 bulan)/ ls.penampang sayatan prostat

No	Estrogen Finasteride	Finasteride
1.	4	7
2	1	5
3	2	4
4	4	5
5	0	2
6	4	6
7	1	4
8	3	5
9	1	3
10	3	2
11	4	3
12	1	4
13	2	2
14	1	1

EGF (1 bulan)/ ls.penampang sayatan prostat

No	Estrogen Finasteride	Finasteride
1	3	6
2	3	5
3	6	8
4	3	4
5	8	4
6	7	2
7	4	3
8	2	3
9	6	2
10	7	3
11	8	5
12	9	4
13	7	6
14	8	

FGF (1 bulan)/ Is.penampang sayatan prostat

No	Estrogen Finasteride	Finasteride
1	18	6
2	14	5
3	8	7
4	6	7
5	4	6
6	12	8
7	3	3
8	2	1
9	3	0
10	6	5
11	5	9
12	2	6
13	9	3
14	7	4

Proliferasi sel (Finasteride dan Estrogen Finasteride : 1 bulan , satuan dalam μ)

No	Estrogen Finasteride	Finasteride
1	32.5	25
2	37.5	27
3	28.5	27.5
4	28.5	27.5
5	40	30
6	35	31
7	35	35
8	28.5	30
9	26	32.5
10	37.5	37.5
11	35	30
12	31	37.5
13	38.5	27.5
	36.5	

LAMPIRAN 10. Hasil penghitungan TGF β -1, EGF, FGF dan Proliferasi selama 2 bulan pada kelompok pengobatan estrogen dengan finasteride dan kelompok finasteride

TGF β -1 (2 bulan)/ Is.penampang sayatan prostat

No	Estrogen Finasteride	Finasteride
1	1	1
2	4	2
3	1	4
4	2	4
5	3	3
6	0	4
7	0	3
8	3	1
9	3	3
10	1	2
11	2	3
12	2	4
13	0	3

EGF (2 bulan)/ Is.penampang sayatan prostat

No	Estrogen Finasteride	Finasteride
1	15	3
2	20	5
3	9	10
4	8	9
5	16	15
6	6	11
7	12	4
8	11	4
9	27	9
10	11	2
11	17	4
12	14	5
13	23	11

FGF(2 bulan) / Is.penampang sayatan prostat

No	Estrogen Finasteride	Finasteride
1	6	7
2	13	12
3	8	8
4	18	5
5	12	1
6	2	8
7	3	5
8	11	2
9	5	6
10	2	7
11	12	6
12	9	10
13	6	9
14		

Proliferasi sel, finasteride dan estrogen finasteride : 2 bulan , satuan dalam μ)

No	Estrogen Finasteride	Finasteride
1	41	22
2	47.5	25
3	42.5	32
4	54.5	27.5
5	52.5	30
6	45	28.5
7	40	28.5
8	42.5	26.5
9	42.5	25
10	40	31.5
11	40	26
12	32.5	27
13	42.5	30.5

LAMPIRAN 11. Hasil penghitungan TGF B-1, EGF, FGF dan Proliferasi selama 1 bulan pada kelompok pengobatan finasteride dan kelompok pengobatan finasteride dan kelompok control

TGF β -1 (1 bulan) / ls.penampang sayatan prostat

No	Finasteride	Kontrol
1.	7	8
2	5	8
3	4	4
4	5	3
5	2	5
6	6	4
7	4	8
8	5	7
9	3	9
10	2	11
11	3	7
12	4	10
13	2	4
14	1	

EGF (1 bulan) / ls.penampang sayatan prostat

No	Finasteride	Kontrol
1	6	19
2	5	18
3	8	21
4	4	10
5	4	21
6	2	22
7	3	21
8	3	18
9	2	17
10	3	12
11	5	19
12	4	22
13	6	11
14		

FGF (1 bulan) / Is.penampang sayatan prostat

No	Finasteride	Kontrol
1	6	3
2	5	6
3	7	2
4	7	12
5	6	10
6	8	9
7	3	19
8	1	4
9	0	29
10	5	6
11	9	6
12	6	8
13	3	11
14	4	

Proliferasi sel (Kontrol dan Finasteride: 1 bulan , satuan dalam μ)

No	Finasteride	No	Kontrol
1	25	1	32.5
2	27	2	32
3	27.5	3	27.5
4	27.5	4	35
5	30	5	30.5
6	31	6	32.5
7	35	7	32
8	30	8	30
9	32.5	9	32.5
10	37.5	10	27
11	30	11	28.5
12	37.5	12	27
13	27.5	13	32.5

LAMPIRAN 12. Hasil penghitungan TGF β -1, EGF, FGF dan Proliferasi selama 2 bulan pada kelompok pengobatan finasteride dan kelompok kontrol

TGF β -1 (2 bulan) / ls.penampang sayatan prostat

No	Finasteride	Kontrol
1	1	6
2	2	8
3	4	9
4	4	7
5	3	4
6	4	15
7	3	6
8	1	8
9	3	9
10	2	5
11	3	5
12	4	8
13	3	7

EGF (2 bulan) / ls.penampang sayatan prostat

No	Finasteride	Kontrol
1	3	7
2	5	14
3	10	21
4	9	22
5	15	26
6	11	18
7	4	20
8	4	14
9	9	21
10	2	18
11	4	16
12	5	24
13	11	20

FGF(2 bulan) Is.penampang sayatan prostat

No	Finasteride	Kontrol
1	7	16
2	12	11
3	8	26
4	5	17
5	1	19
6	8	8
7	5	17
8	2	6
9	6	9
10	7	11
11	6	10
12	10	19
13	9	20
14		

Proliferasi sel (Kontrol, dan FIN: 2 bulan . satuan dalam μ)

No	Finasteride	No	Kontrol
1	22	1	28.5
2	25	2	32.5
3	32	3	30.5
4	27.5	4	30.5
5	30	5	36
6	28.5	6	35
7	28.5	7	34
8	26.5	8	35
9	25	9	27.5
10	31.5	10	30
11	26	11	31
12	27	12	31.5
13	30.5	13	34

Lampiran 13. Hasil Penelitian Pendahuluan

Korelasi TGF β -1, EGF dan FGF perlu dilakukan untuk memilih uji statistik multivariat atau univariat. Asumsi untuk menggunakan uji multivariate antara lain variabel terikat yang lebih dari satu saling berkorelasi. Hasil uji korelasi pearson dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 13.1 Korelasi TGF β -1, EGF, dan FGF pada kelompok Finasterid dan Kontrol

	Kelompok Perlakuan			
	Finasteride		Kontrol	
	EGF	FGF	EGF	FGF
Pengamatan 1 bulan TGF β -1	$r = 0,030$ $p = 0,922$	$r = 0,198$ $p = 0,516$	$r = 0,119$ $p = 0,698$	$r = 0,198$ $p = 0,516$
EGF		$r = 0,356$ $p = 0,233$		$r = -0,117$ $p = 0,705$
Pengamatan 2 bulan TGF β -1	$r = 0,544$ $p = 0,050^*$	$r = 0,187$ $p = 0,540$	$r = -0,026$ $p = 0,933$	$r = -0,255$ $p = 0,400$
EGF		$r = -0,213$ $p = 0,484$		$r = 0,425$ $p = 0,148$

Tabel 13.2 Diskripsi Statistik

	Finasteride		Kontrol	
	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD
I. Pengamatan 1 bulan				
a. TGF β -1	4.0000	1.5811	6.7692	2.5545
b. EGF	4.2308	1.7394	17.7692	4.1864
c. FGF	5.0769	2.6602	9.5385	7.2413
d. Proliferasi	30.6154	4.0060	30.7308	2.5464
II. Pengamatan 2 bulan				
a. TGF β -1	2.8462	1.0682	7.4615	2.7573
b. EGF	7.0769	3.9678	18.5385	4.9601
c. FGF	6.6154	3.0149	14.5385	5.8255
d. Proliferasi	27.6923	2.8762	32.0000	2.6536

Tabel 13.3. Uji distribusi normal dengan uji Kolmogorov – Smirnov satu sampel data TGF β -1, EGF, FGF dan proliferasi tiap kelompok perlakuan dan waktu pengamatan.

Variabel	Harga p	
	Finasterid	Kontrol
I. Pengamatan 1 bulan		
a. TGF β -1	0.984	0.854
b. EGF	0.856	0.589
c. FGF	0.789	0.596
d. Proliferasi	0.813	0.501
II. Pengamatan 2 bulan		
a. TGF β -1	0.393	0.606
b. EGF	0.452	0.916
c. FGF	0.955	0.737
d. Proliferasi	1.000	0.897

Tabel 13.4 TGF β -1 tiap kelompok perlakuan dan waktu pengamatan pada kelompok Finasteride dan kelompok Kontrol

Waktu Pengamatan	Kelompok Perlakuan		Harga p Uji t 2 sampel (antar kelompok)
	Finasteride ($\bar{x} \pm SD$)	Kontrol ($\bar{x} \pm SD$)	
1 Bulan	4.00 \pm 1.58	6.77 \pm 2.55	0.003
2 Bulan	2.85 \pm 1.07	7.46 \pm 2.76	0.0001
Harga p Uji t 2 sampel (antar pengamatan)	0.039	0.513	

Tabel 13.5 EGF tiap kelompok perlakuan dan waktu pengamatan pada kelompok Finasteride dan kelompok Kontrol

Waktu Pengamatan	Kelompok Perlakuan		Harga p Uji t 2 sampel (antar kelompok)
	Finasteride ($\bar{x} \pm SD$)	Kontrol ($\bar{x} \pm SD$)	
1 Bulan	4.23 \pm 1.74	12.77 \pm 4.19	0.0001
2 Bulan	7.08 \pm 3.97	18.54 \pm 4.96	0.0001
Harga p Uji t 2 sampel (antar pengamatan)	0.030	0.673	

Tabel 13.6 FGF tiap kelompok perlakuan dan waktu pengamatan pada kelompok Finasteride dan kelompok Kontrol

Waktu Pengamatan	Kelompok Perlakuan		Harga p Uji t 2 sampel (antar kelompok)
	Finasteride ($\bar{x} \pm SD$)	Kontrol ($\bar{x} \pm SD$)	
1 Bulan	5.08 \pm 2.66	9.54 \pm 7.24	0.054
2 Bulan	6.62 \pm 3.01	14.54 \pm 5.83	0.0001
Harga p Uji t 2 sampel (antar pengamatan)	0.180	0.064	



LAMPIRAN 14: Berat badan (Gram) subyek penelitian**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		EsFin 1 bulan	Fin 1 bulan	EsFin 2 bulan	Fin 2 bulan
N		13	13	13	13
Normal Parameters	Mean	159.0769	153.7692	160.9231	162.5385
	Std. Deviation	18.9757	14.8501	15.7028	12.2584
Most Extreme Differences	Absolute	.200	.151	.139	.197
	Positive	.200	.148	.139	.197
	Negative	-.108	-.151	-.110	-.118
Kolmogorov-Smirnov Z		.723	.543	.501	.712
Asymp. Sig. (2-tailed)		.673	.930	.964	.692

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

BB sebelum perlakuan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Finasterid+Estrogen 1bulan	13	159.0769	18.9757	5.2629	147.8100	170.5438	130.00	195.00
Finasterid 1 bulan	13	153.7692	14.8501	4.1187	144.7954	162.7431	130.00	180.00
Finasterid+Estrogen 2bulan	13	160.9231	15.7028	4.3552	151.4340	170.4122	133.00	195.00
Finasterid 2 bulan	13	162.5385	12.2584	3.3999	155.1308	169.9462	139.00	180.00
Total	52	159.0769	15.5271	2.1532	154.7541	163.3997	130.00	195.00

Test of Homogeneity of Variances

BB sebelum perlakuan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.766	3	48	.508

ANOVA

BB sebelum perlakuan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	566.308	3	188.789	.772	.515
Within Groups	11729.385	48	244.362		
Total	12295.692	51			



LAMPIRAN 15: Statistik deskriptif dan uji normalitas pada pengamatan 1 bulan

Kelompok Estrogen Finasteride

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
TGF beta-1	13	.00	4.00	2.3077	1.4367
EGF	13	2.00	9.00	5.6154	2.3288
FGF	13	2.00	18.00	7.0769	4.9743
Proliferasi	13	26.00	40.00	33.3462	4.5110
Valid N (listwise)	13				

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		TGF beta-1	EGF	FGF	Proliferasi
N		13	13	13	13
Normal Parameters	Mean	2.3077	5.6154	7.0769	33.3462
	Std. Deviation	1.4367	2.3288	4.9743	4.5110
Most Extreme Differences	Absolute	.203	.185	.201	.182
	Positive	.203	.177	.201	.166
	Negative	-.188	-.185	-.154	-.182
Kolmogorov-Smirnov Z		.733	.669	.725	.654
Asymp. Sig. (2-tailed)		.656	.762	.669	.785

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data

Kelompok Finasteride**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
TGF beta-1	13	2.00	7.00	4.0000	1.5811
EGF	13	2.00	8.00	4.2308	1.7394
FGF	13	.00	9.00	5.0769	2.6602
Proliferasi	13	25.00	37.50	30.6154	4.0060
Valid N (listwise)	13				

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		TGF beta-1	EGF	FGF	Proliferasi
N		13	13	13	13
Normal Parameters	Mean	4.0000	4.2308	5.0769	30.6154
	Std. Deviation	1.5811	1.7394	2.6602	4.0060
Most Extreme Differences	Absolute	.128	.168	.181	.176
	Positive	.128	.168	.091	.176
	Negative	-.121	-.100	-.181	-.111
Kolmogorov-Smirnov Z		.461	.606	.652	.636
Asymp. Sig. (2-tailed)		.984	.856	.789	.813

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data

LAMPIRAN 16: Statistik deskriptif dan uji normalitas pada pengamatan 2 bulan

Estrogen Finasteride

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
TGF beta-1	13	00	4 00	1 6923	1 3156
EGF	13	6.00	27.00	14.5385	6.0775
FGF	13	2 00	18.00	8.2308	4.8331
Proliferasi	13	32.50	54 50	43.3077	5.6845
Valid N (listwise)	13				

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		TGF beta-1	EGF	FGF	Proliferasi
N		13	13	13	13
Normal Parameters	Mean	1.6923	14.5385	8.2308	43.3077
	Std. Deviation	1.3156	6.0775	4.8331	5.6845
Most Extreme Differences	Absolute	.162	.123	.139	.249
	Positive	.162	.123	.139	.249
	Negative	-.148	-.080	-.101	-.203
Kolmogorov-Smirnov Z		.585	.445	.502	.897
Asymp. Sig. (2-tailed)		.884	.939	.962	.397

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Finasteride**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
TGF beta-1	13	1.00	4.00	2.8462	1.0682
EGF	13	2.00	15.00	7.0769	3.9678
FGF	13	1.00	12.00	6.6154	3.0149
Proliferasi	13	22.00	32.00	27.6923	2.8762
Valid N (listwise)	13				

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		TGF beta-1	EGF	FGF	Proliferasi
N		13	13	13	13
Normal Parameters	Mean	2.8462	7.0769	6.6154	27.6923
	Std. Deviation	1.0682	3.9678	3.0149	2.8762
Most Extreme Differences	Absolute	.250	.238	.142	.098
	Positive	.143	.238	.052	.082
	Negative	-.250	-.148	-.142	.098
Kolmogorov-Smirnov Z		.905	.859	.513	.352
Asymp. Sig. (2-tailed)		.393	.452	.955	1.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

LAMPIRAN 17: Korelasi TGF beta-1, EGF, FGF, dan proliferasi**Pengamatan 1 bulan****Estrogen Finasteride****Correlations**

		TGF beta-1	EGF	FGF
TGF beta-1	Pearson Correlation	1.000	-.236	.370
	Sig. (2-tailed)	.	.438	.214
	N	13	13	13
EGF	Pearson Correlation	-.236	1.000	-.299
	Sig. (2-tailed)	.438	.	.320
	N	13	13	13
FGF	Pearson Correlation	.370	-.299	1.000
	Sig. (2-tailed)	.214	.320	.
	N	13	13	13

Finasteride**Correlations**

		TGF beta-1	EGF	FGF
TGF beta-1	Pearson Correlation	1.000	.030	.198
	Sig. (2-tailed)	.	.922	.516
	N	13	13	13
EGF	Pearson Correlation	.030	1.000	.356
	Sig. (2-tailed)	.922	.	.233
	N	13	13	13
FGF	Pearson Correlation	.198	.356	1.000
	Sig. (2-tailed)	.516	.233	.
	N	13	13	13

Pengamatan 2 bulan

Estrogen Finasteride

Correlations

		TGF beta-1	EGF	FGF
TGF beta-1	Pearson Correlation	1.000	.366	.641*
	Sig. (2-tailed)	.	.218	.018
	N	13	13	13
EGF	Pearson Correlation	.366	1.000	-.010
	Sig. (2-tailed)	.218	.	.973
	N	13	13	13
FGF	Pearson Correlation	.641*	-.010	1.000
	Sig. (2-tailed)	.018	.973	.
	N	13	13	13

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Finasteride

Correlations

		TGF beta-1	EGF	FGF
TGF beta-1	Pearson Correlation	1.000	.554*	.187
	Sig. (2-tailed)	.	.050	.540
	N	13	13	13
EGF	Pearson Correlation	.554*	1.000	-.213
	Sig. (2-tailed)	.050	.	.484
	N	13	13	13
FGF	Pearson Correlation	.187	-.213	1.000
	Sig. (2-tailed)	.540	.484	.
	N	13	13	13

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

LAMPIRAN 18: Uji t 2 sampel bebas TGF beta-1, EGF, FGF dan Proliferasi antar kelompok pada pengamatan 1 bulan

T-Test

Group Statistics

	Kelompok perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TGF beta-1	Finasterid+Estrogen	13	2.3077	1.4367	.3985
	Finasterid	13	4.0000	1.5811	.4385
EGF	Finasterid+Estrogen	13	5.6154	2.3288	.6459
	Finasterid	13	4.2308	1.7394	.4824
FGF	Finasterid+Estrogen	13	7.0769	4.9743	1.3796
	Finasterid	13	5.0769	2.6602	.7378
Proliferasi	Finasterid+Estrogen	13	33.3462	4.5110	1.2511
	Finasterid	13	30.6154	4.0060	1.1111

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-Test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TGF beta-1	Equal variances assumed	.006	.938	-2.856	24	.009	-1.6923	.5925	-2.9152	-.4694
	Equal variances not assumed			-2.856	23.783	.009	-1.6923	.5925	-2.9158	-.4688
EGF	Equal variances assumed	2.877	.119	1.718	24	.099	1.3846	.8082	-.2792	3.0485
	Equal variances not assumed			1.718	22.211	.100	1.3846	.8082	-.2863	3.0556
FGF	Equal variances assumed	4.382	.047	1.278	24	.213	2.0000	1.5845	-1.2290	5.2290
	Equal variances not assumed			1.278	18.345	.217	2.0000	1.5845	-1.2825	5.2825
Proliferasi	Equal variances assumed	.690	.412	1.832	24	.116	2.7308	1.6733	-.7227	6.1842
	Equal variances not assumed			1.832	23.669	.116	2.7308	1.6733	-.7252	6.1868

LAMPIRAN 19: Uji t 2 sampel bebas TGF beta-1, EGF, FGF dan Proliferasi antar kelompok pada pengamatan 2 bulan

T-Test

Group Statistics

	Kelompok perlakuan	N	Mean	Std Deviation	Std. Error Mean:
TGF beta-1	Finasterid+Estrogen	13	1.6923	1.3156	.3649
	Finasterid	13	2.8462	1.0682	.2963
EGF	Finasterid+Estrogen	13	14.5385	6.0775	1.6856
	Finasterid	13	7.0769	3.9678	1.1005
FGF	Finasterid+Estrogen	13	8.2308	4.8331	1.3405
	Finasterid	13	6.6154	3.0149	.8362
Proliferasi	Finasterid+Estrogen	13	43.3077	5.6845	1.5766
	Finasterid	13	27.6923	2.8762	.7977

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TGF beta-1	Equal variances assumed	1.180	.288	-2.455	24	.022	-1.1538	.4700	-2.1239	-.1838
	Equal variances not assumed			2.455	27.029	.022	-1.1538	.4700	-2.1261	-.1816
EGF	Equal variances assumed	1.355	.256	3.707	24	.001	7.4615	2.0130	3.3069	11.6182
	Equal variances not assumed			3.707	20.657	.001	7.4615	2.0130	3.2710	11.6521
FGF	Equal variances assumed	3.639	.066	1.022	24	.317	1.6154	1.5799	-1.8453	4.8761
	Equal variances not assumed			1.022	23.111	.319	1.6154	1.5799	1.0790	4.8098
Proliferasi	Equal variances assumed	2.329	.140	8.838	24	.000	15.6154	1.7669	11.0885	19.2621
	Equal variances not assumed			8.838	17.765	.000	15.6154	1.7669	11.8997	19.3311

LAMPIRAN 20: Uji t 2 sampel bebas TGF beta-1, EGF, FGF, dan Proliferasi antar waktu pengamatan 1 dan 2 bulan

Kelompok Estrogen Finasteride

Group Statistics

	Lama pengamatan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TGF beta-1	1 bulan	13	2.3077	1.4367	.3985
	2 bulan	13	1.6923	1.3156	.3649
EGF	1 bulan	13	5.6154	2.3288	.6459
	2 bulan	13	14.5385	6.0775	1.6856
FGF	1 bulan	13	7.0769	4.9743	1.3796
	2 bulan	13	8.2308	4.8331	1.3405
Proliferasi	1 bulan	13	33.3462	4.5110	1.2511
	2 bulan	13	43.3077	5.6845	1.5766

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TGF beta-1	Equal variances assumed	.396	.535	1.129	24	.266	.6154	.5403	-.4997	1.7305
	Equal variances not assumed			1.129	23.816	.266	.6154	.5403	-.5002	1.7309
EGF	Equal variances assumed	7.031	.014	-4.943	24	.000	-8.9231	1.8051	-12.6486	-5.1975
	Equal variances not assumed			-4.943	19.448	.000	-8.9251	1.8054	-12.7608	-5.0893
FGF	Equal variances assumed	.000	1.000	-.600	24	.554	1.1538	1.9238	-5.1239	2.8162
	Equal variances not assumed			-.600	21.980	.554	1.1538	1.9236	-5.1241	2.8164
Proliferasi	Equal variances assumed	.023	.880	-4.949	24	.000	-9.9615	2.0127	-14.1156	-5.8075
	Equal variances not assumed			-4.949	22.822	.000	-9.9615	2.0127	-14.1270	-5.7981

Kelompok Finasteride

Group Statistics

	Lama pengamatan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TGF beta-1	1 bulan	13	4.0000	1.5811	.4385
	2 bulan	13	2.8462	1.0682	.2963
EGF	1 bulan	13	4.2308	1.7394	.4624
	2 bulan	13	7.0769	3.9678	1.1005
FGF	1 bulan	13	5.0769	2.6602	.7378
	2 bulan	13	6.6154	3.0149	.8362
Proliferasi	1 bulan	13	30.6154	4.0060	1.1111
	2 bulan	13	27.6923	2.8762	.7977

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-Test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TGF beta-1	Equal variances assumed	1.673	.208	2.180	24	.039	1.1538	.5292	6.18E-02	2.2461
	Equal variances not assumed			2.180	21.065	.041	1.1538	.5282	5.35E-02	2.2542
EGF	Equal variances assumed	15.434	.001	-2.369	24	.026	-2.8482	1.2016	-5.3261	-.3682
	Equal variances not assumed			-2.368	16.446	.030	-2.8482	1.2018	-5.3878	-.3046
FGF	Equal variances assumed	.076	.783	-1.360	24	.180	-1.5385	1.1132	-3.8400	.7631
	Equal variances not assumed			-1.360	23.634	.181	-1.5385	1.1152	-3.8419	.7850
Proliferasi	Equal variances assumed	1.200	.284	2.137	24	.043	2.9231	1.3678	1.001	5.7460
	Equal variances not assumed			2.137	21.774	.044	2.9231	1.3678	8.48E-02	5.7814

LAMPIRAN 21: Uji Regresi linier berganda TGF beta-1, EGF, FGF dan estrogen finasteride terhadap proliferasi waktu pengamatan 1 bulan

Regression

Variables Entered/Removed^a

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	TGF beta-1		Stepwise (Criteria: Probability-of-F-to-enter <= .050, Probability-of-F-to-remove >= 100)

a. Dependent Variable: Proliferasi

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.402 ^a	.162	.127	4.1165

a. Predictors: (Constant), TGF beta-1

ANOVA

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	78.549	1	78.549	4.635	.042 ^a
	Residual	406.691	24	16.945		
	Total	485.240	25			

a. Predictors: (Constant), TGF beta-1

b. Dependent Variable: Proliferasi

Coefficients

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Collinearity Statistics	
		B	Std. Error	Beta			Tolerance	VIF
1	(Constant)	35.244	1.717		20.525	.000		
	TGF beta-1	-1.035	.481	-.402	-2.153	.042	1.000	1.000

a. Dependent Variable: Proliferasi



Excluded Variables

Model	Beta In	t	Sig.	Part a Correlation	Collinearity Statistics			
					Tolerance	VIF	Minimum Tolerance	
1	EsFin	.152 ^a	.595	.494	.143	.746	1.340	.746
	EGF	-.037 ^b	-.186	.854	-.039	.933	1.072	.933
	FGF	.234 ^b	1.261	.220	.254	.987	1.013	.987

a Predictors in the Model: (Constant), TGF beta-1

b Dependent Variable: Proliferasi

Collinearity Diagnostics

Model	Dimension	Eigenvalue	Condition Index	Variance Proportions	
				(Constant)	TGF beta-1
1	1	1.883	1.000	.06	.06
	2	.117	4.004	.94	.94

a. Dependent Variable: Proliferasi

LAMPIRAN 22: Uji Regresi linier berganda TGF beta-1, EGF, FGF dan estrogen finasteride terhadap proliferasi waktu pengamatan 2 bulan

Regression

Variables Entered/Removed^a

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	EsFin		Stepwise (Criteria: Probability-of-F-to-enter \leq .050, Probability-of-F-to-remove \geq .100)

a. Dependent Variable: Proliferasi

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.875 ^a	.765	.755	4.5048

a. Predictors: (Constant), EsFin

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	1584.962	1	1584.962	78.103	.000 ^b
	Residual	487.038	24	20.293		
	Total	2072.000	25			

a. Predictors: (Constant), EsFin.

b. Dependent Variable: Proliferasi

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Collinearity Statistics	Tolerance	VIF
		B	Std. Error	Beta					
1	(Constant)	27.692	1.249		22.164	.000			
	EsFin	15.615	1.767	.675	8.838	.000	.000		1.000

a. Dependent Variable: Proliferasi

Excluded Variables^a

Model	Beta In	t	Sig.	Partial Correlation	Collinearity Statistics			
					Tolerance	VIF	Minimum Tolerance	
1	TCF beta ^a	185 ^a	.737	.055	.341	.799	1.251	.799
	FGF	314 ^b	.109	.914	.023	.036	1.572	.636
	FGF	197 ^a	2.013	.055	.387	.958	1.044	.958

a. Predictors in the Model: (Constant), EsFin

b. Dependent Variable: Proliferas

Collinearity Diagnostics^a

Model	Dimension	Eigenvalue	Condition Index	Variance Proportions	
				(Constant)	EsFin
1	1	1.707	1.000	.15	.15
	2	.293	2.414	.85	.85

a. Dependent Variable: Proliferas

LAMPIRAN 23. Korelasi TGF beta-1, EGF, FGF, dan proliferasi

Pengamatan 1 bulan

Finasteride**Correlations**

		TGF beta-1	EGF	FGF
TGF beta-1	Pearson Correlation	1.000	.030	.198
	Sig. (2-tailed)	.	.922	.516
	N	13	13	13
EGF	Pearson Correlation	.030	1.000	.356
	Sig. (2-tailed)	.922	.	.233
	N	13	13	13
FGF	Pearson Correlation	.198	.356	1.000
	Sig. (2-tailed)	.516	.233	.
	N	13	13	13

Kontrol**Correlations**

		TGF beta-1	EGF	FGF
TGF beta-1	Pearson Correlation	1.000	.119	.124
	Sig. (2-tailed)	.	.698	.686
	N	13	13	13
EGF	Pearson Correlation	.119	1.000	-.117
	Sig. (2-tailed)	.698	.	.705
	N	13	13	13
FGF	Pearson Correlation	.124	-.117	1.000
	Sig. (2-tailed)	.686	.705	.
	N	13	13	13

Pengamatan 2 bulan

Finasteride**Correlations**

		TGF beta-1	EGF	FGF
TGF beta-1	Pearson Correlation	1.000	.554*	.187
	Sig. (2-tailed)	.	.050	.540
	N	13	13	13
EGF	Pearson Correlation	.554*	1.000	-.213
	Sig. (2-tailed)	.050	.	.484
	N	13	13	13
FGF	Pearson Correlation	.187	-.213	1.000
	Sig. (2-tailed)	.540	.484	.
	N	13	13	13

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Kontrol**Correlations**

		TGF beta-1	EGF	FGF
TGF beta-1	Pearson Correlation	1.000	-.026	-.255
	Sig. (2-tailed)	.	.933	.400
	N	13	13	13
EGF	Pearson Correlation	-.026	1.000	.425
	Sig. (2-tailed)	.933	.	.148
	N	13	13	13
FGF	Pearson Correlation	-.255	.425	1.000
	Sig. (2-tailed)	.400	.148	.
	N	13	13	13

LAMPIRAN 24: Uji t 2 sampel bebas TGF beta-1, EGF, FGF dan Proliferasi pada kelompok finasteride dan kontrol pada pengamatan 1 bulan

T-Test

Group Statistics

Kelompok perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TGF beta-1	Finasterid	13	4.0000	1.5811	.4385
	Kontrol	13	6.7692	2.5545	.7085
EGF	Finasterid	13	4.2308	1.7394	.4824
	Kontrol	13	17.7692	4.1884	1.1611
FGF	Finasterid	13	5.0769	2.6602	.7378
	Kontrol	13	9.5385	7.2413	2.0084

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TGF beta-1	Equal variances assumed	4.290	.050	-3.323	24	.003	-2.7692	.8332	-4.4392	-1.0495
	Equal variances not assumed			-3.323	20.018	.003	-2.7692	.8332	-4.5072	-1.0312
EGF	Equal variances assumed	6.434	.018	-10.768	24	.000	-13.5385	1.2573	-16.1335	-10.9435
	Equal variances not assumed			-10.768	18.023	.000	-13.5385	1.2573	-16.2038	-10.8734
FGF	Equal variances assumed	3.888	.060	-2.085	24	.048	-4.4615	2.1396	-8.8775	-0.0502
	Equal variances not assumed			-2.085	15.181	.054	-4.4615	2.1398	-9.0173	0.42E-02

LAMPIRAN 25: Uji t 2 sampel bebas TGF beta-1, EGF, FGF dan Proliferasi pada kelompok finasteride dan kontrol pada pengamatan 2 bulan

T-Test

Group Statistics

Kelompok perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TGF beta-1	Finasterid	13	2.8462	1.0682	.2963
	Kontrol	13	7.4615	2.7573	.7647
EGF	Finasterid	13	7.0769	3.9678	1.1005
	Kontrol	13	18.5385	4.9601	1.3757
FGF	Finasterid	13	6.6154	3.0149	.8362
	Kontrol	13	14.5385	5.8255	1.6157

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-Test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TGF beta-1	Equal variances assumed	3.483	.075	-5.626	24	.000	-4.8154	.8201	-6.3660	-2.9228
	Equal variances not assumed			-5.628	18.523	.000	-4.8154	.8201	-6.3583	-2.8725
EGF	Equal variances assumed	.072	.791	-6.509	24	.000	-11.4815	1.7617	-15.0975	-7.8258
	Equal variances not assumed			-6.505	22.898	.000	-11.4615	1.7617	-15.1068	-7.8163
FGF	Equal variances assumed	8.720	.007	-4.355	24	.000	-7.9231	1.8192	-11.5778	-4.1683
	Equal variances not assumed			-4.355	17.998	.000	-7.9231	1.8192	-11.7452	-4.1009

LAMPIRAN 26. Uji t 2 sampel bebas TGF beta-1, EGF, FGF, dan Proliferasi antar waktu pengamatan 1 dan 2 bulan

Kelompok Finasteride

T-Test

Group Statistics

	Lama pengamatan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TGF beta-1	1 bulan	13	4.0000	1.5811	.4385
	2 bulan	13	2.8462	1.0682	.2963
EGF	1 bulan	13	4.2308	1.7394	.4824
	2 bulan	13	7.0769	3.9678	1.1005
FGF	1 bulan	13	5.0769	2.6602	.7378
	2 bulan	13	6.6154	3.0149	.8362

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TGF beta-1	Equal variances assumed	1.875	.208	2.180	24	.038	1.1538	.5292	8.18E-02	2.2461
	Equal variances not assumed			2.180	21.065	.041	1.1538	.5292	5.35E-02	2.2542
EGF	Equal variances assumed	15.434	.001	-2.368	24	.026	-2.8462	1.2018	-5.3281	-.3682
	Equal variances not assumed			-2.368	16.448	.030	-2.8462	1.2018	-5.3878	-.3046
FGF	Equal variances assumed	.078	.783	-1.380	24	.180	-1.5385	1.1152	-3.8400	.7631
	Equal variances not assumed			-1.380	23.824	.181	-1.5385	1.1152	-3.8419	.7650

Kontrol

T-Test

Group Statistics

	Lama pengamatan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TGF bela-1	1 bulan	13	6.7692	2.5545	.7085
	2 bulan	13	7.4615	2.7573	.7647
EGF	1 bulan	13	17.7692	4.1864	1.1611
	2 bulan	13	18.5385	4.9601	1.3757
FGF	1 bulan	13	9.5385	7.2413	2.0084
	2 bulan	13	14.5385	5.8255	1.6157

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TGF bela-1	Equal variances assumed	149	.703	-.664	24	.513	-.6923	1.0425	-2.8439	1.4593
	Equal variances not assumed			-.664	23.681	.513	-.6923	1.0425	-2.8448	1.4592
EGF	Equal variances assumed	195	.853	-.427	24	.673	-.7692	1.8002	-4.4846	2.9461
	Equal variances not assumed			-.427	23.341	.673	-.7692	1.8002	-4.4902	2.9517
FGF	Equal variances assumed	.000	.994	-1.940	24	.064	-5.0000	2.5776	-10.3199	3.199
	Equal variances not assumed			-1.940	22.947	.065	-5.0000	2.5776	-10.3328	3.378