

MODEL GAGAL JANTUNG EKS- PERIMENTAL PADA TIKUS YANG DIINDUKSI HIPOKSIA KRONIK DAN PERUBAHAN EKSPRESI GEN BNP-45 PADA TINGKAT TRANSLASI

oleh:
Frans Ferdinal^{1*}

ABSTRACT

Experimental rat model of heart failure induced by chronic hypoxia and changes in BNP-45 gene expression at the translation level

Heart failure (HF) is a final common pathway of various cardiovascular diseases. HF is a major health care burden, and despite significant therapeutic advances, incidence and mortality in HF remain unacceptably high. Therefore, novel insights into pathophysiology and molecular mechanisms of HF are required to develop novel therapeutic approaches. The progress made in our understanding of the pathophysiology and treatment of heart failure would not have been possible without a number of animal models of HF, each one having unique advantages as well as disadvantages. The aim of recent study is to develop an experimental model of HF in rats induced by chronic hypoxia and changes in BNP-45 gene expression will observe at the translation level. Rats, male, were randomized into 7 groups (n=4/group): control normoxia exposed to room air, hypoxia group were housed in hypoxic chamber (0,8%) for 1, 3, 7, 14, 21 and 28 days respectively. The result of this research showed that histopathologic and immunohistochemistry examination have massive hypertrophy of cardiomyocytes accompanied by alterations of ID structures, necrosis, fibrosis and apoptosis as a hallmark ventricular remodeling. A drastic increase in plasma BNP-45 levels at 21-days exposure. It is concluded that chronic hypoxia causes massive ventricular hypertrophy accompanied by myocardial structural damage and the lead to heart failure.

Key words: heart failure, chronic hypoxia, B-type Natriuretic Peptide-45 (BNP-45), gene expression

ABSTRAK

Model gagal jantung eksperimental pada tikus yang diinduksi hipoksia kronik dan perubahan ekspresi gen BNP-45 pada tingkat translasi

Gagal jantung (GJ) merupakan jalan akhir bersama bagi berbagai penyakit kardiovaskuler. Walaupun sudah banyak kemajuan yang dicapai dalam pengobatan penyakit jantung, akan tetapi insidens dan mortalitas GJ, tetap tinggi, sehingga merupakan masalah kesehatan yang utama, terutama di negara yang sudah maju. Pengertian yang baru tentang patofisiologi

dan mekanisme molekuler GJ dibutuhkan untuk mengembangkan strategi-baru terapi GJ. Kemajuan dalam memahami patofisiologi GJ tidak mungkin dicapai tanpa menggunakan model hewan-coba. Berbagai species hewan-coba sudah tersedia, masing-masing dengan keuntungan dan kelemahannya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengembangkan suatu model gagal jantung eksperimental dengan cara memaparkan tikus pada kondisi hipoksia kronik. Selanjutnya diamati perubahan ekspresi gen BNP-45 pada tingkat translasi. Tikus dibagi dalam 7 kelompok ($n=4$ /kelompok), diberikan perlakuan hipoksia dalam sungkup-hipoksia ($8\%O_2$), masing-masing selama 1, 3, 7, 14, 21 dan 28 hari, sedangkan kelompok kontrol, normoksia (O_2 atmosfer). Hasil penelitian menunjukkan bahwa hipertrofi ventrikel dan kardiomyosit, disertai kerusakan struktur ID, necrosis, fibrosis dan apoptosis sebagai tanda terjadinya *remodeling* ventrikel. Terjadi pula kenaikan BNP-45 plasma yang drastis, sebagai tanda upregulasi gen BNP-45 di tingkat translasi.

Kata-kata kunci: gagal jantung, hipoksia kronik, B-type Natriuretic Peptide-45 (BNP-45), ekspresi gen

PENDAHULUAN

Walaupun sudah banyak kemajuan yang dicapai dalam pengobatan penyakit jantung, akan tetapi prognosa gagal jantung tetap buruk dengan mortalitas yang tinggi.¹ Hal ini disebabkan gagal jantung merupakan kelainan yang bersifat progresif. Sampai pada tingkat tertentu gagal jantung merupakan tahap akhir berbagai penyakit jantung,² sehingga merupakan masalah kesehatan yang utama, terutama di negara yang sudah maju.³⁻⁵

Hipertrofi ventrikel yang menyertai gagal jantung pada dasarnya sebagai respon terhadap *stress kardia* yang ditimbulkan oleh berbagai stimuli hemo-dinamik, neuro-hormonal dan mekanik. Respons hipertrofi tersebut mencakup perubahan kualitas dan

kuantitas seperti perubahan ukuran, bentuk serta geometri sel, perubahan pola ekspresi gen, peningkatan sintesa protein dan organisasi sarkomer. Pada awalnya respons tersebut bersifat adaptasi yang bertujuan membantu jantung untuk mempertahankan perfusi jaringan. Akan tetapi bila berlangsung lebih lama, terjadi hipertrofi patologis dan respons berubah menjadi bersifat maladaptasi-dekompensasi.⁶ Pada tahap ini jantung disebut mengalami *remodeling*, yaitu perubahan yang bersifat progresif dan kompleks yang menjurus ke arah terjadinya kegagalan fungsi, baik pada tingkat molekuler, seluler atau miokard.^{7,8}

Hipoksia merupakan stress lingkungan yang berat. Jantung mamalia merupakan organ aerob obligat,

¹ **Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara (DR.dr. Frans Ferdinal, MS)**

Correspondence to:
DR.dr. Frans Ferdinal, MS.,
Department of Biochemistry
and Molecular Biology
Faculty of Medicine,
Tarumanagara University,
Jl S. Parman No. 1,
Jakarta 11440, Indonesia.

* To whom correspondence
should be addressed, E-mail:
frafrdl@tarumanagara.ac.id

dengan konsumsi oksigen paling tinggi diantara semua jaringan, sehingga sangat rentan terhadap kondisi hipoksia.⁹ Pada keadaan hipoksia, otot jantung mamalia tidak dapat menghasilkan energi yang cukup untuk mempertahankan fungsi dan viabilitas jantung. Oleh karena itu, konsumsi dan tersedianya O₂ harus sesuai untuk menjamin fungsi kardial yang normal. Hipoksia menyebabkan disfungsi ventrikel dengan kompensasi hipertrofi, yang awalnya bersifat adaptif. Bila berlanjut berubah menjadi maladaptif yang akan menuju gagal jantung. Di samping itu, hipoksia akan menyebabkan gangguan metabolisme energi, sehingga beban jantung makin meningkat.^{10,11} Peran O₂ dalam jantung sangat kompleks, lebih dari perannya sebagai akseptor-akhir elektron dalam rantai pernafasan mitokondria. Hipoksia berpotensi mempengaruhi ekspresi sekitar 1-2% gen dalam genom. Selain itu hipoksia juga berperan dalam meningkatkan pembentukan ROS (*reactive oxygen species*), yang dapat menginduksi berbagai kerusakan bahkan kematian sel jantung.^{9,12}

Dilain pihak, kemajuan dalam memahami penyakit kardiovaskuler dalam berbagai aspek sebagian besar berasal dari hasil riset *in vitro* dan model hewan-coba. Peran dari berbagai mekanisme yang bertanggung jawab dalam menyebabkan sifat progresif dari gagal jantung, sulit untuk dinilai pada manusia, karena tidak dapat dipastikan kapan mulai terjadinya. Di samping itu, biasanya sudah ada pengaruh pengobatan. Untuk dapat memahami mekanisme disfungsi dan *remodeling* ventrikel sangat penting mengetahui proses perjalanan penyakit sejak awal, faktor yang mencetuskan, efek positif maupun negatif dari berbagai macam intervensi serta akhirnya penyebab kematian. Karena banyaknya kesulitan

tersebut maka model hewan-coba sangat diperlukan untuk menjelaskan sifat yang kompleks dari patogenesis gagal jantung.¹² Eksperimen dengan menggunakan kultur sel, dapat pula membantu dalam melakukan karakterisasi respons dari kardiomyosit terhadap agen-hipertrofik. Akan tetapi, hewan-coba sangat penting bila aspek integrasi dari fungsi jantung dan pengaruh pada organisme sebagai keseluruhan yang menjadi pertimbangan.¹³

Berbagai spesies sudah digunakan sebagai model gagal jantung. Namun demikian karena faktor biaya, teknik dan pertimbangan etik, tikus dan mencit tetap merupakan pilihan yang paling populer, sebagai model hewan-coba gagal jantung (Gambar 1).¹²⁻¹⁴

Pada penelitian ini, induksi gagal jantung pada tikus dilakukan dengan pemberian hipoksia normobarik secara sistemik kronik, dengan tujuan untuk mengembangkan suatu model gagal jantung eksperimental. Selanjutnya perubahan ekspresi gen BNP-45 akan diamati untuk membuktikan bahwa hewan-coba sudah mengalami gagal jantung.

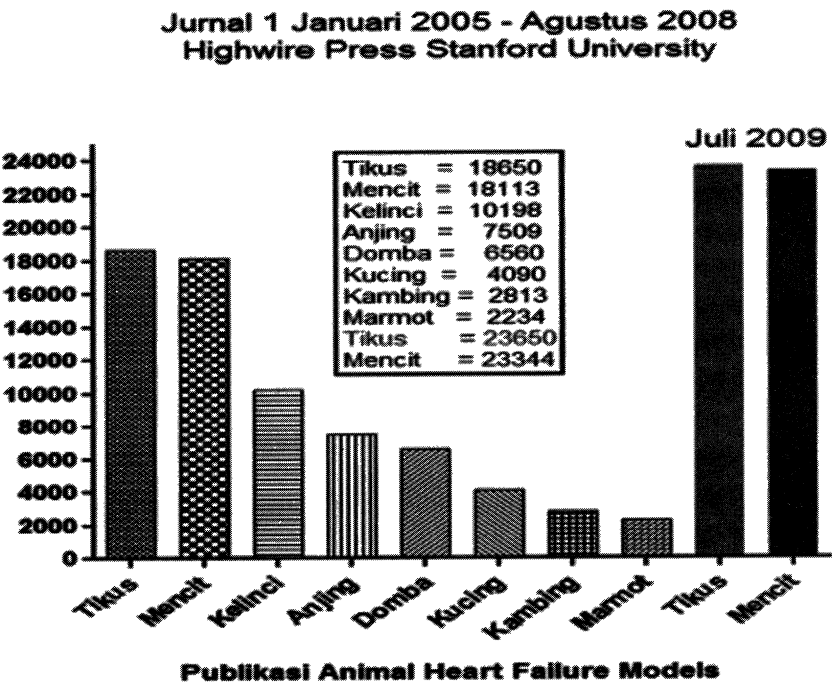
METODOLOGI PENELITIAN

Disain Penelitian

Studi ini merupakan penelitian eksperimen *in vivo*, model gagal jantung-hipoksia pada tikus *Sprague Dawley* jantan, dengan berat badan 220-250 gram. Tikus dibagi secara acak ke dalam tujuh kelompok (n=4/kelompok). Kelompok pertama adalah kelompok kontrol atau tanpa perlakuan (P1). Enam kelompok lainnya, adalah kelompok perlakuan yaitu P2 - P7. Kelompok perlakuan secara berurutan dipaparkan terhadap hipoksia (8% O₂, 92% N₂), masing-masing selama 1, 3, 7, 14, 21 dan 28 hari di dalam sungkup-

hipoksia Selama perlakuan tikus dapat makan dan minum secara *ad libitum*, di samping itu setiap dua hari secara berkala sungkup dibersihkan, pakan dan minuman diganti. Selama dibersihkan (5-10 menit) tikus dipindahkan ke sungkup-kecil yang sudah dipersiapkan sebelumnya dalam kondisi hipoksia. Pada akhir masa perlakuan satu per satu tikus dikeluarkan dari sungkup dan segera ditimbang. Tikus

kemudian dipindahkan ke dalam sungkup kecil yang sudah dioptimasi sebelumnya. Dalam sungkup tersebut tikus dimatikan dengan menggunakan eter. Tikus kelompok kontrol (P1) dipelihara dalam kandang dengan kondisi yang mirip dengan kelompok perlakuan, bedanya menggunakan udara atmosfir. Pada hari ke-28 tikus ditimbang, kemudian dimatikan.



Gambar: 1. Publikasi Model Hewan-coba Gagal Jantung

Parameter yang Diperiksa

Analisis gas darah dan hematologi, dilakukan secara automasi masing-masing dengan *Corning 165 Blood Gas Analyzer* dan *Sysmex KX21 Hematology Analyzer*. Evaluasi morfometrik jantung, dilakukan dengan mengukur tebal dinding ventrikel menggunakan alat *caliper digital* dengan ketelitian 0.01 mm. Preparat histopatologi diamati di bawah mikroskop cahaya dan dipotret dengan kamera digital. Pemeriksaan immuno-histokimia, dilakukan dengan metoda TUNEL, yaitu untuk mendeteksi

apoptosis, menggunakan *in situ cell death detection kit* (Roche). Konsentrasi BNP-45 ditetapkan secara ELISA kompetitif dengan metoda *streptavidin-horseradish peroxidase* (SA-HRP).¹⁵ Pembacaan dan perhitungan hasil dilakukan dengan *VMax Kinetic Microplate Reader* menggunakan perangkat-lunak *SOFTmax Pro 4.0 Drug Discovery Edition*.

HASIL

Hasil analisis gas darah dan hematologi, pada tabel 1 memperlihatkan bahwa setelah satu hari

hipoksia, semua parameter gas darah seperti pO_2 , pCO_2 , dan $Sat O_2$ turun secara drastis dan berlangsung terus sejalan dengan lamanya perlakuan. Sedangkan pH darah arteri dan kadar HCO_3 menurun secara perlahan. Penurunan HCO_3 terus berlanjut, sehingga pada akhir masa perlakuan kadarnya menjadi sangat rendah yaitu 10.1 mmol/l. Perlakuan menyebabkan peningkatan konsentrasi hemoglobin (Hb), hematorit (Ht) dan hitung sel darah merah (SDM). Di samping itu

terjadi pula penurunan asupan makan, minum dan BB.

Hasil pemeriksaan morfometrik jantung, pada tabel 2 terlihat tebal dinding ventrikel kiri (LV) dan ventrikel kanan (RV) semakin meningkat atau mengalami hipertrofi, seiring lamanya perlakuan. Berat jantung (BJ) meningkat secara berangsur sejak awal, sehingga pada akhir perlakuan (P7), BJ naik sekitar 19% di banding kelompok kontrol, sedangkan rasio BJ/BB meningkat sekitar 80% (5.74 vs 3.19).

Tabel: 1. Nilai Darah, Asupan dan Berat badan

Parameter	Normoksia	HIPOKSIA					
		1 hari	3 hari	7 hari	14 hari	21 hari	28 hari
PO_2 arteri, mmHg	96.4 ± 4.8	$56.2 \pm 6.0^*$	$51 \pm 5.2^*$	$44.6 \pm 4.0^*$	$35.6 \pm 3.1^*$	$30.1 \pm 4.5^*$	$24.7 \pm 2.6^*$
pCO_2 arteri, mmHg	40.4 ± 2.7	$36.2 \pm 2.2^*$	$33.3 \pm 2.2^*$	$29 \pm 3.3^*$	$23.7 \pm 2.4^*$	$20.1 \pm 1.9^*$	$16.2 \pm 3.4^*$
$SAT O_2$ arteri, %	94.1 ± 3.1	$65.2 \pm 6.2^*$	$60.2 \pm 5.5^*$	$57.3 \pm 5.4^*$	$52.9 \pm 6.6^*$	$36.3 \pm 5.7^*$	$25.2 \pm 5.4^*$
pH	7.39 ± 0.01	7.4 ± 0.02	7.4 ± 0.01	7.4 ± 0.02	7.37 ± 0.01	$7.36 \pm 0.02^*$	$7.36 \pm 0.02^*$
HCO_3 mmol/L	24.3 ± 2.5	22.2 ± 2.3	$20.4 \pm 1.7^*$	$17.9 \pm 1.2^*$	$14.1 \pm 1.1^*$	$11.3 \pm 1.9^*$	$10.1 \pm 2.1^*$
Hemoglobin, g/L	120.3 ± 1.6	$140 \pm 3.1^*$	$150.2 \pm 3.7^*$	$171.6 \pm 5.5^*$	$199.3 \pm 3.9^*$	$215.6 \pm 4.7^*$	$221.5 \pm 5.2^*$
Hematokrit, %	45.2 ± 2.5	47.8 ± 3.6	$52.5 \pm 5.1^*$	$58.3 \pm 2.7^*$	$63.2 \pm 2.6^*$	$66.4 \pm 3.5^*$	$68.6 \pm 4.3^*$
SDM, $\mu L/1000$	6.9 ± 0.1	7.1 ± 0.2	$8.0 \pm 0.2^*$	$8.5 \pm 0.5^*$	$9.7 \pm 0.5^*$	$10.2 \pm 0.2^*$	$10.4 \pm 0.8^*$
Asupan makan, g/hr	25.6 ± 0.4	20.4 ± 0.8	18.2 ± 0.2	17.6 ± 0.3	14.8 ± 0.5	10.2 ± 0.2	7.4 ± 0.2
Asupan minum, mL/hr	35.3 ± 0.5	32.9 ± 0.1	27.5 ± 0.3	23.4 ± 0.3	20.2 ± 0.5	17.3 ± 0.5	15.6 ± 0.3
BB akhir, g	254 ± 3.9	$206.3 \pm 9.7^*$	$201.3 \pm 5.2^*$	$195 \pm 5.4^*$	$182 \pm 17.6^*$	$173 \pm 1.2^*$	$168 \pm 7.5^*$

Nilai Rerata $\pm$ SEM, *perbedaan bermakna dibanding normoksia ($P < 0.05$, uji Mann Whitney)

Tabel: 2. Evaluasi Morfometrik Jantung

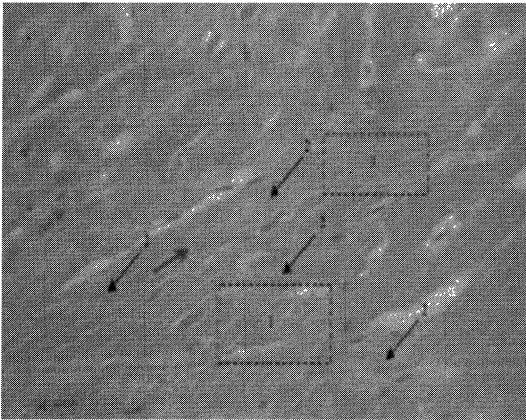
Parameter	Normoksia	Hipoksia					
		1 hari	3 hari	7 hari	14 hari	21 hari	28 hari
Tebal LV, mm	2.79 ± 0.08	2.86 ± 0.09	3.07 ± 0.07	$3.28 \pm 0.10^*$	$3.51 \pm 0.11^*$	$3.7 \pm 0.08^*$	$3.71 \pm 0.06^*$
Hipertrofi LV, (%)		2.51	10.04	17.56	25.81	32.26	32.97
Tebal RV, mm	1.72 ± 0.06	1.80 ± 0.06	1.98 ± 0.10	$2.23 \pm 0.08^*$	$2.33 \pm 0.06^*$	$2.52 \pm 0.05^*$	$2.54 \pm 0.08^*$
Hipertrofi RV, (%)		4.05	15.12	29.65	35.47	48.26	48.84
Berat Jantung, mg	811.5 ± 42.6	844.3 ± 65.4	863.0 ± 26.2	917.0 ± 68.1	937.8 ± 75.1	$958.0 \pm 22.6^*$	$965.0 \pm 43.9^*$
Berat Badan, g	254 ± 3.87	$206.3 \pm 9.66^*$	$201.3 \pm 5.15^*$	$195.0 \pm 5.40^*$	$182.0 \pm 17.55^*$	$173.0 \pm 1.29^*$	$168.0 \pm 7.51^*$
Rasio BJ/BB, mg/g	3.19 ± 0.011	4.09 ± 0.007	4.29 ± 0.005	4.70 ± 0.123	5.15 ± 0.043	5.54 ± 0.017	5.74 ± 0.006

Nilai Rerata $\pm$ SEM, *perbedaan bermakna dibanding normoksia ($P < 0.05$, uji Mann Whitney)
 Hipertrofi (%) = (Tebal Ventrikel Kelompok Perlakuan – Tebal Ventrikel Kelompok Kontrol x 100%

Hasil pemeriksaan histopatologi pada gambar 2B memperlihatkan terjadi kerusakan struktur berupa hilangnya struktur serat lintang dan *intercalated disk* (ID), angiogenesis, kongesti, fokus perdarahan disertai infiltrasi sel radang. Pada gambar 2D terlihat hipertrofi yang masif, *perinuclear space*, nekrosis, degenerasi inti serta fibrosis. Di samping itu pada pemeriksaan immuno-histokimia juga ditemukan indeks apoptotik yang

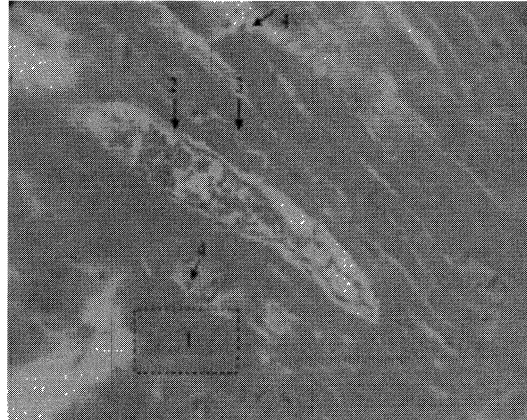
meningkat sesuai lamanya perlakuan seperti terlihat pada Gambar: 3.

Konsentrasi BNP-45 plasma pada gambar 4 terlihat meningkat secara bermakna sejak hari pertama perlakuan, walaupun masih dalam batas normal. Setelah tiga hari perlakuan (P3) dicapai konsentrasi 0.98 ng/ml, mendekati nilai *cut off* (100 ng/ml). Peningkatan berlangsung terus, sehingga mencapai puncak pada hari ke 21 (P6).



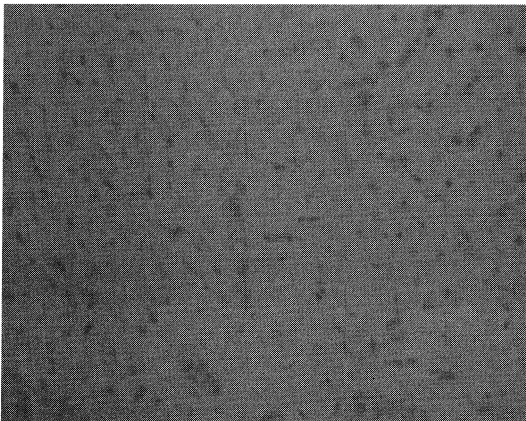
Gambar: 2A. Tanpa Perlakuan - Pewarnaan HE 400x

Serat lintang-1 dan Intercalated Disk -2 terlihat jelas Inti sel dan pembuluh darah normal



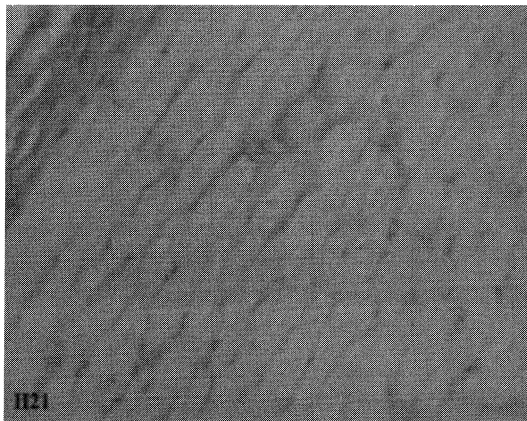
Gambar: 2B. Perlakuan 21 hari - Pewarnaan HE 400x

Serat lintang dan struktur ID menghilang-1, angiogenesis



Gambar: 2C. Tanpa Perlakuan – Pewarnaan PAS 400x

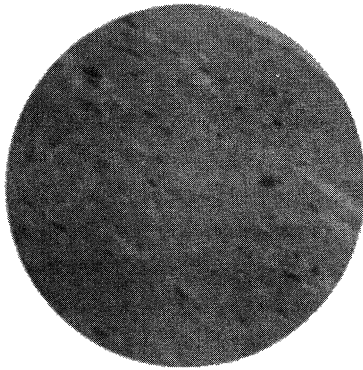
Ukuran sel normal, inti sel jelas, tidak tampak tanda-tanda degenerasi inti. atau nekrosis.



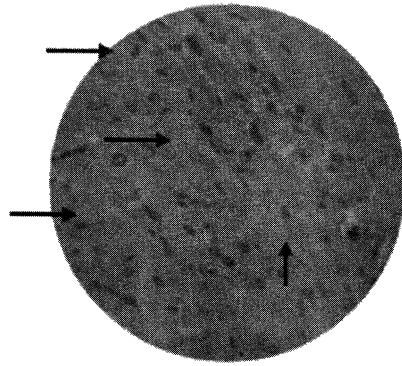
Gambar :2D. Perlakuan 21 hari - Pewarnaan PAS 400x

Hipertrofi-1, *perinuclear space*-2, degenerasi inti 3, nekrosis dan fibrosis-4.

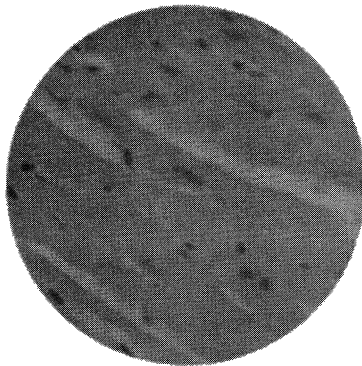
Gambar: 2. Hasil Pemeriksaan Histopatologi



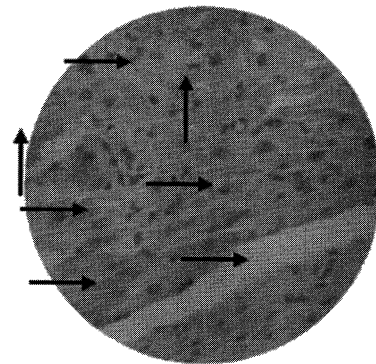
Gambar: 3A. Kontrol Negatif



Gambar: 3B. Kontrol Positif

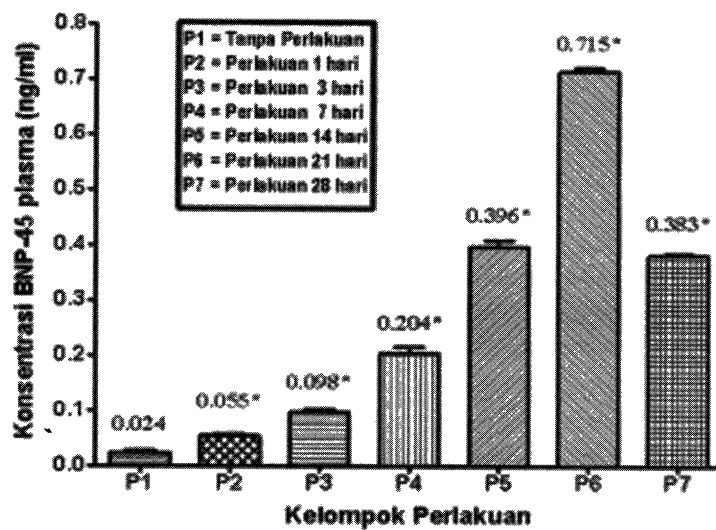


Gambar: 3C. Tanpa Perlakuan (P1)



Gambar: 3D. Hipoksia 21 hari (P6)

Indeks Apoptotik						
P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
0	0.11	0.16	0.20	0.26	0.32	0.41

Gambar: 3. Hasil tes TUNEL (*terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxy-UTP nick end labeling*)

Gambar: 4. Konsentrasi BNP-45 Plasma

*perbedaan bermakna dibanding normoksia ($P < 0.05$), uji Mann Whitney

PEMBAHASAN

Penurunan semua parameter gas darah seperti pO_2 , pCO_2 , Sat O_2 dan HCO_3 yang drastis, berarti perlakuan yang diberikan sudah menyebabkan hipoksia sistemik. Pada akhir perlakuan hewan coba berada dalam kondisi hipoksia berat (penurunan pO_2 dan Sat O_2) disertai asidosis metabolik (penurunan pH dan HCO_3). Sebagai usaha kompensasi terhadap sesak nafas karena kekurangan O_2 , pernafasan dipacu (hiperventilasi) dan pCO_2 menurun, sehingga mengakibatkan alkalosis respiratorik. Witt KA *et al*¹⁶ melaporkan bahwa penurunan yang mencolok dari parameter yang sama sudah terjadi sejak jam pertama pemaparan. Hasil yang sebanding juga dilaporkan oleh Corno *et al*¹⁷ (hipoksia 14 hari, 10% O_2) dan Carraway *et al*¹⁸ (hipoksia-hipobarik). Kenaikan Hb, Ht dan hitung sel darah merah (SDM) terjadi sebagai usaha kompensasi terhadap penurunan pO_2 di jaringan dan sel, sehingga melalui kenaikan semua parameter tersebut, transpor O_2 ditingkatkan. Akan tetapi hal ini menyebabkan viskositas darah meningkat, sehingga kerja jantung semakin berat. Asupan makan dan minum yang menurun, menunjukkan hipoksia kronik menyebabkan stres dan gangguan metabolisme yang berat sehingga menimbulkan penurunan BB yang mencolok dalam bentuk *hypoxic cachexia* pada akhir perlakuan.

Morfometrik jantung, hipertrofi RV lebih dominan di banding LV (48.26 vs 32.26) dan (48.84 vs 32.97), masing-masing untuk kelompok P6 dan P7. Hal ini terjadi karena hipoksia menyebabkan hipertensi pulmonal, sehingga RV bekerja lebih berat. Walaupun kenaikan berat jantung pada P7 hanya sekitar 19% dibanding normoksia (965.0 vs 811.5), akan tetapi karena BB yang turun secara drastis, rasio BJ/BB

meningkat sekitar 80% (5.74 vs 3.19) atau sekitar 74% (5.54 vs 3.19) pada P6. Ini berarti bahwa pada kelompok P6 (21 hari) dan P7 (28 hari) terjadi hipertrofi ventrikel yang cukup berat. Desjardins¹⁹ dan Toussaint²⁰, menyatakan bahwa kenaikan rasio BJ/BB yang cukup besar sebagai salah satu tanda terjadinya gagal jantung.

Kelainan histopatologi berupa hipertrofi kardiomyosit yang masif disertai hilangnya struktur *intercalated disk* (ID), merupakan bukti terjadinya *remodeling* ventrikel yang antara lain disebabkan proses angiogenesis, kongesti dan fibrosis, karena stimulasi sistem saraf simpatis dan RAA yang berkelanjutan akibat perlakuan hipoksia kronik.²¹ Hal ini sekaligus menunjukkan bahwa hipertrofi yang terjadi bukan lagi bersifat adaptasi-kompensasi, akan tetapi sudah bersifat mal-adaptasi akibat beban-berlebih jantung yang makin meningkat. Mekanisme kejadian tersebut dapat diterangkan sebagai berikut, ID terdiri atas *gap junctions*, *adherent junctions* dan *desmosomes*, yaitu struktur yang penting untuk mengatur bentuk, pertumbuhan dan hubungan antar sel. Di samping itu ID mengandung berbagai protein seperti β -catenin dan cadherin yang terlibat dalam unit kontraktile, sehingga bila rusak, kinerja jantung sebagai pompa akan terganggu.²²

Kardiomyosit merupakan sel yang sudah selesai berdiferensiasi, setiap peristiwa apoptosis, akan menyebabkan penurunan jumlah kardiomyosit, sehingga fungsi jantung akan semakin menurun.²³ Sejumlah studi menyebutkan bahwa fibrosis dan apoptosis merupakan tanda transisi dari hipertrofi adaptif menjadi hipertrofi mal-adaptif yang menuju ke gagal jantung, bahkan ada pula yang menyatakan bahwa apoptosis terjadi pada gagal jantung yang sudah lanjut.²⁴

Ritter & Neyses²⁵ menyatakan bahwa empat kelainan histopatologis yang khas dari gagal jantung adalah hipertrofi kardiomyosit, fibrosis, apoptosis dan kerusakan struktur ID dari kardiomyosit. Oleh karena keempat kelainan tersebut juga ditemukan pada studi ini, maka dapat dinyatakan bahwa tikus kelompok P6 dan P7 dalam studi ini, secara histopatologis atau paling tidak pada tingkat molekuler dan seluler sudah mengalami gagal jantung.

Konsentrasi BNP-45 plasma meningkat secara mencolok dan mencapai puncak pada hari ke 21 (P6) yaitu 0.715 ng/ml (>7 kali nilai normal) atau (~30 kali nilai kontrol). Bila hasil ini digabung dengan hasil histopatologi dan tes TUNEL, maka semua data tersebut saling mendukung untuk mengatakan bahwa pada hari ke 21 sudah terjadi gagal jantung, sedangkan pada hari ke 14 kelainan masih pada tingkat disfungsi ventrikel. Pendapat ini didukung klasifikasi gagal jantung oleh NYHA yang menyebutkan bahwa konsentrasi BNP plasma yang melebihi 750 ng/ml tergolong gagal jantung kelas III-IV.²⁶ Hessel,²⁷ melaporkan bahwa hipoksia-hipobarik dengan pemberian 30mg/kgBB monocrotaline (MCT), selama 4 minggu menyebabkan hipertrofi-kompensasi, sedangkan pemberian dengan dosis 80mg/kgBB menyebabkan gagal jantung. Dari kedua hasil studi ini dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat hubungan dosis-respons dalam patofisiologis gagal jantung yang diinduksi hipoksia. Maksudnya, sekali terjadi hipertrofi patologis, atau lebih tepat, sekali jalur sinyal hipertrofi patologis diaktifkan, maka cepat atau lambat akan menuju gagal jantung, hal ini menunjukkan sifat progresif dari patofisiologis gagal jantung.²⁸ Penurunan konsentrasi yang menyolok pada akhir perlakuan (P7), mungkin pada saat tersebut kelainan sudah

mencapai tahap terminal, sehingga secara umum sistem translasi, pascatranslasi atau sekresi protein mengalami *down regulation* sebagai akibat gangguan fungsi jantung yang sudah lanjut, hal ini terlihat sesuai dengan histopatologi dan histokimia. Uji regresi linear menunjukkan adanya korelasi negatif antara nilai pO_2 darah dengan konsentrasi BNP-45 plasma, sedangkan pada uji Spearman didapatkan $r = -0.8929$ dan nilai P (*two-tailed*) = 0.0123. Korelasi yang cukup kuat ini menunjukkan bahwa kerusakan struktur miokard menyebabkan beban jantung meningkat, dan dinding ventrikel teregang, sehingga menimbulkan stimuli untuk sintesis dan sekresi BNP-45. Apakah gagal jantung-hipoksia juga menyebabkan upregulasi gen BNP-45 pada tingkat transkripsi, diperlukan pemeriksaan mRNA BNP-45.

Keterbatasan Studi

Hambatan utama dalam studi ini yaitu:

- Satu definisi gagal jantung yang bersifat seragam, belum ada. Menggabungkan berbagai aspek yang sangat kompleks dari gagal jantung menjadi satu definisi yang dapat diterima oleh semua pihak, merupakan usaha yang sulit.
- Kriteria diagnosis gagal jantung yang tegas, tidak ada. Tidak ada satu tes diagnostik yang mapan atau fakta yang didapat dengan batas tegas seperti contoh pada DM atau hipertensi. Definisi dan kriteria yang biasa digunakan terutama ditujukan untuk kepentingan klinik praktis, sehingga tidak dapat diadopsikan sepenuhnya pada studi tingkat molekuler dalam penelitian eksperimen ini.
- Pengujian secara langsung parameter fungsional jantung, seperti analisis disfungsi ventrikel dengan ekokardiografi, tidak dapat dilakukan,

karena tidak cocok dengan disain penelitian ini, yang menempatkan hewan coba dalam sungkup-hipoksia. Jadi, kriteria diagnosis gagal jantung pada studi ini terutama berdasarkan kelainan struktur dan dibandingkan dengan hasil peneliti lain. Namun demikian berdasarkan beratnya kerusakan struktur, dapat dipastikan berbagai fungsi jantung sudah mengalami gangguan yang berat sehingga menimbulkan gagal jantung, khususnya pada kelompok P6 dan P7. Paling tidak gagal jantung yang terjadi pada studi ini memenuhi syarat untuk disebut sebagai gagal jantung tingkat seluler atau molekuler.²⁹ Beberapa fakta yang dapat mendukung pendapat tersebut yang perlu diungkapkan kembali antara lain adalah:

- Desjardins¹⁹ dan Toussaint,²⁰ menggunakan kenaikan konsentrasi BNP plasma dan rasio BJ/BB yang cukup besar sebagai tanda terjadinya gagal jantung.
- Ritter & Neyses²⁵ menyatakan bahwa 4 kelainan histopatologis yang khas dari gagal jantung adalah: hipertrofi kardiomyosit, fibrosis, apoptosis dan kerusakan struktur

ID (*intercalated disk*), yang semuanya dapat diamati pada studi ini.

- Pemeriksaan konsentrasi BNP plasma, dipandang sebagai petanda gagal jantung dan prediksi kematian, diakui oleh FDA dan ACC/AHA.²⁶
- Akurasi pengukuran BNP plasma setara dengan doppler ekokardiografi³⁰ dan lebih akurat dibanding pemeriksaan fisik, kriteria Framingham atau NHANES.³¹
- Spesivitas dan sensitivitas pengukuran konsentrasi BNP plasma cukup tinggi.³²

KESIMPULAN

Hipoksia sistemik kronik pada tikus menyebabkan gagal jantung, yang ditandai hipertrofi masif dari kardiomyosit, kerusakan struktur dan morfometrik jantung. Gagal jantung yang terjadi disertai dengan peningkatan ekspresi gen BNP-45, pada tingkat translasi (sintesis protein), sehingga konsentrasi BNP-45 plasma meningkat secara mencolok. Di samping itu terjadi pula asidosis metabolik dengan kompensasi alkalosis respiratorik, serta penurunan BB yang mencolok (*hypoxic cachexia*).

DAFTAR PUSTAKA

1. Braunwald E. Clinical manifestations of heart failure. Di dalam: Braunwald E (ed.). *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. Philadelphia: Saunders; 1988. p. 471–84.
2. Kleiner DH, Landmesser U, Drexler H. Heart Failure: Pathophysiology, molecular biology and clinical management. *N Engl J Med* 2006;342:2005-6.
3. Roger VL, Weston SA, Redfield MM, Hellermann JP, Killian J, Jawn BP, *et al*. Trends in heart failure incidence and survival in a community-based population. *JAMA*. 2004; 292:344–50.
4. Stewart S, MacIntyre K, Capewell S, McMurray JJV. Heart failure and the aging population: an increasing burden in the 21st century? *Heart (British Cardiac Society)* 2003; 89: 49–53.
5. Jessup M, Brozena S. Heart failure. *New Engl J Med* 2003; 348: 2007-18.
6. Lorell BH, Carabello BA. Left ventricle hypertrophy: Pathogenesis, detection and prognosis. *Circulation* 2000; 102:470-9.

7. Shiojima I, Sato K, Izumiya Y. Disruption of coordinated cardiac hypertrophy and angiogenesis contributes to the transition to heart failure. *J Clin Invest* 2005;115:2108-18.
8. Katz AM. Crossover between functional and proliferative signaling: key to understanding the pathophysiology and management of heart failure. *J Cell Mol Med* 2001;5(2):125-131.
9. Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *J Clin Invest* 2005 Mar;115:500-8.
10. Giaccia AJ, Simon MC, Johnson R. The biology of hypoxia: the role of oxygen sensing in development, normal function, and disease. *Genes & Development* 2004;18:2183-94.
11. Peers C, Kemp PJ. Acute oxygen sensing: diverse but convergent mechanisms in airway and arterial chemoreceptors. *Respir Res* 2001;2:145-9.
12. McCullough PA, Philbin EF, Spertus JA, *et al.* Confirmation of a heart failure epidemic: findings from the Resource Utilization Among Congestive Heart Failure study. *J Am Coll Cardiol.* 2002; 39: 60–9.
13. Khand A, Gemmel I, Clark AL, Cleland JG. Is the prognosis of heart failure improving? *J Am Coll Cardiol* 2000;36:2284-6.
14. McMurray JJV, Stewart S. The burden of heart failure. *Eur Heart J. Supplements* 2002; 4 (Suppl D): D50-D-8.
15. Shiojima I, Sato K, Izumiya Y. Disruption of coordinated cardiac hypertrophy and angiogenesis contributes to the transition to heart failure. *J Clin Invest* 2005; 115:2108-18.
16. Witt KA, Mark KS, Hom S, Davis TP. Effects of hypoxia - reoxygenation on rat blood - brain barrier permeability and tight junctional protein expression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H2820–31.
17. Corno AF, Milano G, Morel S, Tozzi P, Genton CY, Samaja M, *et al.* Hypoxia: unique myocardial morphology? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004;127:1301-8.
18. Carraway MS, Ghio AJ, Carter JD, Piantadosi CA. Expression of heme oxygenase-1 in the lung in chronic hypoxia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 278:L806-12.
19. Desjardins S, Mueller RW, Cauchy MJ. A pressure overload model of congestive heart failure in rats. *Cardiovasc Res* 1988;22:696-702.
20. Toussaint CH, Moinard C, Rasmusen C, Tabbi-Anneni I, Cynober L, Grynberg A. Neurohormonal control of cardiovascular function: aortic banding in rat as a model to investigate malnutrition associated with heart failure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005;288:R1325-31.
21. Zhang H, Bosch-Marce M, Shimoda LA, Tan YS, Baek JH, Wesley JB, *et al.* Mitochondrial autophagy is an HIF-1-dependent adaptive metabolic response to hypoxia. *Journal of Biological Chemistry* 2008; 283 16: 10892-903.
22. Schroen B, Leenders JJ, Bertrand A, Claussen C, Saftig P, Heymans S, *et al.* Lysosomal integral membrane protein-2 is a novel component of the cardiac intercalated disc and vital for load-induced cardiac myocyte hypertrophy. *J Cell Biol* 2007;204:1227-35.
23. van Empel VPM, Bertrand ATA, Hofstra L, Crijns HJ, Doevendans PA, De Windt LJ. Myocyte apoptosis in heart failure. *Cardiovascular Research* 2005;67: 21-9.
24. Communal C, Colucci WS. The control of cardiomyocyte apoptosis via b-adrenergic signaling pathway. *Arch mal Coeur* 2005; 98:236-41.
25. Ritter O, Neyses L. The molecular basis of myocardial hypertrophy and heart failure. *Trends Mol Med* 2003; 9: 313-21.
26. Hunt SA, Abraham WT, Chin MH, Feldman AM, Francis GS, Ganiats TD, *et al.* ACC/AHA 2005 Guideline Update for the Diagnosis and Management of Chronic Heart Failure in the Adult: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2005; 112: e154-e235.
27. Hessel MHM, Steendijk P, den Adel B, Schutte CI, van der Lasser A, *et al.* Characterization of right ventricular function after monocrotaline-induced pulmonary hypertension in the intact rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: H2424-30.

28. Silver, MA, Maisel A, Yancy CW. BNP Consensus panel 2004: a clinical Approach for the diagnostic, prognostic, screening, treatment monitoring, and therapeutic roles of natriuretic peptides in cardiovascular diseases. CHF. 2004; 10:1-30.
29. Coronel R, de Groot JR, van Lieshout JJ. Defining heart failure. Cardiovasc Res 2001; 50: 419 – 22.
30. Lubien E, DeMaria A, Krishnaswamy P, Clopton P, Koon J, Kazanegra R, *et al.* Utility of B-type natriuretic peptide in detecting diastolic dysfunction comparison with doppler velocity recordings. Circulation 2002;105:595-601.
31. Maisel AS. B-type natriuretic peptide levels: Diagnostic and therapeutic potential. Cardiovasc Med 2001;2 Suppl 2:S13-8.
32. Levy D, Kenchiah S, Larson MG, Benjamin EJ, Kupka NJ, Ho, KKL, *et al.* Long-term trends in the incidence of and survival with heart failure. N Engl J Med 2002; 347:1397–402.