

Korelasi antara Hormon Reproduksi dengan Tampilan Integrin Endometrium pada Wanita dengan Infertilitas

E. SURJANA
D. SANTY
A. HESTIANTORO
J. INDARTI
F. KUSUMA

*Departemen Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/
RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo
Jakarta*

Tujuan: Untuk mengetahui apakah terdapat hubungan antara hormon reproduksi terhadap tampilan integrin endometrium.

Tempat: Klinik Yasmin bagian Obstetri dan Ginekologi RSCM-FKUI.

Rancangan/rumusan data: Penelitian ini bersifat klinis retrospektif.

Bahan dan cara kerja: 53 orang wanita usia antara 20-40 tahun. Pada semua pasien dilakukan biopsi endometrium pada fase sekresi dan pemeriksaan hormon FSH, LH, Prolaktin, estradiol dan progesteron, dan tampilan integrin dari biopsi endometrium dianalisa dengan pemeriksaan imunohistokimia.

Hasil: Nilai rerata tampilan integrin pada penelitian ini 1,3. Dan didapatkan angka korelasi progesteron terhadap tampilan integrin endometrium 0,285 dengan nilai probabilitas 0,04 dan koefisien determinasi 0,081. Kadar hormon FSH, LH, Prolaktin dan estradiol tidak bermakna terhadap tampilan integrin.

Kesimpulan: Terdapat hubungan positif antara kadar hormon progesteron terhadap tampilan integrin endometrium di fase luteal madya. Diperlukan adanya faktor-faktor lain untuk memperkuat nilai prediktor hormon progesteron.

[Maj Obstet Ginekol Indones 2006; 30-2: 112-5]

Kata kunci: integrin, FSH, LH, Estradiol, Progesteron, Infertilitas, Jendela implantasi.

Objective: To determine the correlation between hormone reproductive production and expression integrin $\alpha\upsilon\beta 3$ in the endometrium.

Setting: Yasmin clinic, dr. Cipto Mangunkusumo hospital, Department of Obstetrics and Gynecology.

Design/data identification: Retrospective study

Material and method: 53 infertility women, with age 20-40 years were recruited in this study. Endometrial sampling were obtained on their mid-luteal phase and the expression of endometrial integrin ($\alpha\upsilon\beta 3$) were assessed with the help of immunohistochemistry technique and judged based on H-score. The blood sampling was collected twice, firstly at early-follicular phase (day 3-5) and secondly at mid-luteal phase (day 21-22) for measuring the levels of reproductive hormone serum such as FSH, LH, Prolactin, Estradiol and Progesterone.

Result: Mean H-score value for endometrial expression in this study is 1.3. There was moderate correlation observed between progesterone serum levels and the expression of endometrial integrin ($\alpha\upsilon\beta 3$) at mid-luteal phase with correlation score 0.285, probability score: 0.04 and determination coefficient: 0.081.

Conclusion: There was a positive correlation found between progesterone serum levels and the expression of integrin endometrium ($\alpha\upsilon\beta 3$) in mid luteal phase. Other factors are still needed for strengthening the predictive value of progesterone.

[Indones J Obstet Gynecol 2006; 30-2: 112-5]

Keyword: integrin, FSH, LH, Estradiol, progesterone, Infertility, Window implantation.

PENDAHULUAN

Kehamilan tidak mungkin terjadi tanpa keberhasilan implantasi dan plasentasi. Implantasi merupakan proses yang kompleks di mana terjadi interaksi blastokist yang kemudian berkembang menjadi embrio dan plasenta dengan endometrium. Endometrium memiliki gambaran histologi yang bervariasi selama siklus menstruasi normal, hal ini distimulasi oleh hormon-hormon steroid. Estradiol menstimulasi proliferasi sel basalis dan fungsionalis, sedangkan progesteron merangsang pertumbuhan dan sekresi dari kelenjar endometrium dan juga dipercaya menginisiasi perubahan pada endometrium untuk

implantasi.^{1,2} Kadar hormon yang abnormal dapat mempengaruhi morfologi endometrium dan dapat mengganggu reseptivitas dari endometrium. Sebagaimana histologi endometrium dipengaruhi oleh hormon steroid, tampilan integrin pada endometrium juga dipengaruhi oleh hormon-hormon steroid tersebut. Penelitian-penelitian sebelumnya memperlihatkan perubahan-perubahan tampilan integrin oleh endometrium selama siklus menstruasi.^{1,2,3,4} Integrin adalah membran glikoprotein yang disusun oleh dua subunit (α dan β). Fungsi utamanya adalah memediasi ikatan sel-sel dan sel-matriks ekstraseluler.^{3,4,6,7}

Implantasi embrio pada manusia terjadi pada hari ke 20-24 siklus menstruasi yang juga disebut sebagai jendela implantasi, ketika reseptivitas endometrium optimal.⁵⁻¹⁰ Selama waktu ini, integrin $\alpha 1$, $\alpha 4$ dan $\beta 3$ merupakan petanda dari endometrium yang reseptif. Sub unit $\alpha 1$ hanya terdapat pada fase luteal (hari 15-28), subunit integrin $\alpha 4$ ditampilkan pada hari 14-24 sedangkan subunit $\beta 3$ ditampilkan pada hari 20 siklus menstruasi hingga fase midluteal.^{11,12} Terdapat tiga integrin utama ($\alpha 1\beta 1$, $\alpha 4\beta 1$, $\alpha v\beta 3$) yang berperan penting dalam proses implantasi, yang ditampilkan selama jendela implantasi.^{8,9,11,12} Jelaslah bahwa, integrin pada endometrium ini diatur secara hormonal.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat adakah hubungan antara kadar hormon reproduksi terhadap tampilan integrin pada endometrium wanita dengan infertilitas.

BAHAN DAN CARA KERJA

Populasi, Sampel dan alur penelitian

Sampel penelitian adalah wanita infertil yang datang ke poliklinik Jasmin RSCM dan menjalani pemeriksaan rutin untuk infertilitas, memenuhi kriteria penerimaan. Usia antara 20-40 tahun, memiliki siklus menstruasi yang teratur (28-30 hari), tidak mendapat terapi hormonal dan tidak menggunakan kontrasepsi sekurang-kurangnya tiga bulan terakhir.

Dilakukan pemeriksaan biopsi endometrium dan pemeriksaan hormon pada setiap sampel.

Sampel endometrium

Biopsi endometrium dilakukan dengan menggunakan alat mikrokuret, kerokan dilakukan pada daerah fundus atau korpus uteri. Jaringan difiksasi dalam buffer formalin 3%, **PH 4** selama minimal 2 jam. Kemudian dikirim ke laboratorium sitopatologi bagian Obstetri dan Ginekologi RSCM, untuk selanjutnya dilakukan blok parafin.

Imunohistokimia

Blok parafin dipotong-potong dengan ketebalan 4 μ m, diambil dua buah potongan, masing-masing jaringan ditempelkan pada kaca slide yang telah dilapisi dengan aminopropyltriethoxysilane 2% kemudian dikeringkan di udara. Setelah dilakukan deparafinisasi jaringan, selanjutnya dicuci dengan air, dilakukan bloking dengan methanol peroksidase 0,5% selama 30 menit, dan dicuci kembali dengan air mengalir. Kemudian sediaan dimasukkan ke dalam cairan *retrieval antigen* yaitu trisodium sitrat

buffer 0,1 M pada *power level* tinggi selama 30 menit dalam *whirlpool temptation*, AKM 078, kemudian didinginkan selanjutnya sediaan dicuci dengan *saline phosphat buffer* (PBS pH 7,4). Setelah itu diberikan serum kuda normal 3% dengan suhu ruangan selama 20 menit. Selanjutnya sediaan diinkubasi dengan anti integrin $\alpha v\beta 3$ (clone LM 609; Chemicon; Singapore) dengan konsentrasi 0,4 μ g pada suhu 4° C dan didiamkan selama satu malam. Hari berikutnya sediaan dibilas dengan PBS, kemudian diinkubasi dengan antibodi sekunder kelinci-anti-tikus selama 20 menit, lalu sediaan dibilas dengan PBS lagi. *Biotinylated horseradish peroxidase streptavidin* ditambahkan selama 20 menit, lalu sediaan dibilas dengan PBS dan diberikan Chromogen DAB (Sigma, Germany). Kemudian sediaan dicuci dengan air, ditetesi dengan hematoxylin sebagai warna pembanding. Selanjutnya dilakukan dehidrasi dan sediaan ditutup dengan entelan.

Penilaian secara semikuantitatif dilihat dari epitel permukaan, kelenjar endometrium, stroma endometrium. Dilakukan penilaian sediaan secara umum dengan pembesaran 100 kali, kemudian dinilai epitel permukaan, kelenjar endometrium dan stroma endometrium, bila pewarnaan 100% (nilai 4), $\geq 75\%$ (nilai 3), $\geq 50\%$ (nilai 2), $\geq 25\%$ (nilai 1) dan $< 25\%$ (nilai 0). Selanjutnya intensitas pewarnaan dinilai dari warna coklat yang ditampilkan dari reaksi antigen antibodi integrin $\alpha v\beta 3$ endometrium, baik di epitel permukaan, kelenjar dan stroma, nilai 4 (kuat sekali), 3 (kuat), 2 (sedang), 1 (lemah) dan 0 (negatif). Nilai untuk setiap sediaan adalah rata-rata jumlah dari nilai umum, pewarnaan positif dan intensitas warna. Penilaian tampilan integrin $\alpha v\beta 3$ dapat dikelompokkan sebagai berikut nilai 0 (negatif), nilai ≤ 1 (intensitas lemah), nilai 1,1-2 (intensitas sedang), nilai 2,1-3 (intensitas kuat), nilai 3,1-4 (intensitas kuat sekali).

Pemeriksaan Hormon

Kadar serum FSH dan LH ditentukan dengan menggunakan *Chemiluminescent* dan Estradiol dan progesteron dinilai dengan menggunakan *radioimmunoassay*.

Statistik

Data dianalisa dengan menggunakan SPSS 13, dengan menggunakan koefisien korelasi Pearson untuk menilai korelasi dengan tingkat kemaknaan $\leq 0,05$.¹³

HASIL

Peserta penelitian sebanyak 53 orang, dengan usia antara 27-37 tahun dan rerata 31,51 tahun, dengan infertilitas primer atau sekunder antara 1-12 tahun dengan rerata 4,03 tahun. Dari 53 sediaan biopsi endometrium yang sesuai dengan fase sekresi dan dilakukan pewarnaan imunohistokimia integrin $\alpha v \beta 3$ endometrium memperlihatkan intensitas yang berbeda antara lemah sampai kuat. Dengan nilai integrin antara 0-4, rerata 1,3.

Tabel 1. Hubungan antara tampilan integrin endometrium dengan kadar hormon progesteron, estradiol, Prolaktin, FSH, LH

		Correlation					
		Integrin	Estradiol	FSH	LH	Prolaktin	Progesteron
Integrin	Pearson Correlatic	1	-.039	.215	-.152	.203	.285*
	Sig. (2-tailed)		.788	.130	.286	.153	.040
	N	53	51	51	51	51	52

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

Tabel 1 memperlihatkan bahwa hanya hormon progesteron yang memiliki hubungan dengan tampilan integrin endometrium, dengan angka korelasi 0,285 dan korelasi antara kedua variabel ini signifikan dengan nilai probabilitas 0,04.

Tabel 2. Koefisien determinasi progesteron terhadap integrin

Model Summary ^b				
Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.285 ^a	.081	.063	.84184

^a Predictors: (Constant), Progesteron

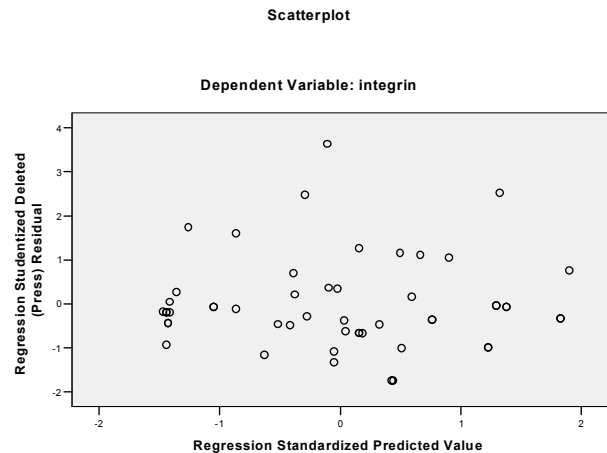
^b Dependent Variable: integrin

Tabel 2 memperlihatkan nilai koefisien determinasi (0,081) yang berarti bahwa 8,1% tampilan integrin dapat ditentukan dengan kadar hormon progesteron. Sedangkan sisanya ditentukan oleh faktor-faktor lainnya.

Gambar 1 memperlihatkan bahwa model regresi hormon progesteron dapat dipakai sebagai prediksi tampilan integrin endometrium, data terpencah di sekitar titik nol serta tidak tampak adanya suatu pola tertentu pada sebaran data tersebut.

PEMBAHASAN

Cara yang umum dilakukan untuk menilai fungsi luteal pada kasus infertilitas adalah dengan pe-



Gambar 1. Model Fit Hubungan antara Tampilan integrin dengan kadar hormon progesteron

nilaian langsung fungsi endometrium dengan cara biopsi endometrium dan *dating* histologi dengan menggunakan kriteria Noyes dan kawan-kawan (1950).⁷ Penilaian endometrial *dating* dengan pendekatan modern terdiri dari analisa biokimia, pemeriksaan ultrasonografi, pemeriksaan radioimmunoassay dari komponen-komponen serum, dan analisa morphometrik biopsi endometrium. Namun demikian, tes prediksi yang kuat untuk menilai fungsi endometrium dalam hal implantasi masih kurang.^{7,8,9}

Pada umumnya, untuk menilai maturasi dari endometrium adalah dengan biopsi endometrium akhir (hari ke 3 hingga hari 1 sebelum menstruasi) karena dipikirkan adanya efek kumulatif dari progesteron dan mungkin merupakan suatu prediktor fase luteal yang baik.⁷ Banyak peneliti menggunakan permulaan dari menstruasi pada siklus berikutnya untuk kronologi biopsi endometrium. Beberapa penelitian saat ini melakukan biopsi selama jendela implantasi (hari ke 20-24) sebagai biopsi luteal akhir yang tidak dapat memperlihatkan secara adekuat kejadian-kejadian sekitar nidasi. Dan sebagai tambahan, penelitian-penelitian saat ini memperlihatkan akurasi dari *dating* endometrium dengan menggunakan monitoring ultrasonografi atau penilaian serial kadar LH dari pada dengan menggunakan periode menstruasi yang lalu atau periode menstruasi berikutnya pada pasien-pasien dengan infertilitas.⁷⁻¹²

Pada penelitian ini dilakukan biopsi endometrium tunggal dalam satu siklus menstruasi. Hasilnya memperlihatkan bahwa terdapat hubungan positif antara kadar hormon progesteron dengan tampilan integrin endometrium. Dan kadar hormon

progesteron dapat digunakan sebagai prediksi terhadap tampilan integrin endometriun, namun nilai prediksi masih cukup kecil yaitu 0,081, sehingga diperlukan prediktor lainnya untuk menentukan tampilan integrin endometrium.

Hingga saat ini, mekanisme pengaturan tampilan integrin pada endometrium belum jelas. Diduga bahwa estrogen atau rasio estradiol terhadap progesteron dapat mengatur tampilan integrin.^{1,4} Namun kami mendapatkan estradiol, prolaktin, FSH, LH tidak memiliki hubungan dengan tampilan integrin endometrium. Penelitian-penelitian saat ini menduga bahwa terdapat beberapa aspek desidualisasi yang mungkin diatur oleh hormon steroid, seperti halnya tampilan integrin yang juga diatur oleh sitokin dan faktor pertumbuhan. Hal ini mungkin dapat menjelaskan tidak adanya hubungan antara tampilan integrin dan hormon reproduksi lainnya yang kami peroleh. Data yang kami peroleh sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh van der Linden et al (1995), yang mendapatkan tidak adanya hubungan antara tampilan cadherin dan integrin dan tampilan reseptor progesteron dan estrogen pada endometrium manusia, namun pada penelitian kami masih didapatkan hubungan antara progesteron dengan tampilan integrin.¹

KESIMPULAN

Dari penelitian ini diperoleh kesimpulan bahwa terdapat hubungan positif antara kadar hormon progesteron terhadap tampilan integrin endometrium pada fase luteal madya. Namun penggunaan integrin untuk menegakkan diagnosis infertilitas dan penggunaan progesteron sebagai prediktor tampilan integrin endometrium masih sangat dini. Sehingga diperlukan studi yang lebih besar dengan kekuatan statistik yang lebih kuat pada pasien infertil dan pasien fertil sebagai kontrol, dan akan lebih baik jika dapat dilakukan pengambilan biopsi endometrium lebih dari satu siklus menstruasi pada wanita yang sama.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih untuk bantuan teknis pemeriksaan imunositokimia jaringan integrin endometrium yang dilakukan oleh Drs. Nurhuda, MS. di Makmal Terpadu Imunoendokrinologi FKUI

RUJUKAN

1. Thomas K, Thomson AJ, Sephton V, Cowan C, Wood S, et al. The effect of gonadotrophic stimulation on integrin expression in endometrium. *Hum Reprod.* 2002; 17(1): 63-8
2. Creus M, Ordi J, Fabregues F, Casamitjana R, Ferrer B, et al. $\alpha v \beta 3$ integrin expression and pinopod formation in normal and out-of-phase endometrial of fertile and infertile women. *Hum Reprod.* 2002; 17(9): 2279-86
3. Simon C, Gimeno MJ, Mercader A, Remohl J, Polan ML, et al. Embryonic regulation of integrine $\beta 3$, $\alpha 4$, dan $\alpha 1$ in human endometrial epithelial cells in vitro. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 83(8): 2607-16
4. Oborna J, Novotny R, Brezinova J, Petrova P, Lichnovsky V, et al. Changes in the developmental of uterine pinopodes in steroid hormone supplemented cycles. *Physiol Res.* 2004; 53: 423-9
5. Santoro N, Goldsmith LT, Heller D, Illsley N, McGovern P, Molina C, et al. Luteal progesterone related to histological endometrial maturation in fertile women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 4207-11
6. Kimmins S, Maclaren LA. Cyclic Modulation of integrine expression in bovine endometrium. *Biol Reprod.* 1999; 61: 1267-74
7. Acosta AA, Elberger L, Borghi M, Calamera JC, Chemes H, Doncel GF, et al. Endometrial dating and determination of the window of implantation in healthy fertile women. *Fertil Steril.* 2000; 73(4): 788-98
8. Ordi J, Creus M. Within subject between cycle variability of histological dating, $\alpha v \beta 3$ integrin expression, and pinopode formation in the human endometrium. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88(5): 2119-25
9. Ordi J, Creus M, Balash J, Quinto L, Vanrell JA, et al. Integrin expression in normal and out-phase endometria. *Hum Reprod.* 1998; 13(12): 2360-8
10. Develioglu AH, Nikas G, Toner JP, Jones HW, Oehninger S, et al. Endometrial estrogen and progesterone receptor and pinopode expression in stimulated cycles of oocyte donors. *Fertil Steril.* 1999; 71(6): 1040-7
11. Basak S, Dhar R, Das C. Steroid modulate the expression of $\alpha 4$ integrin in mouse blastocysts and uterus during implantation. *Biol Reprod.* 2002; 66: 1784-9
12. Gonzalez RR, Palomino A, Boric A, Vega M, Devoto L, A quantitative evaluation of $\alpha 1$, $\alpha 4$, αv , and $\beta 3$ endometrial integrin of fertile and unexplained infertile women during the menstrual cycle a flow cytometric appraisal. *Hum Reprod.* 1999; 14(10): 2485-92
13. Santoso S. Menguasai statistik di era informasi dengan SPSS 12. Elex media komputindo, Gramedia, Jakarta. 2005