

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Endometriosis adalah didapatkannya kelenjar atau stroma endometrium pada lokasi ektrauterin. Insidensi endometriosis cukup tinggi, terjadi sekitar 10 % atau sekitar 190 juta kasus secara global. Endometriosis merupakan kelainan ginekologi kronis yang bersifat *estrogen-dependent* yang menyerang wanita usia reproduktif rentang usia 24-45 tahun. Endometriosis mempunyai manifestasi klinis nyeri, infertilitas, efek massa dan timbulnya rekurensi baik setelah diberikan terapi medisinalis ataupun pembedahan. Hal ini dapat menurunkan kualitas hidup, mengganggu aktivitas sosial, termasuk juga berkontribusi menjadi beban perekonomian suatu negara sama halnya dengan penyakit kronis lainnya seperti diabetes mellitus.<sup>1,2</sup>

Fenotipe endometriosis terdiri dari endometriosis peritoneal/*superficial endometriosis* (SUP), *ovarian endometrioma* (OMA) dan *deeply infiltrating endometriosis* (DIE). Endometrioma (OMA) adalah jenis kista yang terbentuk ketika jaringan endometrium tumbuh pada epitel permukaan ovarium. OMA merupakan jenis endometriosis stadium lanjut. OMA berisi cairan kental seperti tar coklat dan sering melekat erat pada struktur di sekitarnya, seperti peritoneum, saluran tuba, rahim dan usus.<sup>3</sup> Hughesdon pertama kali membuktikan hipotesis bahwa OMA 90 % bersumber dari regurgitasi darah haid dan sel endometriotik yang berimplantasi pada ovarium. Pada tahap selanjutnya, terjadi proses invaginasi

korteks termasuk implan endometriotic pada permukaan ovarium.<sup>1</sup> Endometrioma mengandung faktor-faktor yang memediasi kerusakan seluler, enzim proteolitik, dan molekul inflamasi dengan kadar yang lebih tinggi dibanding serum atau dengan kista ovarium jenis lainnya. Cairan pada endometrioma diyakini mengalami modifikasi yang dramatis pada sel endometriotik didalamnya, dari perubahan ekspresi gen yang kritikal sampai terjadinya perubahan genetik berat yang berpotensi sebagai inisiator tumorigenesis.<sup>4</sup>

Nyeri merupakan gejala sentral dari penyakit endometriosis termasuk endometrioma. Prevalensi endometriosis pada perempuan dengan nyeri panggul kronis dapat mencapai 50-90%. Nyeri yang dirasakan berupa tingkatan gejala, yakni dismenorea, nyeri panggul kronis, dispareuni, dan diskezia. Sejumlah 77 % pasien dengan endometrioma mengeluhkan dismenore berat, dan 92% mengeluhkan gejala dengan berbagai tingkatan nyeri. Rekurensi pada endometriosis juga didasarkan pada manifestasi nyeri yang didapatkan setelah dilakukannya tindakan operatif.<sup>3</sup>

Nyeri yang terkait dengan endometrioma didasari oleh mekanisme yang kompleks dan belum dimengerti sepenuhnya. Aktivasi kaskade inflamasi, rangsangan sistem imun yang mengaktivasi mediator proinflamasi, termasuk juga pertumbuhan serabut saraf baru yang diinisiasi oleh terdapatnya ketidakseimbangan persarafan sensoris dan simpatik merupakan jalur yang mendasari patogenesis nyeri. Stress oksidatif berperan sebagai inisiator dan memodulasi progresifitas endometriosis. Pada endometrioma, stress oksidatif bersumber dari sel endometriotik yang berdegenerasi dan akumulasi heme dan kation besi bebas yang

merupakan suatu radikal bebas. Pada fase awal penyakit, pembentukan dari *Reactive Oxygen Species* (ROS) akibat akumulasi dari peningkatan konsentrasi besi dari proses menstruasi retrograde merangsang respon inflamasi melalui aktivasi faktor transkripsi Nf-kB. Selanjutnya, pada fokus endometriotik akan terbentuk suatu ligan endogen pada reseptor *Toll Like Receptor* (TLR), sehingga terjadi suatu sirkulus *vicius* antara stress oksidatif terhadap sitokin proinflamasi yang mengaktivasi ligan endogen tersebut dan menjadi suatu sinyal *danger* (tanda bahaya) terhadap sistem imun, yang dikenal dengan istilah *Damage Associated Molecular Pattern* (DAMP).<sup>1,5</sup> Diantara DAMP ini yang dikenal luas yakni HSP 70, S100, fibronectin, ox-LDL neutrophil elastase, dan hyaluronate yang bekerja sebagai ligan endogen untuk reseptor TLR.<sup>6</sup>

*Heat Shock Protein 70* (HSP70) merupakan suatu protein polipeptida yang dihasilkan karena adanya *Heat Shock Respons* (HSR) yang merupakan suatu respon berbasis genetik untuk menginduksi gen-gen yang mengkode molekul chaperon, suatu molekul yang membantu proses pelipatan protein membentuk struktur yang normal. Fungsi utama HSP adalah sebagai pendamping proses proteostatik seperti *folding* dan *translocation*. HSP 70 mengalami overekspresi apabila terjadi kondisi stress seperti peningkatan kadar protein *misfolding*, dan peningkatan *reactive oksigen spesies* (ROS), trauma, infeksi, iskemia, dan lain sebagainya. Molekul ini dihasilkan oleh makrofag dan monosit sebagai respon terhadap stress, kemudian mengaktivasi sistem imun inate melalui interaksinya dengan reseptor pengenalan (*Pattern Recognition Receptor/PRR*). Pada endometrioma, aktivasi sistem imun oleh molekul DAMP terjadi secara rekuren, dan selanjutnya ekskresi dari HSP70

memediasi pelepasan sitokin proinflamasi, TNF- $\alpha$ , IL-1 beta, dan IL-6 pada makrofag melalui reseptor TLR yang menyebabkan inflamasi pelvis melalui induksi dari sitokin dan faktor-faktor pertumbuhan. Sinyal dari proses ini dimediasi oleh NF-kappa. Interaksi kompleks endokrin dan inflamasi pada lesi endometriotik merangsang proliferasi, vaskularisasi, termasuk nosiseptif.<sup>7,8</sup>

Eksresi yang berlebihan dari HSP70 dapat mencegah terjadinya agregasi protein dan redistribusi dari ubiquitin. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa HSP70 dapat mengganggu proses apoptosis pada berbagai level. Hal inilah yang menyebabkan terjadinya *survival* dari sel endometriotik.<sup>9</sup> Dari penelitian yang dilakukan oleh Lambrinoudaki dkk didapatkan kadar HSP70 serum lebih tinggi pada penderita endometriosis dibandingkan dengan tanpa endometriosis, dan terdapat perubahan ekspresi gen HSP70 pada endometrium eutopik wanita dengan endometriosis.<sup>10</sup>

Penelitian yang dilakukan Imamura dkk membandingkan antara ekspresi protein HSP 70 pada pasien pasca pemberian GnRH analog dengan yang tidak diberikan terapi, didapatkan bahwa imunoreaktivitas HSP 70 didapatkan tertinggi pada jaringan endometrium eutopik dan ektopik pada kasus lesi peritoneal (*red lesion*) dan pada endometriosis tipe endometrioma. Setelah diberikan terapi GnRH analog, kadar protein HSP 70 menjadi lebih rendah pada dinding kista dan lesi peritoneum pasien kelompok terapi dibandingkan dengan kelompok yang tidak diterapi. Hal ini menunjukkan bahwa HSP70 dapat digunakan sebagai marker respon terapi pada endometriosis.<sup>11</sup>

Pada endometriosis, terbentuk pembuluh darah dan serabut saraf baru (neuroangiogenesis). Sekresi mediator proinflamasi dan faktor pertumbuhan dimediasi oleh aktivasi sistem imun melalui faktor transkripsi NF- $\kappa$ B. Estradiol yang dihasilkan dari proses steroidogenesis pada lesi endometriotik berperan sebagai modulator pertumbuhan serabut saraf. Serabut saraf yang baru dibentuk ini mentransmisikan impuls saraf ke sistem saraf pusat yang kemudian menginterpretasikan nyeri.<sup>12</sup> *Protein Gene Product 9*. (PGP 9.5) merupakan protein saraf atau protein spesifik neuroendokrin yang terkait dengan ubiquitin COOH-terminal hydrolase yang membentuk 1-2% total protein pada otak. PGP9.5 adalah penanda pan neuronal yang spesifik untuk serabut saraf bermyelin dan tidak bermyelin.<sup>13</sup>

Penelitian yang dilakukan oleh Tokushige et al. menyebutkan bahwa terdapat densitas serabut saraf yang tinggi pada endometrioma. Densitas serabut terpusas PGP9.5 secara imunohistokimia ditemukan paling tinggi pada endometrioma dibanding ovarium normal. Terdapat serabut saraf disekitar kelenjar dan stroma lesi endometriotik. Keberadaan serabut saraf ini diyakini berkontribusi pada mekanisme nyeri pada endometrioma.<sup>14</sup>

Penelitian yang dilakukan oleh Zhang, dkk untuk mendeteksi adanya serabut saraf pada endometrioma dilaporkan bahwa serabut saraf terdapat pada area interstisial jaringan fibrotik endometrioma yang diwarnai dengan antibodi PGP9.5 diekspresikan pada sejumlah 31,1% wanita. Densitas serabut saraf lebih tinggi pada wanita dengan endometrioma dengan gejala nyeri dibandingkan dengan tanpa nyeri

dan berkorelasi dengan severitas nyeri. Pada kasus endometrioma tanpa gejala nyeri, PGP9.5 hanya terdeteksi pada 19,2 % kasus.<sup>1,15</sup>.

Donnez dkk melakukan penelitian pada PGP9.5 secara imunohistokimia, diperoleh hasil tidak terdeteksi serabut saraf pada biopsi endometrium eutopik dari pasien sehat dan endometriosis. Namun, serabut saraf terdeteksi pada lesi endometriotik (endometrium ektopik). Sebagian besar serabut saraf ditemukan tidak bermyelin, menunjukkan bahwa serabut saraf dapat terlibat dalam rasa nyeri melalui faktor pertumbuhan *Nerve Growth Factor*(NGF). Sedangkan Hendry.D pada tahun 2016 melaporkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada ekspresi PGP9.5 endometrium eutopik darah haid antara pasien endometriosis dan tanpa endometriosis.<sup>16</sup>

Data dari penelitian dari berbagai jenis sel pada berbagai kondisi patologis termasuk endometriosis telah menggambarkan ekspresi protein PGP9.5, akan tetapi masih terbatas pengetahuan mengenai distribusi mRNA PGP9.5 termasuk bagaimana korelasinya dengan ekspresi protein itu sendiri. Pada penelitian dengan menggunakan mRNA sebagai biomarker diduga PGP9.5 menjadi opsi utama pada proses terjadinya neuroangiogenesis pada implan endometriosis pada fase awal perkembangan dan differensiasi sel saraf.<sup>13</sup>

Masih sangat terbatas penelitian yang mengungkap bagaimana peranan genetik dan molekuler mempengaruhi manifestasi klinis dari suatu endometrioma. Penelitian terbaru difokuskan terhadap interaksi dari sel imun dan serabut saraf sensoris pada gejala nyeri endometriosis. abnormalitas sistem imun dan molekuler diduga dapat menerangkan bahwa endometriosis terjadi hanya pada sejumlah 10 %

kasus dari hampir keseluruhan wanita mengalami menstruasi retrograde yang dibuktikan dengan laparaskopi. Stress oksidatif berperan penting dalam inisiasi dan rangsangan sistem imun yang dapat memicu pelepasan mediator proinflamasi dan faktor-faktor pertumbuhan.<sup>17</sup>

Pengukuran derajat penyakit endometriosis berdasarkan temuan anatomi. Akan tetapi, endometriosis stadium awal bisa saja sangat nyeri dan endometriosis stadium lanjut termasuk endometrioma mempunyai manifestasi klinis tanpa nyeri atau nyeri sedang. Parameter biokimia diharapkan dapat secara objektif merefleksikan severitas penyakit endometriosis ini, sehingga penatalaksanaan dilakukan secara *individualized* , tergantung dari karakteristik pasien, faktor risiko, dan severitas penyakit.<sup>18</sup>

Penatalaksanaan endometrioma pada umumnya dilakukan dengan tindakan pembedahan laparaskopi maupun laparatomi. Pembedahan dilakukan dengan tujuan penanganan nyeri dan infertilitas. Akan tetapi, risiko rekurensi penyakit termasuk gejala nyeri yang semakin hebat dapat terjadi. Oleh karena itu, penatalaksanaan sebaiknya didasarkan pada patomekanisme yang mendasari. Diperlukan suatu penelitian yang mengungkap faktor molekuler yang dapat menginduksi progresifitas dan gejala klinis yang timbul, sehingga penanganan dapat diberikan dengan memberikan suatu agen inhibitor dalam upaya mencegah progresifitas penyakit, mencegah rekurensi dan mengurangi manifestasi klinis yang muncul.<sup>19</sup>

Berdasarkan uraian di atas dapat dirumuskan tema sentral penelitian sebagai berikut:

Endometriosis merupakan suatu kelainan ginekologi kronis, berupa *endometrial like tissue* di luar rahim.<sup>1</sup> Endometrioma merupakan salah satu fenotipe endometriosis berupa kista coklat yang mengandung heme dan Fe sebagai sumber radikal bebas dan stress oksidatif yang dapat menyebabkan peningkatan kerusakan jaringan. Endometrioma memiliki gejala klinis berupa nyeri panggul kronis. Patogenesis nyeri, khususnya pada endometrioma, hingga saat ini masih sebelumnya dapat dipahami.

Beberapa studi baru menunjukkan bahwa terdapat kaitan antara stres oksidatif dengan patogenesis endometriosis yang menyebabkan inflammasi dan neuroinflamasi yang menimbulkan persepsi nyeri. HSP 70 merupakan bentuk molekul DAMP yang disekresikan pada kondisi stress, seperti trauma, infeksi, iskemia, termasuk adanya stress oksidatif. Fungsi utama HSP adalah sebagai pendamping proses proteostatik seperti *foldling* dan *translocation*. Pada kadar yang berlebihan protein ini dapat merangsang proliferasi sel melalui supresi proses apoptosis.

Peningkatan ekspresi gen HSP70 memodulasi sitokin proinflamasi melalui reseptor TLR4 yang menyebabkan inflamasi pelvis dan pertumbuhan jaringan endometriosis melalui induksi dari sitokin dan faktor-faktor pertumbuhan. Sinyal dari proses ini dimediasi oleh NF-kappa B yang merangsang proses inflamasi, invasi, angiogenesis, dan neurogenesis. Pada endometrioma, terjadi pertumbuhan serabut saraf seiring dengan pertumbuhan jaringan endometriotik ekstrauterin. PGP9.5 merupakan penanda densitas serabut saraf yang spesifik yang telah dibuktikan densitasnya meningkat pada endometriosis, termasuk endometrioma

terutama pada endometriosis dengan gejala nyeri. mRNA PGP9.5 berperan pada proses terjadinya neoangiogenesis pada implan endometriosis pada fase awal perkembangan dan differensiasi sel saraf. Pertumbuhan serabut saraf dikatakan berkontribusi dalam patogenesis nyeri endometriosis. Sehubungan dengan uraian di atas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian apakah terdapat hubungan antara ekspresi gen HSP 70 dan PGP9.5 terhadap derajat nyeri pada endometrioma.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasar uraian latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Apakah terdapat perbedaan ekspresi gen HSP70 pada dinding kista endometriosis dan non-endometriosis ?
2. Apakah terdapat perbedaan ekspresi gen PGP9.5 pada dinding kista endometriosis dan non-endometriosis ?
3. Apakah terdapat korelasi ekspresi gen HSP70 pada dinding kista dengan derajat nyeri pasien endometrioma ?
4. Apakah terdapat korelasi ekspresi gen PGP9.5 pada dinding kista dengan derajat nyeri pasien endometrioma ?
5. Apakah terdapat korelasi antara ekspresi gen HSP70 dengan PGP9.5 pada dinding kista endometriosis ?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

1. Menganalisis perbedaan ekspresi gen HSP70 pada dinding kista endometriosis dengan non-endometriosis,
2. Menganalisis perbedaan ekspresi gen PGP9.5 pada dinding kista endometriosis dengan non-endometriosis,
3. Menganalisis korelasi ekspresi gen HSP70 pada dinding kista endometriosis dengan derajat nyeri,
4. Menganalisis korelasi ekspresi gen PGP9.5 pada dinding kista endometriosis dengan derajat nyeri,
5. Menganalisis korelasi ekspresi gen HSP70 dengan PGP9.5 pada dinding kista endometriosis.

### **1.4 Kegunaan Penelitian**

#### **1.4.1 Kegunaan Ilmiah**

1. Memberikan sumbangan informasi ilmiah mengenai peranan ekspresi gen HSP 70 dan PGP 9.5 dalam patogenesis endometrioma,
2. Memberikan informasi ilmiah mengenai perbedaan ekspresi gen HSP70 dan PGP9.5 pada dinding kista endometriosis dan non-endometriosis,
3. Memberikan informasi ilmiah mengenai hubungan antara ekspresi gen HSP70 dan PGP9.5 dengan derajat nyeri pada endometrioma,
4. Memberikan informasi ilmiah mengenai hubungan antara ekspresi gen HSP70 dengan PGP9.5 pada endometrioma.

### **1.4.2 Kegunaan Praktis**

1. Dasar bagi penelitian selanjutnya untuk memahami hubungan antara ekspresi gen HSP70 dan PGP9.5 dengan derajat nyeri pada endometrioma,
2. Adanya suatu inhibitor DAMP dapat dijadikan suatu target terapi non hormonal pada endometriosis yang dapat mengurangi gejala klinis nyeri, dan menghambat progresifitas dan rekurensi endometrioma.