

## Hubungan antara Penyakit Radang Panggul Asimptomatik dengan Ekspresi Integrin $\alpha\beta 3$ Endometrium Fase Luteal Madya pada Wanita Infertil

S.D. PRASOJO  
A. HESTIANTORO  
E. SURJANA  
J. INDARTI  
F. KUSUMA  
S. ENDARDJO\*

Departemen Obstetri dan Ginekologi  
\*Departemen Patologi Anatomi  
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/  
RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo

**Tujuan:** Mengetahui gambaran integrin  $\alpha\beta 3$  endometrium wanita infertilitas dan kaitannya dengan penyakit radang panggul (PRP) asimptomatik pada saat fase luteal madya.

**Rancangan:** Penelitian kuantitatif dengan rancangan penelitian potong lintang.

**Bahan dan cara kerja:** Penelitian dilakukan pada 32 orang pasien infertilitas yang datang ke klinik Yasmin RSCM kemudian dilakukan biopsi endometrium pada hari ke 19 - 21 dan pemeriksaan progesteron hari ke 21 siklus haid. Hasil biopsi dianalisa untuk *dating* endometrium, pemeriksaan imunohistokimia di Makmal terpadu RSCM - FKUI (Hasil pewarnaan dievaluasi untuk mendapatkan HSCORE) dan untuk penilaian endometritis histologik di Laboratorium Patologi FKUI.

**Hasil:** Dari 32 sampel biopsi endometrium didapatkan ekspresi integrin  $\alpha\beta 3$ : (25%) dengan intensitas lemah, (50%) dengan intensitas sedang dan (25%) dengan intensitasnya kuat. Pada 16 (50%) sampel terbukti endometritis dengan 15 (93,8%) sampel ekspresi integrin  $\alpha\beta 3$  endometrium adalah lemah - sedang dan 1 (6,3%) sampel ekspresi integrin  $\alpha\beta 3$  endometrium adalah kuat, pada uji t tidak berpasangan didapatkan nilai  $t = -2,631$ ;  $df = 30$  dan nilai  $p = 0,013$ .

**Kesimpulan:** Endometritis pada wanita infertilitas dengan PRP asimptomatik, mungkin memiliki hubungan dengan lemahnya ekspresi  $\alpha\beta 3$  integrin endometrium pada populasi infertilitas wanita.

[Maj Obstet Ginekol Indones 2006; 30-4: 229-33]

**Kata kunci:** integrin  $\alpha\beta 3$  endometrium, Penyakit radang panggul (PRP) asimptomatik, Infertilitas, Fase luteal madya

**Objective:** To determine the expression of mid-luteal phase endometrial  $\alpha\beta 3$  integrin in infertility women, and its relationship with the existence of asymptomatic pelvic inflammatory disease (PID).

**Design:** Quantitative cross-sectional study.

**Material and Methods:** The endometrium samples were taken from 32 infertility women who were listed as patients in Yasmin Fertility Clinic Dr. Cipto Mangunkusumo hospital, at day 19<sup>th</sup> - 21<sup>st</sup>, along with progesterone plasma levels assessment at day 21<sup>st</sup>. Endometrial samples were evaluated for endometrial dating and stained immunohistochemically for  $\alpha\beta 3$  expression. The expression of  $\alpha\beta 3$  integrin in the endometrium were judged by two independent examiners based on HSCORE method and the existence of endometritis were recognized if one or more plasma cells were observed in the endometrial samples.

**Results:** From 32 endometrial samples, 25% samples showed a mild intensity of  $\alpha\beta 3$  integrin, 50% samples showed a medium intensity of  $\alpha\beta 3$  integrin and 25% samples showed a strong intensity for  $\alpha\beta 3$  integrin. 16 (50%) samples revealed endometritis and from these endometritis samples, 15 (93.8%) samples showed a mild-moderate intensity of  $\alpha\beta 3$  and 1 (6.3%) sample showed a strong intensity of  $\alpha\beta 3$ . It gave  $t$ -score:  $-2.631$ ;  $df$ : 30; and  $p$ -value: 0.013.

**Conclusions:** Endometritis which was found in asymptomatic infertility women, might have a strong association with lower intensity of endometrial  $\alpha\beta 3$  which were observed in infertility women populations.

[Indones J Obstet Gynecol 2006; 30-4: 229-33]

**Keywords:** endometrial  $\alpha\beta 3$  integrin, Pelvic Inflammatory Disease (PID) asymptomatic, Infertility, Mid-luteal phase

### PENDAHULUAN

Infertilitas adalah suatu masalah ataupun keadaan yang kompleks dan berhubungan dengan banyak hal. Hal ini diderita oleh sekitar 10% - 15% pasangan usia reproduksi.<sup>1,2</sup> Saat ini jumlah kasus maupun penderita infertilitas yang mencari pengobatan meningkat.

Kehamilan tidak mungkin terjadi tanpa keberhasilan implantasi dan placentasi.<sup>3</sup> Endometrium reseptif terhadap implantasi hanya dalam waktu yang sempit pada fase luteal, yang sering disebut sebagai jendela implantasi<sup>4</sup>, yaitu pada hari ke 6 sampai ke 10 setelah ovulasi.<sup>4</sup>

Dalam dekade terakhir, dilakukan penelitian untuk mencari *marker* spesifik guna menilai resepti-

vitae endometrium. Beberapa peneliti memfokuskan integrin sebagai *marker* potensial, dan menemukan bahwa molekul integrin di epitel dan desidua mengalami perubahan pada saat implantasi.<sup>4,5</sup>

Integrin  $\alpha\beta3$  spesifik dijumpai pada sel-sel epitel endometrium hanya pada hari ke 19 sampai 23. Lamanya tampilan integrin  $\alpha\beta3$  berhubungan dengan perkiraan terbukanya 'jendela implantasi' sehingga diduga mempunyai peranan penting dalam proses implantasi.<sup>4,6</sup>

Penyakit Radang Panggul (PRP) adalah kelompok gangguan yang mengenai traktus genitalia atas wanita, yang diakibatkan karena penyebaran organisme ke atas dari serviks atau vagina menuju endometrium (endometritis), tuba falopii (salpingitis) dan struktur di sekitarnya (abses tubo-ovarium, peritonitis pelvik) yang sebagian besar disebabkan oleh *Chlamydia trachomatis*, *Nisseria gonorrhoeae*.<sup>7,8</sup>

Endometritis merupakan manifestasi awal dari PRP, kemudian berkembang menjadi salpingitis, sampai terjadinya piosalping dan kadang abses tubo-ovarium. Perkembangan infeksi ini terutama dipengaruhi oleh reaksi inflamasi akut yang bila menjadi kronis mengakibatkan luaran reproduksi yang buruk yaitu infertilitas.<sup>9</sup> Proses inflamasi yang tidak tampak secara klinis, di mana kondisi ini disebut sebagai kondisi subklinis, tidak dikenali atau *silent Pelvic Inflammatory Disease* (PID) sering terjadi pada wanita dengan traktus genitalia bawah yang pernah terinfeksi *C. Trachomatis* (27%), *N. Gonorrhoeae* (26%).<sup>9,10</sup>

Defek pada reseptivitas uterus menjadi salah satu penyebab infertilitas pada wanita, terutama berkaitan dengan defisiensi fase luteal, endometriosis, hidrosalping dan infertilitas dengan penyebab yang tidak diketahui.<sup>11-15</sup>

## BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini bersifat kuantitatif dengan rancangan deskriptif potong lintang. Dimana akan dikaji pola ekspresi integrin  $\alpha\beta3$  endometrium wanita infertilitas pada fase luteal madya serta kaitannya dengan kemungkinan adanya penyakit radang panggul subklinis

Populasi penelitian adalah wanita infertil yang datang ke klinik Yasmin RSCM, serta memenuhi kriteria penerimaan, kemudian dilakukan biopsi endometrium pada hari 19 - 21 dan pemeriksaan progesteron (P4) hari 21 siklus haid.

Semua hasil jaringan biopsi endometrium yang telah difiksasi dalam buffer formalin 3%, selanjut-

nya diproses di laboratorium Makmal Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia untuk dilakukan pewarnaan imunohistokimia dan hematoksilin dan eosin. Hasil pewarnaan imunohistokimia dievaluasi untuk mendapatkan *histological score* (HSCORE), dan disamping itu jaringan endometrium yang telah diwarnai HE dikirim ke Laboratorium Patologi FKUI untuk penilaian adanya endometritis histologik yang ditentukan dengan adanya satu atau lebih sel plasma pada stroma endometrial per lapangan pandang dengan pembesaran 120x ditambah adanya lebih dari 5 neutrofil pada epithelium permukaan endometrial per lapangan pandang dengan pembesaran 400x. (metode Kiviat dkk)<sup>16,17</sup>

## HASIL

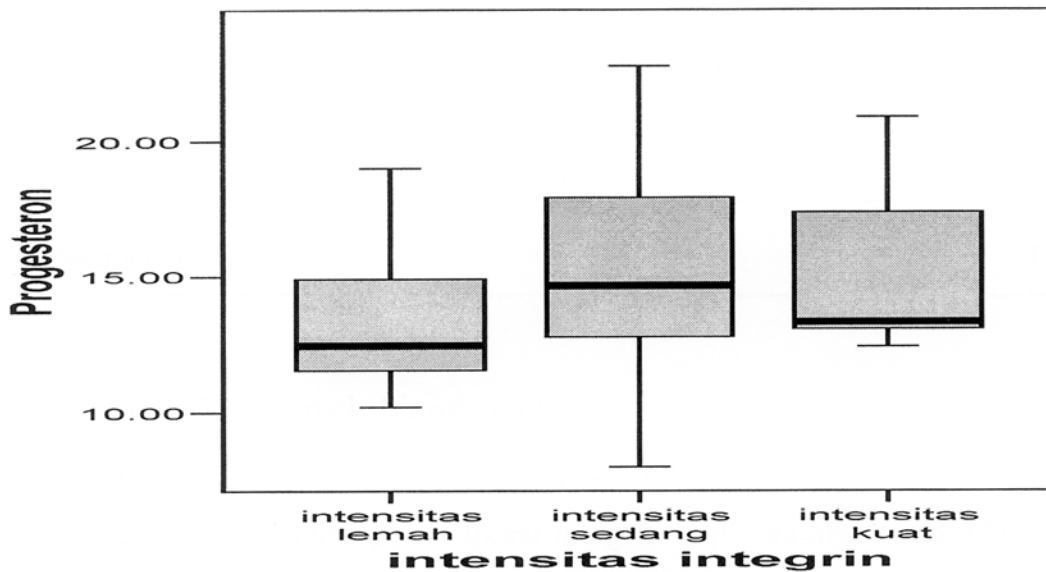
Selama penelitian (Desember 2005 - Februari 2006) didapatkan 32 sampel wanita infertilitas yang memenuhi kriteria penerimaan dengan usia berkisar antara 22 - 38 tahun (rerata 29,78 tahun), dengan infertilitas primer berkisar antara 1 - 11 tahun (rerata 3,5 tahun).

Dari 32 sampel biopsi endometrium dilakukan pewarnaan imunohistokimia untuk penilaian integrin  $\alpha\beta3$  endometrium. Penilaian sediaan adalah dengan melihat persentase pewarnaan; 100% (nilai 4);  $\geq 75\%$  (nilai 3);  $\geq 50\%$  (nilai 2);  $\geq 25\%$  (nilai 1);  $\leq 25\%$  (nilai 0). Intensitas pewarnaan dinilai: 4 (kuat sekali), 3 (kuat), 2 (sedang), 1 (lemah), 0 (negatif). Berdasarkan HSCORE, tampilan integrin dapat dikelompokkan sebagai berikut:  $\leq 1$  (intensitas lemah); 1,1 - 2 (intensitas sedang); 2,1 - 3 (intensitas kuat); 3,1 - 4 (intensitas kuat sekali).

**Tabel 1.** Sebaran ekspresi integrin  $\alpha\beta3$  endometrium

Intensitas	Jumlah	Persentase
intensitas lemah ( $\leq 1$ )	8	25.0
intensitas sedang (1,1 - 2)	16	50.0
intensitas kuat (2,1 - 3)	8	25.0
Total	32	100.0

Dari Tabel 1 tampak sebaran intensitas ekspresi integrin  $\alpha\beta3$  endometrium wanita infertil bervariasi dari intensitas lemah sampai kuat dengan intensitas lemah didapatkan pada 8 sediaan biopsi endometrium (25%), dengan intensitas sedang pada 16 sediaan biopsi endometrium (50%), sedangkan yang intensitasnya kuat didapatkan pada 8 sediaan biopsi endometrium (25%).



Grafik 1. Hubungan kadar progesteron dengan ekspresi integrin  $\alpha\beta3$  endometrium

Kadar progesteron pada 32 sampel berkisar antara 10,2 - 22,8 dengan rata-rata 15,04 dengan sebaran kadar progesteron tidak merata. Pada grafik di atas ini digambarkan hubungan antara intensitas integrin dengan kadar progesteron.

Dari distribusi data yang ada, pada uji t tidak berpasangan didapatkan nilai  $t = -0,738$ ;  $df = 30$  dan nilai  $p = 0,466$ . Maka dapat dikatakan kadar progesteron tidak menunjukkan hubungan bermakna dengan intensitas integrin  $\alpha\beta3$  endometrium.

Diagnosis penyakit radang panggul secara histologik ditegakkan sesuai dengan kriteria Kiviat untuk endometritis yang didefinisikan dengan adanya satu atau lebih sel plasma per 120 lapangan pandang pada stroma endometrium ditambah adanya lebih dari 5 neutrofil per 400 lapangan pandang pada epithelium permukaan endometrial.

Tabel 2. Distribusi PRP dan bukan PRP

	Jumlah	Persentase
endometritis	16	50.0
nir endometritis	16	50.0
Total	32	100.0

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa distribusi wanita infertil yang terbukti PRP dan bukan PRP dengan pemeriksaan histopatologi adalah sama masing-masing 16 sampel (50%).

Tabel 3. Gambaran biopsi endometrium pada ekspresi integrin  $\alpha\beta3$  endometrium

Histopatologi	intesitas integrin	
	lemah - sedang	kuat - kuat sekali
endometritis	15 (93,8%)	1 (6,3%)
nir endometritis	9 (56,3%)	7 (43,8%)

Dari 32 sampel biopsi endometrium didapatkan 16 (50%) sampel terbukti endometritis, 15 (93,8%) sampel ekspresi integrin  $\alpha\beta3$  endometrium adalah lemah - sedang dan 1 (6,3%) sampel ekspresi integrin  $\alpha\beta3$  endometrium adalah kuat (lihat Tabel 3).

Pada penelitian ini dari distribusi data yang ada, pada uji t tidak berpasangan didapatkan nilai  $t = -2,631$ ;  $df = 30$  dan nilai  $p = 0,013$ . Maka dapat dikatakan bahwa ekspresi integrin  $\alpha\beta3$  endometrium menunjukkan hubungan bermakna dengan endometritis.

## DISKUSI

Dari 32 sediaan biopsi endometrium yang sesuai dengan fase luteal madya dilakukan pewarnaan imunohistokimia integrin  $\alpha\beta3$  endometrium, memperlihatkan intensitas yang berbeda antara lemah sampai kuat dengan nilai integrin antara 0 - 4 dengan rerata 1,53. Pada penilaian didapatkan 8 sediaan biopsi dengan intensitas lemah (25%), dengan intensitas sedang pada 16 sediaan (50%), se-

dangkan yang intensitasnya kuat didapatkan pada 8 sediaan (25%).

Sebanyak 24 sampel dengan ekspresi integrin  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  endometrium yang rendah mungkin menjadi penyebab terjadinya infertilitas, sedangkan pada 8 sampel lainnya didapatkan intensitas kuat yang kemungkinan terjadinya infertilitasnya dapat disebabkan oleh hal lain selain rendahnya integrin  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  endometrium. Penelitian Lessey juga membuktikan bahwa integrin  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  merupakan penanda terbukanya jendela implantasi, sehingga bila kadarnya rendah maka reseptivitas endometrium juga rendah.<sup>18</sup>

Dari kadar progesteron yang diperiksa pada 32 sampel berkisar antara 10,2 - 22,8 pada uji t didapatkan nilai  $p = 0,466$  yang menyatakan bahwa tidak ada hubungan yang bermakna antara kadar progesteron dengan ekspresi integrin  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  endometrium. Ekspresi integrin  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  endometrium cenderung tidak ada perbedaan walaupun kadar progesteron tinggi ini. Temuan terdahulu yang menduga regulasi integrin  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  endometrium dilakukan oleh progesteron tidak tergambar pada penelitian ini. Hingga saat ini, mekanisme pengaturan tampilan integrin pada endometrium belum jelas. Diduga bahwa estrogen atau rasio estradiol terhadap progesteron dapat mengatur tampilan integrin. 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 yang kami peroleh.

Pada penelitian ini distribusi wanita infertil yang terbukti PRP dan bukan PRP dengan pemeriksaan histopatologi adalah sama masing-masing 16 sampel.

Dari 32 sampel biopsi endometrium didapatkan 16 (50%) sampel terbukti endometritis, dari 16 sampel tersebut sebanyak 15 (93,8%) sampel ekspresi integrin  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  endometrium adalah lemah - sedang dan 1 (6,3%) sampel ekspresi integrin  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  endometrium adalah kuat, pada uji t didapatkan  $p = 0,013$ . Maka dapat dikatakan bahwa ekspresi integrin  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  endometrium menunjukkan hubungan bermakna dengan endometritis.

Hal ini hampir sama dengan penelitian Meyer dkk yang mendapatkan bahwa tampilan integrin  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  endometrium wanita dengan hidrosalping, hanya 38,8% yang normal sedangkan pada kontrol wanita fertil, tampilan normal terdapat pada 68,1% dan 70% penderita menunjukkan peningkatan ekspresi integrin setelah hidrosalping dikoreksi.<sup>11</sup>

Ekspresi integrin  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  endometrium yang rendah pada pasien dengan PRP kemungkinan sebagai akibat terbentuknya zat bioaktif seperti tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  dan faktor pertumbuhan potensial lain yang dihubungkan dengan salpingitis<sup>19</sup> yang mengakibatkan gangguan baik terhadap stroma endometrium maupun ekspresi integrin sel epitelial.<sup>20,21</sup> Sehingga paparan langsung terhadap cairan hidrosalping dapat mengakibatkan terlambatnya maturasi atau defek perkembangan endometrium.

Penelitian sebelumnya telah menyetujui penggunaan integrin sebagai petanda reseptivitas endometrium.<sup>12,13</sup> Pada populasi infertil, telah dideskripsikan sebelumnya dua tipe disfungsi endometrial yang tergantung dari ekspresi integrin. Yang pertama disebut sebagai defek tipe I, ditunjukkan dengan adanya retardasi pada perkembangan histologi yang sesuai dengan defisiensi fase luteal. Sehingga pada sampel tersebut subunit integrin  $\beta\text{3}$  tidak diekspresikan. Defek tipe II pertama kali ditemukan pada endometrium wanita dengan endometriosis minimal atau sedang<sup>14</sup> dan juga pada wanita dengan infertilitas yang tidak dapat dijelaskan.<sup>15</sup> Pada kasus ini meskipun secara histologis sesuai dengan fase dan tampak normal pada penampakan, wanita tersebut memiliki ekspresi  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  yang rendah.<sup>4</sup>

## KESIMPULAN

Ekspresi integrin  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  endometrium wanita infertil pada saat fase luteal madya memiliki kecenderungan intensitas lemah - sedang dengan rerata pada penelitian ini adalah 1,53.

Dari 50% wanita infertil terbukti menderita penyakit radang panggul yang ditegakkan dengan biopsi endometrium (metode Kiviat), sebanyak 93,8% pasien dengan penyakit radang panggul memiliki ekspresi tampilan integrin  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  yang rendah hal ini mungkin menjadi penyebab infertilitas. Namun pada pasien dengan intensitas tampilan integrin  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  kuat, infertilitas mungkin disebabkan oleh hal lain.

## RUJUKAN

1. Hornstein MD, Schust D. Infertility. In: Berek SJ, Adhasi EY, Hillard PA, editors. *Novak's Gynecology*. Pennsylvania: Williams & Wilkins; 1996: 915-20
2. Speroff L. Female Infertility. In: Speroff L, Fritz MA, editors. *Clinical Gynecology Endocrinology and Infertility*. 7<sup>th</sup>

- ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005: 1013-67
3. Cowan BD. Implantation Biology. In: Cowan BD, Seifer DB, editors. *Clinical Reproductive Medicine*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publisher; 1997: 159-65
  4. Nardo LG, Bartoloni G, Di Mercurio S, Nardo F. Expression of alpha(v)beta3 and alpha4beta1 integrins throughout the putative window of implantation in a cohort of healthy fertile women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2002; 81(8): 753-8
  5. Sueoka K, Shiokawa S, Miyazaki T, Kuji N, Tanaka M, Yoshimura Y. Integrins and reproductive physiology: expression and modulation in fertilization, embryogenesis, and implantation. *Fertil Steril* 1997; 67(5): 799-811
  6. Acosta AA, Elberger L, Borghi M, Calamera JC, Chemes H, Doncel GF, Kliman H, Lema B, Lustig L, Papier S. Endometrial dating and determination of the window of implantation in healthy fertile women. *Fertil Steril* 2000; 73(4): 788-98
  7. Scholes D, Stergachis A, Heidrich FE, Andrilla H, Holmes KK, Stamm WE. Prevention of pelvic inflammatory disease by screening for cervical chlamydial infection. *N Engl J Med* 1996; 334(21): 1362-6
  8. Debattista J, Timms P, Allan J, Allan J. Immunopathogenesis of chlamydia trachomatis infections in women. *Fertil Steril* 2003; 79(6): 1273-87
  9. Wiesenfeld HC, Hillier SL, Krohn MA, Amortegui AJ, Heine RP, Landers DV, Sweet RL. Lower genital tract infection and endometritis: insight into subclinical pelvic inflammatory disease. *Obstet Gynecol* 2002; 100(3): 456-63
  10. Eschenbach DA, Wolner-Hanssen P, Hawes SE, Pavletic A, Paavonen J, Holmes KK. Acute pelvic inflammatory disease: associations of clinical and laboratory findings with laparoscopic findings. *Obstet Gynecol* 1997; 89(2): 184-92
  11. Meyer WR, Castelbaum AJ, Somkuti S, Sagoskin AW, Doyle M, Harris JE, Lessey BA. Hydrosalpinges adversely affect markers of endometrial receptivity. *Hum Reprod* 1997; 12(7): 1393-8
  12. Lessey BA, Damjanovich L, Coutifaris C, Castelbaum A, Albelda SM, Buck CA. Integrin adhesion molecules in the human endometrium. Correlation with the normal and abnormal menstrual cycle. *J Clin Invest* 1992; 90(1): 188-95
  13. Lessey BA, Castelbaum AJ, Buck CA, Lei Y, Yowell CW, Sun J. Further characterization of endometrial integrins during the menstrual cycle and in pregnancy. *Fertil Steril* 1994; 62(3): 497-506
  14. Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SW, Buck CA, Schinnar R, Bilker W, Strom BL. Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79(2): 643-9
  15. Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SW, Sun J. Integrins as markers of uterine receptivity in women with primary unexplained infertility. *Fertil Steril* 1995; 63(3): 535-42
  16. Kiviat NB, Wolner-Hanssen P, Eschenbach DA, Wasserheit JN, Paavonen JA, Bell TA, Critchlow CW, Stamm WE, Moore DE, Holmes KK. Endometrial histopathology in patients with culture-proved upper genital tract infection and laparoscopically diagnosed acute salpingitis. *Am J Surg Pathol* 1990; 14(2): 167-75
  17. Yudin MH, Hillier SL, Wiesenfeld HC, Krohn MA, Amortegui AA, Sweet RL. Vaginal polymorphonuclear leukocytes and bacterial vaginosis as markers for histologic endometritis among women without symptoms of pelvic inflammatory disease. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188(2): 318-23
  18. Lessey BA. The use of integrins for the assessment of uterine receptivity. *Fertil Steril* 1994; 61(5): 812-4.
  19. Toth M, Jeremias J, Ledger WJ, Witkin SS. In vivo tumor necrosis factor production in women with salpingitis. *Surg Gynecol Obstet* 1992; 174(5): 359-62
  20. Grosskinsky CM, Yowell CW, Sun J, Parise LV, Lessey BA. Modulation of integrin expression in endometrial stromal cells in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81(6): 2047-54
  21. Castelbaum AJ, Ying L, Somkuti SG, Sun J, Ilesanmi AO, Lessey BA. Characterization of integrin expression in a well differentiated endometrial adenocarcinoma cell line (Ishikawa). *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(1): 136-42