

Bcl-2 dan Indeks Apoptosis pada Hiperplasia Endometrium non-atipik simpleks dan kompleks

R.D. CAHYANTI
H. KRISTANTO
W. ADIYONO

Bagian Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/
RSUP Dr. Kariadi
Semarang

Tujuan: Untuk menilai perbedaan dan hubungan ekspresi Bcl-2 dan indeks apoptosis pada hiperplasia endometrium non-atipik simpleks dan kompleks.

Bahan dan cara kerja: Blok parafin jaringan hiperplasia endometrium non-atipik dari hasil kuretase bertingkat sebanyak masing-masing 28 kasus hiperplasia simpleks dan kompleks. Ekspresi protein Bcl-2 dinilai dengan pengecatan imunohistokimia dan ditentukan persentase *immuno-staining* Bcl-2 pada kelenjar endometrium serta intensitas *staining*. Penilaian apoptosis pada potongan jaringan yang sama dengan menggunakan metode *terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxy-uridine triphosphate nick end labeling* (TUNEL) assay. Persentase jumlah positif sel dan sel yang mengalami apoptosis dihitung dalam 10 lapangan pandang (dengan pembesaran 40 x). Analisis data untuk uji beda 2 kelompok tidak berpasangan dan korelasi dengan derajat kemaknaan $p \leq 0,05$ serta dilakukan perhitungan rasio prevalensi.

Hasil: Karakteristik subjek pada kedua kelompok sama. Tidak terdapat perbedaan intensitas *staining* positif kuat pada epitel kelenjar hiperplasia simpleks 85,7% pada hiperplasia kompleks 96,4% ($p = 0,176$). Ekspresi Bcl-2 pada hiperplasia endometrium kompleks lebih tinggi dibandingkan yang simpleks ($p = 0,013$). Nilai ekspresi Bcl-2 dengan *cut off point* 0,92 didapatkan bahwa endometrium dengan Bcl-2 $\geq 0,92$ mempunyai risiko 2,6 kali untuk terjadinya hiperplasia non-atipik kompleks ($p = 0,001$; Rasio Prevalensi 2,6; 95%, CI = 1,3 - 5,1). Indeks apoptosis pada hiperplasia endometrium simpleks lebih tinggi dibandingkan yang kompleks ($p = 0,014$). Nilai indeks apoptosis dengan *cut off point* 9 menunjukkan bahwa pada endometrium dengan indeks apoptosis ≥ 9 mempunyai risiko 3,8 kali terjadinya hiperplasia non-atipik simpleks ($p = 0,002$; Rasio Prevalensi 3,8; 95%, CI = 1,4 - 9,9). Pada hiperplasia yang simpleks terdapat korelasi negatif derajat sedang antara ekspresi Bcl-2 dan indeks apoptosisnya ($r = -0,664$; $p = 0,000$), sedangkan pada yang kompleks tidak adanya suatu korelasi negatif ($r = -0,208$; $p = 0,85$).

Kesimpulan: Ekspresi Bcl-2 pada hiperplasia endometrium non-atipik kompleks lebih tinggi dibanding yang simpleks dan nilai indeks apoptosis lebih rendah pada hiperplasia kompleks dibandingkan yang simpleks. Korelasi negatif antara ekspresi Bcl-2 dan indeks apoptosis hanya didapatkan pada kasus hiperplasia non-atipik simpleks.

[Maj Obstet Ginekol Indones 2009; 33-1: 48-55]

Kata kunci: Bcl-2, indeks apoptosis, hiperplasia endometrium non-atipik simpleks dan kompleks

Objective: To assess the difference and correlation of Bcl-2 expression and apoptotic index in simple and complex non-atypical endometrial hyperplasia.

Material and methods: Paraffin-embedded non-atypical endometrial hyperplasia tissues were obtained from curettage specimens which each composed of 28 cases simple and complex endometrial hyperplasia. Expression of Bcl-2 protein was examined by immunohistochemistry for calculation percentage of stained cells and intensity of the staining. Apoptotic activity was assessed on the same tissue sections using the terminal deoxy-nucleotidyl transferase-mediated deoxyuridine triphosphate nick end labeling (TUNEL) assay. Percentage of positively stained cells and apoptotic cells was counted by ten different high power fields (40 x magnification). Analysis was done for comparing two independent sample test and correlation with statistically significance if $p \leq 0.05$ and prevalence ratio was determined.

Results: The patient's characteristics were the same between two groups. There was no difference of positive intensity of the staining in endometrial gland epithelial of simple hyperplasia 85.7% and complex hyperplasia 96.4% ($p = 0.176$). Expression of Bcl-2 in complex endometrial hyperplasia was higher than simple ($p = 0.013$). Within cut off point 0.92 of Bcl-2 expression, the endometrium with Bcl-2 ≥ 0.92 had a risk 2.6 times to be a complex non-atypical hyperplasia ($p = 0.001$; Prevalence Ratio 2.6; 95%, CI = 1.3 - 5.1). Apoptotic index in simple endometrial hyperplasia was greater than in complex ($p = 0.014$). Apoptotic index with cut off point 9 was explained that apoptotic index ≥ 9 had a risk to be a simple non-atypical endometrial hyperplasia 3.8 times ($p = 0.002$; Prevalence Ratio 3.8; 95%, CI = 1.4 - 9.9). Simple hyperplasia had a moderately negative correlation ($r = -0.664$; $p = 0.000$) between expression of Bcl-2 and apoptotic index and there was not found a negative correlation in complex cases ($r = -0.208$; $p = 0.85$).

Conclusion: Expression of Bcl-2 in complex non-atypical endometrial hyperplasia has been greater than in simple and apoptotic index is lower in complex than in simple. Negative correlation between expression of Bcl-2 and apoptotic index is only found in simple non-atypical endometrial hyperplasia.

[Indones J Obstet Gynecol 2009; 33-1: 48-55]

Keywords: Bcl-2, apoptotic index, simple and complex non-atypical endometrial hyperplasia

PENDAHULUAN

Hiperplasia endometrium dikenal sebagai lesi prakanker dari karsinoma endometrium tipe I (*estrogen-dependent disease*) yang ditandai secara klinis

dengan adanya perdarahan uterus yang abnormal. Berkembangnya hiperplasia endometrium yang tidak mendapatkan terapi menjadi suatu karsinoma endometrium tergantung pada adanya gambaran atipia dan tingkat kompleksitas kelenjar yang ter-

bagi menjadi simpleks dan kompleks. Insidensinya untuk menjadi karsinoma endometrium pada hiperplasia simpleks (1%), kompleks (10%), simpleks dengan atipia (30%), dan kompleks dengan atipia (44%).^{1,2}

Hubungan patogenesis berkembangnya hiperplasia endometrium menjadi suatu karsinoma endometrium dipengaruhi oleh aktivitas paparan estrogen yang mengakibatkan proliferasi yang tidak terkontrol. Aktivitas proliferasi tersebut seharusnya dikendalikan oleh mekanisme apoptosis yang mempunyai peranan dalam proses karsinogenesis. Proses tersebut tidak hanya dijelaskan secara sederhana dengan adanya peningkatan stimulasi pertumbuhan sel tetapi juga disebabkan oleh hilangnya faktor supresi dan pengendali proliferasi sel serta perubahan pada proses apoptosis yang sampai saat ini masih belum jelas.³⁻⁶

Reseptor hormon steroid seks yaitu reseptor estrogen dan progesteron memegang peranan utama pada pengaturan proses apoptosis endometrium, yaitu ditandai dengan terdapat perubahan bentuk dan ukuran pada sel kelenjar dan stroma endometrium selama siklus menstruasi.⁷⁻⁹ Proses apoptosis yang diatur melalui 2 jalur yaitu jalur ekstrinsik (sitoplasma) melalui aktivitas Fas *death receptor* dengan mengaktifasi interaksi Fas-Fas ligand (FasL) dan jalur intrinsik (mitokondria) yang memacu pelepasan sitokrom C yang tergantung pada pengaturan protein Bcl-2 (*B cell lymphoma*) sebagai protein anti-apoptosis dan Bax sebagai protein pro-apoptosis.^{10,11} Pada fase proliferasi endometrium tampak adanya ekspresi reseptor estrogen dan protein Bcl-2 meningkat dan ekspresi reseptor ini menurun saat fase sekresi dan menstruasi. Bila kondisi ini tidak diikuti adanya peningkatan ekspresi reseptor progesteron untuk menangkap progesteron dalam memacu desidualisasi stroma maka proliferasi endometrium menjadi tidak terkendali oleh karena itu progesteron dikatakan sebagai faktor pro-apoptosis yang ditandai dengan adanya peningkatan ekspresi protein Bax dan Fas-FasL sehingga mampu mengendalikan hiperstimulasi estrogen terhadap proliferasi endometrium.^{7,9,12}

Pada beberapa penelitian tentang hiperplasia endometrium didapatkan ekspresi Bcl-2 pada hiperplasia non-atipik simpleks lebih tinggi dibandingkan kompleks dan pada penelitian lainnya aktivitas proliferasi kelenjar dan indeks apoptosisnya lebih tinggi pada yang kompleks, hal ini tidak didapatkan kesesuaian dengan fungsi protein apoptosis dalam memacu aktivitas proliferasi sel.^{13,14} Padahal dikemukakan bahwa Bcl-2 merupakan pengatur yang paling penting pada jalur intrinsik apoptosis dan

pengaruh Bcl-2 lebih berperan daripada protein apoptosis lainnya dalam keseimbangan regulasi pertumbuhan siklik endometrium dan hiperplasia endometrium non-atipik.^{5,13} Sehingga hubungan peranan Bcl-2 pada proses apoptosis untuk memicu aktivitas proliferasi endometrium atau mempertahankan kelangsungan hidup sel, yang mampu menurunkan jumlah sel apoptosisnya masih belum jelas khususnya pada hiperplasia endometrium non-atipik yang berhubungan dengan kompleksitas kelanjarnya.

Penelitian ini bertujuan untuk menilai perbedaan dan hubungan ekspresi Bcl-2 dan indeks apoptosis pada hiperplasia endometrium non-atipik simpleks dan kompleks dengan diharapkan dapat menilai hubungan onkoprotein Bcl-2 terhadap penghambatan fungsi apoptosis dan munculnya proliferasi tidak terkendali pada kelenjar endometrium.

BAHAN DAN CARA KERJA

Dengan menggunakan 56 blok parafin jaringan endometrium yang terdiagnosis 28 hiperplasia endometrium non-atipik simpleks dan 28 yang kompleks dari kuretase bertingkat. Semua spesimen difiksasi dalam formalin, dibuat blok parafin dan dipotong dengan ketebalan 3 - 4 μ kemudian dilakukan proses deparafinisasi dengan xylol dan dilakukan rehidrasi secara bertahap dengan alkohol bertingkat.

Antibodi primer yang digunakan untuk pemeriksaan imunohistokimia Bcl-2 ini adalah *monoclonal mouse anti-human Bcl-2 oncoprotein* khusus, Clone 124, Code-Nr. M 0887 (DakoCytomation, Gloustrup, Denmark). Preparat direndam dalam *blocking solution* selama 10 menit. Diinkubasikan dalam *prediluted blocking serum* (PBS) selama 10 menit suhu 25°C. Antibodi Bcl-2 ditambahkan ke preparat 100 ul. Inkubasi 1 jam pada suhu kamar. Preparat dicuci dengan PBS selama 5 menit. *Biotinylated universal secondary antibody* sebanyak 100 ul per *slide*, kemudian inkubasi selama 10 menit dalam suhu kamar. Preparat dicuci dengan PBS selama 5 menit. Preparat diinkubasikan dengan *ready-to-use streptavidin/peroxidase complex* reagen selama 10 menit. Cuci dengan PBS selama 5 menit. Preparat diinkubasikan dalam *peroksidase substrate solution* (DAB) 100 ul per preparat selama 2 - 10 menit. Preparat dicuci dengan air kran. Mayer hematoxylin (*counterstain*) sampai tergenang diinkubasikan 1 - 3 menit, kemudian dicuci di bawah air kran. *Slide* selanjutnya dicelupkan ke dalam alkohol, dibersihkan, dicelupkan ke xylol. *Slide* ditetesi de-

ngan *mounting* media kemudian ditutup dengan *cover slip*. Diamati di bawah mikroskop cahaya. Ekspresi Bcl-2 dinilai dengan persentase (%) pewarnaan (*staining*) Bcl-2 pada sitoplasma yang berwarna coklat. Intensitas *staining* dapat negatif (-), positif lemah (\pm), positif (+) atau positif kuat (++) . Positif kontrol menggunakan endometrium fase proliferasi. Penghitungan 10 lapangan pandang dengan pembesaran 40 x. Persentase (%) ekspresi Bcl-2 = jumlah sel positif/jumlah total sel x 100%.

Tumor TACS *in situ* TUNEL-based Kit TA5411 (R&D Sistem Eropa, Abingdon, Inggris) digunakan untuk mendeteksi apoptosis. Setelah potongan jaringan dilakukan deparafinisasi maka ditambahkan 50 ul *tunnel label mix* dengan TdT. Inkubasi 30 menit pada suhu 37°C dalam *chamber*. **Slide dicuci 3 x dengan PBS. Inkubasi slide dengan RNA (5 ug/ml) solution 30 menit pada suhu 37°C. Slide dicuci 3 kali dengan PBS. Inkubasi slide dengan propidium iodide (1 ul/ml). Cuci dengan PBS 3 kali. Ditutup dengan cover slide 18 mm dan imumount.** Diamati di bawah mikroskop *fluorescence*. Sel apoptosis pada mikroskop *fluorescence* tampak sebagai pewarnaan kuning keemasan, kondensasi, berlobus, dan terdapat fragmentasi nukleus. Sel nekrosis akan tampak inti dan sitoplasma berwarna

kuning kecoklatan yang membengkak atau membesar. Sel nekrosis tidak dilakukan perhitungan. Positif kontrol menggunakan endometrium fase akhir sekresi. Penghitungan 10 lapangan pandang dengan pembesaran 40 x. Penilaian indeks apoptosis adalah jumlah sel apoptosis/jumlah total sel x 100.

Analisis statistik untuk mengetahui perbedaan kedua kelompok dalam variabel-variabel kategorikal digunakan uji χ^2 dan uji *Fisher-Exact*. Untuk mengetahui perbedaan 2 kelompok digunakan uji t tidak berpasangan untuk variabel dengan skala numerik berdistribusi normal atau uji *Mann Whitney* pada distribusi tidak normal. Korelasi pada data numerik berdistribusi normal digunakan uji korelasi Pearson dan berdistribusi tidak normal dengan korelasi Spearman. Pada penelitian belah lintang analisis hubungan atau perbedaan prevalensi antara kelompok yang diobservasi dilakukan perhitungan rasio prevalensi (RP). Analisis multivariat dengan regresi logistik dilakukan apabila terdapat adanya perbedaan distribusi karakteristik yang dapat menjadi faktor pengganggu pada analisis selanjutnya. Nilai p dianggap bermakna bila $p \leq 0,05$ dengan 95% interval kepercayaan dan *power* sebesar 90%. Analisis data akan menggunakan program SPSS.

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian

Variabel	Jenis hiperplasia endometrium				p
	Simpleks		Kompleks		
	Rerata (SB)	n (%)	Rerata (SB)	n (%)	
Usia (tahun)	42,5 (7,12)		43,0 (7,00)		0,6 [¶]
Usia menars (tahun)	13,6 (0,50)		13,4 (0,79)		0,3 [¶]
< 12 tahun		0 (0,0)		1 (3,6)	
12 - 16 tahun		28 (100,0)		27 (96,4)	1,0 [#]
Usia menopause (tahun)	51,3 (1,26)		50,8 (1,47)		0,7 [¶]
50 - 52 tahun		3 (10,7)		4 (14,3)	
> 52 tahun		1 (3,6)		2 (7,1)	0,8*
Paritas					
Nullipara		2 (7,1)		8 (28,6)	
Primipara		6 (21,4)		4 (14,3)	
Multipara		20 (71,4)		16 (57,1)	0,1*
Infertilitas					
Primer		2 (7,1)		6 (21,4)	
Sekunder		3 (10,7)		6 (21,4)	0,1*
Indeks massa tubuh (kg/m ²)	27,8 (3,36)		28,97 (3,66)		0,8 [¶]
18,5 - 24,9 kg/m ²		6 (21,4)		4 (14,3)	
25,0 - 29,9 kg/m ²		15 (53,6)		12 (42,9)	
≥ 30,0 kg/m ²		7 (25,0)		12 (42,9)	0,4*
Riwayat paparan hormon					
Tidak ada		28 (100,0)		28 (100,0)	
Ada	0 (0,00)		0 (0,00)		
Diagnosis					
<i>Perimenopausal bleeding</i>		7 (25,0)		1 (3,6)	
<i>Postmenopausal bleeding</i>		4 (14,3)		6 (21,4)	
Uterus miomatosis		17 (60,7)		21 (75,0)	0,07*

¶ Uji t tidak berpasangan

Uji Fisher-Exact

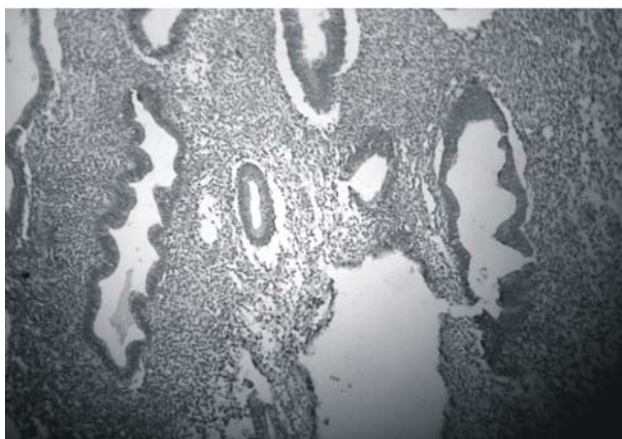
* Uji χ^2

HASIL

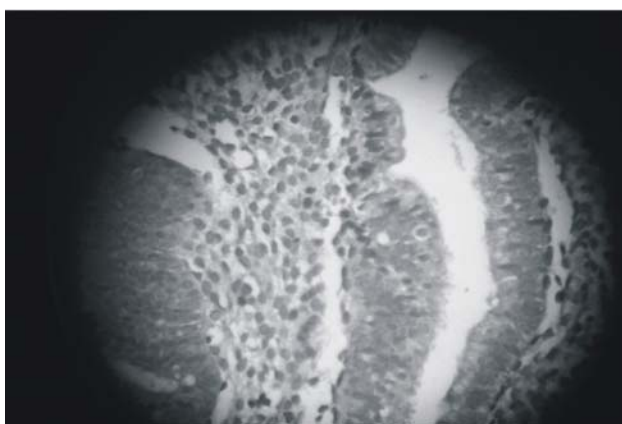
Dari distribusi karakteristik penderita pada Tabel 1 tidak didapatkan adanya perbedaan.

Ekspresi Bcl-2 dan jenis hiperplasia endometrium non-atipik

Ekspresi Bcl-2 terdapat pada semua kasus hiperplasia endometrium non-atipik simpleks dan kompleks (Gambar 1). Intensitas *staining* pada epitel kelenjar positif kuat pada hiperplasia simpleks sebanyak 24 kasus (85,7%) dan terdapat peningkatan intensitas *staining* kuat pada hiperplasia kompleks (n = 27, 96,4%) bila dibandingkan dengan hiperplasia simpleks, tetapi perbedaan intensitas *staining* tersebut tidak bermakna (p = 0,176).

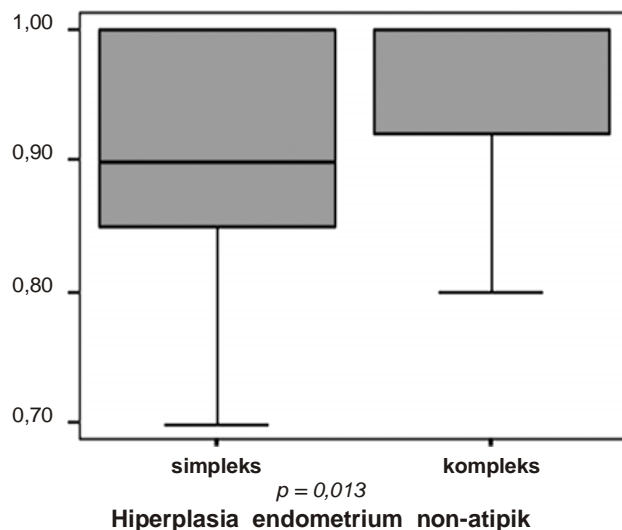


A



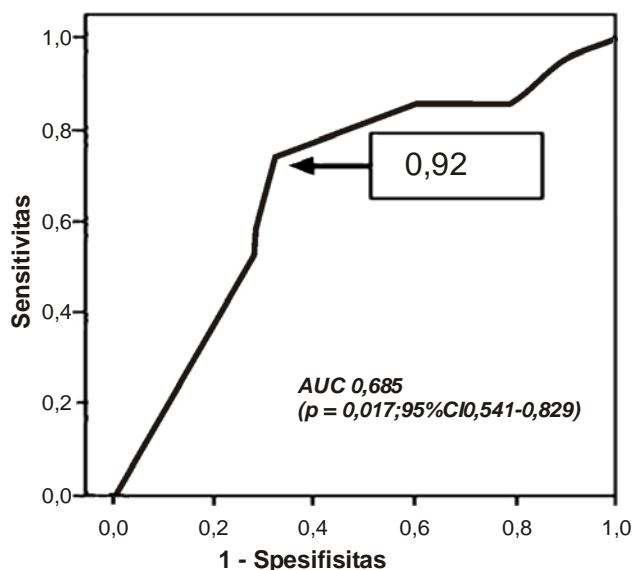
B

Gambar 1. *Staining* imunohistokimia Bcl-2. Akumulasi protein Bcl-2 ditunjukkan dengan adanya pewarnaan coklat pada sitoplasma endometrium pada hiperplasia simpleks (A) dan hiperplasia kompleks (B)



Gambar 2. Ekspresi Bcl-2 dan jenis hiperplasia endometrium non-atipik

Nilai sentral dari ekspresi imunoreaktivitas Bcl-2 berupa median pada hiperplasia simpleks 90% (70 - 100%) dan pada hiperplasia kompleks 100% (70 - 100%). Dari uji beda dengan uji non parametrik *Mann-Whitney*, ekspresi Bcl-2 pada hiperplasia endometrium non-atipik simpleks dan kompleks (Gambar 2) didapatkan adanya perbedaan yang bermakna dengan nilai ekspresi Bcl-2 pada hiperplasia endometrium kompleks lebih tinggi dibandingkan yang simpleks (p = 0,013).

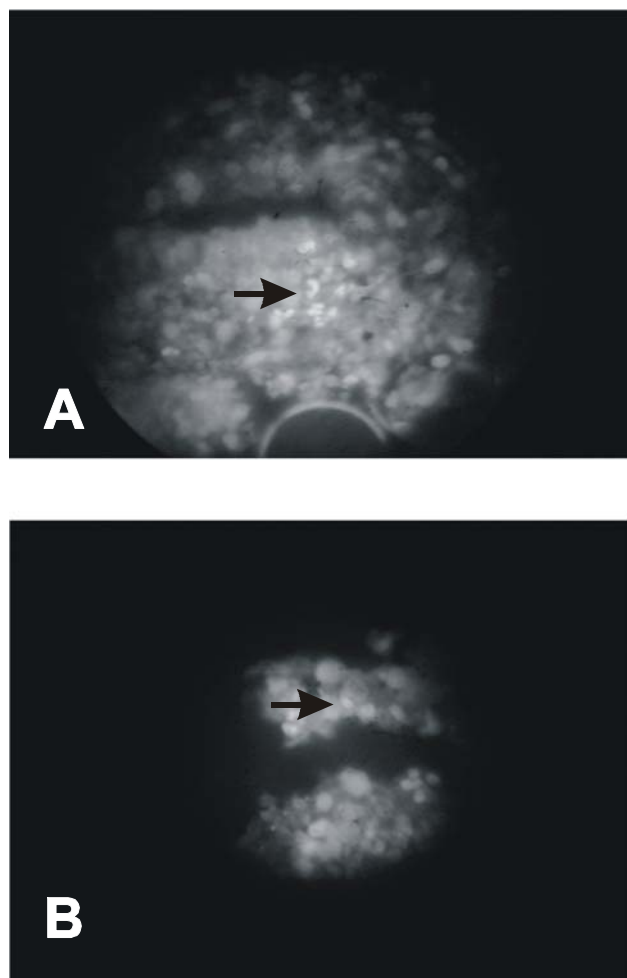


Gambar 3. Cut off point ekspresi Bcl-2

Nilai ekspresi Bcl-2 (Gambar 3) dengan *cut off point* 0,92 (sensitivitas 75% dan 1-spesifisitas 32,1%) didapatkan bahwa endometrium dengan Bcl-2 ≥

0,92 mempunyai risiko 2,6 kali untuk terjadinya hiperplasia non-atipik kompleks dibandingkan Bcl-2 < 0,92 ($p = 0,001$; Rasio Prevalensi 2,6; 95%, CI = 1,3 - 5,1).

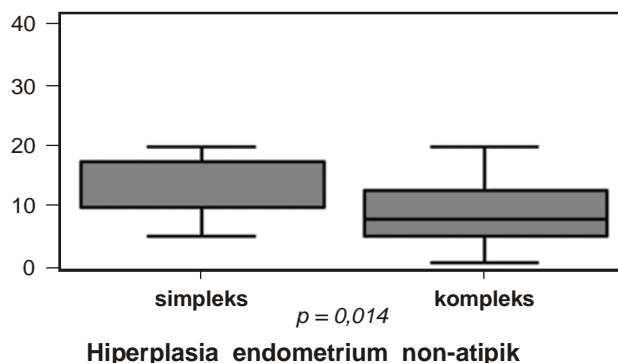
Indeks apoptosis dan jenis hiperplasia endometrium non-atipik



Gambar 4. A) Pada hiperplasia endometrium non-atipik simpleks tampak adanya gambaran sel apoptosis yang tersebar pada kelenjar endometrium. B) Gambaran sel apoptosis lebih terbatas jumlahnya pada hiperplasia endometrium non-atipik kompleks

Pada hasil pemeriksaan sel apoptosis pada kelenjar endometrium dari hiperplasia endometrium non-atipik dijumpai nilai median indeks apoptosis pada hiperplasia non-atipik simpleks 10 (5 - 40) dan yang kompleks 8 (1 - 30).

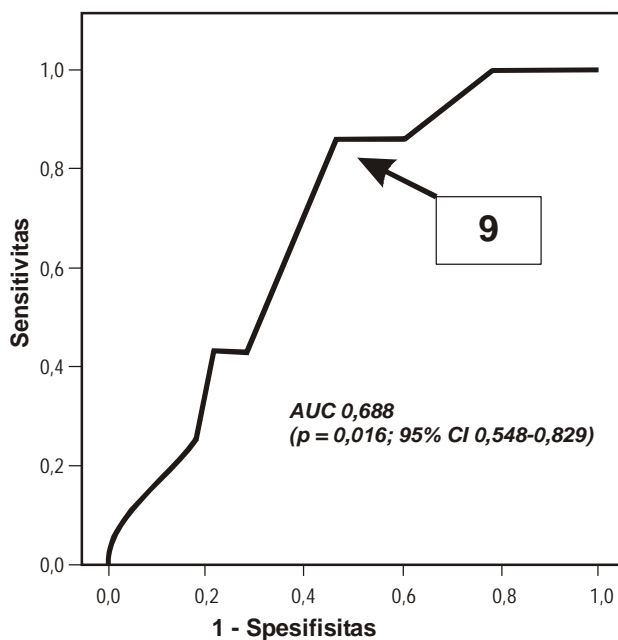
Dari uji beda non-parametrik dengan uji Mann-Whitney didapatkan hasil adanya perbedaan nilai indeks apoptosis yang signifikan ($p = 0,014$) pada



Hiperplasia endometrium non-atipik

Gambar 5. Indeks apoptosis dan jenis hiperplasia endometrium non-atipik

hiperplasia endometrium simpleks dan kompleks, dengan indeks apoptosis pada hiperplasia endometrium non-atipik simpleks lebih tinggi indeks apoptosisnya dibandingkan yang kompleks (Gambar 5).

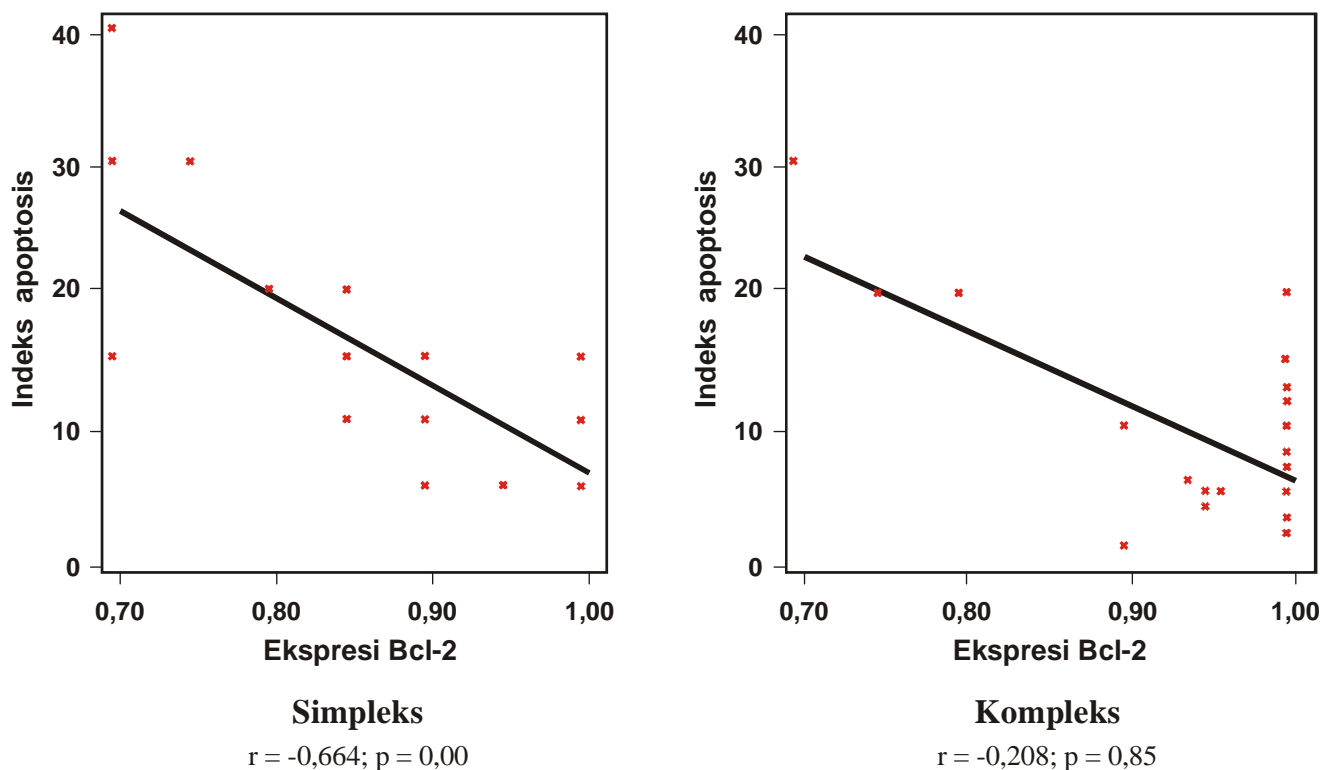


Gambar 6. Cut off point indeks apoptosis

Nilai indeks apoptosis (Gambar 6) dengan cut off point 9 (sensitivitas 85,7 % dan 1-spesifisitas 46,4%) didapatkan bahwa pada endometrium dengan indeks apoptosis ≥ 9 mempunyai risiko terjadinya hiperplasia non-atipik simpleks 3,8 kali dibandingkan indeks apoptosis < 9 ($p = 0,002$; Rasio Prevalensi 3,8; 95%, CI = 1,4 - 9,9).

Hubungan ekspresi Bcl-2 dan indeks apoptosis

Korelasi antara ekspresi Bcl-2 dan indeks apoptosis pada kedua jenis hiperplasia endometrium non-



Gambar 7. Diagram sebar hubungan antara ekspresi Bcl-2 dan indeks apoptosis pada hiperplasia endometrium non-atipik

atipik dikerjakan dengan analisis menggunakan uji korelasi Spearman. Pada hiperplasia yang simpleks terdapat korelasi negatif derajat sedang ($r = -0,664; p = 0,000$) yang bermakna. Hiperplasia endometrium non-atipik kompleks menunjukkan tidak adanya suatu korelasi negatif bermakna ($r = -0,208; p = 0,85$) antara ekspresi Bcl-2 dan indeks apoptosis (Gambar 7).

PEMBAHASAN

Bcl-2 merupakan onkogen yang memacu terjadinya neoplasia dan mampu meningkatkan kelangsungan hidup sel, sehingga ekspresi dari Bcl-2 akan menghambat apoptosis meskipun tidak adanya faktor pertumbuhan yang penting. Ekspresi Bcl-2 pada endometrium diatur oleh hormon steroid seks, di mana Bcl-2 meningkat pada fase proliferasi dan mencapai puncaknya pada akhir fase proliferasi serta pada fase sekresi ekspresinya akan menghilang. Pada penelitian sebelumnya dijelaskan bahwa adanya hubungan ekspresi Bcl-2 dan imunoreaktivitas reseptor hormon pada hiperplasia dan karsinoma endometrium tipe I yang merupakan suatu *estrogen dependent*.^{12,13}

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas kelenjar endometrium dari hiperplasia endometrium non-atipik, didapatkan adanya perbedaan yang bermakna, di mana ekspresi Bcl-2 pada hiperplasia endometrium non-atipik simpleks lebih rendah bila dibandingkan yang kompleks. Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa pada hiperplasia yang kompleks, ekspresi Bcl-2 yang lebih tinggi mempunyai kemampuan meningkatkan kelangsungan hidup sel yang lebih tinggi dengan adanya struktur kelenjar yang lebih padat dibandingkan yang simpleks. Hal ini diduga akibat adanya aktivitas Bcl-2 yang diregulasi oleh reseptor estrogen yang meningkat. Reseptor tersebut akan memacu kemampuan mitosis sel kelenjar dan Bcl-2 berhubungan erat dengan kromosom pada nukleus sel yang sedang mitosis sehingga sel epitel kelenjar endometrium akan meningkat aktivitas proliferasinya serta mampu bertahan hidup lebih lama.^{6,8}

Kelenjar endometrium pada hiperplasia endometrium non-atipik yang kompleks, aktivitas apoptosisnya lebih rendah bila dibandingkan dengan yang simpleks. Hal ini ditunjukkan adanya perbedaan yang signifikan indeks apoptosis pada hiperplasia endometrium non-atipik simpleks dan kompleks. Kemampuan apoptosis yang rendah tersebut dipengaruhi adanya ekspresi protein anti-apoptosis dari

Bcl-2 yang tinggi pada endometrium tersebut. Penelitian ini menunjukkan terdapat korelasi negatif antara ekspresi Bcl-2 dan indeks apoptosis, tetapi pada penelitian ini korelasi negatifnya hanya pada hiperplasia yang simpleks. Tidak terdapatnya korelasi negatif antara Bcl-2 dan indeks apoptosis pada hiperplasia endometrium non-atipik kompleks, yang diduga bahwa penghambatan aktivitas apoptosis pada hiperplasia endometrium non-atipik yang kompleks tidak hanya dipengaruhi oleh ekspresi Bcl-2 yang tinggi. Hasil ini menunjukkan bahwa ekspresi Bcl-2 mempunyai pengaruh untuk terjadinya hiperplasia kompleks, tetapi aktivitas apoptosis yang rendah pada hiperplasia kompleks tidak hanya tergantung pada ekspresi Bcl-2 sebagai protein anti-apoptosis, kemungkinan adanya suatu kinetika protein-protein apoptosis lainnya yang diatur oleh hormon steroid seks, serta pengaruh dari *growth factor*.

Pengaruh adanya estrogen yang tinggi dan reseptor estrogen yang meningkat sebagai stimulator aktivitas proliferasi sel, akan memacu protein anti-apoptosis dan mensupresi protein pro-apoptosis. Bax sebagai protein pro-apoptosis dari Bcl-2 *family*, memegang peranan sebagai faktor kunci dari regulasi apoptosis adalah tingginya rasio Bcl-2/Bax akan membuat sel resisten terhadap stimulus apoptosis dan rendahnya rasio tersebut akan memacu apoptosis. Ekspresi dari Bcl-2 yang meningkat akan mempengaruhi jalur intrinsik dari proses apoptosis di mana Bcl-2 akan meningkatkan *interleukin-converting enzym (ICE)-like protease*. Akibatnya Bcl-2 akan menghambat Fas untuk melakukan proses apoptosis dengan tidak mengaktifkan *ICE-like protease* yang akan menurunkan kemampuan fungsi Fas-FasL sebagai protein pro-apoptosis dari anggota keluarga TNF (*Tumor Necrosis Factor*) pada jalur apoptosis intrinsik. Faktor transkripsi NF-KB dapat menekan aksi pro-apoptosis TNF- α . Pada penelitian oleh Vasvivuo dkk (2002) dikemukakan bahwa NF-KB mempunyai peranan dalam melindungi sel dari proses apoptosis pada hiperplasia endometrium dan karsinoma endometrium stadium awal, yaitu pada stadium awal malignansi NF-KB dihubungkan dengan peningkatan ekspresi matrix metallo-proteinase yang akan memacu invasi dan metastasis sel kanker serta membentuk neovaskularisasi. Kapucuoglu (2007) menyatakan bahwa mutasi dari PTEN sebagai *tumor suppressor gene* yang berkorelasi positif dengan ekspresi reseptor estrogen berpengaruh untuk terjadinya hiperplasia endometrium 30 - 63%. Hal ini diduga oleh adanya peningkatan mutasi yang terjadi selama sistesis DNA yang akan menghasilkan gambaran hiperplasia kompleks dengan struktur kelenjar yang lebih

padat. Protein yang bermutasi ini mempunyai kontribusi tinggi sebesar 55% terjadinya progresivitas dari hiperplasia menjadi suatu karsinoma endometrium.^{11,15-18}

Pada stroma endometrium berhubungan langsung dengan ketergantungan estrogen pada reseptor di stroma yang bertanggung jawab terhadap proliferasi epitel pada kelenjar endometrium. Kedua reseptor tersebut berinteraksi agonis dalam memacu aktivasi mitogenik estrogen pada sel endometrium yang memacu hiperplasia dan transformasi sel kanker, dengan melalui aktivasi jalur MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) oleh IGF-1 yang juga akan memacu angiogenesis dengan menginduksi ekspresi VEGF (*vascular endothelial growth factor*) mRNA dan juga proses aromatisasi dengan menstimulasi ekspresi aromatisasi dan aktivitas enzimnya yang akan meningkatkan produksi estradiol dari androgen.^{19,20}

Dapat disimpulkan bahwa pada hiperplasia endometrium non-atipik dengan adanya aktivitas proliferasi sel kelenjar yang lebih meningkat dibandingkan aktivitas sel stroma, disebabkan oleh adanya ekspresi Bcl-2 sebagai protein anti-apoptosis yang meningkat. Ekspresi Bcl-2 tersebut akan menyebabkan penurunan kemampuan apoptosis dengan nilai indeks apoptosis yang rendah. Pada hiperplasia endometrium non-atipik kompleks, peranan ekspresi Bcl-2 dalam menurunkan indeks apoptosis diduga masih dipengaruhi oleh beberapa faktor protein dan hormon steroid seperti estrogen dan progesteron, yang berkaitan dengan aktivitas regulasi pada reseptor steroid seks di endometrium serta pengaruh dari *tumor suppressor gene* dan regulasi sel endometrium.

RUJUKAN

1. Hammond R, Johnson J. Endometrial hyperplasia. *Curr Obstet Gynecol* 2001; 11: 160-3
2. Marsden D, Hacker N. The classification, diagnosis and management of endometrial hyperplasia. *Rev in Gynecol Prac* 2003; 3: 87-90
3. Kokawa K, Shikone T, Otani T, Nishiyama R, Ishii Y, Yagi S. Apoptosis and the expression of Bax and Bcl-2 in hyperplasia and adenocarcinoma of the uterine endometrium. *Hum Reprod* 2001; 16: 2211-18
4. Kaku T, Tsukamoto N, Hachisuga T, Tsuruchi N, Sakai Karena, Hirakawa T. Endometrial carcinoma associated with hyperplasia. *Gynecol Oncol* 1996; 60: 22-5
5. Montgomery BE, Daum DS, Dunton CJ. Endometrial hyperplasia a review. *Obstetrical and Gynecological Survey* 2004; 5: 368-78

6. Lu K, Slomovitz BM. Neoplastic diseases of the uterus. In: Katz VL, Lentz GM, Rogerio AL, Gershenson DM editors. *Comprehensive Gynecology*. Philadelphia: Elsevier; 2007: 813-20
7. Nunobiki O, Taniguchi E, Ishii A, Tang W, Utsunomiya H, Nakamura Y. Significance of hormone receptor status and tumor vessels in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium. *Pathol Int* 2003; 53: 846-52
8. Punyadeera C, Verboost P, Groothuis P. Oestrogen and progestin responses in human endometrium. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003; 84: 393-410
9. Kokawa K, Shikone T, Nakano R. Apoptosis in the human uterine endometrium during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 4144-7
10. Thompson EB. Apoptosis and steroid hormones. *Mol Endocrinol* 1994; 8: 665-73
11. Ghobrial IM, Witzig TE, Adjei AA. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 178-94
12. Watanabe H, Kanzaki H, Narukawa S, Inoue T, Katsuragawa H, Kaneko Y. Bcl-2 and Fas expression in eutopic and ectopic human endometrium during the menstrual cycle in relation to endometrial cell apoptosis. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176: 360-8
13. Nieman TH, Trgovac TL, McGaughy VR, Vaccarello L. Bcl-2 expression in endometrial hyperplasia and carcinoma. *Gynecol Oncol* 1996; 63(3): 318-22
14. Ioffe OB, Papadimetriou JC, Dracherberg CB. Correlation of proliferation indices, apoptosis, and related oncogene expression (bcl-2 and c-erbB-2) and p53 in proliferative, hyperplastic, and malignant endometrium. *Hum Pathol* 1998; 29(10): 1150-9
15. Amezcua A, Zheng W, Muderspach L, Felix J. Down-regulation of Bcl-2 is a potential marker of the efficacy of progestin therapy in the treatment of endometrial hyperplasia. *Gynecol Oncol* 1999; 73: 126-36
16. Vaskivuo TE, Stenback F, Tapanainen JS. Apoptosis and apoptosis-related factors Bcl-2, Bax, tumor necrosis factor-alpha, and NF-kappaB in human endometrial hyperplasia and carcinoma. *Cancer* 2002 1; 95(7): 1463-71
17. Shiozawa T, Konishi I. Early endometrial carcinoma: clinicopathology, hormonal aspects, molecular genetics, diagnosis, and treatment. *Int J Clin Oncol* 2006; 11: 13-21
18. Kapucuoglu N, Aktepe F, Kaya H, Bircan S, Karahan N, Ciris M. Immunohistochemical expression of PTEN in normal, hyperplastic and malignant endometrium and its correlation with hormone receptors, Bcl-2, Bax, and apoptotic index. *Pathol Res and Prac* 2007; 203: 153-62
19. Sherman ME. Theories of endometrial carcinogenesis: a multidisciplinary approach. *Mod Pathol* 2000; 13(3): 295-308
20. Horn LC, Dietel M, Eibenkel J. Hormone replacement therapy (HRT) and endometrial morphology under consideration of the different molecular pathways in endometrial carcinogenesis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 122(1): 4-12