

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Endometriosis didefinisikan terdapatnya jaringan menyerupai endometrium di luar kavum uteri, yang menginduksi reaksi inflamasi kronis (Kennedy *et al*, 2005). Pada definisi disebutkan bahwa didapatkan jaringan endometrium berlokasi ektopik, di luar kavum uteri, lesi endometrium tersebut dapat ditemukan di beberapa tempat, yaitu peritoneum panggul, ovarium, dinding uterus, kavum douglasi, septum rektovagina, ureter, vesica urinaria, bahkan ditemukan lokasi jauh walaupun jarang didapat misalnya usus, appendik, perikardium, pleura, dan sebagainya (ESHRE, 2013).

Endometriosis ditemukan pada 6% - 10% wanita usia reproduktif dari seluruh etnis maupun kelompok sosial. Prevalensi endometriosis banyak ditemukan pada wanita Jepang dan Asia, namun angka prevalensi ini lebih rendah pada wanita Afrika dibandingkan dengan wanita Kaukasia. Hal ini diduga karena adanya perbedaan genetik dan pengaruh faktor resiko lingkungan (Missmer SA, Hankonson SE, 2004). Prevalensi terjadinya infertilitas terkait dengan endometriosis mencapai 35-50 % (Burney RO, 2012).

Studi oleh Missmer dkk (2004) menunjukkan bahwa 25 % sampai 50 % wanita infertil memiliki endometriosis dan 30 – 50 % wanita dengan endometriosis adalah infertil. Verkauf (1987) melaporkan hasil studinya bahwa wanita infertil memiliki 6 sampai 8 kali lipat kemungkinan untuk memiliki endometriosis dibandingkan dengan wanita subur. Berbagai penelitian melaporkan bahwa tingkat kehamilan pada wanita dengan endometriosis lebih rendah dibandingkan kontrol.

Beberapa mekanisme diperkirakan berperan dalam menurunnya fertilitas, termasuk didalamnya perubahan pada folikulogenesis, kualitas oosit menurun, disfungsi ovulasi, terjadinya defek fase luteal, dan abnormalitas embryogenesis (Garrido dkk, 2002). Studi Carlberg *et al.* menyebutkan bahwa tingkat pembelahan oosit lebih rendah pada wanita endometriosis yang menjalani program fertilisasi in vitro (IVF). Studi Hendarto *et al* memberi gambaran tingkat maturasi oosit mencit endometriosis lebih jelek dibandingkan mencit non endometriosis, adanya penurunan GDF-9 di cairan folikel (Hendarto *et al*, 2014). Kualitas oosit ditentukan proses maturasinya, dimana proses maturasi oosit terdiri dari maturasi inti dan maturasi sitoplasma.

Endometriosis mempengaruhi gap junction di sel granulosa yang mengelilingi oosit (sel kumulus) dan membrane plasma, dimana terjadi perubahan ion-ion yang masuk, dan bahan molekul lainnya. Salah satu ion yang penting adalah kalsium (Ca^{2+}). Kalsium di dalam intrasel akan masuk ke retikulum endoplasma (RE) sebagai cadangan kalsium terbesar, dan masuk juga ke mitokondria maupun lisosom. Kalsium dilepas dari cadangan retikulum endoplasma (RE) melalui saluran IP3R dan ryanodine receptor (RyR). Perubahan kadar Ca^{2+} akan mempengaruhi fungsi mitokondria, sitokrom c meningkat, produksi ATP menurun, sehingga mengganggu proses maturasi oosit (Chiaratti *et al.*, 2018).

Endometriosis adalah penyakit yang dikaitkan dengan reaksi *sterile low-grade inflammatory* pada rongga peritoneum, dengan peningkatan makrofag aktif dan berbagai produk yang disekresinya. Di dalam zahir peritoneum wanita dengan endometriosis, didapatkan peningkatan konsentrasi dari sitokin seperti $TNF-\alpha$, Interleukin-8, Interleukin-10, Interleukin-6, Interleukin-13, *macrophage-derived*

growth factor, macrophage colony stimulating factor (M-CSF) (Koninckx *et al.*, 1998). Hal ini menunjukkan peran penting TNF- α pada patologi wanita dengan endometriosis. TNF- α adalah sitokin *pleiotropic* yang memediasi berbagai respons biologis termasuk peradangan, infeksi, *injury* dan apoptosis sel dimana kadar TNF- α dalam cairan peritoneum wanita dengan endometriosis terbukti secara signifikan lebih tinggi daripada di kontrol (Kim *et al.*, 2007).

TNF α yang meningkat dan penurunan kadar kalsium yang menurun pada kasus endometriosis memberikan pengaruh terhadap proses maturasi oosit. Beberapa penelitian melihat pengaruh TNF α terhadap siklus sel, ternyata pada sel yang dikultur dengan TNF α menunjukkan penumpukan sebagian besar sel pada fase G2 siklus sel, dan kurangnya populasi sel pada fase M. Mekanisme seluler pada fase G2–M berperan dalam proses maturasi oosit. Pada penderita endometriosis terdapat gangguan molekuler yang meregulasi fase G2-M , dan ini diduga sebagai salah satu penyebab kualitas oosit yang menurun (Toya M, dkk 2000)

Dalam siklus sel, kontrol sel untuk masuk fase meiosis dari G2 adalah kompleks Cdk1/Cyclin B yang disebut sebagai *Maturing promoting Factor* (MPF). Komplek ini mampu untuk menginduksi mitosis melalui fosforilasi dan mengaktifkan enzim, yaitu enzim untuk kondensasi kromatin, pemecahan membran inti dan reorganisasi mikrotubulus. Kadar kalsium intra oosit yang menurun akan menyebabkan sintesa MPF turun, Terjadi perubahan Cyclin B, dimana karena pengaruh Weet 1 aktif dan cdc 25 tidak aktif, maka komplek MPF yaitu Cdk 1 dan Cyclo menjadi inaktif. Proses pematangan oosit terjadi saat M phase dimana cdc25

aktif, dan Myt 1 tidak aktif, maka kompleks Cdk1 dan Cyclin B menjadi aktif. Fase M ke G1 terjadi degradasi cyclin B.

Penelitian ini menganalisis pengaruh endometriosis terhadap kadar kalsium intraseluler oosit serta ekspresi Cdk1 dan Cyclin B. Mengingat penelitian pada manusia untuk mengetahui pengaruh endometriosis terhadap oosit terkendala etika, maka pada penelitian ini menggunakan oosit mencit sebagai model endometriosis. Penggunaan mencit dalam penelitian sebagai model endometriosis telah beberapa kali dilakukan dan hasilnya juga telah dipublikasikan (Hendarto *et al.*, 2014). Studi lain membuktikan adanya pertumbuhan endometriosis pada mencit yang dijadikan model endometriosis (Annas *et al.*, 2014). Mencit model endometriosis juga telah digunakan untuk melihat kualitas oosit berdasarkan tingkat maturasinya (Hendarto *et al.*, 2014). Dengan demikian, pemodelan mencit endometriosis dalam penelitian dapat digunakan untuk mengatasi masalah etika tersebut.

Penelitian ini mengajukan konsep bahwa endometriosis menyebabkan peningkatan sitokin TNF α , dimana ekspresi TNF α yang meningkat berakibat pada penekanan ekspresi gap junction di membrane plasma oosit. Perubahan gap junction menyebabkan penurunan kadar kalsium intraseluler di oosit, yang berakibat pada penurunan ekspresi Cdk1 dan Cyclin B. Oosit yang digunakan diambil dari mencit model endometriosis dengan pertimbangan etik. Oosit kemudian dilakukan pengukuran kadar kalsium dan ekspresi Cdk1 serta Cyclin B.

Penelitian ini merupakan cabang dari pohon penelitian tentang pengaruh endometriosis terhadap kualitas oosit. Penelitian lainnya memeriksa pengaruh endometriosis terhadap kadar ATP sel kumulus, jumlah mitokondria, tingkat

maturasi oosit, kadar Malondialdehyde (MDA), 8-hydroxyguanosine (8-OHdG), morfologi mitokondria dan kadar kardiopilin oosit mencit model endometriosis.

Penelitian ini juga dilakukan untuk menganalisis hubungan antara kadar ion kalsium oosit intraseluler dan ekspresi Cdk1 dan Cyclin B oosit pada mencit model endometriosis dan non endometriosis. Diharapkan dengan penelitian ini, secara khusus, semakin menambah pengetahuan bagaimana mekanisme endometriosis dalam menyebabkan gangguan kadar ion kalsium yang berpengaruh terhadap ekspresi Cdk1 dan ekspresi Cyclin B yang akhirnya terjadi gangguan pada kualitas oosit dan infertilitas pada umumnya.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah kadar ion kalsium oosit intraseluler kelompok mencit model endometriosis lebih rendah dibandingkan oosit kelompok mencit non endometriosis ?
2. Apakah ekspresi Cdk1 oosit kelompok mencit model endometriosis lebih rendah dibandingkan oosit kelompok mencit non endometriosis ?
3. Apakah ekspresi Cyclin B oosit kelompok mencit model endometriosis lebih rendah dibandingkan oosit kelompok mencit non endometriosis ?
4. Apakah ada hubungan antara kadar ion kalsium intraseluler dengan ekspresi Cdk1 dan Cyclin B oosit.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Mempelajari pengaruh endometriosis terhadap kadar kalsium intraseluler, ekspresi Cdk1 dan Cyclin B oosit mencit model endometriosis.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Membuktikan kadar ion kalsium intraseluler oosit kelompok mencit model endometriosis lebih rendah dibandingkan kelompok mencit non endometriosis.
2. Membuktikan ekspresi Cdk1 oosit pada kelompok mencit model endometriosis lebih rendah dibandingkan kelompok mencit non endometriosis.
3. Membuktikan ekspresi Cyclin B oosit pada kelompok mencit model endometriosis lebih rendah dibandingkan kelompok mencit non endometriosis.
4. Membuktikan adanya hubungan kadar ion kalsium intraseluler dengan ekspresi Cdk1 dan Cyclin B oosit.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat akademis

1. Menambah fakta bukti ilmiah bahwa kadar ion kalsium intraseluler oosit lebih rendah pada mencit model endometriosis.
2. Menambah fakta bukti ilmiah bahwa ekspresi Cdk 1 lebih rendah pada oosit mencit model endometriosis.
3. Menambah fakta bukti ilmiah bahwa ekspresi Cyclin B lebih rendah pada oosit mencit model endometriosis.
4. Sebagai dasar pengembangan ilmu lanjutan terhadap terapi endometriosis yang berhubungan dengan infertilitas.

1.4.2 Manfaat klinis

Dengan hasil penelitian ini, dapat dikembangkan terapi terkait kadar ion kalsium intraseluler oosit, ekspresi Cdk1 dan Cyclin B dapat dipertimbangkan untuk memperbaiki kualitas oosit pada penderita endometriosis.