

KARYA AKHIR

**PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP MORFOLOGI
MITOKONDRIA DAN KADAR KARDIOLIPIN PADA OOSIT
PASCA OVULASI MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**



Oleh :

Ody Wijaya, dr. Sp.O.G
NIM. 011829069303

Pembimbing :

Dr. Jimmy Yanuar Annas, dr, Sp.O.G. Subsp. F.E.R
Prof. Dr. Widjiati, drh, M.Si

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SUBSPESIALIS
OBSTETRI DAN GINEKOLOGI
PEMINATAN FERTILITAS ENDOKRINOLOGI DAN REPRODUKSI
DEP/KSM OBSTETRI DAN GINEKOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNAIR-RSUD DR. SOETOMO
SURABAYA
2022**

KARYA AKHIR

**PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP MORFOLOGI
MITOKONDRIA DAN KADAR KARDIOLIPIN PADA OOSIT
PASCA OVULASI MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**

Oleh :

Ody Wijaya, dr. Sp.O.G
NIM. 011829069303

Pembimbing :

Dr. Jimmy Yanuar Annas, dr, Sp.O.G. Subsp. F.E.R
Prof. Dr. Widjiati, drh, M.Si

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SUBSPESIALIS
OBSTETRI DAN GINEKOLOGI
PEMINATAN FERTILITAS ENDOKRINOLOGI DAN REPRODUKSI
DEP/KSM OBSTETRI DAN GINEKOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNAIR-RSUD DR. SOETOMO
SURABAYA
2022**

LEMBAR PRASYARAT GELAR

**PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP MORFOLOGI
MITOKONDRIA DAN KADAR KARDIOLIPIN PADA OOSIT
PASCA OVULASI MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**

KARYA AKHIR

Sebagai Syarat memperoleh gelar konsultan dalam
Program Pendidikan Subspesialis Obstetri dan Ginekologi
Keminatan Fertilitas Endokrinologi dan Reproduksi
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh :

Ody Wijaya, dr. Sp.O.G
NIM. 011829069303

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SUBSPESIALIS
OBSTETRI DAN GINEKOLOGI
PEMINATAN FERTILITAS ENDOKRINOLOGI DAN REPRODUKSI
DEP/KSM OBSTETRI DAN GINEKOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNAIR-RSUD DR. SOETOMO
SURABAYA
2022**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam karya ilmiah berjudul pengaruh endometriosis terhadap morfologi mitokondria dan kadar kardiolipin pada oosit pasca ovulasi mencit model endometriosis, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar konsultan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 25 Oktober 2022

A 10,000 Rupiah Indonesian banknote is shown, featuring a signature in black ink over the central part of the note. The note is orange and yellow, with the number '10000' visible on the left side. The signature is written in a cursive style.

Ody Wijaya, dr, Sp.O.G
NIM. 011829069303

LEMBAR PENGESAHAN

Karya ilmiah ini telah disetujui
pada tanggal 25 Oktober 2022

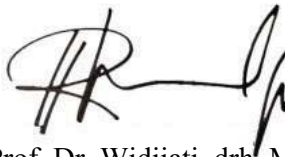
Oleh :

Pembimbing I



Dr. Jimmy Yanuar Annas, dr, Sp.O.G. Subsp. F.E.R
NIP. 197701202008011009

Pembimbing II



Prof. Dr. Widjiati, drh, M.Si
NIP. 196209151990022001

Mengetahui,

Ketua Program Pendidikan Spesialis II

Konsultan FER Bag / SMF Obstetri dan Ginekologi



Dr. Sri Ratna Dwiningih, dr, Sp.O.G. Subsp. F.E.R
NIP. 19730828 199903 2002

PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Karya ilmiah hasil penelitian ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada

Program Pendidikan Subspesialis Obstetri dan Ginekologi

Peminatan Fertilitas Endokrinologi dan Reproduksi

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

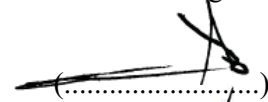
Surabaya

Pada hari / tanggal : Rabu, 19 Oktober 2022

Panitia penguji karya ilmiah hasil penelitian :

Tanda Tangan

Ketua : Prof. Samsulhadi, dr, Sp.O.G. Subsp. F.E.R

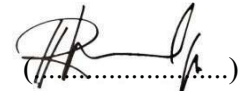


(.....)

Anggota : 1. Dr. Jimmy Yanuar Annas, dr, Sp.O.G. Subsp. F.E.R

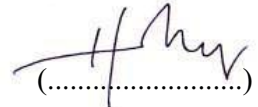
(.....)

2. Prof. Dr, Widjiati, drh, M.Si



(.....)

3. Dr. Hartanto Bayuaji, dr, Sp.O.G. Subsp. F.E.R



(.....)

4. Dr. Sri Ratna Dwiningsih, dr, Sp.O.G. Subsp. F.E.R



(.....)

5. Dr. H. Budi Utomo, dr, M.Kes



(.....)

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah saya panjatkan kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan karuniaNya, sehingga saya dapat menyelesaikan karya ilmiah ini sebagai salah satu tugas akhir dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis II FER di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD dr. Soetomo Surabaya dengan judul : “ PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP PERUBAHAN MORFOLOGI MITOKONDRIA DAN KADAR KARDIOLIPIN PADA OOSIT PASCA OVULASI MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS ”

Terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya haturkan kepada :

1. Dr. Jimmy Yanuar Annas, dr, Sp.O.G. Subsp. F.E.R, selaku Ketua Divisi Fertilitas, Endokrinologi dan Reproduksi dan staf pengajar Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD dr. Soetomo Surabaya dan sekaligus sebagai pembimbing dalam penelitian ini atas segala nasihat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama saya mengikuti program pendidikan konsultan.
2. Prof. Dr. Widjiati, drh, M.Si, staf pengajar dan guru besar pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga sebagai pembimbing dalam penelitian ini atas segala nasihat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama kami melaksanakan penelitian ini.
3. DR. H. Budi Utomo, M.Kes sebagai pembimbing dalam penelitian ini atas segala nasihat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama kami

melaksanakan penelitian ini.

4. Prof. Dr. Budi Santoso, dr, Sp.O.G. Subsp. F.E.R, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan guru besar Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya / RSUD dr. Soetomo Surabaya, atas kesempatan dan segala nasihat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama saya mengikuti program pendidikan konsultan.
5. DR. Joni Wahyuhadi, dr, Sp. BS (K), selaku Direktur RSUD dr. Soetomo Surabaya atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti PPDS II FER di Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD dr. Soetomo Surabaya.
6. Dr. Brahmana Askandar, dr, Sp.O.G. Subsp. Onk, selaku ketua Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD dr. Soetomo Surabaya atas segala nasihat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama saya mengikuti program pendidikan konsultan.
7. Dr. Sri Ratna Dwiningsih, dr, Sp.O.G. Subsp. F.E.R, selaku Ketua Program Studi SP2 Obstetri dan Ginekologi dan staf pengajar Divisi Fertilitas, Endokrinologi dan Reproduksi Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD dr. Soetomo Surabaya, atas segala nasihat serta bimbingan selama saya mengikuti program pendidikan konsultan.
8. Prof. H. Lila Dewata Azinar, dr, Sp.O.G. Subsp. F.E.R, guru besar Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya / RSUD dr. Soetomo Surabaya, atas segala nasihat, dorongan,

bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama saya mengikuti program pendidikan konsultan.

9. Prof. Samsulhadi, dr, Sp.O.G. Subsp. F.E.R, guru besar Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya / RSUD dr. Soetomo Surabaya, atas segala nasihat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama saya mengikuti program pendidikan konsultan.
10. Prof. H. Soehartono DS, dr, Sp.O.G. Subsp. F.E.R, guru besar Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya / RSUD dr. Soetomo Surabaya, atas segala nasihat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama saya mengikuti program pendidikan konsultan.
11. Prof. Dr. Hendy Hendarto, dr, Sp.O.G. Subsp. F.E.R, guru besar Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya / RSUD dr. Soetomo Surabaya, atas segala nasihat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama saya mengikuti program pendidikan konsultan.
12. Relly Y. Primariawan, dr, Sp.O.G. Subsp. F.E.R, staf pengajar Divisi Fertilitas, Endokrinologi dan Reproduksi Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya, atas segala nasihat, bimbingan dan petunjuk selama saya mengikuti program pendidikan konsultan.
13. Dr. Ashon Sa'adi, dr, Sp.O.G. Subsp. F.E.R, staf pengajar Divisi Fertilitas, Endokrinologi dan Reproduksi Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya,

atas segala nasihat serta bimbingan selama saya mengikuti program pendidikan konsultan.

14. Sejawat peserta PPDS II FER Achmad Reza, dr, Sp.O.G, M.Y.Ardianta Widyanugraha, dr, Sp.O.G, Dr. Samrichard Rambulangi, dr, Sp.O.G, Teguh Wiyono, dr, Sp.O.G dan rekan– rekan lainnya PPDS II Departemen /KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD dr. Soetomo Surabaya.
15. Selanjutnya doa yang tak pernah putus kami persembahkan kepada orang tua kami Papa Muhammad Nurbari Rasuan (Alm) dan Mama Rosmiyati, juga Papa Hery Zubaidi dan Mama Rochaniwati yang penuh kasih sayang telah membesarkan dan mewujudkan cita – cita ananda.
16. Adik-adik saya tercinta Santi Widayani dan Tomy Kurniawan, atas doa, dorongan dan semangat yang diberikan selama saya menjalani program pendidikan konsultan.
17. Istriku tercinta Henidekasari, dr, Sp.O.G atas semua doa, pengertian, kesabaran, dorongan dan semangat yang diberikan selama saya mengikuti program pendidikan konsultan, dan anak–anakku tersayang Nabila Yunisa Wijaya, Tiara Saqifa Wijaya, Muhammad Farenolasatria, Muhammad Danish Wijaya, Muhammad Darren Alfarizqi Wijaya, kalianlah yang selalu menjadi motivasi dan inspirasiku.

Kami menyadari sepenuhnya bahwa penelitian ini masih jauh dari sempurna, karena itu kami mengharapkan kritik dan saran yang akan sangat bermanfaat. Dan pada kesempatan ini pula, perkenankanlah kami menyampaikan permohonan maaf yang setulusnya atas segala tingkah laku dan sikap kami yang

tidak berkenan selama mengikuti program pendidikan konsultan ini. Semoga Allah SWT membalas segala budi baik yang telah diberikan kepada kami dan senantiasa melimpahkan rahmat dan karuniaNya kepada kita serta menjadikan ilmu yang kita peroleh menjadi ilmu yang bermanfaat bagi sesama.

Surabaya, 19 Oktober 2022

Ody Wijaya, dr, Sp.O.G

RINGKASAN

**PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP MORFOLOGI
MITOKONDRIA DAN KADAR KARDIOLIPIN PADA OOSIT
PASCA OVULASI MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**

Ody Wijaya

I. Latar belakang

Pregnancy rate pada wanita dengan endometriosis mengalami penurunan jika dibandingkan dengan wanita normal yang subur (Fadhlaoui *et al.*, 2014). Peningkatan faktor inflamasi TNF- α pada wanita yang menderita endometriosis menyebabkan gangguan pada fungsi atau kualitas dari oosit karena adanya apoptosis dari sel granulosa (Carlberg *et al.*, 2000). Hal tersebut mengganggu proses pematangan sitoplasma yang berpengaruh terhadap replikasi dan redistribusi mitokondria (Collado-Fernandez *et al.*, 2012). Gangguan struktur dan fungsi mitokondria dapat menjadi faktor penting yang mempengaruhi fertilitas pasien dengan endometriosis (Dumollard R *et al.*, 2007).

Proses apoptosis mitokondria mengakibatkan kerusakan oksidatif pada kardiolipin dan membran fosfolipid lainnya (Chicco & Sparagna; 2007). Kerusakan oksidatif dapat memicu kerusakan dari fungsi transpor elektron pada kardiolipin (Houtkooper & Vaz, 2008). Sehingga kardiolipin dapat dihipotesiskan sebagai biomarker dari kerusakan mitokondria (May *et al.*, 2010).

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh endometriosis pada oosit pasca ovulasi khususnya terkait dengan disfungsi mitokondria serta kadar kardiolipin oosit akibat kerusakan mitokondria oosit. Mengingat penelitian pada manusia untuk mengetahui pengaruh endometriosis terhadap morfologi mitokondria dan kadar kardiolipin pada oosit pasca ovulasi terkendala etika, maka pada penelitian ini menggunakan oosit pasca ovulasi mencit model endometriosis.

II. Metode dan bahan

Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit untuk model endometriosis. Terdapat 32 mencit yang terbagi dalam 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol (P0) dan kelompok endometriosis (P1) dimana masing-masing kelompok sejumlah 16 ekor. Pada kelompok P1, kami membuat mencit model endometriosis dengan menurunkan kekebalan tubuhnya, kemudian menyuntikkan endometrium manusia secara intraperitoneal, mencit diberikan injeksi siklosporin A 0,2 ml pada paha kanan, injeksi estrogen 0,1 ml pada paha kiri. Untuk merangsang pertumbuhan endometrium, diberikan suntikan estrogen pada hari ke-5 sebanyak 0,1 ml secara intramuskular. Empat belas hari setelah penyuntikan endometrium intraperitoneal, diharapkan sudah menjadi mencit model endometriosis. Pada kelompok kontrol, dilakukan penyuntikan placebo aquadest. Semua kelompok mencit kemudian dilakukan superovulasi dengan pemberian suntikan PMSG dosis 5 IU dan hCG serta dikawinkan dengan mencit jantan yang telah dilakukan vasektomi. Induksi birahi dengan mengawinkan dengan mencit jantan diperlukan untuk memicu terjadinya ovulasi pada mencit coba. Setelah 17 jam mencit betina dikawinkan dengan mencit

jantan yang sudah dikastrasi secara *monomating*, dilakukan pemeriksaan *vaginal plug*/sumbat vagina, mencit betina yang sumbat vaginanya positif selanjutnya dilakukan terminasi untuk dikoleksi kompleks oosit dari kantong fertilisasi tuba fallopii. Kompleks oosit dipisahkan dari sel kumulusnya memakai enzim hyaluronidase, proses oosit didenudasi. Oosit yang telah diekstraksi difiksasi dengan perendaman dalam glutaraldehid 2,5% dalam buffer fosfat atau natrium cacodylate kemudian diamati menggunakan *Transmission Electron Microscope (TEM)*. Gambaran struktur kista dan membran mitokondria didokumentasikan dari kedua kelompok dan dibandingkan secara kuantitatif yang didasarkan pada penampilannya, khususnya pada bentuk krista mitokondria. Empat derajat penampilan mitokondria telah dibuat untuk diklasifikasikan, meliputi kelas I mitokondria normal dengan membran luar berbatas tegas dan penampilan beberapa krista yang sempit (terlihat melalui TEM sebagai area kecil elektron-transparan) dalam ruang matriks padat yang berdekatan. Kelas II mitokondria yang terombak dengan sambungan krista melebar dan kompartemen intrakristal transparan elektron serpentin disela oleh ruang matriks padat elektron. Kelas III dengan gambaran defek morfologi yang jelas, dengan ruptur parsial membran luar, serta kelas IV kerusakan dan perubahan morfologi yang nyata, terdiri dari mitokondria yang membengkak/edema dan pecah dengan struktur krista yang tidak dapat dibedakan.

Selanjutnya dilakukan penggerusan oosit dan *disentrifuge* untuk kemudian supernatant dikumpulkan dan dilakukan prosedur assay dengan *Mouse Cardiolipin (CL) ELISA* kit Cat, no: MBS055829, kemudian dilakukan pembacaan *Optical Density (OD)* pada panjang gelombang 450 nm dalam 15 menit pertama setelah menambahkan cairan STOP. Hasil pembacaan dihitung reratanya pada setiap *standard wells* dan setiap *sample wells* untuk memperoleh nilai rerata densitas optikal (OD) dan kadar kardioliipin. Data yang diperoleh kemudian diolah dengan menggunakan perangkat lunak untuk menghasilkan kurva standar dan kalkulasi kadar tiap analit.

III. Hasil

Gambaran struktur krista dan membran mitokondria didokumentasikan dalam bentuk gambar dari kedua kelompok untuk kemudian dibandingkan secara kuantitatif yang didasarkan pada penampilannya, khususnya pada bentuk krista mitokondria. Berdasarkan empat derajat penampilan mitokondria telah dibuat untuk diklasifikasikan, meliputi kelas I (skor 4), kelas II (skor 3), kelas III (skor 2), dan kelas IV (skor 1).

Hasil uji *Fisher Exact Test* pada morfologi mitokondria oosit kedua kelompok didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,00001$) dengan perbedaan morfologi mitokondria pada kelompok endometriosis lebih rendah secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Hasil uji Mann-Whitney pada konsentrasi kadar kardioliipin kedua kelompok didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,0001$) dengan kadar kardioliipin pada kelompok endometriosis lebih rendah secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji korelasi untuk melihat pengaruh morfologi mitokondria oosit terhadap kadar kardioliipin oosit pasca ovulasi kelompok endometriosis. Hasil uji korelasi antara morfologi mitokondria dan kadar kardioliipin oosit pasca ovulasi

kelompok endometriosis menunjukkan adanya hubungan bermakna antara morfologi mitokondria dengan kadar kardioprotein ($p < 0,001$) dengan tingkat pengaruh perubahan morfologi mitokondria terhadap kadar kardioprotein sebesar 73%.

IV. Pembahasan

Hasil penelitian kami menunjukkan pada morfologi mitokondria oosit kedua kelompok didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,00001$) dengan perbedaan morfologi mitokondria pada kelompok endometriosis lebih rendah secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Hal ini mungkin disebabkan pada endometriosis terjadi reaksi inflamasi yang mana tubuh secara aktif memobilisasi monosit (terutama makrofag) untuk membersihkan sel endometrium dan debris. Ikatan TNF- α memicu terjadinya peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) oleh mitokondria yang mengakibatkan terjadinya pembukaan pada *permeability transition pores* (PTP) dan pembengkakan pada matriks mitokondria. Dengan demikian menyebabkan mitokondria mengalami disfungsi.

Hasil penelitian kami juga mendapatkan kadar kardioprotein oosit pada kedua kelompok mencit didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,0001$) dengan kadar kardioprotein oosit kelompok mencit model endometriosis lebih rendah dibanding kelompok kontrol ($p < 0,05$). Kardioprotein adalah fosfolipid utama mitokondria yang memainkan peran penting dalam mempertahankan fungsi mitokondria, termasuk struktur membran, fosforilasi oksidatif, produksi ATP, biogenesis mtDNA, fusi mitokondria, fisi, dan autofagi (mitofagi) (Song *et al.*, 2019). Penurunan kadar kardioprotein sebagai *mitochondrial breakdown product* terjadi akibat kerusakan mitokondria oosit pada endometriosis, dimana mitokondria dalam oosit akan mengalami gangguan fungsi akibat faktor inflamasi yang meningkat, terutama TNF- α . Ikatan TNF- α dengan reseptornya juga memicu procaspase 8 menjadi aktif (caspase 8) yang menyebabkan kerusakan pada mitokondria melalui jalur apoptosis (Higuchi *et al.*, 1998). Kemudian akan menyebabkan kerusakan oksidatif pada kardioprotein dan membran fosfolipid lainnya sehingga mengakibatkan peningkatan proton dan kebocoran ion dan mengakibatkan berkurangnya produksi ATP (Duchen & Szabadkai, 2010). Dengan hal ini, produksi ROS dapat mengakibatkan kerusakan oksidatif pada membran lipid mitokondria (Spector & Yorek, 1985; Spiteller, 2010). Ketika terjadi kerusakan akibat ROS/RNS, kardioprotein yang teroksidasi akan memicu hilangnya fungsi transpor elektron (Houtkooper & Vaz, 2008).

Penelitian ini juga melakukan uji korelasi antara morfologi mitokondria oosit dengan kadar kardioprotein oosit dimana didapatkan adanya hubungan bermakna/korelasi positif antara morfologi mitokondria oosit dengan kadar kardioprotein oosit ($p < 0,001$) dengan tingkat pengaruh perubahan morfologi mitokondria terhadap kadar kardioprotein sebesar 73%. Mitokondria adalah sumber utama dalam memproduksi ROS dan ATP. Mitokondria pada keadaan endometriosis berada dalam lingkungan stress oksidatif dalam jangka waktu yang lama, sehingga mitokondria tersebut dipaksa untuk menghasilkan energi yang cukup untuk pertumbuhan lesi (Chen *et al.*, 2019). Keadaan stress oksidatif dapat memicu oksidasi dari kardioprotein, sehingga dapat mengubah sifat fisiknya. Modifikasi kardioprotein merupakan tanda awal terjadinya proses apoptosis yang dimediasi karena adanya peningkatan kadar ROS. Peningkatan kadar ROS dapat menyebabkan kerusakan *growth factor-deprived neuron* pada mitokondria,

sehingga menyebabkan kadar kardiolipin lebih rendah. Oksidasi kardiolipin dapat disebabkan karena kerja enzim oksidatif seperti aktivasi dari lipoxxygenase. Adanya aktivitas lipoxxygenase menyebabkan perubahan morfologi mitokondria yang disebabkan oleh perubahan kardiolipin. Lipoxxygenase meningkatkan indeks oksidatif yang mengakibatkan pelepasan sitokrom c. Selain itu, produk dari oksidasi lipoxxygenase, yaitu asam linoleat dan arakidonat, dapat berpengaruh langsung terhadap apoptosis mitokondria (Iverson dan Orrenius, 2004).

V. Kesimpulan

Terdapat perbedaan morfologi mitokondria oosit pada mencit model endometriosis dibandingkan oosit pada mencit non endometriosis. Didapatkan kadar kardiolipin yang lebih rendah pada oosit mencit model endometriosis dibandingkan oosit mencit non endometriosis. Didapatkan korelasi positif morfologi mitokondria oosit dengan kadar kardiolipin yang lebih rendah pada kelompok mencit model endometriosis.

SUMMARY

EFFECT OF ENDOMETRIOSIS ON MITOCHONDRIA MORPHOLOGY AND CARDIOLIPIN LEVELS IN OOCYTES IN POST OVULATION MICE ENDOMETRIOSIS MODEL

Ody Wijaya

I. The background

Pregnancy rate in women with endometriosis there is a decrease compared to normal fertile women (Fadhlaoui et al., 2014). Increased inflammatory factor $\text{TNF-}\alpha$ in women suffering from endometriosis causes disturbances in the function or quality of oocytes due to apoptosis of granulosa cells (Carlberg et al., 2000). This disrupts the cytoplasmic maturation process which affects the replication and redistribution of mitochondria (Collado-Fernandez et al., 2012). Disruption of mitochondrial structure and function may be an important factor affecting the fertility of patients with endometriosis (Dumollard R et al., 2007).

The mitochondrial apoptosis process results in oxidative damage to cardiolipin and other membrane phospholipids (Chicco & Sparagna; 2007). Oxidative damage can trigger damage to the electron transport function of cardiolipin (Houtkooper & Vaz, 2008). So cardiolipin can be hypothesized as a biomarker of mitochondrial damage (May et al., 2010).

This study aims to analyze the effect of endometriosis on post-ovulatory oocytes, especially in relation to mitochondrial dysfunction and oocyte cardiolipin levels due to oocyte mitochondrial damage. Considering that research on humans to determine the effect of endometriosis on mitochondrial morphology and cardiolipin levels in post-ovulation oocytes is ethically constrained, this study used post-ovulation oocytes from endometriosis model mice.

II. Methods and materials

This research uses mice as an endometriosis model. There were 32 mice divided into 2 groups, namely the control group (P0) and the endometriosis group (P1), with 16 mice in each group. In group P1, we created endometriosis model mice by lowering their immune system, then injected human endometrium intraperitoneally, the mice were given 0.2 ml cyclosporin A injection in the right thigh, 0.1 ml estrogen injection in the left thigh. To stimulate endometrial growth, an intramuscular injection of 0.1 ml of estrogen is given on day 5. Fourteen days after intraperitoneal injection of the endometrium, it is hoped that the mice will become endometriosis models. In the control group, placebo distilled water was injected. All groups of mice were then superovulated by administering an injection of PMSG at a dose of 5 IU and hCG and mated with male mice that had undergone vasectomies. Induction of lust by mating with male mice is needed to trigger ovulation in experimental mice. After 17 hours the female mice were mated with male mice that had been castrated monomating, inspection was carried out vaginal plug/Vaginal plugs, female mice whose vaginal plugs are positive are then terminated to collect the oocyte complex from the fallopian tube fertilization sac.

The oocyte complex is separated from the cumulus cells using the enzyme hyaluronidase, the oocyte process is denuded. The extracted oocytes were fixed by immersion in 2.5% glutaraldehyde in phosphate buffer or sodium cacodylate and then observed using Transmission Electron Microscope (TEM). Structural features of cysts and mitochondrial membranes were documented from both groups and compared quantitatively based on their appearance, in particular on the shape of the mitochondrial cristae. Four degrees of mitochondrial appearance have been classified, including normal class I mitochondria with a well-defined outer membrane and the appearance of several narrow cristae (visible via TEM as small electron-transparent areas) within the adjacent dense matrix space. Class II ossified mitochondria with dilated cristae junctions and serpentine electron-transparent intracrystal compartments punctuated by electron-dense matrix spaces. Class III with a clear morphological defect, with partial rupture of the outer membrane, and class IV with obvious morphological damage and changes, consisting of swollen/edema and ruptured mitochondria with indistinguishable cristae structures.

Next, the oocytes are crushed and centrifuge. Then the supernatant is collected and the assay procedure is carried out with Mouse Cardiolipin (CL) ELISA kit Cat, no: MBS055829, then reading is carried out Optical Density (OD) at a wavelength of 450 nm in the first 15 minutes after adding STOP liquid. The average of the reading results is calculated for each standard wells and every sample wells to obtain the average value of optical density (OF) and cardiolipin levels. The data obtained is then processed using software to produce a standard curve and calculate the levels of each analyte.

III. Results

The structural description of the mitochondrial cristae and membranes was documented in the form of images from both groups to then be compared quantitatively based on their appearance, in particular on the shape of the mitochondrial cristae. Based on four degrees of appearance mitochondria have been classified, including class I (score 4), class II (score 3), class III (score 2), and class IV (score 1).

Test results Fisher Exact Test In the oocyte mitochondrial morphology of the two groups, significant differences were found ($p < 0.00001$) with differences in mitochondrial morphology in the endometriosis group being significantly lower than in the control group ($p < 0.05$). The results of the Mann-Whitney test on the cardiolipin concentration levels of the two groups showed a significant difference ($p < 0.0001$) with the cardiolipin levels in the endometriosis group being significantly lower than the control group ($p < 0.05$). Next, a correlation test was carried out to see the effect of oocyte mitochondrial morphology on post-ovulation oocyte cardiolipin levels in the endometriosis group. The results of the correlation test between mitochondrial morphology and cardiolipin levels of oocytes after ovulation in the endometriosis group showed that there was a significant relationship between mitochondrial morphology and cardiolipin levels ($p < 0.001$) with the level of influence of changes in mitochondrial morphology on cardiolipin levels of 73%.

IV. Discussion

The results of our study showed that in the oocyte mitochondrial morphology of the two groups, there were significant differences ($p < 0.00001$) with differences in mitochondrial morphology in the endometriosis group being significantly lower than those in the control group ($p < 0.05$). This may be due to endometriosis, an inflammatory reaction occurs in which the body actively mobilizes monocytes (especially macrophages) to clean endometrial cells and debris. The binding of $\text{TNF-}\alpha$ triggers increased production reactive oxygen species (ROS) by mitochondria which results in the opening of the permeability transition pores (PTP) and swelling of the mitochondrial matrix. Thus causing mitochondria to experience dysfunction.

Our research results also obtained There was a significant difference in oocyte cardiolipin levels in the two groups of mice ($p < 0.0001$) with oocyte cardiolipin levels in the endometriosis model mice group being lower than those in the control group ($p < 0.05$). Cardiolipin is a major mitochondrial phospholipid that plays an important role in maintaining mitochondrial function, including membrane structure, oxidative phosphorylation, ATP production, mtDNA biogenesis, mitochondrial fusion, fission, and autophagy (mitophagy) (Song et al., 2019). A decrease in cardiolipin levels as mitochondrial breakdown product occurs due to damage to oocyte mitochondria in endometriosis, where the mitochondria in the oocyte will experience impaired function due to increased inflammatory factors, especially $\text{TNF-}\alpha$. The binding of $\text{TNF-}\alpha$ to its receptor also triggers procaspase 8 to become active (caspase 8) which causes damage to mitochondria through the apoptotic pathway (Higuchi et al., 1998). This will then cause oxidative damage to cardiolipin and other phospholipid membranes, resulting in increased proton and ion leakage and resulting in reduced ATP production (Duchen & Szabadkai, 2010). With this, ROS production can result in oxidative damage to mitochondrial lipid membranes (Spector & Yorek, 1985; Spiteller, 2010). When damage occurs due to ROS/RNS, oxidized cardiolipin will trigger loss of electron transport function (Houtkooper & Vaz, 2008).

This study also tested the correlation between oocyte mitochondrial morphology and oocyte cardiolipin levels, where it was found that there was a significant relationship/positive correlation between oocyte mitochondrial morphology and oocyte cardiolipin levels ($p < 0.001$) with the level of influence of changes in mitochondrial morphology on cardiolipin levels of 73%. Mitochondria are the main source in producing ROS and ATP. Mitochondria in endometriosis are in an environment of oxidative stress for a long period of time, so that they are forced to produce sufficient energy for lesion growth (Chen et al., 2019). Oxidative stress conditions can trigger the oxidation of cardiolipin, thereby changing its physical properties. Cardiolipin modification is an early sign of the apoptosis process which is mediated due to increased levels of ROS. Increased ROS levels can cause damage growth factor-deprived neuron in mitochondria, thereby causing lower cardiolipin levels. Cardiolipin oxidation can be caused by the action of oxidative enzymes such as activation of lipoxygenase. The presence of lipoxygenase activity causes changes in mitochondrial morphology caused by changes in cardiolipin. Lipoxygenase increases the oxidative index resulting in the release of cytochrome c. In addition, the products of lipoxygenase oxidation, namely linoleic and arachidonic acids, can have a direct effect on mitochondrial apoptosis (Iverson

and Orrenius, 2004).

V. Conclusion

There are differences in the morphology of oocyte mitochondria in endometriosis model mice compared to oocytes in non-endometriosis mice. It was found that cardiolipin levels were lower in the oocytes of endometriosis model mice compared to the oocytes of non-endometriosis mice. There was a positive correlation between oocyte mitochondrial morphology and lower cardiolipin levels in a group of endometriosis model mice.

ABSTRAK

PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP MORFOLOGI MITOKONDRIA DAN KADAR KARDIOLIPIN PADA OOSIT PASCA OVULASI MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS

Ody Wijaya

Latar Belakang : *Pregnancy rate* pada wanita dengan endometriosis mengalami penurunan jika dibandingkan dengan wanita normal yang subur.

Tujuan : Menganalisis pengaruh endometriosis pada oosit khususnya terkait dengan perubahan morfologi mitokondria yang menyebabkan disfungsi mitokondria serta penurunan kadar kardiolipin akibat kerusakan mitokondria oosit.

Desain, studi, sampel, tempat, dan waktu : penelitian eksplanasi pada hewan coba, bulan september – oktober 2022 di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga & Direktorat Riset & Pengabdian Masyarakat (DRPM) Universitas Indonesia Jakarta.

Materi dan metode : Tiga puluh dua ekor mencit dibagi menjadi kelompok kontrol dan endometriosis. Mitokondria oosit diperoleh dari semua kelompok. Analisis morfologi mitokondria oosit menggunakan *Transmission Electron Microscope (TEM)*, pemeriksaan kadar kardiolipin mitokondria dengan ELISA.

Hasil : Morfologi mitokondria oosit kedua kelompok didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,00001$) dengan perbedaan morfologi mitokondria oosit pada kelompok endometriosis lebih rendah secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Konsentrasi kadar kardiolipin oosit kedua kelompok didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,0001$) dengan kadar kardiolipin oosit pada kelompok endometriosis lebih rendah secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Perubahan morfologi mitokondria dan kadar kardiolipin pada oosit menunjukkan adanya hubungan bermakna/korelasi positif ($p < 0,001$) dengan tingkat pengaruh perubahan morfologi mitokondria terhadap kadar kardiolipin sebesar 73%.

Kesimpulan : Terjadi perubahan morfologi mitokondria oosit pada mencit model endometriosis dibandingkan oosit pada mencit non endometriosis. Didapatkan kadar kardiolipin yang lebih rendah pada oosit mencit model endometriosis dibandingkan oosit mencit non endometriosis. Didapatkan korelasi positif perubahan morfologi mitokondria dengan kadar kardiolipin pada oosit kelompok mencit model endometriosis.

Kata kunci : Endometriosis, mitokondria, oosit, kardiolipin.

ABSTRACT

EFFECT OF ENDOMETRIOSIS ON MITOCHONDRIA MORPHOLOGY AND CARDIOLIPIN LEVELS IN OOCYTES IN POST OVULATION MICE ENDOMETRIOSIS MODEL

Ody Wijaya

Background: Pregnancy rate in women with endometriosis decreases compared with normal fertile women.

Objective : Analyzing the effect of endometriosis on oocytes, especially related to changes in mitochondrial morphology which causes mitochondrial dysfunction and a decrease in cardiolipin levels due to damage to oocyte mitochondria.

Design, study, sample, place, and time: This is an experimental animal research conducted on September – October 2022 at the Faculty of Veterinary Medicine, Airlangga University & Directorate of Research & Community Service (DRPM) University of Indonesia Jakarta.

Materials and methods: Thirty-two mice were divided into control and endometriosis groups. Oocyte mitochondria were obtained from all groups. Morphological analysis of oocyte mitochondria using Transmission Electron Microscope (TEM), examination of mitochondrial cardiolipin levels using ELISA.

Results : There was a significant difference in oocyte mitochondrial morphology between the two groups ($p < 0.00001$) with the difference in oocyte mitochondrial morphology in the endometriosis group being significantly lower than in the control group ($p < 0.05$). There was a significant difference in the concentration of oocyte cardiolipin levels in the two groups ($p < 0.0001$) with oocyte cardiolipin levels in the endometriosis group being significantly lower than those in the control group ($p < 0.05$). Changes in mitochondrial morphology and cardiolipin levels in oocytes showed a significant relationship/positive correlation ($p < 0.001$) with the level of influence of changes in mitochondrial morphology on cardiolipin levels of 73%.

Conclusion : There were changes in oocyte mitochondrial morphology in endometriosis model mice compared to oocytes in non-endometriosis mice. It was found that cardiolipin levels were lower in the oocytes of endometriosis model mice compared to the oocytes of non-endometriosis mice. There was a positive correlation between changes in mitochondrial morphology and cardiolipin levels in the oocytes of a group of endometriosis model mice.

Keywords : Endometriosis, mitochondria, oocytes, cardiolipin.

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
SAMPUL DALAM	ii
PERSYARATAN GELAR	iii
PERNYATAAN	iv
LEMBAR PENGESAHAN	v
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	vi
KATA PENGANTAR	vii
RINGKASAN	xii
<i>SUMMARY</i>	xvi
ABSTRAK	xx
<i>ABSTRACT</i>	xxi
DAFTAR ISI	xxii
DAFTAR TABEL	xxv
DAFTAR GAMBAR	xxvi
DAFTAR SINGKATAN	xxvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan umum	5
1.3.2 Tujuan khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat teoritis	6
1.4.2 Manfaat praktis	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Endometriosis	8
2.1.1 Definisi dan epidemiologi	8
2.1.2 Patogenesis	9
2.1.2.1 Aliran balik menstruasi dan implantasi	10
2.1.2.2 Teori metaplasia selomik dan teori induksi	11
2.1.2.3 Penyebaran lewat pembuluh darah dan aliran limfe	12
2.1.3 Gejala klinis	13
2.1.4 Diagnosis	14
2.2 Endometriosis dan Infertilitas	17
2.2.1 Infertilitas terkait endometriosis	18
2.2.2 Efek endometriosis terhadap reproduksi	21
2.2.3 Efek endometriosis terhadap folikulogenesis	21
2.2.4 Efek endometriosis terhadap fungsi sperma dan fertilisasi	23
2.2.5 Efek endometriosis terhadap transpor tuba	23
2.2.6 Efek endometriosis terhadap perkembangan embrio	24
2.2.7 Efek endometriosis terhadap implantasi	24
2.3 Endometriosis dan Kualitas Oosit	25
2.3.1 Kualitas oosit	26

2.3.2	Maturasi oosit.....	29
2.4	Endometriosis dan TNF- α	31
2.5	Mitokondria Oosit.....	37
2.5.1	Karakteristik mitokondria oosit.....	37
2.5.2	Biogenesis mitokondria.....	40
2.5.3	Mitokondria dan maturasi oosit	43
2.5.4	TNF- α dan mitokondria	45
2.5.5	Mitokondria dan ATP	52
2.5.6	Mitokondria dan ROS	55
2.5.7	Mitokondria dan kualitas oosit.....	58
2.5.8	Dampak aktivitas mitokondria pada perkembangan embrio....	63
2.5.9	Mitokondria dan apoptosis pada embrio	64
2.5.10	Disfungsi mitokondria.....	66
2.6	Kardioliipin dan Mitokondria.....	67
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN ...	72
3.1	Kerangka Konseptual Penelitian	72
3.2	Narasi Kerangka Konseptual Penelitian.....	73
3.3	Hipotesis.....	75
BAB 4	METODE PENELITIAN.....	76
4.1	Jenis Penelitian.....	76
4.2	Populasi Sampel dan Besar Sampel Penelitian	76
4.2.1	Populasi.....	76
4.2.2	Sampel.....	77
4.2.3	Besar sampel	77
4.3	Variabel Penelitian	79
4.3.1	Variabel bebas	79
4.3.2	Variabel tergantung	79
4.3.3	Variabel kendali	79
4.4	Definisi Operasional	79
4.5	Bahan Penelitian	82
4.6	Tempat dan Waktu Penelitian	82
4.7	Prosedur Penelitian	83
4.8	Kerangka Operasional.....	86
4.9	Pengolahan dan Analisis Data.....	87
4.10	Kelaikan Etik.....	87
BAB 5	HASIL PENELITIAN	88
5.1	Pembuatan Hewan Coba Endometriosis	88
5.2	Tahap Isolasi Sampel dan Pengukuran Variabel Penelitian.....	89
5.3	Pemeriksaan Morfologi Mitokondria Oosit	90
5.4	Hasil Perbedaan Morfologi Mitokondria Oosit.....	91
5.5	Hasil Kadar Kardioliipin	95
5.6	Hubungan antara Perubahan Morfologi Mitokondria Oosit dengan Kadar Kardioliipin.....	95
BAB 6	PEMBAHASAN	97
6.1	Morfologi Mitokondria Oosit.....	99
6.2	Kadar Kardioliipin.....	101

6.3 Hubungan antara Perubahan Morfologi Mitokondria oosit dengan Kadar Kardiopin.....	103
6.4 Keterbatasan Penelitian.....	105
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	106
7.1 Kesimpulan	106
7.2 Saran.....	106
DAFTAR PUSTAKA	107
LAMPIRAN.....	116

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Berbagai teori patogenesis endometriosis.....	10
Tabel 4.1 Tabel definisi operasional	79
Tabel 4.2 Tabel kerangka operasional	86
Tabel 5.1 Tabel data temuan morfologi mitokondria oosit kelompok non endometriosis	91
Tabel 5.2 Tabel data temuan morfologi mitokondria oosit kelompok endometriosis	92
Tabel 5.3 Tabel morfologi mitokondria oosit mencit pada tiap kelompok.....	94
Tabel 5.4 Tabel kadar kardiopilin oosit mencit pada tiap kelompok	95
Tabel 5.5 Tabel pengaruh perubahan morfologi mitokondria oosit terhadap kadar kardiopilin pada mencit endometriosis	96

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur panggul dimana endometriosis sering berkembang	9
Gambar 2.2 Patogenesis endometriosis. Teori implantasi didasarkan pada transplantasi dan implantasi jaringan endometrium.....	11
Gambar 2.3 Patomekanisme infertilitas pada endometriosis	20
Gambar 2.4 Fertilisasi oosit dengan 2pn dan 2 <i>polar body</i>	27
Gambar 2.5 Siklus mitokondria selama folikulogenesis	30
Gambar 2.6 Gambar mitokondria dan TNF-R1 dengan mikroskop konfokal laser	36
Gambar 2.7 Jalur apoptosis	37
Gambar 2.8 Diagram morfodinamika mitokondria normal pada oosit dan embrio manusia, yang menunjukkan perubahan mikrotopografi, ukuran, bentuk, konfigurasi krista, dan kerapatan matriks mitokondria.....	39
Gambar 2.9 Dua mekanisme apoptosis yang dimediasi mitokondria yang diprakarsai oleh TNF.....	48
Gambar 2.10 Jalur intrinsik dan ekstrinsik	49
Gambar 2.11 Sintesis kardiopilin pada eukariota	68
Gambar 2.12 Peran CL dalam apoptosis dan dinamika membran mitokondria ..	70
Gambar 3.1 Kerangka konseptual penelitian	72
Gambar 4.1 Rancangan penelitian	76
Gambar 5.1 Endometriosis peritoneum pada kelompok P1 yang diterminasi	88
Gambar 5.2 Vaginal plug pada mencit.....	89
Gambar 5.3 Mitokondria kelas I (normal)	92
Gambar 5.4 Mitokondria kelas II.....	93
Gambar 5.5 Mitokondria kelas III.....	93
Gambar 5.6 Mitokondria kelas IV	94
Gambar 5.7 Klasifikasi penampakan mitokondria pada TEM (<i>Transmission Electron Microscope</i>).....	94

DAFTAR SINGKATAN

AFS	: <i>American Fertility Society</i>
Apaf 1	: <i>Apoptotic protease activating factor 1</i>
ASRM	: <i>American Society for Reproductive Medicine</i>
ATP	: <i>Adenosin Trifosfat</i>
Bcl	: <i>B cell Lymphoma</i>
Bak	: <i>Bcl-2-antagonist / Killer I</i>
Bax	: <i>Bcl-2-associated X protein</i>
Bid	: <i>BH3 interacting domain death agonist</i>
CA	: <i>Cancer Antigen</i>
CoQ	: <i>Coenzyme Q10</i>
CTL	: <i>Cytotoxic T Lymphocyte</i>
DD	: <i>Death Domain</i>
DIABLO	: <i>Direct IAP binding protein with low pl</i>
DISC	: <i>Death inducing signaling complex</i>
FADD	: <i>Fas associated death domain</i>
FADH	: <i>Flavin adenine dinucleotide hydrogen</i>
FIV	: <i>Fertilisasi in Vitro</i>
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
GDF	: <i>Growth Differentiation Factor</i>
GVBD	: <i>Germinal Vesicle Breakdown</i>
HtrA2	: <i>High Temperature requirement 2</i>
IAP	: <i>Inhibitor Protein of Apoptosis</i>
ICSI	: <i>Intra Cytoplasmic Sperm Injection</i>
IGF	: <i>Insuline like Growth Factor</i>
IL	: <i>Interleukine</i>
I κ Ba	: <i>Nuclear faktor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor alpha</i>
IKK	: <i>IκB kinase complex</i>
IKKb	: <i>Inhibitor of Nuclear Factor Kappa B Kinase subunit Beta</i>
IMM	: <i>Inner Mitochondrial Membrane</i>
JNK	: <i>c-Jun N-terminal kinase</i>
KB	: <i>Keluarga Berencana</i>
LH	: <i>Luteinizing Hormone</i>
M II	: <i>Mature Metafase II</i>
MFR	: <i>Maternal Fecundity Rate</i>
M-CSF	: <i>Macrophage derived Growth Factor Colony Stimulating Factor</i>
MRC	: <i>Mitochondrial Respiratory Chain</i>
mRNA	: <i>Messenger RNA</i>
mtDNA	: <i>Mitochondrial DNA</i>
MRI	: <i>Magnetic Resonance Imaging</i>
MV	: <i>Mitochondria Vesicle</i>
NADH	: <i>Nicotinamide adenine dinucleotide hydrogen</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor kappa light chain enhancer of activated B cells</i>
OMM	: <i>Outer Mitochondrial Membrane</i>
OXPHOS	: <i>Oxydative Phosphorylation</i>

PB	: <i>Polar Body</i>
PGC	: <i>Primordial Germinal Cell</i>
PRAP	: <i>poly (ADP-ribose) polimerase</i>
PTP	: <i>Permeability Transition Pore</i>
RIP	: <i>Receptor Interacting Protein</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Species</i>
SER	: <i>Smooth Endoplasmic Reticulum</i>
SMAC	: <i>Second mitochondria-derived activator of caspases</i>
SODD	: <i>Silencer of Death Domain</i>
tBid	: <i>truncated Bid</i>
TFF	: <i>Total Fertilization Failure</i>
TRADD	: <i>Tumor Necrosis Factor Receptor type I associated Death Domain</i>
TRAF	: <i>TNF receptor associated factor</i>
TNF	: <i>Tumor Necrotic Factor</i>
TNF-R	: <i>tumor necrosis factor receptor</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
TZP	: <i>Tranzonal Projection</i>