

## Hubungan Ekspresi Protein Gene Product (PGP9.5) pada Lapisan Endometrium dan Jaringan Endometriosis di Ovarium

Lokot Donna Lubis, Soekimin, Joko S. Lukito

*Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara  
 Medan*

### ABSTRAK

#### Latar belakang

Endometriosis adalah kondisi di mana jaringan endometrium yang terdiri dari epitel kelenjar maupun *stroma* ditemukan pada lokasi di luar rongga uterus. Pada penelitian endometriosis saat ini didapati perbedaan kepadatan distribusi serabut saraf antara penderita endometriosis dengan tanpa endometriosis. Beberapa petanda saraf digunakan untuk mengidentifikasi serabut saraf pada lapisan endometrium seperti *protein gene product* (PGP9.5) yang merupakan petanda spesifik untuk serabut saraf bermyelin dan tidak bermyelin. Ekspresi PGP 9.5 dapat dijumpai pada berbagai lesi endometriosis termasuk lesi endometriosis di ovarium. Tujuan penelitian ini adalah melihat apakah serabut saraf yang dipulas dengan PGP9.5 dijumpai pada lapisan fungsional endometrium dan jaringan endometriosis di ovarium pada penderita endometriosis ovarium dan melihat hubungan ekspresi keduanya.

#### Metode

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Sampel penelitian adalah blok parafin berasal dari jaringan endometriosis di ovarium dan jaringan endometrium uterus. Sejumlah 50 sampel dipulas dengan imunohistokimia PGP9.5 dan hasil ekspresi pulasan serta hubungannya dianalisis dengan uji statistik.

#### Hasil

Serabut saraf yang terpulas PGP9.5 dijumpai pada lapisan fungsional endometrium pada 16% penderita dan distribusinya adalah  $0,049 \pm 0,147/\text{mm}^2$ . Serabut saraf yang terpulas PGP9.5 pada lesi endometriosis ovarium dijumpai pada 12% penderita dan distribusinya adalah  $0,173 \pm 0,498/\text{mm}^2$ . Tidak terdapat hubungan antara serabut saraf yang terpulas dengan PGP9.5 pada lapisan fungsional endometrium dan pada lesi endometriosis di ovarium ( $p=0,422$ ).

#### Kesimpulan

Tidak terdapat hubungan antara serabut saraf yang terpulas dengan PGP9.5 pada lapisan endometrium dan pada lesi endometriosis di ovarium.

**Kata kunci :** endometriosis, endometriosis ovarium, imunohistokimia, lapisan endometrium, *protein gene product* (PGP9.5),

### ABSTRACT

#### Background

Endometriosis is a condition characterized by epithelial endometrial gland and stroma found outside of the uterine cavity. More recently, there is accumulating literature describing nerve fiber density differences between women with diagnosed endometriosis and women without endometriosis. Neuronal markers were used to identify nerve fibers presence within endometrial layers such as protein gene product 9.5 (PGP9.5) which was a specific marker for unmyelinated and myelinated nerve fibers. PGP9.5 has also been demonstrated in various endometriotic lesions such as ovarian endometriotic lesions. To investigate the expression of PGP9.5 in nerve fibers within functional layer of endometrium and ovarian endometriotic lesions and to analyze their correlations.

#### Methods

This was an analytical descriptive study with cross sectional approach. The samples were obtained from the ovarian endometriotic lesions and the endometrial layer tissue embedded in paraffin wax. Fifty paraffin embedded tissues were stained with PGP9.5. The expressions and their correlations was analyzed with statistical analysis.

#### Results

Nerve fibres stained with PGP9.5 were detected in functional layer of endometrium in 16% of women with ovarian endometriotic lesions and the density was  $0.049 \pm 0.147/\text{mm}^2$ . Nerve fibres stained with PGP9.5 were detected in ovarian endometriotic lesions in 12% of women with ovarian endometriotic lesions and the density was  $0.173 \pm 0.498/\text{mm}^2$ . No correlations found between PGP9.5-immunoreactive fibres expression in functional layer of endometrium and in ovarian endometriotic lesions ( $p=0.422$ ).

#### Conclusions

The results suggest that there is no correlations between the expression of PGP9.5-immunoreactive fibres in the functional layer of endometrium and in ovarian endometriosis.

**Key words:** endometriosis, endometrial layer, immunohistochemistry, ovarian endometriosis, protein gene product (PGP9.5).

## PENDAHULUAN

Endometriosis adalah kondisi di mana jaringan endometrium yang terdiri dari epitel kelenjar endometrium maupun *stroma* ditemukan pada lokasi di luar dari rongga uterus.<sup>1,2</sup> Endometriosis berhubungan dengan infertilitas dan nyeri pelvis seperti *dysmenorrhea* kronis, nyeri saat menstruasi pada abdomen dan pelvis, nyeri punggung, *dysuria*, *dyschezia* dan *dyspareunia*.<sup>2-4</sup> Tetapi terdapat penderita endometriosis tanpa gejala sehingga kelainan ini sukar untuk didiagnosis.<sup>4</sup> Penyakit ini pertama kali dideskripsikan pada tahun 1860 oleh seorang dokter patologi von Rokitsansky.<sup>3,5</sup> Insiden yang sebenarnya sulit diketahui tetapi sebagian besar laporan memperkirakan angka kejadian 4-13% pada perempuan usia reproduksi, 25-50% pada perempuan *infertil*, 5-25% pada perempuan dengan nyeri pelvis dan 50% pada remaja dengan nyeri menstruasi yang sulit dikendalikan dan 7% pada perempuan yang dirawat karena massa di pelvis.<sup>1</sup> Walaupun penyakit ini cukup sering dijumpai pada perempuan, tetapi seringkali salah didiagnosis, patogenesis yang mendasari penyakit ini belum jelas diketahui dan strategi diagnosis dan penatalaksanaannya masih belum adekuat.<sup>3</sup> Diagnosis endometriosis merupakan masalah utama dalam penatalaksanaan klinis dan hingga saat ini tidak dijumpai cara diagnosis yang sederhana, maupun dapat diandalkan dan non invasif yang dapat digunakan.<sup>6</sup> Terlambatnya diagnosis dan penatalaksanaan menyebabkan pasien menderita nyeri selama bertahun-tahun dan meningkatkan risiko infertilitas jika endometriosis tidak diobati. Sangat jelas bahwa dibutuhkan metode diagnosis sederhana, non invasif yang dapat membantu mengurangi keterlambatan diagnosis terutama pada kasus endometriosis minimal-sedang yang tidak terdiagnosis secara klinis ataupun dengan pemeriksaan ultrasonografi.<sup>7</sup>

Sebagian besar pasien endometriosis datang berobat dengan rasa nyeri yang berhubungan dengan menstruasi dan nyeri pelvis saat berhubungan seksual atau dengan gerakan usus. Mekanisme timbulnya nyeri tidak dipahami sepenuhnya walaupun diduga bahwa endometriosis adalah suatu kondisi inflamasi dengan ditemukannya berbagai jenis leukosit pada plak endometriosis dan endometrium normal, tetapi tidak dijumpai jaras yang jelas atau mekanisme yang mendasari aktivasi saraf

sensoris pada endometrium normal dan plak endometriosis.<sup>8</sup>

Sejumlah penelitian menunjukkan terdapat faktor biokimia yang terlibat dengan respon imunitas yang berhubungan dengan endometriosis seperti produksi sitokin, produk ekspresi gen dan berbagai komponen imunitas lainnya. Pada penelitian endometriosis yang terbaru terdapat perbedaan kepadatan distribusi serabut saraf antara penderita endometriosis dengan tanpa endometriosis.<sup>4</sup> Beberapa penanda saraf digunakan untuk mengidentifikasi tipe spesifik serabut saraf yang dijumpai pada lapisan endometrium seperti *Protein Gene Product* (PGP9.5, penanda spesifik untuk serabut saraf bermyelin dan tidak bermyelin), *neurofilament* (NF, penanda spesifik untuk serabut bermyelin), *substance P* (SP) dan *calcitonin gene related peptide* (CGRP) untuk serabut saraf sensoris, *vasoactive intestinal polypeptide* (VIP, serabut sensoris A $\delta$ , sensoris C dan penanda serabut saraf *cholinergic*), *neuropeptida Y* (NPY, penanda serabut sensoris A $\delta$  & sensoris C dan serabut saraf *adrenergic*).<sup>4</sup> PGP9.5 juga dikenal sebagai *ubiquitin Carboxyl-terminal hydroxylase* (UCH-L1), merupakan protein sitoplasma 24.8 kDa yang pada awalnya diisolasi pada ekstrak otak. *Protein Gene Product* diekspresikan pada semua sel saraf dan sel neuroendokrin vertebrata.<sup>9</sup>

Tokushige *et al.* menunjukkan bahwa pada lapisan fungsional endometrium penderita endometriosis terpulas positif dengan PGP9.5 tetapi negatif dengan NF yang merupakan penanda serabut saraf bermyelin. Serabut saraf ini tidak dijumpai pada kasus tanpa endometriosis. Serabut saraf sensoris tidak bermyelin dijumpai pada lapisan fungsional endometrium pada perempuan dengan endometriosis. Serabut saraf ini juga dijumpai pada plak endometriosis di peritoneum. Serabut saraf ini tidak pernah dijumpai pada lapisan fungsional endometrium pada kasus tanpa endometriosis.<sup>8</sup> Lapisan fungsional endometrium pada perempuan normal merupakan salah satu jaringan normal di dalam tubuh yang dalam keadaan normal tidak mempunyai persarafan.<sup>10</sup> Pengamatan ini memberikan arahan baru untuk penelitian mekanisme timbulnya nyeri dan pada penanganan nyeri pada endometriosis. Temuan ini juga memberikan potensi untuk mengembangkan teknik diagnostik yang lebih mudah dan tidak invasif untuk diagnosis endometriosis.<sup>8</sup>

Endometrium pada penderita endometriosis mungkin menghasilkan sejumlah molekul pengatur dengan efek neurotropik (misalnya faktor pertumbuhan saraf/*nerve growth factor*-NGF) untuk memicu pertumbuhan serabut saraf.<sup>11</sup> Zhang *et al.* pada penelitiannya menunjukkan bahwa serabut saraf yang terpulas dengan PGP9.5 dapat dijumpai pada lesi endometriosis ovarium pada 31,1% perempuan penderita endometriosis di ovarium. PGP9.5 terekspresi paling jelas pada jaringan fibrotik *intertitium* lesi endometriosis ovarium walaupun *stroma* pada lesi endometriosis ovarium juga memberikan reaksi positif dengan PGP9.5.<sup>12</sup> Dalam penelitian ini peneliti ingin melihat hubungan ekspresi PGP9.5 yang akan memulas serabut saraf pada lapisan fungsional endometrium dengan jaringan endometriosis di ovarium pada penderita endometriosis ovarium.

#### METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian berupa penelitian deskriptif analitik dengan pendekatan secara *cross sectional*. Dari hasil perhitungan didapatkan jumlah sampel 25 sampel untuk jaringan endometriosis di ovarium dan 25 sampel untuk jaringan endometrium dari uterus. Dilakukan pembacaan ulang oleh dua orang dokter spesialis patologi bersamaan dengan peneliti untuk memisahkan sediaan yang tidak jelas gambaran mikroskopis endometriosisnya.

Blok parafin dari sampel dilakukan pulasan imunohistokimia dengan teknik imunoperoxidase, kemudian dipotong tipis dengan ketebalan 4  $\mu\text{m}$ , selanjutnya dideparafinisasi dan rehidrasi. Slaid kemudian diinkubasi dengan 0.5% hidrogen peroksida selama 30 menit, kemudian slaid diinkubasi dengan antibodi primer PGP9.5 (*mouse monoclonal antibody* anti PGP9.5, Abcam) selama 30 menit. Hasil pulasan PGP9.5 dievaluasi dan dihitung distribusi serabut saraf pada lapisan fungsional endometrium dan pada jaringan endometriosis di ovarium.

Untuk penilaian pulasan PGP9.5 pada lapisan fungsional endometrium, digunakan penilaian kepadatan serabut saraf seperti yang diuraikan oleh Bokor *et al* dan Tokushige *et al*. Penilaian dilakukan dengan menggunakan *image analysis software* DP2-BSW (Olympus, Jepang) yang dihubungkan dengan mikroskop Olympus BX51 dan kamera digital Olympus DP20, kemudian dilakukan perhitungan luas

lapisan endometrium ( $\text{mm}^2$ ) dan evaluasi seluruh hasil pulasan dilakukan dengan pembesaran 40x pada daerah yang berdekatan tetapi tidak tumpang tindih dari kiri ke kanan dan dari atas ke bawah.<sup>7,11</sup> Setiap lapangan pandang luasnya 0,66 mm. Dalam setiap lapangan pandang 40x, seluruh serabut saraf yang mengekspresikan PGP9.5 dihitung dengan mengeksklusi serabut saraf yang terpulas di bagian kanan atau bawah untuk menghindari serabut saraf terpulas terhitung dua kali. Setelah penjumlahan hasil perhitungan serabut saraf untuk seluruh jaringan endometrium, jumlah total serabut saraf dibagi dengan keseluruhan endometrium yang diperiksa untuk mendapatkan kepadatan serabut saraf.<sup>7</sup> Hasil dinyatakan dalam nilai rerata ( $\pm\text{SD}$ ) jumlah serabut saraf per- $\text{mm}^2$ .<sup>11</sup>

Untuk penilaian pulasan PGP9.5 pada jaringan endometriosis di ovarium, digunakan penilaian kepadatan serabut saraf seperti yang diuraikan oleh Zhang *et al*, Bokor *et al* dan Tokushige *et al*. Penilaian dilakukan dengan menggunakan *image analysis software* DP2-BSW (Olympus, Jepang) yang dihubungkan dengan mikroskop Olympus BX51 dan kamera digital Olympus DP20. Setelah pulasan dengan PGP9.5 maka dilakukan evaluasi seluruh potongan jaringan dengan pembesaran 10x untuk mengidentifikasi daerah yang terekspresi paling kuat (*hot spot*).<sup>12</sup> Kemudian dilakukan perhitungan luas *hot spot* ( $\text{mm}^2$ ) dan evaluasi seluruh hasil imunohistokimia dilakukan dengan pembesaran 40x.<sup>7,11</sup> Setiap lapangan pandang luasnya 0,66 mm. Jumlah total serabut saraf dibagi dengan keseluruhan *hot spot* yang diperiksa untuk mendapatkan kepadatan serabut saraf.<sup>7</sup> Hasil dinyatakan dalam nilai rerata ( $\pm\text{SD}$ ) jumlah serabut saraf per- $\text{mm}^2$ .<sup>11</sup> Untuk menganalisis ekspresi PGP9.5 pada jaringan endometriosis dan lapisan fungsional endometrium perempuan dengan endometriosis digunakan uji *Fischer's exact*.

#### HASIL

Dari Tabel 1 didapatkan penderita endometriosis paling banyak berusia 40-45 tahun sebesar 44%. Dari 25 perempuan yang didiagnosis menderita endometriosis ovarium, rentang usia penderita adalah 28 tahun hingga 49 tahun. Keterangan lain mengenai suku bangsa, gambaran klinis penderita, riwayat persalinan, penggunaan alat kontrasepsi, riwayat pengobatan

an dan riwayat penyakit sebelumnya, tidak tercantum dalam formulir pengantar.

Tabel 1. Distribusi penderita endometriosis ovarium berdasarkan usia.

Usia	Jumlah (n)	Persentase (%)
<40 tahun	7	28
40-45 tahun	11	44
>45 tahun	7	28
Jumlah	25	100

Dari Tabel 2 didapatkan distribusi serabut saraf pada lapisan fungsional endometrium pada penderita endometriosis ovarium adalah  $0,049 \pm 0,147 / \text{mm}^2$ . Dari tabel 3, didapatkan serabut saraf yang terpulask dengan PGP9.5 dijumpai pada lapisan fungsional endometrium pada empat penderita endometriosis ovarium (16%). Lapisan fungsional endometrium pada 21 penderita endometriosis di ovarium (84%) tidak menunjukkan serabut saraf yang terpulask dengan PGP9.5. Serabut saraf terdapat pada lapisan yang lebih dalam dari lapisan fungsional endometrium dan sangat dekat dengan kelenjar endometrium. Tidak terdapat perbedaan pola distribusi serabut saraf yang terpulask dengan PGP9.5 di endometrium pada berbagai fase siklus menstruasi. Serabut saraf yang terpulask dengan PGP9.5 juga dijumpai pada lapisan basal endometrium tetapi distribusinya tidak merata.

Tabel 2. Distribusi serabut saraf pada lapisan fungsional penderita endometriosis ovarium untuk keseluruhan (per  $\text{mm}^2$ , nilai rerata  $\pm$ SD).

Fase siklus menstruasi	Jumlah kasus (n)	Kepadatan serabut saraf (nilai rerata $\pm$ SD)	Rentang (per $\text{mm}^2$ )
Proliferasi	22	$0,043 \pm 0,15$	0,69
Sekresi	3	$0,093 \pm 0,086$	0,17
Jumlah	25	$0,049 \pm 0,147$	0,69

Tabel 3. Distribusi serabutsaraf pada lapisan fungsional penderita endometriosis ovarium dengan ekspresi PGP9.5 positif (per  $\text{mm}^2$ , nilai rerata  $\pm$ SD).

Fase siklus menstruasi	Jml kasus	Jumlah kasus terpulask positif (n)	Persentase (%)	Kepadatan serabut saraf (nilai rerata $\pm$ SD)	Rentang (per $\text{mm}^2$ )
Proliferasi	22	2	8 (2/25)	$0,467 \pm 0,311$	0,25-0,69
Sekresi	3	2	8 (2/25)	$0,145 \pm 0,043$	0,11-0,17
Jumlah	25	4	16 (4/25)	$0,306 \pm 0,260$	

Dari Tabel 4, didapatkan distribusi serabut saraf pada lesi endometriosis di ovarium adalah  $0,173 \pm 0,498 / \text{mm}^2$ . Dari tabel 5, didapatkan serabut saraf yang terpulask dengan PGP9.5 pada lesi endometriosis dijumpai pada tiga

penderita endometriosis di ovarium (12%). Serabut saraf yang terpulask dengan PGP9.5 dijumpai pada *stroma* lesi endometriosis di ovarium. Lesi endometriosis di ovarium pada 22 penderita endometriosis ovarium (88%) tidak menunjukkan serabut saraf yang terpulask dengan PGP9.5.

Tabel 4. Distribusi serabut saraf pada lesi endometriosis di ovarium untuk keseluruhan (per  $\text{mm}^2$ , nilai rerata  $\pm$ SD).

Fase siklus menstruasi	Jumlah kasus (n)	Kepadatan serabut saraf (nilai rerata $\pm$ SD)	Rentang (per $\text{mm}^2$ )
Proliferasi	22	$0,111 \pm 0,369$	1,5
Sekresi	3	$0,63 \pm 1,091$	1,89
Jumlah	25	$0,173 \pm 0,498$	1,89

Tabel 5. Distribusi serabut saraf pada lesi endometriosis di ovarium dengan ekspresi PGP9.5 positif (per  $\text{mm}^2$ , nilai rerata  $\pm$ SD).

Fase siklus menstruasi	Jml kasus	Jumlah kasus terpulask positif (n)	Persentase (%)	Kepadatan serabut saraf (nilai rerata $\pm$ SD)	Rentang (per $\text{mm}^2$ )
Proliferasi	22	2	8 (2/25)	$1,220 \pm 0,399$	0,94-1,50
Sekresi	3	1	4 (1/25)	1,89	1,89
Jumlah	25	3	12 (3/25)	$1,443 \pm 0,478$	

Kemudian dilakukan uji statistik Fisher's exact untuk menguji hubungan antara serabut saraf yang terpulask dengan PGP9.5 pada lapisan fungsional endometrium dan pada lesi endometriosis di ovarium, didapati  $p=0,422$  ( $p>0,05$ , bermakna jika  $p<0,05$ ). Hasil ini menyatakan bahwa tidak terdapat hubungan antara serabut saraf yang terpulask dengan PGP9.5 pada lapisan endometrium dan pada lesi endometriosis di ovarium.

**DISKUSI**

Endometriosis merupakan kelainan yang umumnya diderita oleh perempuan usia reproduksi. Untuk menentukan angka insiden yang sebenarnya, diperlukan pemeriksaan diagnostik yang paling sensitif yaitu pemeriksaan *laparoscopy* pada populasi perempuan premenopause yang tidak diseleksi sebelumnya dan tidak mempunyai gejala klinis. Tentu saja, penelitian dengan desain seperti itu tidak akan pernah dilakukan. Angka kejadian endometriosis dalam kepustakaan disebutkan berhubungan dengan peningkatan usia dan mencapai puncaknya pada usia 40-44 tahun.<sup>1</sup> Dari hasil penelitian ini diketahui rentang usia penderita adalah 28 hingga 49 tahun yang merupakan rentang usia perempuan

dalam usia reproduksi hingga premenopause. Dari Tabel 1. diketahui bahwa 44% penderita berusia antara 40-45 tahun, sedangkan penderita berusia kurang dari 40 tahun dan lebih dari 45 tahun masing-masing hanya 28%. Hal ini sesuai dengan kepustakaan yang menyebutkan endometriosis mencapai puncaknya pada usia 40-44 tahun.<sup>1</sup>

Beberapa faktor risiko telah dikenali berhubungan dengan perkembangan endometriosis. Faktor risiko yang dianggap meningkatkan risiko endometriosis adalah peningkatan paparan pada menstruasi, terdapatnya stenosis serviks yang lazim dijumpai pada perempuan yang jarang hamil dan jarang dijumpai pada perempuan *multipara*. Risiko endometriosis juga berkurang pada perempuan yang menggunakan kontrasepsi oral tetapi risiko tidak berkurang jika metode yang digunakan adalah non hormonal seperti penggunaan alat kontrasepsi dalam rahim atau diafragma.<sup>1</sup> Dalam penelitian ini jaringan uterus dan ovarium penderita endometriosis di ovarium dikirimkan tanpa mencantumkan suku bangsa, riwayat persalinan dan penggunaan alat kontrasepsi, riwayat pengobatan serta riwayat penyakit sebelumnya. Tidak dicantulkannya data tersebut menyebabkan faktor risiko yang berperan dalam perkembangan endometriosis pada penderita tidak dapat dianalisis.

Sebagian perempuan dengan endometriosis datang berobat dengan keluhan *dysmenorrhea*, *dyspareunia*, nyeri pelvis atau infertilitas.<sup>1,5</sup> Hingga 20% perempuan dengan endometriosis yang mengeluhkan nyeri kronis berulang yang termasuk diantaranya *irritable bowel syndrome*, *interstitial cystitis*/sindroma nyeri *vesica urinaria*, *fibromyalgia* dan migrain.<sup>2</sup> Terlambatnya diagnosis dan penatalaksanaan menyebabkan pasien menderita nyeri selama bertahun-tahun dan meningkatkan risiko infertilitas jika endometriosis tidak diobati.<sup>7</sup> Dalam penelitian ini jaringan uterus dan ovarium penderita endometriosis di ovarium dikirimkan tanpa mencantumkan gambaran klinis penderita yang berhubungan dengan endometriosis. Tidak tersedianya data tersebut menyebabkan gambaran klinis endometriosis pada penderita tidak dapat dianalisis.

Gambaran mikroskopis lesi endometriosis di ovarium dapat memberikan beberapa pola. Pada umumnya, gambaran endometriosis dengan pelapis mukosa dan kelenjar dan *stroma*

dapat dikenali sebagai *stroma* endometrium. Terdapat batas yang jelas antara *stroma* endometrium dengan *stroma* ovarium disekitarnya. Banyak *endometrioma* jika berukuran kecil terlihat berlokasi di permukaan dengan korteks ovarium terletak di bawah lapisan *stroma* endometrium.<sup>1</sup> Dari hasil penelitian ini, didapati gambaran mikroskopis lesi endometriosis ovarium serta lokasinya sangat bervariasi. Tetapi pada umumnya pelapis mukosa dan kelenjar serta *stroma* dapat dikenali dengan mudah. Lokasi lesi endometriosis ovarium yang biasanya terdapat di permukaan ovarium juga ditemukan pada penelitian ini walaupun beberapa lesi berada di bagian korteks.

Dari beberapa penelitian diketahui bahwa serabut saraf tidak bermyelin meningkat kepadatannya pada lapisan fungsional dan basal endometrium perempuan dengan endometriosis, sedangkan pada perempuan tanpa endometriosis tidak dijumpai serabut saraf.<sup>3</sup> Tokushige *et al.* menunjukkan bahwa pada lapisan fungsional endometrium perempuan dengan endometriosis terpulas positif dengan PGP9.5 tetapi negatif dengan NF yang merupakan penanda serabut saraf bermyelin. Serabut saraf ini tidak dijumpai pada perempuan tanpa endometriosis. Serabut saraf sensoris tidak bermyelin dijumpai pada lapisan fungsional endometrium pada perempuan dengan endometriosis. Serabut saraf ini tidak pernah dijumpai pada lapisan fungsional endometrium pada perempuan tanpa endometriosis.<sup>8</sup>

Dari Tabel 3, serabut saraf yang terpulas dengan PGP9.5 dijumpai pada lapisan fungsional endometrium hanya pada 16% penderita endometriosis ovarium. Lapisan fungsional endometrium pada 84% penderita endometriosis di ovarium tidak menunjukkan serabut saraf yang terpulas dengan PGP9.5. Hasil ini tidak sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya oleh Tokushige *et al.* yang menggunakan pulasan imunohistokimia untuk mengidentifikasi serabut saraf tidak bermyelin dengan penanda *panneuronal* PGP9.5 pada lapisan fungsional endometrium pada 25 sediaan berasal dari kuretase endometrium dan 10 blok berasal dari keseluruhan endometrium (dari sediaan histerektomi) berasal dari perempuan dengan endometriosis yang mengeluhkan *dysmenorrhoea* dan nyeri. Semua lapisan fungsional endometrium penderita endometriosis pada penelitian Tokushige *et al* ini mempunyai

serabut saraf. Tidak dijumpai serabut saraf pada lapisan fungsional endometrium pada sediaan kuretase endometrium maupun sediaan uterus dari histerektomi perempuan tanpa endometriosis (n=47 dan 35).<sup>11</sup> Perbedaan hasil penelitian ini dengan penelitian Tokushige *et al* mungkin disebabkan oleh perbedaan kriteria pemilihan sampel pada penelitian ini yang tidak memperhitungkan keluhan *dysmenorrhoea* dan nyeri sebagai salah satu kriteria inklusi.

Dalam penelitian ini, diketahui serabut saraf yang terpulas dengan PGP9.5 juga dijumpai pada lapisan basal endometrium tetapi distribusinya tidak merata. Dari penelitian sebelumnya, diketahui bahwa lapisan basal endometrium mempunyai persarafan tetapi tidak ada persarafan pada lapisan fungsional uterus normal. Fungsi dari serabut saraf pada lapisan basal endometrium ini belum dipahami sepenuhnya.<sup>11</sup>

Tokushige *et al* menyebutkan distribusi kepadatan serabut saraf tidak bermyelin pada lapisan fungsional endometrium pada 25 sediaan berasal dari kuretase endometrium dan 10 blok berasal dari keseluruhan endometrium (dari sediaan histerektomi) berasal dari perempuan dengan endometriosis yang mengeluhkan *dysmenorrhoea* dan nyeri (nilai rerata  $\pm$  SD  $10 \pm 7/\text{mm}^2$  pada sediaan kuretase dan nilai rerata kepadatan  $\pm$  SD  $11 \pm 7/\text{mm}^2$  pada sediaan histerektomi).<sup>11</sup> Distribusi serabut saraf pada lapisan fungsional endometrium pada penderita endometriosis ovarium pada Tabel 2 adalah  $0,049 \pm 0,147/\text{mm}^2$ . Angka ini jauh lebih rendah daripada angka kepadatan distribusi serabut saraf yang didapatkan oleh Tokushige *et al* yaitu  $11 \pm 7/\text{mm}^2$ .

Dari hasil pengamatan distribusi serabut saraf dalam penelitian ini didapati serabut saraf terdapat pada lapisan yang lebih dalam dari lapisan fungsional endometrium dan sangat dekat dengan kelenjar endometrium. Hal ini sesuai dengan penelitian Tokushige *et al* yang menggambarkan distribusi serabut saraf yang terpulas dengan PGP9.5 terdapat pada lapisan yang lebih dalam dari lapisan fungsional endometrium tetapi dijumpai juga sebaran serabut saraf yang dekat dengan lapisan epitel permukaan endometrium dan biasanya serabut saraf ini berdekatan dengan pembuluh darah dan kelenjar endometrium. Endometrium pada perempuan dengan endometriosis mungkin menghasilkan sejumlah molekul pengatur

dengan efek neurotropik (misalnya faktor pertumbuhan saraf) untuk memicu pertumbuhan serabut saraf.<sup>11</sup> Timbulnya serabut saraf pada endometrium dan lesi endometriosis ektopik pada perempuan dengan endometriosis diduga karena terdapat rangsangan yang memicu perkembangan saraf lokal dan NGF diduga sebagai penyebabnya. NGF diekspresikan dengan intensitas kuat pada kelenjar dan *stroma* lapisan fungsional dan basal endometrium pada perempuan dengan endometriosis, sedangkan pada perempuan tanpa endometriosis nyaris tidak diekspresikan sama sekali. NGF juga diekspresikan pada berbagai lesi endometriosis ektopik, kemungkinan *neurotrophin* lainnya juga berperan.<sup>3</sup>

Dalam berbagai penelitian disebutkan bahwa serabut saraf dapat dijumpai pada endometriosis peritoneum, endometrioma ovarium, dan lesi endometriosis dalam.<sup>3</sup> Zhang *et al* pada penelitiannya menunjukkan bahwa serabut saraf yang terpulas dengan PGP9.5 pada lesi endometriosis ovarium dijumpai pada 31.1% perempuan penderita endometriosis di ovarium.<sup>12</sup> Dari tabel 5 diketahui serabut saraf yang terpulas dengan PGP9.5 pada lesi endometriosis hanya dijumpai pada 12% penderita endometriosis di ovarium. Lesi endometriosis di ovarium pada 88% penderita endometriosis ovarium tidak menunjukkan serabut saraf yang terpulas dengan PGP9.5. Hasil ini jauh lebih rendah dari penelitian sebelumnya oleh Zhang *et al*.

Dalam pengamatan distribusi serabut saraf pada penelitian ini, serabut saraf yang terpulas dengan PGP9.5 dijumpai pada *stroma* lesi endometriosis di ovarium. Hasil yang sama juga dijumpai pada penelitian Zhang *et al* yang menyebutkan PGP9.5 tereksresi paling jelas pada jaringan fibrotik interstitium lesi endometriosis ovarium walaupun *stroma* pada lesi endometriosis ovarium juga memberikan reaksi positif dengan PGP9.5.<sup>12</sup>

Zhang *et al*. dalam penelitiannya menduga terdapat hubungan kepadatan serabut saraf yang terpulas dengan PGP9.5 pada lesi endometriosis di ovarium dengan gejala nyeri. Nilai rerata kepadatan  $\pm$  SD serabut saraf yang terpulas PGP9.5 pada lesi endometriosis ovarium pada perempuan dengan dan tanpa nyeri adalah  $0,72 \pm 1,36/\text{mm}^2$ ,  $0,1 \pm 0,25/\text{mm}^2$ . Hasil penelitian ini menimbulkan dugaan terdapatnya hubungan antara serabut saraf yang terpulas

dengan PGP9.5 pada lesi endometriosis ovarium dengan mekanisme timbulnya nyeri pada perempuan dengan endometriosis ovarium.<sup>12</sup>

Dari Tabel 4 didapatkan distribusi serabut saraf pada lesi endometriosis di ovarium adalah  $0.173 \pm 0.498/\text{mm}^2$ . Hasil ini hampir sama dengan kepadatan serabut saraf lesi endometriosis ovarium pada perempuan tanpa nyeri ( $0,1 \pm 0,25/\text{mm}^2$ ) tetapi lebih rendah jika dibandingkan dengan kepadatan serabut saraf lesi endometriosis ovarium pada perempuan dengan rasa nyeri ( $0,72 \pm 1,36/\text{mm}^2$ ) pada penelitian Zhang *et al.* Dalam penelitian ini jaringan uterus dan ovarium penderita endometriosis di ovarium dikirimkan tanpa mencantumkan keluhan nyeri yang berhubungan dengan endometriosis, sehingga hubungan antara distribusi serabut saraf dengan keluhan nyeri tidak dapat dianalisis.

Pada penderita endometriosis ovarium, molekul perlekatan sel saraf, NGF dan S100 protein diekspresikan pada lesi endometriosis yang menimbulkan dugaan bahwa lesi endometriosis ovarium manusia dipersarafi dan persarafan ini mungkin berperan dalam timbulnya rasa nyeri pada penderita endometriosis.<sup>12</sup> Mekanisme timbulnya nyeri pada endometriosis tidak dipahami sepenuhnya walaupun diduga bahwa endometriosis adalah suatu kondisi inflamasi dengan ditemukannya berbagai jenis leukosit pada plak endometriosis dan endometrium normal, tetapi tidak dijumpai jaras yang jelas atau mekanisme yang mendasari aktivasi saraf sensoris pada endometrium normal dan plak endometriosis.<sup>3</sup> Hingga saat ini masih belum jelas rangsang saraf yang memulai timbulnya rasa nyeri hebat yang dialami oleh penderita endometriosis.<sup>11</sup>

Banyak teori telah diajukan untuk menerangkan histogenesis endometriosis,<sup>1</sup> tetapi penyebab pasti endometriosis masih belum jelas.<sup>3</sup> Mekanisme yang paling mudah dipahami, didukung oleh data klinis dan diterima secara umum adalah teori transplantasi potongan endometrium ke lokasi ektopik.<sup>1</sup> Dalam teori ini potongan endometrium menempel dan tumbuh di permukaan peritoneum dan organ pelvis. Jika teori ini benar, maka serabut saraf pada plak endometrium mungkin berasal dari progenitor serabut saraf di lapisan fungsional endometrium atau kemungkinan berasal dari pertumbuhan ke arah dalam serabut saraf lokal akibat sekresi NGF dan peningkatan reseptor NGF TRK-A dan P75.<sup>11</sup>

NGF akan berinteraksi dengan dua reseptor spesifik yaitu TRK-A (reseptor dengan afinitas tinggi) dan p75 (reseptor dengan afinitas lemah). Reseptor ini nyaris tidak dijumpai pada endometrium normal tetapi keduanya diekspresikan dengan kuat pada serabut saraf dan *stroma* endometrium penderita endometriosis. Hal yang sama juga dijumpai pada *stroma* lesi endometriosis ektopik. Hal ini menimbulkan dugaan bahwa kombinasi sekresi *neurotrophin* dan reseptornya yang bertambah merupakan penyebab pertumbuhan serabut saraf baru.<sup>3</sup>

Hasil uji statistik *Fisher's exact* untuk menguji hubungan antara serabut saraf yang terpulaskan dengan PGP9.5 pada lapisan endometrium dan pada lesi endometriosis di ovarium pada penelitian ini menyatakan bahwa tidak terdapat hubungan antara serabut saraf yang terpulaskan dengan PGP9.5 pada lapisan fungsional endometrium dan pada lesi endometriosis di ovarium ( $p=0,422$ ,  $p>0,05$ ). Hasil uji ini dapat diperkirakan sebelumnya di mana hasil pulaskan PGP9.5 pada lapisan fungsional endometrium dan pada lesi endometriosis ovarium pada penderita jauh lebih rendah dari hasil penelitian sebelumnya. Hasil ini mungkin dipengaruhi oleh beberapa hal diantaranya adalah tidak diperhitungkannya keluhan nyeri sebagai salah satu kriteria pemilihan sampel. Tetapi penelitian ini dapat dijadikan penelitian awal untuk mengetahui keberadaan serabut saraf pada lapisan fungsional endometrium dan lesi endometriosis ovarium pada perempuan Asia serta memperkirakan pemanfaatan pulaskan PGP9.5 jika data klinis tidak tersedia seperti yang lazim dijumpai pada berbagai institusi kesehatan di Indonesia.

## KESIMPULAN

Dari penelitian ini setelah dilakukan uji statistik *Fisher's exact* didapati tidak ada hubungan antara serabut saraf yang terpulaskan dengan PGP9.5 pada lapisan endometrium dan pada lesi endometriosis di ovarium. Jumlah sampel dengan serabut saraf yang terpulaskan dengan PGP9.5 pada lapisan fungsional endometrium maupun distribusinya jauh lebih rendah dari penelitian oleh Tokushige *et al.* Pada penelitian ini jumlah sampel dengan serabut saraf yang terpulaskan dengan PGP9.5 pada lesi endometriosis ovarium maupun distribusinya jauh lebih rendah dari penelitian oleh Zhang *et al.*

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Robboy SJ, Haney A, Russell P. Robboy's pathology of the female reproductive tract. In: Endometriosis. Robboy SJ, Mutter GL, Prat J, Bentley RC, Russell P, Anderson MC, editor. Second edition. Churchill Livingstone; 2009.
2. Hsu AL, Khachikyan I, Stratton I. Invasive and non-invasive methods for the diagnosis of endometriosis. *Clin Obstet Gynecol.* 2010; 53: 413-9.
3. Baldi D, Campioni M, Signorile PG. Endometriosis: Pathogenesis, diagnosis, therapy and association with cancer (Review). *Oncol Reports.* 2008; 19: 843-6.
4. Medina MG, Lebovic DI. Endometriosis-associated nerve fibers and pain. *Acta Obstetric Gynecol.* 2009; 88: 968-75.
5. Attar E, Bulun S. The Endometrium. In: Endometriosis. Aplin JD, Fazleabas AT, Glasser SR, Giudice LC, editor. Second edition. Informa Healthcare. 2008. pp. 691-706.
6. Al-Jefout M, Dezarnaulds G, Cooper M, Tokushige N, Luscombe GM, Markham R, *et al.* Diagnosis of endometriosis by detection of nerve fibres in an endometrial biopsy: a double blind study. *Hum Reprod.* 2009; 24: 3019-24.
7. Bokor A, Kyama CM, Vercruyssen L, Fassbender A, Gevaert O, Vodolazkaia A, *et al.* Density of small diameter sensory nerve fibres in endometrium: a semi-invasive diagnostic test for minimal to mild endometriosis. *Hum Reprod.* 2009; 24: 3025-32.
8. Tokushige N, al-Jefout M, Salih H, Fraser IS. Endometrial nerve fibres in endometriosis. *Iranian J Reprodu Med.* 2007; 5: 81-8.
9. Campbell LK, Thomas JR, Lamps LW, Smoller BR, Folpe AL. Protein Gene Product 9.5 (PGP9.5) is not a specific marker of neural and nerve sheath tumors: An immunohistochemical study of 95 mesenchymal neoplasms. *Mod Pathol.* 2004; 16: 963-9.
10. Fraser IS. Mysteries of endometriosis pain: Chien-Tien Hsu Memorial Lecture 2009. *J Obstet Gynaecol Res.* 2010; 36: 1-10.
11. Tokushige N, Markham R, Russell P, Fraser IS. High density of small nerve fibres in the functional layer of the endometrium in women with endometriosis. *Hum Reprod.* 2006; 21: 782-7.
12. Zhang X, Yao H, Huang X, Lu B, Xu H, Zhou C. Nerve fibres in ovarian endometriotic lesions in women with ovarian endometriosis. *Hum Reprod.* 2010; 25: 392-7.