

Laporan Hasil Penelitian**KADAR P-SELECTIN PADA PEREMPUAN PENDERITA
ENDOMETRIOSIS DAN NON ENDOMETRIOSIS****Tonny Simarmata¹, Henry Salim Siregar², Muhammad Fidel Ganis Siregar³**^{1),2),3)} Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara*Submitted : March 2017 | Accepted : June 2017 | Published : July 2017***ABSTRACT**

The discovery of a decline in the cellular immune system in endometrial tissue of women with endometriosis triggers the idea that immunologic factors may play a role in the process of endometriosis. This study was conducted to determine differences in blood plasma P-selectin levels in women with endometriosis and non endometriosis. This cross-sectional study was conducted at the Department of Obstetrics and Gynecology of the Faculty of Medicine, University of North Sumatra (FK USU) from April to August 2014. P-selectin levels were measured through blood plasma of women with endometriosis (cases) and non-endometriosis (control) ELISA. Diagnosis of endometriosis is confirmed by histopathologic examination with hematoxylin eosin staining. Statistical tests were performed with t-test and anova. Each of 28 cases of endometriosis and control with age 30-39 years (endometriosis 42.9% and control 57.1%). The endometriosis group is entirely with 0 (100%) parity, while the control with parity is 3 (92.9%). Most cases of endometriosis in stage 4 (46.4%). P-selectin levels in endometriosis were clinically higher when compared with non endometriosis (30.89 ± 8.27 vs. 28.36 ± 7.78 ng / ml), but no statistically significant difference was found ($p > 0.05$). There was an average difference of P-selectin levels based on endometriosis stage but statistically no significant difference was found ($p > 0.05$). P-selectin levels in endometriosis were clinically higher when compared with non-endometriosis but there was no statistically significant difference.

Keywords : P-selectin, endometriosis, non endometriosis**Correspondence to** : tonny_simarmata@yahoo.com**ABSTRAK**

Ditemukannya penurunan sistem imun seluler pada jaringan endometrium perempuan penderita endometriosis mencetuskan pemikiran bahwa faktor imunologik kemungkinan berperan dalam proses terjadinya endometriosis. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan kadar P-selectin plasma darah pada perempuan penderita endometriosis dan non endometriosis. Penelitian dengan desain potong lintang ini dilakukan di Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara (FK USU) mulai bulan April-Agustus 2014. Kadar P-selectin diukur melalui plasma darah perempuan penderita endometriosis (kasus) dan non endometriosis (kontrol) dengan metode ELISA. Diagnosis endometriosis dikonfirmasi dengan pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan hematoxylin eosin. Uji statistik dilakukan dengan dengan t-test dan anova. Masing-masing 28 kasus

endometriosis dan kontrol dengan umur terbanyak 30-39 tahun (endometriosis 42.9% dan kontrol 57.1%). Kelompok endometriosis seluruhnya dengan paritas 0 (100%), sedangkan kontrol dengan paritas 3 (92.9%). Kasus endometriosis terbanyak pada stadium 4 (46.4%). Kadar P-selectin pada endometriosis secara klinis lebih tinggi bila dibandingkan dengan non endometriosis (30.89 ± 8.27 vs. 28.36 ± 7.78 ng/ml), tetapi secara statistik tidak dijumpai perbedaan yang bermakna ($p > 0.05$). Terdapat perbedaan rerata kadar P-selectin berdasarkan stadium endometriosis tetapi secara statistik tidak dijumpai perbedaan yang bermakna ($p > 0.05$). Kadar P-selectin pada endometriosis secara klinis lebih tinggi bila dibandingkan dengan non endometriosis tetapi tidak ada perbedaan bermakna secara statistik.

Kata kunci : p-selectin, endometriosis, non endometriosis

Korespondensi : tonny_simarmata@yahoo.com

PENDAHULUAN

Endometriosis merupakan kelainan ginekologi jinak yang didefinisikan sebagai jaringan dan kelenjar endometrium yang terdapat di luar lokasinya yang normal. Endometriosis pada umumnya ditemukan tidak hanya pada peritoneum pelvis tetapi juga dijumpai pada organ ovarium, kandung kemih, septum rektovagina, ureter, pericardium, dan pleura (Schorge JO, 2008).

Angka kejadian endometriosis pada suatu populasi umum diduga sebanyak 10%, dimana paling sering terjadi pada usia reproduksi dengan insidensi 82% mengeluhkan nyeri panggul dan 21% dengan masalah infertilitas. Meskipun endometriosis terbanyak pada usia reproduksi, tetapi dapat juga ditemukan pada usia remaja dan paska menopause. (Berek, 2007). Pada perempuan yang mengalami infertilitas dengan sebab yang belum diketahui ditemukan prevalensi endometriosis sebesar 70-80%, sedangkan pada infertilitas primer sebesar 25% (Overton C, 2007).

Terdapat banyak pilihan pengobatan yang saat ini diketahui tetapi pengobatan medis saja tidak cukup adekuat, karena

kebanyakan bermanfaat untuk mengurangi volume kista dan tidak mengembalikan ukuran ovarium menjadi normal. Hal ini disebabkan karena 17-44% pasien dengan endometriosis merupakan kista endometriosis, sehingga merupakan suatu masalah tersendiri bagi ahli ginekologi dalam menangani pasien dengan endometriosis tersebut (Chapron C, 2011).

Patogenesis endometriosis belum diketahui secara pasti sehingga sering disebut sebagai "the disease of theories". Teori yang paling banyak diterima yaitu teori metaplasia epitel coelomic tahun 1919 oleh Dr. Robert Meyer dan teori implantasi fragmen endometrium yang sampai ke pelvis dengan cara regurgitasi menstruasi oleh Sampson pada tahun 1921 (Overton C, 2007).

Adanya penemuan penurunan sistem imun seluler pada jaringan endometrium perempuan penderita endometriosis membuktikan bahwa faktor imunologik juga diduga berperan dalam proses terjadinya endometriosis. Sebagai contoh ditemukan tingginya aktivitas makrofag yang mengaktifkan jaringan endometriosis pada cairan peritoneum penderita endometriosis, sementara terjadi

penurunan aktifitas sel natural killers dan sel-sel limfosit sehingga penurunan sistem imunologik tubuh akan menyebabkan jaringan endometriosis akan terus berkembang. Bila dihubungkan dengan teori regurgitasi maka makin banyak regurgitasi darah haid, makin banyak pula sistem pertahanan tubuh yang terpakai (Berbic M, 2011). Jadi endometriosis merupakan kondisi inflamasi dimana sejumlah besar leukosit direkrut dari sirkulasi darah ke dalam lesi endometriosis yang menyebabkan terjadinya perubahan jumlah dan fungsi leukosit dalam endometrium eutopik, cairan peritoneum, dan dalam lesi endometriosis (Berbic M, 2011).

Untuk mencapai jaringan dan memulai proses inflamasi leukosit akan melalui beberapa tahapan yang saat ini diketahui yaitu leukocyte capture, rolling, adesi dan transmigrasi. Dengan ditemukannya integrin, selectin dan ligan- ligannya serta kemokin dan reseptornya, maka saat ini dapat dijelaskan lebih mendalam tahapan yang dilalui leukosit untuk dapat sampai ke tempat inflamasi yang spesifik (Ley K, 2007).

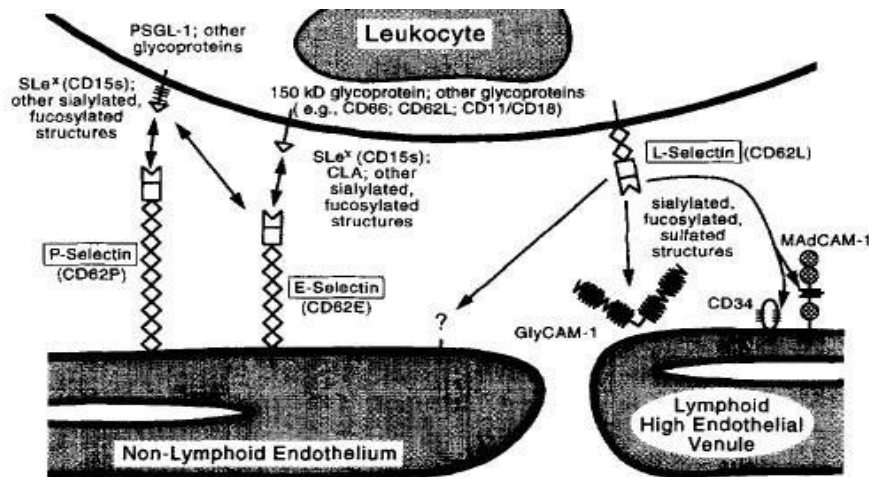
Selectin adalah molekul adesi permukaan sel yang diproduksi sebagai respon inflamasi kekebalan bawaan (Schmidt M, 2000).

Selectin terlibat dalam induksi limfosit dalam sistem imun, proses inflamasi akut maupun kronis, termasuk inflamasi paska iskemi dari otot, ginjal dan jantung, inflamasi kulit, aterosklerosis, glomerulonephritis, dan lupus eritematosus. Selectin merupakan salah satu dari 3 famili glikoprotein permukaan sel tipe 1 yang terdiri dari E-, L- dan P-selectin. Ketiga tipe selectin ini mengikat struktur gula yang sama dan molekul tersebut bertanggung jawab untuk target yang berbeda-beda: P-selectin ke secretory

granules, E-selectin ke membran plasma dan L-selectin ke ujung lipatan dari leukosit (Ley K, 2003).

P-selectin diproduksi oleh sel-sel endotel yang melapisi dinding pembuluh dari sistem peredaran darah (Schmidt M, 2000). P-selectin disimpan di dalam granula trombosit dan badan Weibel-Palade pada sel endotel, dan ditranslokasi ke permukaan sel endotel dan trombosit yang teraktivasi (Schmidt M, 2000; Ley K, 2003) Beberapa penelitian terhadap mencit telah menggambarkan peran dari P-selectin dalam rolling leukosit. Pada mencit yang kekurangan P-selectin, mekanisme rolling hilang segera walaupun kembali setelah 1-2 jam. Pada keadaan seperti ini, rolling akan tergantung pada L-selectin, tapi leukosit tetap menggelinding jauh lebih cepat daripada pada mencit kontrol, hal ini diduga bahwa L-selectin tidak dapat secara penuh berperan dalam rolling leukosit pada in vivo. Di sisi yang lain, pada mencit yang kekurangan L-selectin, P-selectin akan memperantarai hampir semua rolling leukosit. Normal rolling leukosit terlihat kurang lebih 90 menit, menunjukkan bahwa P-selectin memiliki kemampuan untuk menangkap leukosit dari aliran darah dan memulai proses gulungannya sepanjang endotel (Ley K, 2003). Jadi peran P-selectin pada proses inflamasi terutama dalam hal penangkapan dan rolling leukosit, sehingga leukosit dapat bertransmigrasi ke peritoneum dan memulai proses inflamasi pada mekanisme terbentuknya endometriosis (Gambar 1) (Carlos TM, 1994).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan kadar P-selectin plasma darah pada perempuan penderita endometriosis dan non endometriosis.



Gambar 1. Leukosit dan molekul adhesi endotel¹⁰; [E(endothelial)-selectin (CD62E; ELAM-1); P(platelet)-selectin (CD62P; GMP-140, PADGEM); sialyl Lewis^x (SLe^x; CD15s); cutaneous lymphocyte antigen (CLA); P-selectin-glycoprotein ligand-1 (PSGL-1); L(leukocyte)-selectin (CD62L); glycosylation-dependent cell adhesion molecule-1 (GlyCAM-1); murine mucosal lymphoid addressin, MAdCAM-1]

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan suatu penelitian dengan desain cross-sectional study (studi potong lintang) yang dilakukan di Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara (FK-USU) mulai bulan April - Agustus 2014.

Sampel untuk kasus dan kontrol adalah plasma darah (3 cc) perempuan penderita endometriosis dan non endometriosis. Kriteria inklusi untuk kelompok kasus dan kontrol adalah perempuan usia 18-50 tahun, riwayat menstruasi regular, tidak memiliki kelainan ginekologi lain selain kista endometriosis, tidak memiliki riwayat penyakit metabolik dan degeneratif, tidak menggunakan pengobatan hormonal selama 3 bulan sebelum rekrutmen, tidak mempunyai riwayat pembedahan. Seluruh subjek penelitian memberikan persetujuan dan informed consent. Ethical clearance didapatkan dari komisi etik penelitian kedokteran di FK-USU. Kasus endometriosis didapatkan dari pasien yang

menjalani operasi kistektomi atau salpingo-forektomi atas indikasi kista endometriosis yang telah dikonfirmasi dengan histopatologi dari laboratorium Patologi Anatomi FK-USU hematoxylin eosin dan pasien kontrol didapatkan dari pasien yang menjalani operasi laparoskopi untuk tujuan sterilisasi permanen (kontrasepsi mantap). Seluruh tindakan operatif pada sampel dilakukan oleh Dr. dr. Henry Salim Siregar, SpOG.K yang telah bersertifikasi laparoskopi (konsultan divisi Fertilitas Endokrinologi Reproduksi Departemen Obstetri dan Ginekologi FK-USU). Pemeriksaan kadar P-selectin plasma darah dengan metode ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) di laboratorium Prodia Pusat Jakarta.

Analisa data dan uji statistik dilakukan dengan program komputer yang sesuai. Uji statistik dilakukan dengan analisa univariat untuk melihat karakteristik dari subjek penelitian dan analisis bivariat dengan uji t-test dan anova. Nilai p dianggap bermakna jika $p < 0.05$ dengan interval kepercayaan 95%.

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian berdasarkan usia dan paritas

Karakteristik	Kasus		Kontrol	
	n	%	n	%
Umur (tahun)				
□ 20-29	10	35.7	4	14.3
□ 30-39	12	42.9	16	57.1
□ ≥40	6	21.4	8	28.6
Paritas				
□ 0	28	100	0	0
□ 1-2	0	0	2	7.1
□ ≥3	0	0	26	92.9

Tabel 2. Distribusi subjek penelitian berdasarkan stadium endometriosis.

Stadium	Endometriosis	
	n	%
: 2 (ringan)	4	14.3
: 3 (sedang)	11	39.3
: 4 (berat)	13	46.4

Tabel 3. Perbedaan kadar P-selectin pada endometriosis dan non-endometriosis.

Subjek Penelitian	Kadar P-selectin (ng/ml)			p*
	n	Mean	SD	
: Kasus	28	30.89	8.27	0.243
: Kontrol	28	28.36	7.78	

*Uji t-test

Tabel 4. Perbedaan kadar P-selectin berdasarkan stadium endometriosis.

Stadium Endometriosis	Kadar P-selectin (ng/ml)		p
	Mean	SD	
: 2 (ringan)	31.07	7.12	0,506
: 3 (sedang)	28.67	7.03	
: 4 (berat)	32.72	9.59	

*Uji Anova

Pada penelitian ini diperoleh masing-masing sebanyak 28 sampel untuk kelompok kasus dan kontrol yang telah dilakukan pemeriksaan kadar P-selectin plasma darah. Kelompok kasus endometriosis pada penelitian ini (Tabel 1) sebagian besar dijumpai pada kelompok usia 30-39 tahun sebanyak 12 kasus (42.9%), sementara kelompok usia 20-29 tahun (35.7%) dan di atas 40 tahun (21.4%). Pada kelompok kontrol sebagian besar dijumpai pada kelompok umur 30-39 tahun (57.1%). Berdasarkan paritas, kelompok endometriosis seluruhnya dengan nullipara (100%), sedangkan pada kelompok kontrol sebagian besar dengan paritas 3 (92.9%).

Endometriosis diklasifikasikan berdasarkan klasifikasi dari American Society for Reproductive Medicine (ASRM) tahun 1997.

Terlihat pada Tabel 2 bahwa kelompok endometriosis pada penelitian ini sebagian besar dijumpai pada stadium 4 yaitu sebanyak 13 kasus (46.4%), stadium

3 sebanyak 11 kasus (39.3%), dan sebagian kecil pada stadium 2 sebanyak 4 kasus (14.3%). Tabel 3 menunjukkan kadar P-selectin pada endometriosis secara klinis lebih tinggi bila dibandingkan dengan non endometriosis ($30,89 \text{ ng/ml} \pm 8,27$ vs.

$28,36 \text{ ng/ml} \pm 7,78$) tetapi secara statistik tidak dijumpai perbedaan yang bermakna dengan $p > 0,05$.

Tabel 4 menunjukkan perbedaan kadar P-selectin berdasarkan stadium endometriosis dimana terlihat secara klinis terdapat perbedaan rerata kadar P-selectin tiap stadium. Kadar P-selectin pada stadium 4 lebih tinggi bila dibandingkan dengan stadium 2 dan 3 tetapi secara statistik tidak dijumpai perbedaan yang bermakna dengan $p > 0,05$.

DISKUSI

Kelompok endometriosis pada penelitian ini (Tabel 1) seluruhnya dengan nullipara (100%), sedangkan pada kelompok kontrol sebagian besar dengan paritas 3 (92,9%). Data tersebut mendukung keberadaan endometriosis yang sering dikaitkan dengan permasalahan infertilitas, dimana pada perempuan yang mengalami infertilitas dengan sebab yang belum diketahui ditemukan prevalensi endometriosis sebanyak 70-80%, sedangkan pada infertilitas primer sebanyak 25% (Overton C, 2007; Ozkan S, 2008).

Pada Tabel 2 terlihat bahwa kelompok endometriosis sebagian besar dijumpai pada stadium 4 yaitu sebanyak 13 kasus (46,4%) dan stadium 3 sebanyak 11 kasus (39,3%) serta sebagian kecil pada stadium 2 sebanyak 4 kasus (14,3%). Endometriosis sering dianggap sebagai nyeri haid biasa pada perempuan muda usia 7-12 tahun sehingga mengalami keterlambatan diagnosis. Nyeri panggul kronis harus ditegakkan berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang, dan standar emas endometriosis sampai saat ini adalah dengan laparoskopi dan biopsi peritoneum (Ballard K, 2010). Tidak adanya marker non-bedah secara signifikan akan memperlambat diagnosis dan penanganan yang tepat (Giudice L, 2012)

Pada Tabel 3 menunjukkan kadar P-selectin pada endometriosis secara klinis lebih tinggi bila dibandingkan dengan non endometriosis ($30,89 \text{ ng/ml} \pm 8,27$ vs $28,36 \text{ ng/ml} \pm 7,78$) tetapi secara statistik tidak dijumpai perbedaan yang bermakna dengan $p > 0,05$. Endometriosis dikaitkan dengan meningkatnya aktivitas inflamasi.

Beberapa penelitian telah membuktikan terjadi peningkatan serum marker inflamasi yang berada di dalam plasma dan cairan peritoneum (Koninsky PR, 1998). Dalam beberapa menit setelah stimulasi sel endotel oleh mediator inflamasi, P-selectin dimunculkan ke permukaan. Kemunculannya hanya sementara, mencapai puncak setelah

10 menit. Sintesis tambahan P-selectin dibawa dalam waktu 2 jam oleh sitokin seperti IL-1 atau TNF- α . Ligan utama untuk P-selectin adalah PSGL-1 yang ditemukan pada semua leukosit. Interaksi sementara antara P-selectin dan PSGL-1 memungkinkan leukosit untuk menggelanding (rolling) sepanjang endotelium vena. Dengan demikian, sebagian besar P-selectin bertanggungjawab untuk tahap rolling pada perlekatan leukosit dalam proses inflamasi (Ley K, 2003).

Pada vena yang dirangsang oleh TNF- α , P-selectin dan E-selectin cenderung memiliki fungsi yang tumpang tindih. Didapatkan bahwa pada mencit yang kekurangan P-selectin, sangat penting untuk menghambat fungsi E-selectin jika ingin menurunkan proses rolling secara signifikan dan pada keadaan tidak ada E-selectin, suatu antibodi terhadap P-selectin harus diberikan untuk menurunkan proses rolling (Ley K, 2003).

Daniel dan rekan pada tahun 2000 melakukan penelitian untuk membandingkan kadar E-selectin dan P-selectin pada perempuan endometriosis dan non endometriosis, didapatkan kadar E-selectin dan P-selectin lebih tinggi pada perempuan endometriosis namun secara statistik tidak bermakna. (Daniel Y, 2000).

Tabel 4 menunjukkan kadar P-selectin pada stadium 4 lebih tinggi bila dibandingkan dengan stadium 2 dan 3

tetapi secara statistik tidak dijumpai perbedaan yang bermakna dengan $p > 0,05$. Pada suatu penelitian oleh Schmidt yang bertujuan untuk mengetahui ekspresi E- dan P-selectin pada jaringan endometriosis dan endometrium yang sesuai. Dari tiga puluh sampel endometriosis, 13 endometrium pada pasien endometriosis dan 6 endometrium pasien tanpa endometriosis dianalisis menggunakan teknik immunohistokimia. Hanya dua jaringan endometriosis mengekspresikan E-selectin, sedangkan lima sampel positif untuk P-selectin. (Schmidt M, 2000).

Jadi dapat disimpulkan pada penelitian ini bahwa kadar P-selectin pada endometriosis secara klinis lebih tinggi bila dibandingkan dengan non endometriosis tetapi tidak ada perbedaan bermakna secara statistik, dan terdapat perbedaan rerata kadar P-selectin tiap stadium pada penderita endometriosis tetapi secara statistik tidak dijumpai perbedaan yang bermakna.

REFERENSI

- Ballard, K., Lane, H., Hudelist, G., Banerjee, S., Wright J. (2010) Can specific pain symptoms help in the diagnosis of endometriosis? A cohort study of women with chronic pelvic pain. *Fert. Steril J*, vol.94(1), pp.20-7.
- Berbic, M., Fraser, IS. (2011) Regulatory T cells and other leukocytes in the pathogenesis of endometriosis, *J Reprod Immunol*, vol.88(2), pp.149-55.
- Berek, JS. (2007) *Berek and Novak's Gynecology*. 14thed. Lippincott Williams and Wilkins. California.
- Carlos, TM., Harlan, JM. (1994) Leukocyte-Endothelial Adhesion Molecules, *Blood J*, vol.84, pp.2068-2101.
- Chapron, C., Vercellini, P., Barakat, H., Vieira, M., Dubuisson, J. (2011) Management of ovarian endometrioma. *Human Reproduction Update*, vol.8(6), pp.591-7.
- Daniel, Y., Baram, A., Faith, G., Lessing, JB.,

- Geva, E., Amit, A, et al. Do soluble cell adhesion molecules play a role in endometriosis? *Am. J of Reproductive Immunol.*, vol.43(3), pp.160-6.
- Giudice, L., Evers, JLH., Healy, DL. (2012) *Endometriosis :Science and Practice*, Chichester, Blackwell Publishing, DOI: 10.1002/9781444398519
- Koninckx, PR., Kennedy, SH., Barlow, DH. (1998) Endometriotic disease: the role of peritoneal fluid, *Hum Reprod Update*, vol.4(5), pp.741-51.
- Ley, K., Laudanna, C., Cybulsky, MI., Noursharqh. (2007) Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated, *Nature review- immunology*, vol.7(9), pp.678-89
- Ley, K. (2003) The role of selectins in inflammation and disease, *Trends Mol Med.*, vol.9(6), pp.263-8
- Mounsey, Al., Wilgus, A., Slawson, DC. (2006) Diagnosis and Management of Endometriosis, *Am Fam Physician*, vol.74 (4), pp.594-600
- Overton, C., Davis, C., McMillan, L., Shaw, RW. (2007) *An Atlas of Endometriosis 3rd ed.* pp 89-96 Informa healthcare, UK.
- Ozkan, S., Murk, W., Arici, A. (2008) Endometriosis and infertility: epidemiology and evidence-based treatments, *Ann NY Acad Sci*, vol.1127, pp.92-100
- Schmidt, M., Regidor, P., Engel, et al. (2000) E- and P-selectin expression in endometriotic tissues and the corresponding endometrial, *Gynecol Endocrinol*, vol.14, pp.111-7.
- Schorge, JO., Schaffer, JI., Halvorson, LM. et al. (2008) *Williams Gynecology*. McGraw-Hill's.