

Analisis Hubungan Hormon Estrogen Antara Pasien Endometriosis dan Non Endometriosis di Jakarta

Eldafira

Departemen Biologi Kedokteran,
Fakultas Kedokteran,
Universitas Indonesia
Jakarta

Penulis korespondensi:
Dr. Dra. Eldafira, M.Si.
Departemen Biologi Kedokteran,
Fakultas Kedokteran,
Universitas Indonesia
Jl. Salemba Raya No. 6,
Jakarta 10430, Indonesia.
E-mail: eldafira96@yahoo.com

ABSTRAK

Endometriosis merupakan gangguan ginekologi ditandai dengan jaringan mirip endometrium pada lokasi ekstrauterin. Peningkatan konsentrasi hormone estrogen dapat mempengaruhi risiko endometriosis dan aktivitas reseptor estrogen (ER). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pola hormon estrogen sebagai patogenesis endometriosis. Penelitian ini dilakukan pada 15 perempuan dengan diagnosis endometriosis dan 15 perempuan tanpa endometriosis. Serum sampel diuji dengan menggunakan teknik ELISA untuk mengetahui kadar konsentrasi dan nilai OD hormon estrogen. Analisis statistik Mann-Whitney dan korelasi Spearman digunakan dalam menganalisis data. Hasil penelitian menunjukkan terdapat hubungan signifikan konsentrasi hormon estrogen dan nilai OD antara perempuan endometriosis dan tanpa endometriosis ($p<0,005$). Sampel pasien endometriosis memiliki peningkatan nilai konsentrasi dan OD dibandingkan dengan tanpa endometriosis. Korelasi juga menunjukkan adanya korelasi kuat antara nilai OD endometriosis dan non endometriosis ($p=0,4$) dengan arah positif, meskipun pada konsentrasi hormon estrogen adanya korelasi yang cenderung lebih lemah (0,1). Hal ini menunjukkan selaras dengan beberapa penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa perempuan endometriosis memiliki peningkatan hormon estrogen. Peningkatan ini berkorelasi positif yang menunjukkan semakin meningkat hormon estrogen maka risiko endometriosis semakin tinggi.

Kata Kunci: endometriosis, estrogen, konsentrasi

PENDAHULUAN

Estrogen merupakan hormon steroid yang berperan dalam proliferasi dan perkembangan sel atau jaringan reproduksi dengan efek biologis penting pada beberapa penyakit, salah satunya adalah endometriosis.¹ Endometriosis adalah kelainan ginekologis dengan gejala umum nyeri sekitar pelvik, memengaruhi 10-15% perempuan usia reproduktif dan infertilitas. Mekanisme patofisiologi yang mendasari penyakit ini belum sepenuhnya dipahami, namun sejumlah penelitian menunjukkan bahwa etiologi endometriosis bersifat multidimensional yang meliputi faktor genetik, hormonal dan imunologis.^{2,3} Endometriosis disebut juga benign disorder (tumor jinak), berproliferasi, berinviasi secara seluler dan menghasilkan neo angiogenesis pada rongga di luar uterus.⁴ Endometriosis dinyatakan juga sebagai penyakit yang berhubungan kuat dengan estrogen, (karena penderita umumnya usia produktif, sedangkan wanita normal mempunyai pola gambaran estrogen sesuai siklus ovarium mengalami 2 kali puncak tertinggi selama siklus, namun pada kasus endometriosis berat penderita sering mengalami ketidak normalan siklus).^{5,6}

Patogenesis endometriosis belum sepenuhnya dipahami, walaupun telah banyak teori yang berkembang dan berspekulasi tentang etiologi serta patofisiologi penyakit endometriosis.^{7,8} Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan adanya peranan

hormon estrogen yang meningkat dengan peningkatan risiko endometriosis. Artikel ini bertujuan untuk mengetahui pola/profil hormon estrogen pada perempuan endometriosis dan tanpa endometriosis di salah satu rumah sakit reproduksi di Jakarta.

METODE

Sebanyak masing-masing 15 sampel serum perempuan endometriosis dan tanpa endometriosis diambil oleh klinisi. Semua sampel diperoleh dari Poliklinik Imuno-Endokrinologi, Departemen Obstetri dan Ginekologi RSCM-FKUI, RS Budhi Jaya, dan RS Sammeri, dan telah disetujui oleh Komite Etik Universitas Indonesia (No: 165/PT02.FK/ETIK/2010).

Pemeriksaan kadar E2 dalam serum dilakukan dengan menggunakan *DRG estradiol ELISA Kit EIA-2693*, yang merupakan pemeriksaan kuantitatif untuk kadar E2 di dalam serum maupun plasma darah. Prinsip kerja dari ELISA kit ini adalah adanya kompetisi binding antara antigen (E2 yang terdapat pada serum) dan antigen berlabel enzim (Esrtadiol-HRP) untuk saling bersaing mengikatkan diri ke fase padat (sumur/plat) yang telah dilapisi dengan antibodi.⁹ Larutan standar yang digunakan pada kit ini ditetapkan dengan konsentrasi bertingkat, yaitu 0, 25, 100, 250, 500, 1000 dan 2000 pg/mL. Setiap larutan standar dan sampel serum (kelompok kasus dan kontrol) dimasukkan ke dalam sumur yang telah dilapisi dengan antibodi poliklonal (anti-Estradiol antibody), yang masing-masing sebanyak 25 µL. Setiap sumur tambahkan 200 µL *estradiol-horseradish peroxidase conjugate* (HRP) dan kemudian inkubasi selama 120 menit pada suhu ruang (18°-25°C). Setelah itu plat cuci sebanyak 3 kali (tiap sumur 400 µL) dengan *wash solution* (1x), kemudian tambahkan 100 µL *Substrate Solution* (tetra-methyl-benzidine/TMB) pada tiap sumur dan inkubasi selama 15 menit pada suhu ruang (18°-25°C). Reaksi enzim-substrat hentikan dengan penambahan 50 µL *Stop Solution* (0,5M H₂SO₄). Perubahan warna ditandai dengan absorbansinya dengan ELISA Reader pada panjang gelombang 450 nano meter (nm). Konsentrasi E2 kemudian tentukan dengan membandingkan nilai Optical Density (OD) sampel dengan kurva standar. Setelah tahap pencucian, kelebihan Antibodi tercuci (semakin banyak antigen dalam sampel, semakin sedikit Antigen dapat terikat pada Antibodi yang menempel pada permukaan lubang), oleh karena itulah disebut kompetisi.

Dengan penambahan substrat, enzim akan mengubah substrat menjadi sinyal kromogenik/fluoresens. Pada ELISA kompetitif, semakin tinggi konsentrasi antigen asal, semakin lemah sinyal yang dihasilkan.¹⁰

Pengujian statistik diawali dengan uji normalitas pada setiap data yang diperoleh. Uji Mann-Whitney dilakukan untuk mengetahui perbedaan kadar dan konsentrasi E2. Korelasi antara kadar E2 endometriosis dan tanpa endometriosis dilakukan dengan uji Spearman ($\alpha=0,05$). Uji statistik menggunakan SPSS 21.

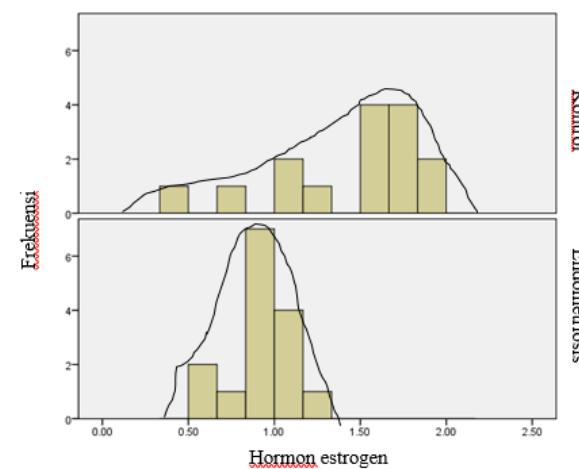
HASIL

Karakteristik umum subyek penelitian adalah perempuan penderita terduga endometriosis yang menjalani pemeriksaan laparoskopi pada poliklinik obgyn RSCM-FKUI-IBP (Instalasi Bedah Pusat) berusia 18-45 tahun. Pengolongan tipe endometriosis menggunakan kriteria AFS (American Fertility Society, 1985) berdasarkan atas diagnosis endometriosis dari hasil pemeriksaan laparoskopi.

Tabel 1. Karakteristik subyek penelitian.

Parameter	Endometriosis (kasus)	Kontrol (normal)
Jumlah sampel (N)	15	15
Objek	Serum	Serum
Pemeriksaan	Laparoskopi	Mikrokuretase
Lokasi	Uterus	Uterus
Analisis	Kadar E2	Kadar E2

Untuk menentukan perbedaan kadar estradiol serum pada endometriosis dan kelompok kontrol dilakukan uji lanjut Mann-Whitney karena uji normalitas pada kedua kelompok tidak berdistribusi normal.



Gambar 1. Grafik distribusi data yang tidak normal pada nilai OD hormon estrogen endometriosis dan non endometriosis.

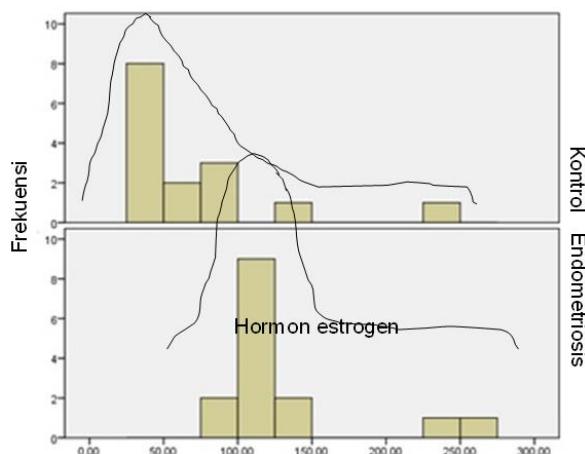
Hasil pengujian Mann-Whitney menunjukkan bahwa perbedaan kadar estradiol serum pada kelompok endometriosis (kasus) dan kelompok kontrol berbeda signifikan dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) seperti terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Uji *Mann-Whitney* kadar estradiol serum pada kelompok endometriosis dan kontrol.

Subyek	n	Median (pg/mL)	Min-Mak	p< 0,005
Endometriosis	15	1,62	0,38-1,89	0,001
Kontrol	15	0,96	0,55-1,20	

Keterangan: Hasil uji *Mann-Whitney* kedua kelompok (endometriosis dan kontrol) tampak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan nilai $p=0,01$ ($p>0,05$). Nilai median dan kisaran minimal dan maksimal menunjukkan bahwa kelompok endometriosis dengan nilai OD lebih tinggi dibandingkan kontrol.

Untuk menentukan perbedaan kadar konsentrasi hormon estrogen serum pada endometriosis dan kelompok kontrol dilakukan uji lanjut Mann-Whitney karena uji normalitas pada kedua kelompok juga tidak berdistribusi normal.



Gambar 2. Grafik distribusi data yang tidak normal pada kadar konsentrasi hormon estrogen endometriosis dan non endometriosis.

Hasil pengujian Mann-Whitney menunjukkan bahwa perbedaan kadar konsentrasi hormon estrogen serum pada kelompok endometriosis (kasus) dan kelompok kontrol berbeda signifikan dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) seperti terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Uji *Mann-Whitney* kadar estradiol serum pada kelompok endometriosis dan kontrol

Subyek	n	Median (pg/mL)	Min-Mak	p< 0,005
Endometriosis	15	1,16	88,69-261,24	
Kontrol	15	49,50	27,06-229,11	0,001

Keterangan: Hasil uji *Mann-Whitney* kedua kelompok (endometriosis dan kontrol) tampak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan nilai $p=0,01$ ($p>0,05$). Nilai median dan kisaran minimal dan maksimal menunjukkan bahwa kelompok endometriosis dengan nilai OD lebih tinggi dibandingkan kontrol.

Korelasi nilai OD estradiol (E2) serum antara endometriosis dan non endometriosis sebagai faktor risiko dapat dilihat dari hasil uji korelasi Spearman (Tabel 4). Hal ini menunjukkan bahwa kadar estradiol (E2) serum dengan risiko peningkatan endometriosis berkorelasi kuat dengan nilai $p=0,43$, namun kadar konsentrasi hormon estrogen serum dengan risiko endometriosis berkorelasi lemah dengan nilai $p=0,11$ (Tabel 5). Korelasi tersebut memiliki arah positif dengan artian semakin tinggi hormon estrogen maka peningkatan risiko endometriosis akan semakin tinggi.

Tabel 4. Koefisien korelasi *Spearman's Rho* antara nilai OD serum, endometriosis dan kontrol.

Nilai OD E2) Serum	Kontrol		
	n	r	p
Endometriosis	18	0,216	0,43

Keterangan: Hasil uji koefisien korelasi *Spearman* antara nilai OD dengan endometriosis tampak berkorelasi kuat dengan nilai $p=0,43$.

Tabel 5. Koefisien Korelasi *Spearman's Rho* antara kadar konsentrasi hormon estrogen serum, endometriosis dan kontrol.

Kadar konsentrasi hormon estrogen	Kontrol		
	n	r	p
Endometriosis	18	0,420	0,119

Keterangan: Hasil uji koefisien korelasi *Spearman* antara nilai OD dengan endometriosis tampak berkorelasi kuat dengan nilai $p=0,43$.

DISKUSI

Menurut data hasil penelitian di RSUP Dr. Cipto Mangunkusumo pada tahun 2008 terdata 428 penderita kista endometriosis, 20% di antaranya meninggal dunia dan 65% di antaranya adalah wanita karir yang telah berumah tangga, sedangkan pada tahun 2009 terdata 768 kasus penderita kista endometriosis dan 25% di antaranya meninggal dunia, 70% di antaranya adalah wanita karir yang telah berumah tangga. Hasil laporan menjelaskan bahwa kasus endometriosis hasil laparoskopi

diagnostik sebanyak 0-53%; pada kelompok wanita yang belum diketahui penyebabnya sebanyak 70-80%; kelompok wanita dengan infertilitas primer sebanyak 25% dan diperkirakan prevalensi endometriosis akan terus meningkat dari tahun ke tahun. Dewasa ini endometriosis tidak hanya menyerang wanita usia reproduksi, namun endometriosis juga dapat dijumpai pada usia remaja dan pasca-menopause.

Pada penelitian ini meskipun sebaran karakteristik dapat ditelusuri, namun untuk mengetahui proporsi wanita penderita endometriosis pada berbagai tahap (*staging*) dalam kasus endometriosis adalah sulit karena gejala endometriosis tahap dini jarang ditemukan. Wanita dengan gejala endometriosis tahap awal biasanya tidak dirasakan sebagai gangguan pada penderita sehingga jika tidak ada komplikasi dengan penyakit lain maka wanita penderita endometriosis tidak memeriksakan diri ke rumah sakit sehingga sangat kurang data endometriosis pada *staging* awal (I/II). Umumnya wanita yang datang memeriksakan diri ke rumah sakit adalah mereka dengan gejala endometriosis yang sudah pada tahap III/IV atau ada komplikasi dengan penyakit uterus lainnya.¹¹

Kadar estradiol darah perifer penderita endometriosis lebih tinggi dari pada kontrol (non-endometriosis) meskipun secara signifikan. Kadar estrogen pada fase proliferasi telah diketahui mencapai maksimum 2-3 hari sebelum ovulasi dimana endometrium dipersiapkan menjadi tempat ideal untuk implantasi zigot.¹² Penderita endometriosis memerlukan kadar estrogen lebih tinggi karena harus menunjang pertumbuhan jaringan endometrium abnormal di luar rongga uterus. Fenomena ini sesuai dengan yang ditemukan peneliti-peneliti sebelumnya.^{13,14} Hasil uji normalitas data pada level estradiol (E2) serum gambar 1 menunjukkan bahwa distribusi data tidak normal pada kelompok endometriosis dan kontrol. Tampak bahwa level estradiol (E2) serum dengan nilai median pada 15 sampel endometriosis dan kontrol secara angka lebih tinggi pada endometriosis dibandingkan kontrol dengan signifikan. Hasil korelasi antara level nilai OD dan kadar konsentrasi juga memiliki korelasi dengan arah positif. Estrogen yang ditentukan pada penelitian ini adalah pada fase proliferasi atau estrogen wanita pada level maksimal yaitu sebelum ovulasi.

Salah satu alasan yang dapat mendukung tingginya estradiol (E2) serum pada

kelompok endometriosis dibandingkan kontrol adalah faktor genetik yang hingga saat ini etiologi tepatnya belum diketahui. Studi sebelumnya menjelaskan bahwa terdapat beberapa kemungkinan lain yang dapat berkontribusi meningkatkan kadar estradiol lokal pada jaringan endometriosis adalah juga toksin lingkungan seperti dioksin berasal dari makanan atau lingkungan dapat berimplikasi dalam etiologi endometriosis yang meniru estrogen dan berinteraksi dengan reseptornya.^{15,16} Selain itu, bioavailability estradiol pada jaringan endometriosis dari hasil studi sebelumnya menjelaskan bahwa adanya aromatase lokal dari androgen sirkulasi pada estradiol.¹⁷ Hal ini disebabkan oleh sel stroma endometriosis yang berakibat menurunnya konversi estradiol menjadi estron akibat berkurangnya ekspresi enzim 17 β -hydroxysteroid pada jaringan endometriosis sehingga terjadi peningkatan kadar estradiol lokal pada jaringan.^{18,19,15}

Hasil penelitian ini menunjukkan level estradiol serum (E2) fase proliferasi pada endometriosis cenderung meningkat, tetapi perlu penelitian lebih lanjut dengan memperhatikan faktor-faktor pemicu peningkatan estradiol tersebut pada kasus endometriosis.²⁰ Mekanisme meningkatnya estradiol pada jaringan endometriosis dibandingkan endometrium normal dari segi molekuler dijelaskan oleh Bulun bahwa estradiol serum (E2) memasuki sitoplasma sel berikatan pada reseptor di dalam inti sel. Kemudian membentuk kompleks ikatan (E-ER) ini berikatan pada DNA gen target di daerah promoter, selanjutnya merekrut protein-protein *activator* yang akan berperan dalam aktivasi proses transkripsi, dapat meningkatkan ekspresi gen reseptor estrogen dan berpengaruh dalam perubahan fisiologis sel termasuk gejala patologis endometriosis.¹⁸

Limitasi penelitian ini adalah jumlah sampel yang terbatas dan batas rentang waktu fase proliferasi tidak sama pada akhir proliferasi (sebelum ovulasi) yang mana untuk mendapatkan fase estradiol (E2) mencapai puncak tertinggi adalah sulit dari pasien subjek penelitian. Oleh karena itu untuk riset kedepan dalam menentukan kadar estradiol (E2) serum pasien fase proliferasi perlu mempertimbangkan faktor keseragaman waktu agar mendapatkan hasil sesuai dengan yang diharapkan, untuk menghindari perbedaan nilai kadar estradiol (E2) yang tidak terlalu jauh pada (batas minimal dan maksimal) dari subjek penelitian.

KESIMPULAN

Hormon estrogen meningkat pada perempuan dengan endometriosis di Jakarta sebagai satu faktor risiko terjadinya endometriosis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Barbosa CP, Souza AMB De, Bianco B, Christofolini DM. The effect of hormones on endometriosis development. *Minerva Ginecol.* 2014;63:375-86.
2. Xu HM, Deng HT, Liu CD, Chen YL, Zhang ZY. Phosphoproteomics analysis of endometrium in women with or without endometriosis. *Chin Med J (Engl).* 2015;128(19):2617-24.
3. Farfaras A, Danielis M, Papavasileiou S, Barbounaki S, Bilirakis E, Skolarikos P. Insight into the mechanisms of endometriosis associated ovarian cancers development. *Cancer Res Front.* 2016;2(1):112-25. doi:10.17980/2016.112
4. Viganò P, Parazzini F, Somigliana E, Vercellini P. Endometriosis: Epidemiology and aetiological factors. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2004;18(2):177-200. doi:10.1016/j.bpobgyn.2004.01.007
5. Bouquet De Jolinière J, Ayoubi JMB, Gianaroli L, Dubuisson JB, Gogusev J, Feki A. Endometriosis: A New Cellular and Molecular Genetic Approach for Understanding the Pathogenesis and Evolutivity. *Front Surg.* 2014;1(May). doi:10.3389/fsurg.2014.00016
6. Worley MJ, Welch WR, Berkowitz RS, Ng SW. Endometriosis-associated ovarian cancer: A review of pathogenesis. *Int J Mol Sci.* 2013;14(3):5367-79.
7. Burney RO, Giudice LC. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertil Steril.* 2012;98(3):511-9.
8. Baranov VS, Ivaschenko TE, Liehr T, Yarmolinskaya MI. Systems genetics view of endometriosis: A common complex disorder. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015;185:59-65.
9. Vandana B, Vaidyanathan K, Saraswathy LA, Sundaram KR, Kumar H. Impact of integrated amrita meditation technique on adrenaline and cortisol levels in healthy volunteers. *Evidence-based Complement AlternMed.* 2011; doi:10.1155/2011/379645
10. Maduka IC, Neboh EE, Ufelle SA. The relationship between serum cortisol, adrenaline, blood glucose and lipid profile of undergraduate students under examination stress. *Afr Health Sci.* 2015;15(1). doi:10.4314/ahs.v15i1.18
11. Rocha ALL, Reis FM, Petraglia F. New trends for the medical treatment of endometriosis. *Expert Opin Investig Drugs.* 2012;21(7):905-19.
12. Selak V, Farquhar C, Prentice A, Singla A. Danazol for pelvic pain associated with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007;(4). doi:10.1002/14651858.CD000068.pub2
13. Yaşar P, Ayaz G, User SD, Güpür G, Muyan M. Molecular mechanism of estrogen-estrogen receptor signaling. *Reprod Med Biol.* 2017;16(1):4-20.
14. Kampa M, Pelekanou V, Notas G, Stathopoulos EN, Castanas E. The estrogen receptor: Two or more molecules, multiple variants, diverse localizations, signaling and functions. Are we undergoing a paradigm-shift as regards their significance in breast cancer? *Hormones.* 2013;12(1):69-85.
15. Christiansen LB, Wenckens M, Bury PS, et al. Synthesis and biological evaluation of novel thio-substituted chromanes as high-affinity partial agonists for the estrogen receptor. *Bioorganic Med Chem Lett.* 2002;12(1):17-19.
16. Secosan C, Balulescu L, Brasoveanu S, et al. Endometriosis in menopause-renewed attention on a controversial disease. *Diagnostics.* 2020;10(3):1-12.
17. Chantalat E, Valera MC, Vaysse C, et al. Estrogen receptors and endometriosis. *Int J Mol Sci.* 2020;21(8):1-17.
18. Bulun SE, Cheng YH, Pavone ME, et al. Estrogen receptor-β, Estrogen receptor-α, and progesterone resistance in endometriosis. *Semin Reprod Med.* 2010;28(1):36-43.
19. Rahmioglu N, Montgomery GW, Zondervan KT. Genetics of endometriosis. *Women's Heal.* 2015;11(5):577-86.
20. Bulun SE, Lin Z, Imir G, et al. Regulation of aromatase expression in estrogen-responsive breast and uterine disease: From bench to treatment. *Pharmacol Rev.* 2005;57(3):359-83. doi:10.1124/pr.57.3.6