

DISERTASI

**EKSPRESI GEN mRNA KISSPEPTIN DAN LEUKEMIA INHIBITORY FAKTOR PADA
ENDOMETRIUM PASIEN FERTILISASI INVITRO**

***EXPRESSION OF KISSPEPTIN AND LEUKEMIA INHIBITORY FACTOR mRNA GENES IN
ENDOMETRIUM INVITRO FERTILIZATION PATIENTS***

ARIE ADRIANUS POLIM

C013182011



PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDIN

MAKASAR

2021

DISERTASI


**EKSPRESI GEN mRNA KISSPEPTIN DAN LEUKEMIA INHIBITORY
FAKTOR PADA ENDOMETRIUM PASIEN FERTILISASI INVITRO**

Disusun dan diajukan oleh

**ARIE ADRIANUS POLIM
C013182011**

*Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Ujian dalam rangka
Penyelesaian Studi pada Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal, 2 November 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

Menyetujui
Promotor


Prof. Dr. dr. Nusratuddin Abdullah, Sp. OG(K), MARS
NIP. 196112251988101001


Co Promotor

Co Promotor



Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok(K)
NIP. 195703261988032001


Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)
NIP. 195704161985031001

Ketua Program Studi Doktor
Ilmu Kedokteran,


dr. Agusssalim Bukhari, M.Med, Ph.D, Sp.GK(K)
NIP. 197008211999031001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,


Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed
NIP. 196612131995031009



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN

PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp.(0411)586010,(0411)586297

EMAIL : s3kedokteranunhas@gmail.com

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Arie Adrianus Polim
NIM : C013182011
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

EKSPRESI GEN mRNA KISSPEPTIN DAN LEUKEMIA INHIBITORY FAKTOR PADA ENDOMETRIUM
PASIEEN FERTILISASI INVITRO

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 23 Juli 2021

Yang menyatakan,



Arie Adrianus Polim

0
0
0

ABSTRAK

ARIE ADRIANUS POLIM. *Ekspresi Gen mRNA Kisspeptin dan Leukemia Inhibitory Factor pada Endometrium Pasien Fertilisasi Invitro* (dibimbing oleh Nusratuddin Abdullah, Rosdiana Natzir, dan Mochammad Hatta).

Penelitian ini bertujuan mengetahui perbedaan kadar estradiol terhadap ekspresi mRNA kisspeptin dan LIF pada endometrium pasien FIV.

Dilakukan penelitian studi potong lintang pada 43 pasien yang dibagi atas tiga kelompok yaitu: A (≥ 3000 pg/ml), B (2000-2999pg/ml), C (< 2000 pg/ml) yang menjalani program FIV dan dilakukan biopsi endometrium serta dilakukan pemeriksaan RT-PCR.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa grup A rerata kisspeptin sebesar $10,28 + 0,83$, grup B rerata kisspeptin sebesar $8,27 + 0,98$, grup C rerata kisspeptin sebesar $7,13 + 0,68$, $p < 0,00$; $r = 0,638$. Grup A rerata LIF sebesar $12,44 + 0,81$, grup B rerata LIF sebesar $11,47 + 0,77$, grup C rerata LIF sebesar $9,50 + 0,79$, $p < 0,001$; $r = 0,634$. Hubungan kisspeptin dengan LIF yang positif $r = 0,700$, $p < 0,001$. Terdapat hubungan korelasi positif kuat yang bermakna antara peningkatan kadar estradiol dengan peningkatan ekspresi mRNA kisspeptin; peningkatan kadar estradiol dengan peningkatan ekspresi mRNA LIF; dan peningkatan ekspresi mRNA kisspeptin dengan peningkatan ekspresi mRNA LIF pada FIV.

Kata kunci: FIV, estradiol, kisspeptin, LIF



ABSTRACT

ARIE ADRIANUS POLIM. *Expression of Kisspeptin and Leukemia Inhibitory Factor MRNA Genes in Endometrium Invitro Fertilization Patients (Supervised by Nasratuddin Abdullah, Rosdiana Natzir, and Mochammad Hatta)*

The purpose of this study is to determine differences in estradiol levels on Kisspeptin and LIF Mrna epression in endometrium of IVF patients. In the Invitro Fertilization (IVF) program, hormonal stimulating factors involving the Hypothalamus-pituitary-ovarian Axis will release GnRH pulsatile which will secrete the release of gonadotropins induced by positive feedback from serum estrogen. As a upstream regulator of pulsatile GNRH release, kisspeptin has played a major role in regulating the female reproductive system in several aspects including gonadotropin secretion. Kisspeptin will stimulate the production of LIF, a cytokine that plays a role in the decidualization process in the endometrium.

A cross-sectional study was conducted on 43 patients divided into 3 groups, namely group A (>3000pg/ml), group B (2000-2999 pg/ml), and group C (<2000pg/ml) who underwent the IVF program and underwent endometrial biopsy and RT-PCR examination.

From the results of the study, the average Kisspeptin in Group A is 10.28 ± 0.83 , Group B is $8.27 + 0.98$, Group C is $7.13 + 0.68$, $p < 0.001$; $r = 0.638$. Group A LIF is $12.44 + 0.81$, Group B is $11.47 + 0.77$, Group C is $9.50 + 0.79$, $p < 0.001$; $r = 0.634$. The relationship between kisspeptin and LIF is positive $r = 0.700$, $p < 0.001$. As the conclusion there is a significant positive correlation between an increase of estradiol levels and expression of kisspeptin and LIF mRNA. There is also a significant increased expression of kisspeptin mRNA followed with an increased expression of LIF mRNA in IVF patients.

Keywords: IVF, Estradiol, Kisspeptin, LIF



KATA PENGANTAR

Puji syukur kami penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan disertasi yang berjudul “EKSPRESI GEN mRNA KISSPEPTIN DAN LEUKEMIA INHIBITORY FACTOR PADA ENDOMETRIUM PASIEN FERTILISASI INVITRO” ini.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar besarnya kepada Prof. Dr. dr. Nustratuddin Abdullah, Sp.OG(K), MARS sebagai Promotor dan Prof dr.Rosdiana Natzir,PhD, Sp.Biok(K) serta Prof. dr. Mochammad Hatta, PhD, Sp.MK(K) sebagai Co-Promotor yang telah mencurahkan waktunya untuk membimbing, memberikan kritik, saran dan perbaikan, serta memberikan dorongan secara terus-menerus kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan disertasi ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Ketua Program Studi S3 yang telah memfasilitasi proses pendidikan sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan S3 di Fakultas Kedokteran Universitas Mataram. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Direktur RS Universitas Hasanuddin yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian di Laboratorium RS UNHAS sehingga disertasi ini dapat diselesaikan.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat Rektor Unika Atmajaya yang telah memberikan ijin belajar kepada penulis untuk menempuh pendidikan S3 dan kepada Dekan Fakultas Kedokteran Unika Atmajaya yang telah memfasilitasi penulis untuk dapat menempuh dan menyelesaikan pendidikan S3 di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada seluruh staf Indonesian Reproductive Science Institute (IRSI) yang telah banyak membantu didalam pembuatan dan penulisan jurnal internasional sehingga banyak diterbitkan jurnal yang membantu sebagai penunjang untuk menyelesaikan pendidikan S3 ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua Bapak Johannes Polim (alm) dan ibu Vera Polim (alm), istri tercinta dr. Meilanie Lawunegoro dan anak-anak Reinardo Arvel Polim (alm), Sheryl Natalie Polim atas motivasi, dorongan, dan pengertiannya sehingga penulis dapat menyelesaikan

disertasi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Pak Akmal, Pak Mumu dan Pak Rahmat dan semua pihak yang memberikan dukungan dan bantuan kepada penulis yang tidak bisa disebutkan satu persatu sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan disertasi ini. Semoga kebaikan-kebaikan dari semua pihak diatas dicatat sebagai amal ibadah oleh Allah SWT.

Penulis menyadari bahwa disertasi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran sangat penulis harapkan untuk dapat menyempurnakan disertasi ini.

Makassar, 11 November 2021



(Arie Adrianus Polim)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
PERNYATAAN KEASLIAN DESERTASI	
ABSTRAK	
ABSTRACT	
PRAKATA	
DAFTAR ISI	
DAFTAR SINGKATAN	
DAFTAR TABEL	
DAFTAR GRAFIK	
DAFTAR GAMBAR	
I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar belakang penelitian.....	1
I.2. Rumusan masalah.....	3
I.3. Tujuan Penelitian.....	3
I.4. Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1. Infertilitas.....	5
II.2. Siklus haid wanita.....	6
II.3. Endometrium.....	7
II.3.1. Anatomi endometrium.....	7
II.3.2. Fisiologi endometrium dalam siklus menstruasi.....	9
II.3.3. Ultrastruktur endometrium.....	10
II.3.4. Reseptivitas endometrium.....	13
II.3.5. Petanda biologis endometrium yang spesifik.....	17
II.4. Kisspeptin.....	18
II.5. Leukemia inhibitor factor (LIF).....	20
II.6. Teknologi Reproduksi berbantu.....	25
II.6.1. Tahapan-tahapan proses FIV.....	26

	II.6.1.1. Stimulasi ovarium.....	26
	II.6.1.2. Supresi ovulasi.....	26
	II.6.1.3. Pemicu ovulasi.....	27
	II.6.1.4. Tindakan petik telur.....	27
	II.6.1.5. Kultur embrio.....	27
	II.6.1.6. Transfer embrio.....	27
	II.6.1.7. Pemberian obat penunjang fase luteal.....	28
	II.6.1.8. Pemeriksaan konfirmasi kehamilan.....	28
	II.6.2. Pengaruh hiperstimulasi ovarium terkontrol.....	28
	II.6.3. Vitrifikasi.....	29
III.	KERANGKA TEORI DAN KONSEP	30
	III.1. Kerangka teori.....	31
	III.2. Kerangak konsep.....	31
	III.3. Hipotesis Penelitian.....	31
	III.4. Definisi Operasional.....	31
IV.	METODOLOGI PENELITIAN.....	33
	IV.1. Desain penelitian.....	33
	IV.2. Tempat dan waktu penelitian.....	33
	IV.3. Populasi dan sampel penelitian.....	33
	IV.4. Kriteria inklusi dan eksklusi.....	34
	IV.5. Cara Kerja.....	34
	IV.5.1. Prosedur FIV protokol antagonist.....	34
	IV.5.2. Cara pengambilan sampel.....	35
	IV.5.3. Cara proses ekstraksi asam nukleat.....	36
	IV.5.4. Cara kerja R-PCR untuk menentukan profil ekspresi mRNA Kisspeptin dan mRNA LIF.....	37

IV.6. Analisis Data.....	39
IV.7. Persetujuan Etika Penelitian.....	40
IV.8. Alur penelitian.....	40
V. HASIL PENELITIAN.....	42
V.1.Karakteristik pasien.....	42
V.2.Karakteristik kadar estradiol.....	43
V.3.Ekspresi mRNA Kisspeptin dan mRNA LIF.....	44
V.4.Ekspresi mRNA Kisspeptin.....	44
V.5.Ekspresi mRNA LIF.....	45
V.6.Korelasi ekspresi mRNA Kisspeptin dan mRNA LIF.....	47
V.7.Analisis multiple linier regresi.....	48
V.8. Korelasi Regresi kadar estradiol diatas dan dibawah 3000 pg/ml dan ekspresi LIF.....	50
VI. PEMBAHASAN.....	52
VII. KESIMPULAN DAN SARAN.....	57
DAFTAR PUSTAKA.....	58
LAMPIRAN.....	65

DAFTAR SINGKATAN

AMH	Anti-Mullerian Hormone
ATP	Adenosine Triphosphate
COMP	Cartilage Oligometric Matrix Protein
COX-2	Cycklooxigenase -2
CSF-1	Colony Stimulating Factor -1
DNA	Deoxyribonucleic Acid
EGF	Epidermal Growth Factor
ERA	Endometrial Receptivity Array
ER	Estradiol Receptor
ET	Embryo Transfer
Fas-L	Fas Ligand
FET	frozen Embryo Transfer
FGF	Fibroblast Growth Factor
FIV	Fertilisasi Invitro
FSH-R	Follicle stimulating Hormone Reseptor
Gp130	Glikoprotein 130
GPX 3	Glutathione Peroxidase 3
HB-EGF	Heparin-Binding Epidermal Growth Factor
HCG	Human Chorionic Gonadotrophin
HOXA	Homeobox A

ICSI	Intracytoplasmic Sperm Injection
IGF	Insulin-like Growth Factor
IGFBP	Insulin-like Growth Factor Binding Protein
IL6ST	Interleukin 6 signal transducer
IL-11	Interleukin 11
JAK	Janus Kinase
LH-R	Luteinizing Hormone Reseptor
LH	Luteinizing Hormone
LIF	Leukemia Inhibitory factor
LIFR	Leukemia Inhibitory Factor Receptor
LXA4	Lipoxin A4
MAPK	Mitogen Activated Protein Kinase
MES	Matriks Ekstraseluler
MUC1	Mucin 1
mRNA	Messenger Riboic Nucleid Acid
NKB	Neurokinin B
PAEP	Progestagen-Associated Endometrial Protein
OPU	Ovum Pick Up
OHSS	Ovarian Hyperstimulation Syndrome
PR	Progesteron Receptor
Perfitri	Perkumpulan Fertilisasi Invitro Indonesia
POGI	Perkumpulan Obstetrik Ginekologi Indonesia
RER	Rough Endoplasmic Reticulum
SLC1A1	Solute Carrier Familly 1

SOCS3	Supresor Citokin Signalling 3
STAT	Signal Transducer and Activator of transcription
TGFB	Tumor Growth Factor B
VEGF	Vascular endothelial growth factor

DAFTAR TABEL

- Tabel 2.1 Ekspresi reseptor steroid siklikal
- Tabel 2.2 Perbandingan plasma hormon, reseptor progesterone endometrium dan ekspresi LIF dan gp 130 dalam endometrium dan bilasan uterus dari wanita fertile dan infertile
- Tabel 5.1 Data karakteristik pasien
- Tabel 5.2 Kadar Estradiol pada setiap kelompok
- Tabel 5.3 Ekspresi mRNA Kisspeptin dan LIF
- Tabel 5.4 Hubungan ekspresi mRNA Kisspeptin dan estradiol
- Tabel 5.5 Korelasi regresi kadar Estradiol dengan ekspresi mRNA Kisspeptin
- Tabel 5.6 Hubungan kadar Estradiol dengan ekspresi mRNA LIF
- Tabel 5.7 Korelasi regresi kadar Estradiol dengan ekspresi LIF
- Tabel 5.8 Korelasi regresi ekspresi Kisspeptin dan LIF
- Tabel 5.9 Analisa multiple Linier regresi kadar estradiol dengan ekspresi Kisspeptin
- Tabel 5.10 Analisa multiple linier regresi kadar estradiol dengan ekspresi LIF
- Tabel 5.11 Analisa multiple linier regresi ekspresi mRNA Kisspeptin dengan ekspresi mRNA LIF

DAFTAR GRAFIK

- Grafik 5.1 Boxplot Estradiol dengan Kisspeptin
- Grafik 5.2 Korelasi regresi Estradiol dengan Kisspeptin
- Grafik 5.3 Boxplot Estradiol dengan LIF
- Grafik 5.4 Korelasi regresi Estradiol dengan LIF
- Grafik 5.5 Korelasi Regresi ekspresi Kisspeptin dan LIF
- Grafik 5.6 Korelasi Regresi kadar estradiol ≥ 3000 pg/ml dan ekspresi LIF
- Grafik 5.7 Korelasi Regresi kadar estradiol < 3000 pg/ml dan ekspresi LIF

DAFTAR GAMBAR

- Gambar 2.1 Penyebab umum infertilitas pada wanita
- Gambar 2.2 Perubahan endometrium selama siklus menstruasi
- Gambar 2.3 Epitel luminal pada fase reseptif dengan menunjukkan mikrovili dan silia serta gambaran pinopoda
- Gambar 2.4 Kerja klasik reseptor estradiol dan progesterone di nukleus Gambar
- Gambar 2.5 Lintas hubungan embrio dan endometrium dalam implantasi
- Gambar 2.6 Menunjukkan bagaimana sistem regulasi Kisspeptin mengatur proses implantasi dan plasentasi
- Gambar 2.7 Dasar hormonal dan molekuler reseptivitas uterus.
- Gambar 3.1 Kerangka teori
- Gambar 3.2 Kerangka Konsep
- Gambar 3.3 Alur penelitian

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Menurut data survei kesehatan nasional, pada tahun 2010 sekitar 10,5% wanita di seluruh dunia mengalami infertilitas sekunder dan sekitar 2% mengalami infertilitas primer. Infertilitas terjadi lebih dari 20% pada populasi di Indonesia, dimana 40% pada wanita, 40% pada pria dan 20% pada kedua pasangan. Di Indonesia kejadian infertilitas pada perempuan 15% pada usia 30-34 tahun, 30% pada usia 35-39 tahun, dan 55% pada usia 40-44 tahun. (Mascarenhas dkk, 2012, kemenkes 2007)

Penanganan infertilitas dengan Fertilisasi In Vitro (FIV) adalah suatu program dengan mempertemukan sperma dan sel telur diinkubator dan akan dikembalikan ke dalam rahim ibu setelah terbentuk embrio, dimana kegagalan program ini masih dapat terjadi karena masalah embrio atau pada reseptivitas endometrium. Dalam program Fertilisasi In Vitro (FIV) faktor stimulasi hormonal melibatkan Aksis hipotalamus-hipofisis-gonad akan melepaskan GnRH secara pulsatile yang akan mensekresikan gonadotrophin yang diinduksi oleh umpan balik positif dari serum estradiol (Goodman 1978). Sebagai regulator hulu dari pelepasan GnRH secara pulsatile, Kisspeptin telah banyak diberitakan dimasa lalu dengan peranan dasar dalam mengatur sistem reproduksi wanita dalam beberapa aspek termasuk sekresi gonadotropin, secara spesifik pada awalnya estradiol akan mengikat estradiol reseptor alfa ($ER-\alpha$) pada neuron Kisspeptin dalam nukleus arkuatus /infundibular, yang lebih jauh akan menghambat Kisspeptin dan pelepasan gonadotrophin. Selanjutnya peningkatan estradiol pada fase preovulasi akan memberikan umpan balik positif pada neuron Kisspeptin di nukleus dihipotalamus yang menyebabkan terjadinya lonjakan LH dalam siklus menstruasi (Roa dkk, 2008, Tornikawa dkk, 2012).

Leukemia Inhibitory factor (LIF) adalah sitokin yang diperlukan untuk implantasi diproduksi oleh epitel glanduler uterus akan terjadinya komunikasi dengan uterus sehingga embrio menempel pada endometrium dan terjadi desidualisasi stroma (Shuya dkk, 2011). Pada percobaan murine yang dihilangkan Kisspeptin (*kiss1*), LIF sangat lemah diekspresikan pada kekejarian endometrium pada hari implantasi dan pemberian LIF eksogen pada yang dihilangkan Kisspeptin dapat menyelamatkan proses implantasi pada tikus model (Calder dkk, 2014). Secara studi bahwa LIF terlibat dalam proses implantasi termasuk transformasi endometrium ke dalam fase reseptif dan interaksi embrio serta invasi trofoblas. (Diaz dkk, 2011) Berdasarkan data di atas Kisspeptin adalah regulator hulu dari LIF, mekanisme dimana Kisspeptin mempengaruhi proses implantasi dengan mengatur kadar LIF, selanjutnya estradiol secara cepat akan mengatur ekspresi LIF, lebih jauh menggambarkan bahwa suplementasi LIF akan menyelamatkan desidualisasi dan implantasi pada uterus yang dilakukan ablasi reseptor estradiol pada tikus (Curtis dkk, 2002), sehingga disimpulkan bahwa Kisspeptin bersama dengan estradiol akan menstimulasi ekspresi LIF. Beberapa studi mengindikasikan bahwa jalur E2-Kisspeptin-LIF akan mengatur proses implantasi, sehingga studi klinis bahwa defisiensi Kisspeptin plasma pada injeksi hCG akan menurunkan kemungkinan implantasi setelah dilakukan *intracytoplasmic sperm injection* (ICSI) (Jamil dkk, 2017).

Dalam program FIV yang diinduksi oleh hormon gonadotrophin akan menyebabkan perubahan suprafisiologi hormon steroid estradiol dan progesteron dengan reseptornya yang secara dinamis berperan dalam maturasi serta diferensiasi sel glanduler dan stroma endometrium yang mempengaruhi reseptivitas endometrium. (Kamran dkk, 2017, Paulson dkk, 1990) Bahwa kadar estradiol yang tinggi pada pasien hiperresponder tanpa memedulikan kadar progesterone pada hari injeksi hCG akan memberikan efek yang merugikan terhadap reseptivitas endometrium dan menurunkan angka kehamilan (Simon dkk, 1996). Sedangkan penurunan kadar estradiol akan meningkatkan angka implantasi dan kehamilan. (Valbuena dkk, 2001) Meskipun terdapat kontroversi perbedaan studi lain yang

mengatakan peningkatan kadar estradiol tidak berhubungan dengan perubahan atau peningkatan angka implantasi dan kehamilan.(Chenette dkk,1990)

Dari berbagai hal diatas, maka untuk mengetahui sejauh mana perubahan suprafisiologis hormon estradiol dalam FIV berkorelasi dengan ekspresi mRNA gen Kisspeptin dan LIF di endometrium peneliti ingin mengerjakan penelitian ini.

I.2. Rumusan Masalah

Dengan latar belakang masalah diatas, dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut :

1. Adakah hubungan antara kadar estradiol dengan ekspresi mRNA Kisspeptin dan LIF pada endometrium pasien FIV?
2. Bagaimana hubungan antara kadar estradiol dengan ekspresi mRNA Kisspeptin dan LIF pada endometrium pasien FIV?

I.3. Tujuan Penelitian

I.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui hubungan hormon estradiol dalam FIV terhadap perubahan ekspresi gen mRNA Kisspeptin dan LIF di endometrium

I.3.2. Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui perbedaan ekspresi dan korelasi mRNA Kisspeptin endometrium dengan kadar estradiol pada pasien FIV
2. Untuk mengetahui perbedaan ekspresi dan korelasi mRNA LIF endometrium dengan kadar estradiol pada pasien FIV
3. Untuk mengetahui korelasi ekspresi mRNA Kisspeptin dengan mRNA LIF endometrium pada pasien FIV

1.4. Manfaat Penelitian

I.4.1. Manfaat akademis

Diharapkan akan menjadi suatu pengetahuan untuk mengevaluasi tentang perubahan ekspresi gen Kisspeptin dan LIF pada endometrium akibat perubahan hormon estradiol dalam program FIV

I.4.2. Manfaat Praktis

1. Hasil penelitian dapat memberikan informasi tentang hubungan peningkatan kadar estradiol dengan ekspresi mRNA Kisspeptin dan LIF
2. Hasil penelitian diharapkan menjadi suatu prediktor dalam melakukan proses transfer embrio untuk meningkatkan angka kehamilan
3. Hasil penelitian diharapkan menjadi dasar penelitian lanjutan untuk menilai reseptivitas endometrium berdasarkan ekspresi LIF akibat pengaruh hormon estradiol

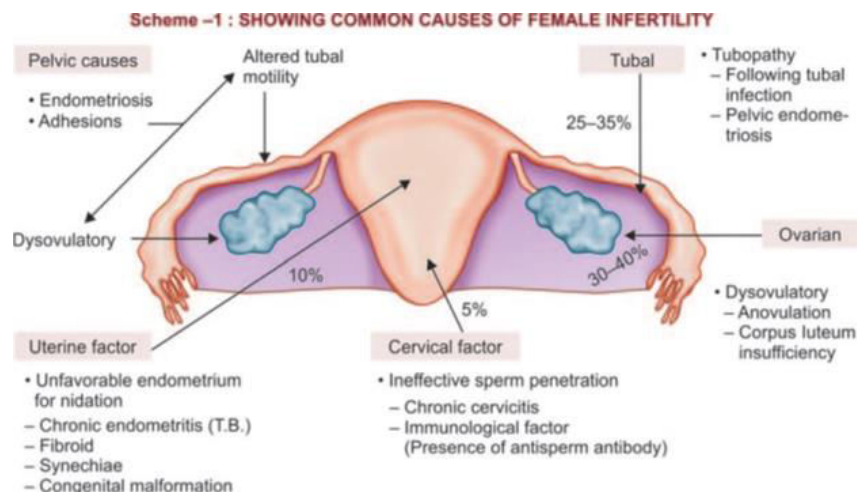
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Infertilitas

Infertilitas berdasarkan definisi WHO adalah suatu kondisi kegagalan pasangan suami istri yang telah berhubungan secara teratur tanpa kontrasepsi untuk mendapatkan kehamilan selama 12 bulan. Secara demografi kondisi infertilitas mempengaruhi sekitar 1 dari 10 pasangan usia reproduktif. Menurut Badan Pusat Statistik 2011, dari total 237 juta penduduk Indonesia, terdapat +/- 39,8 juta wanita usia subur, namun 10-15% diantaranya dinyatakan tidak subur atau infertil. Dari data diatas, maka diperkirakan sebanyak 4 sampai 6 juta pasangan di Indonesia memerlukan pengobatan lanjut untuk mendapatkan terapi lanjutan. Menurut studi populasi yang luas, kemungkinan perbulan untuk dapat konsepsi adalah 20-25%. Diperkirakan sebanyak 50% wanita akan hamil dalam 3 bulan pertama, 75% akan hamil dalam 6 bulan dan lebih dari 85% akan hamil dalam 1 tahun. (Arsyad dkk,2016)

Penyebab infertilitas dapat dilihat gambar 2.1 (Dutta,2013) disebabkan faktor pelvis seperti endometriosis; di uterus seperti miom, adenomyosis; di tuba seperti infeksi, sumbatan tuba ,endometriosis tuba; di ovarium seperti PCOS; di serviks seperti infeksi servik kronis dan faktor imunologi.



Gambar 2.1 Penyebab umum infertilitas pada wanita

Sumber “ telah diolah kembali” (Dutta, 2013)

II.2. Siklus haid wanita

Siklus haid wanita adalah merupakan proses yang secara periodik berlangsung setiap bulannya. Dengan menggunakan menstruasi sebagai acuan awal, proses folikulogenesis dimulai dengan dikeluarkannya hormon FSH dan LH oleh kelenjar hipofisa yang dipacu oleh stimulasi hormon GnRH yang diproduksi oleh kelenjar hipotalamus. FSH dan LH adalah hormon yang bertanggung jawab sebagai hormon modulator proses folikulogenesis. Konsep *Two Cells Two Gonadotropin* merupakan bentuk komunikasi diantara sel teka dan sel granulosa yang dipengaruhi oleh komunikasi jaras hormonal antara kelenjar hipofisis dengan ovarium. Adanya rangsangan fisiologis hormon FSH dan LH pada awal siklus haid, maka akan dimulainya proses folikulogenesis yang dilanjutkan dengan rekrutmen folikel dominan melalui mekanisme paralel antara sel teka dan sel granulosa. Sebagai salah satu luaran yang dihasilkan adalah meningkatnya produksi estradiol yang akan diperlukan tidak hanya dalam proses folikulogenesis, tetapi juga terhadap maturasi dari jaringan endometrium pada fase proliferasi ini. Dalam fase ini hormon estradiol akan terus meningkat yang akan menjadi pemicu lonjakan peningkatan hormon LH sebagai prekursor ovulasi. Setelah ovulasi terjadi, maka korpus luteum akan berfungsi dalam proses persiapan implantasi embrio dengan mengeluarkan hormon progesterone yang akan berinteraksi secara langsung dengan reseptor progesterone di endometrium. Data *in-vitro* pada percobaan hewan dan manusia menunjukkan stimulasi hormon *artificial* seperti pada program FIV akan berimplikasi terhadap perubahan morfologi endometrium yang diakibatkan oleh tingginya produksi hormon estradiol dan progesterone endogen.(Manjula dkk,2013)

II.3. Endometrium

Pada mamalia, duktus paramesonefrik yang berasal dari mesoderm yang bernama duktus Mullerian, mengalami diferensiasi menjadi oviduct (tuba falopii), uterus dan serviks. Diferensiasi lebih lanjut akan menghasilkan struktur mesenkimal yang berakhir sebagai miometrium serta jaringan bersifat glandular dan luminal yang akan menjadi stroma endometrium. Perubahan pada sel mesenkimal uterus ini terlihat dipengaruhi oleh faktor epithelial yang serupa baik di hewan maupun manusia.(Guzeloglu dkk,2007)

Observasi ini membantu menjelaskan perubahan induksi sel epitel uterus yang akan berdiferensiasi menjadi fibroblas endometrium dan sel otot lunak miometrium. Kemungkinan perubahan ini dikendalikan oleh beberapa ekspresi gen yang penting seperti gen p63 dan gen HOX. p63 yang merupakan homolog dari p53 tumor suppressor, penting dalam membatasi epitel endometrium di uterus dan serviks. p63 dalam hal ini tidak terekspresi pada struktur uterus. Sementara gen HOX terutama HOXA-10 mempunyai peranan sangat penting dalam pembentukan endometrium dari area utero-tuba sampai ke permukaan serviks. Pada hewan mencit ditemukan ekspresi terhadap Hoxa-10 (HOXA-10 pada manusia) yang menjadi regulator utama dalam proses sitodiferensiasi jaringan endometrium secara keseluruhan mesenkim.(Sherwin dkk,2002)

II.3.1. Anatomi endometrium

Endometrium secara fungsional dan anatomis akan mengalami perubahan reorganisasi dinamis dalam persiapannya untuk proses implantasi. Secara struktural, endometrium merupakan kompleks mukosa yang terbagi atas dua lapisan, yaitu stratum basalis yang selalu menetap dan stratum superfisial yang bersifat transien. Stratum superfisial ini berfungsi sebagai lapisan tempat terjadinya implantasi blastosis dan menjadi komponen maternal dari plasenta pada saat terjadinya kehamilan. Jaringan ini terdiri atas dua komponen yaitu permukaan lapisan epitel luar dengan kelenjar sekelilingnya yang disertai dengan stroma jaringan ikat, dilihat di gambar 2.2 (Leveno dkk,2014). Lapisan ini secara dinamis

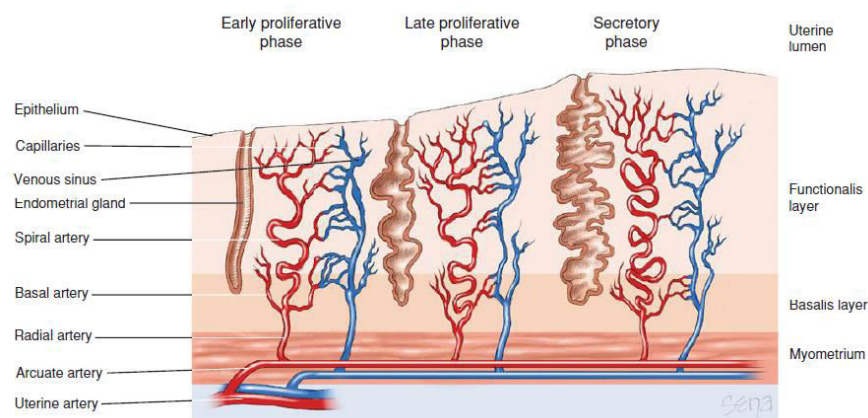
akan mengalami perubahan struktur dan vaskularisasi seiring dengan proses ovulasi untuk kesiapan terjadinya implantasi. Dari sisi endometrium siklus menstruasi di bagi menjadi tahap proliferasi dan tahap sekresi. (Dockery dkk,2008)

II.3.1.1. Fase Proliferasi

Fase proliferasi ditandai dengan perubahan terhadap reepitelisasi paska menstruasi yang secara hormonal didominasi oleh hormon estradiol. Peningkatan penebalan endometrium akan mencapai ukuran sekitar 4 mm. Pada tahap awal secara histologi akan ditandai dengan terdapatnya kelenjar yang tidak terdiferensiasi baik yang bersinggungan dengan epitel kolumnar yang mempunyai inti sel di basal. Menjelang akhir pada fase ini akan terjadi perubahan sel kolumnar yang memanjang dengan kelenjar yang melingkar dan lumen yang melebar.

II.3.1.2. Fase Sekresi

Pada fase sekresi, endometrium dipengaruhi oleh progesteron yang ditandai dengan adanya proses sekresi dari lumen kelenjar yang terisi dengan cairan glikogen. Secara histologi penumpukan cairan glikogen ini akan menghasilkan dilatasi kelenjar yang mencapai maksimum dan edema stroma pada 7 hari paska lonjakan LH. Pada fase ini 25% endometrium akan terisi oleh kelenjar. Saat ini akan terjadi reaksi predesidua sekitar pembuluh darah yang akan dilanjutkan dengan proses regresi pada saat tidak terjadinya proses implantasi. Sel epitel akan terus menyusut dan terjadi infiltrasi dari limfosit yang akan diakhiri dengan disintegrasi stroma dan ekstrasvasasi eritrosit.



Gambar 2.2 Perubahan endometrium selama siklus menstruasi

Sumber “ telah diolah kembali” (Leveno, 2014).

II.3.2. Fisiologi endometrium dalam siklus menstruasi

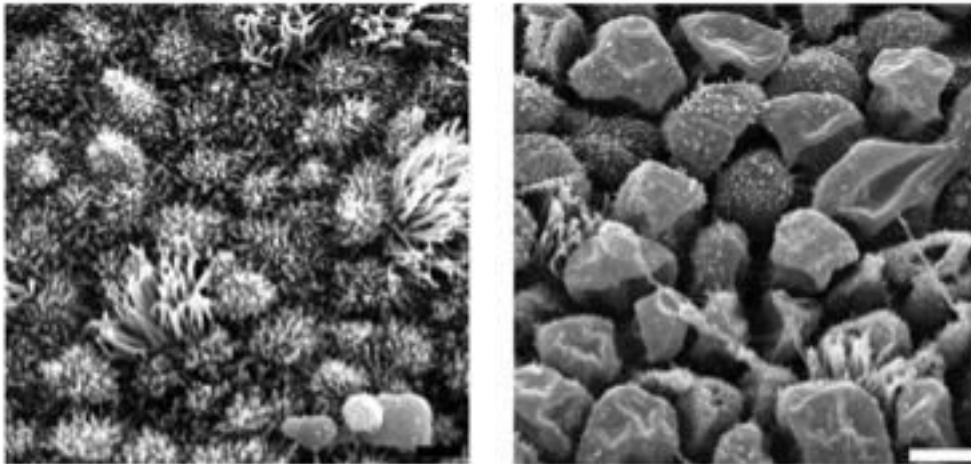
Dalam siklus menstruasi, endometrium merupakan jaringan yang terus berubah secara dinamis mengikuti perubahan hormonal yang terjadi dalam proses folikulogenesis. Estradiol yang diproduksi secara endogen oleh sel granulosa, menimbulkan perubahan secara histologi dan biomolekular di endometrium. Endometrium yang meluruh pada saat menstruasi akan membangun struktur arsitektur jaringan baru dengan tahapan proliferasi selular, diferensiasi dan apoptosis yang dikaitkan dengan perubahan komposisi matriks ekstra seluler (MES). Tujuan adanya remodeling ini adalah terjadinya pembentukan lingkungan yang kondusif untuk terjadinya proses implantasi janin. (Li Tc dkk,1998). Diantara spesies mamalia terdapat perbedaan pada pola implantasi embrio sehingga pola persiapan implantasi juga akan berbeda. Sebagian besar pola perubahan ini dipelajari pada mencit sebagai binatang percobaan, tetapi korelasi terhadap perubahan siklus menstruasi seperti disebutkan diatas, secara umum dibagi menjadi tiga fase besar yaitu fase menstruasi, proliferasi dan sekresi. Dengan panjang siklus secara rata rata sekitar 28 hari dan variasi sekitar 26-32 hari, siklus ovulasi akan secara konsisten beriringan dengan perubahan yang terjadi di endometrium. Pada saat menstruasi sebagian besar dari stratum fungsional endometrium akan meluruh yang diiringi dengan proses reepitelisasi pada jaringan sekitar. Pada tahap proliferasi ini akan terjadi perubahan secara cepat dari lapisan endometrium dengan terbentuknya jaringan MES yang baru. Setelah terjadi ovulasi, hormon progesteron akan berperan dalam perubahan diferensiasi secara fungsional yang akan menunjang untuk terjadinya proses implantasi. Secara histologis akan terdapat kelenjar yang memanjang dan memuntir yang serta disertai edema stroma. Setelah 7 hari paska ovulasi akan terjadi diferensiasi dan pembentukan arteri spiralis yang akan merupakan karakter khusus dalam fase implantasi dan plasentasi. Struktur ini

akan mengalami regresi pada saat tidak terjadi kehamilan dan seiring dengan menurunnya kadar hormon steroid yang berakhir dengan proses menstruasi. (Salamonsen dkk,2003)

II.3.3. Ultrastruktur endometrium

II.3.3.1 Epitel luminar

Sebagai lapisan terluar endometrium yang akan bersinggungan dengan implantasi embrio, sel epitel pada fase proliferasi didominasi tipe sel yang bersilia. Melalui mikroskop elektron, Martell menunjukkan bahwa pada fase sekresi terdapat penonjolan pada membran sel, terutama di area sel yang tidak bersilia, dimana permukaan apikal ini disebut sebagai pinopoda. (Martel D dkk,1981)



Gambar 2.3 Epitel luminal pada fase reseptif dengan menunjukkan mikrovili dan silia (kiri) serta gambaran pinopoda (kanan)

Sumber “ telah diolah kembali” (Nikas,1999)

Tujuh hari paska lonjakan LH struktur mikrovili yang merupakan gambaran dominan dari permukaan sel pada awal fase sekresi tampak berkurang prevalensinya. Saat ini ditemukan dominasinya struktur pinopoda yang bermakna. Pada hari ke 22 siklus, struktur pinopoda ini menghilang yang memberikan kesan akan adanya peran pinopoda terhadap proses implantasi embrio, gambar 2.3 (Nikas dkk,1999). Walaupun demikian sampai saat ini peran pinopoda terhadap proses

implantasi masih dalam perdebatan mengingat gambaran yang sangat meyakinkan pada tikus tidak dapat dibuktikan secara meyakinkan di manusia.

II.3.3.2. Epitel Kelenjar

Sel epitel kelenjar endometrium yang didominasi oleh estradiol pada fase proliferasi akan dilapisi oleh mikrovili yang akan mengalami perubahan struktur sel yang membentuk karakteristik khusus menuju fase sekresi dengan keberadaan aparatus sekresi seperti badan Golgi, Endoplasmik Reticulum halus dan vesikel sekresi. Sementara pada fase sekresi, sel kelenjar ini akan terpolarisasi secara aktif dalam pembentukan dan sekresi produk kompleks yang diperkirakan akan diperlukan untuk menyokong keberadaan trofoblas. Akumulasi zat dalam kelenjar yang dipenuhi glikogen akan semakin meningkat. Lalu ditemukan adanya profil mitokondria raksasa pada hari ke 4 atau 5 pasca lonjakan hormon LH. Dengan maksimalnya sekresi zat glikogenik yang diproduksi sampai dengan hari ke 6, di hari ke 8 pasca lonjakan hormon LH, aktifitas sekresi ini berhenti yang dilanjutkan dengan timbulnya badan apoptosis sampai terjadinya proses peluruhan jaringan endometrium pada saat menstruasi. (Broedy dkk,1989)

II.3.3.3. Stroma

Stroma endometrium merupakan jaringan ikat yang disertai matriks ekstraseluler kompleks. Sel stroma ini merupakan sel yang menyerupai fibroblast yang bertanggung jawab dalam produksi sebagian besar komponen matriks tersebut. Perubahan stroma secara mikrostruktur terlihat pada setiap fase didalam siklus menstruasi. Pembentukan sel yang semakin menyerupai fibroblast, tampak nyata pada akhir fase proliferasi. Dengan bertambahnya akumulasi glikogen di sitoplasma, terlihat peningkatan densitas stroma dengan disertai peningkatan diameter nukleus yang mencapai 20 % pada hari ke 2 sampai ke 8 pasca lonjakan LH yang setelah itu edema stroma dan aktivitas mitosis ini akan berhenti disini.

II.3.3.4. Pembuluh Darah

Suplai pembuluh darah uterus berasal dari pembuluh darah uterina dan ovarika yang akan mengisi miometrium sebagai arteri radialis. Setelah melewati perbatasan miometrium dan endometrium, pembuluh darah ini akan membentuk cabang basalis dan spiralis. Arteri basalis akan memberikan suplai pada stratum basalis sementara arteri spiralis akan menjadi sumber utama untuk lapisan fungsional secara keseluruhan. Dibawah dari permukaan epitel percabangan arteri spiralis ini akan memberikan distribusi melalui pleksus subepitelial yang akan bermuara di sinus venosus. Perubahan yang terjadi pada fase menstruasi juga tampak pada sistem vaskularisasi di endometrium. Pada awal fase proliferasi akan tampak pertumbuhan pohon vaskular yang diakhiri dengan fase tumbuhnya cabang terminal akan membentuk struktur yang melingkar dan berpilin. Pada fase midsekresi arteri spiralis ini akan terbentuk dari lapisan basal sampai fungsional. Kesan terhadap peningkatan ekspresi densitas vaskuler telah ditunjukkan pada beberapa penelitian yang menggunakan teknik label imunositokimia. Dilatasi pembuluh darah pada fase midsekresi ini kemungkinan juga memberikan kontribusi terhadap edema stroma yang terjadi.(Rogers dkk,1993)

Proses mekanisme pembentukan pembuluh darah dalam siklus menstruasi ini menjadi landasan yang penting dalam pengertian terhadap proses fisiologi implantasi baik secara alami maupun secara proses suprafisiologis seperti pada program FIV. Mekanisme tersebut terdiri dari vaskulogenesis, yaitu pembentukan pembuluh darah secara *denovo* dan angiogenesis, yaitu pembentukan mikrovaskular dari pembuluh darah yang sudah ada. Pada fase proliferasi peningkatan kadar estradiol akan mempercepat pertumbuhan struktur mikrovaskular ini. Secara ultrastruktur di fase proliferasi akhir akan tampak pembesaran nuklei dan mitokondria disertai pelebaran *Rough Endoplasmic Reticulum* (RER). Pada lamina basalis kapiler, perubahan yang terjadi konsisten dengan perubahan fase pada siklus menstruasi. Terutama dengan terbentuknya struktur kapiler yang terlihat secara jelas pada fase midsekresi, lamina basalis dan molekul adhesi di sekitar kapiler berperan penting dalam pengikatan sel endothelial dengan ekstraselular matriks perivaskular. Pengaruh hormon steroid seperti estradiol dan progesteron terbukti mempunyai peran utama dalam perubahan

lingkungan mikrovaskular endometrium, baik dari kapasitas untuk mempromosi maupun inhibisi proses angiogenesis yang bergantung pada faktor lokal termasuk *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan relaxin. (Rogers dkk,1993)

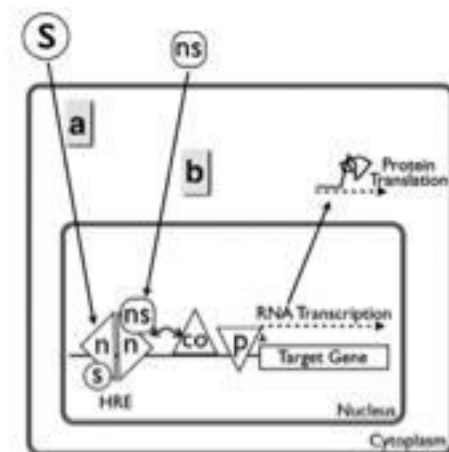
II.3.4. Reseptivitas Endometrium dan Implantasi embrio

Embrio adalah struktur kehidupan primitif yang dihasilkan dari pertemuan oosit dengan sperma yang mempunyai potensi hidup yang secara *in vitro* telah mampu untuk di observasi perkembangannya sampai stadium blastosis. Secara alami embrio terbentuk di ampula tuba yang akan melalui traktus reproduksi yang berakhir di kavum uteri. Umumnya proses implantasi akan terjadi sekitar 7-10 hari paska ovulasi yang ditandai dengan terjadinya mikroinvasi dari sel trofoblas terhadap lapisan endometrium. (Li TC dkk,1988). Endometrium dengan reseptivitas yang terbaik didefinisikan sebagai fase dengan kemampuan mengakomodasi implantasi blastosis yang paling optimal. Penelitian pada mencit menunjukkan bahwa lumen permukaan endometrium bersifat protektif terhadap implantasi janin diluar fase yang sempit yang dikenal sebagai jendela implantasi. (Navot dkk,1991, De Ziegler dkk,1995)

Demikian pula pada wanita yang disepakati bahwa terdapat suatu periode yang konsisten dimana endometrium bersifat reseptif terhadap implantasi embrio. Wilcox menunjukkan pada kehamilan yang terjadi dengan implantasi yang terjadi pada fase 10 hari ke atas setelah lonjakan hormon LH, akan mempunyai angka keguguran yang tinggi. Oleh karena itu reseptivitas pada fase jendela implantasi menjadi area yang menimbulkan perhatian khusus dalam penelitian reproduksi.

Upaya yang dilakukan selama ini adalah mencari informasi mengenai komunikasi antara endometrium dan embrio. Secara biologis terjadi perubahan penting dari beberapa petanda biologis yang mengindikasikan kapan terjadinya jendela implantasi ini. Secara biologis perubahan hormon steroid yang diproduksi pada fase siklus menstruasi ini akan menunjukkan beberapa perubahan dari ekspresi peptida, sitokin dan molekul lain yang memerlukan sinkroni yang sinergis di antara embrio, endometrium dan korpus luteum. Young menyimpulkan bahwa interaksi ini berpengaruh langsung dalam pengaturan ekspresi berbagai macam gen yang

berperan dalam proses implantasi. Selain itu nuklear reseptor ini juga dapat berikatan dengan ligan non steroid seperti lipoxin A4 (LXA4) endogen, bisphenol A dan clomiphene citrate. (Young dkk,2013) Kerja reseptor nukleus ini tergambar dalam skema kerja klasik sebagai berikut, gambar 2.4. (Russell dkk,2011).



Gambar 2.4 Kerja klasik reseptor estradiol dan progesterone di nukleus. (a) reseptor steroid mengikat steroid kemudian mengikat kerja sekuens DNA. (b) Ligan non steroid dapat mengikat melalui reseptor steroid di nukleus. Co = coregulator, HRE : hormone response element, n= nuclear steroid receptor monomer, ns=nonsteroid; p= RNA polymerase; s= steroid

Sumber “ telah diolah kembali” (Russell dkk, 2011)

Estradiol dan progesteron sebagai hormon steroid sangat berperan dalam penentuan reseptivitas endometrium terhadap proses implantasi. Estradiol berperan dalam proses proliferasi endometrium dan kerja progesterone melalui stimulasi gen reseptor progesterone. Kerja estradiol diperkirakan melibatkan interaksi dengan reseptor nukleus yaitu estradiol receptor (ER) yang merupakan faktor transkripsi yang bersifat *ligand-dependen*. ER mempunyai 2 jenis yaitu ER- α dan ER- β . ER- α mengalami *upregulasi* pada fase proliferasi oleh estradiol dan mengalami *downregulasi* pada fase sekresi oleh pengaruh progesteron baik pada tingkat transkripsional maupun post transkripsional. Pada penelitian di hewan mencit menunjukkan peran ER- β dalam mediasi hormon steroid di uterus tidak terlalu bermakna.(Kuiper dkk,1996)

Sedangkan efek dari hormon progesterone dimediasi pada level intraseluler oleh reseptor progesterone yang terdiri dari dua isoform protein yaitu progesterone

receptor A (PR-A) dan progesterone Receptor B (PR-B). Kedua isoform ini tampak meningkat di epitel endometrium yang berhubungan dengan peningkatan estradiol pada fase proliferasi. PR-A mendominasi sepanjang siklus menstruasi di sel stroma yang menunjukkan peran yang bermakna dalam proses desidualisasi. Pada percobaan hewan mencit melalui ablasi selektif terhadap PR-A menghasilkan defek implantasi yang cukup signifikan yang berkaitan dengan hilangnya ekspresi gen yang menunjang reseptivitas yang selayaknya dimediasi oleh progesterone. (Mote dkk, 1999)

Secara umum diterima bahwa peran interaksi estradiol dengan reseptor estradiol sangat bermakna pada fase proliferasi tetapi peran ini masih belum secara ilmiah dibuktikan pada fase sekresi. Sedangkan peran progesterone sangat bermakna dalam proses implantasi dan kehamilan terutama pada fase sekresi yang terbukti baik pada manusia maupun pada hewan percobaan. Evaluasi kadar progesterone secara klinis dalam menentukan reseptivitas endometrium masih merupakan tantangan untuk menjawab pertanyaan akan adanya korelasi antara serum progesterone dengan interaksi progesterone dengan reseptornya di endometrium. Hal ini disebabkan oleh terjadinya fluktuasi serum progesterone yang disebabkan oleh proses alami yang terjadi di korpus luteum melalui pelepasan hormon ini secara *pulsatile*. Pola perubahan dan ekspresi hormon steroid dalam siklus haid wanita digambarkan dalam tabel 2.1 (Corner dkk, 1929)

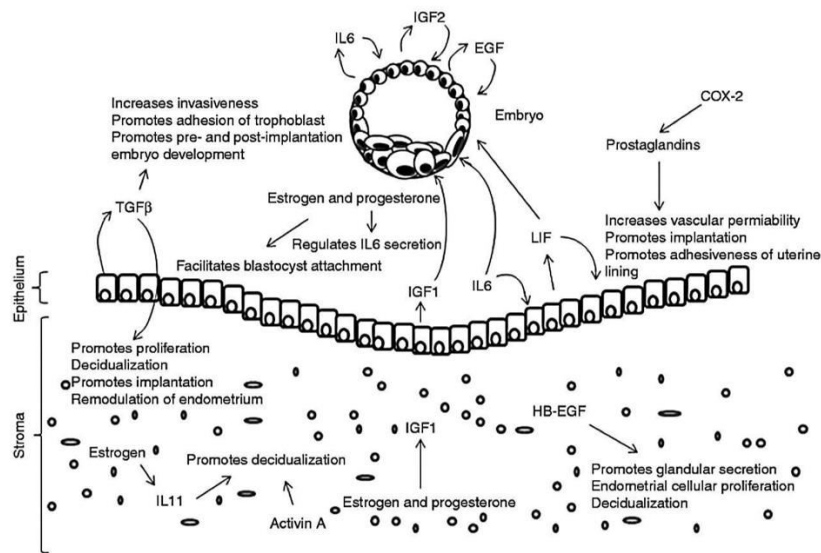
Tabel 2.1 Ekspresi reseptor steroid siklikal

Compartment	Phase			
	Proliferative	Early secretory	Mid-secretory	Late secretory
Epithelium				
Oestrogen receptor α	++++	++	-	-
Oestrogen receptor β	++	++	++	++
Progesterone receptor A	+++	++	-	-
Progesterone receptor B	+++	++	+	-
Stroma				
Oestrogen receptor α	+++	++	- or +	-
Oestrogen receptor β	++	+	+	+
Progesterone receptor A	++	++	++	++
Progesterone receptor B	++	++	+	-

Sumber “ telah diolah kembali” (Corner,1929)

Pada studi binatang oleh Keisuke dkk bahwa peningkatan kadar estradiol akan menginduksi fosforilasi serin dan bersama sitokin yang sinergis antara IL1, TNF- α dan TGF- β akan meningkatkan kadar LIF oleh sel decidua dan meningkatkan produksi kadar hCG di trophoblast yang menginduksi diferensiasi dan proliferasi trofoblas, gambar 2.5 (Singh dkk,2011). Peningkatan kadar LIF hanya dipengaruhi oleh peningkatan kadar estradiol tapi tidak oleh peningkatan progesterone dan kortikosteroid. Kadar progesterone mempengaruhi peningkatan ekspresi M-CSF di sel desidua.(Keisuke dkk, 1997, Singh dkk,2011)

Suboptimal dosis estradiol gagal untuk mengkonversi reseptivitas uterus, dimana kadar estradiol yang cukup tetap akan membuka jendela implantasi uterus yang reseptif sampai periode yang diperpanjang, tetapi secara cepat akan menutup pada kadar estradiol yang tinggi disertai dengan ekspresi uterus yang menyimpang dari gen yang terkait dengan implantasi. Karena itu sangatlah penting hubungan erat antara aktivitas reseptor estradiol bersamaan dengan progesterone untuk mencapai reseptivitas uterus yang normal. Progesteron adalah antagonis estradiol, sementara progesterone menghambat estradiol yang menginduksi proliferasi epitel akan bekerjasama untuk menunjang proliferasi sel stroma. (Singh dkk,2011, Zhaowei dkk,2014)



Gambar 2.5 Lintas hubungan embrio dan endometrium dalam implantasi.

Sumber “ telah diolah kembali” (Singh, 2011)

II.3.5. Petanda biologis endometrium yang spesifik

Upaya untuk mengetahui proses biologis yang terjadi pada tingkat biomolekuler telah mengalami perkembangan yang sangat pesat. Teknologi omik telah diaplikasikan untuk perkembangan penemuan petanda biologis yang akan sangat berguna dalam penelitian dibidang reseptivitas endometrium dan aplikasi klinisnya. Supaya embrio dapat berimplantasi dengan baik maka dibutuhkan endometrium yang reseptif, karena itu maka endometrium akan mengalami perubahan sehingga bisa membantu dan mendorong proses implantasi yang dilakukan oleh embrio. Perubahan yang dilakukan oleh endometrium adalah penempelan blastosis ke endometrium dan penetrasi blastosis kedalam stroma. Dimana stroma akan menolong dengan cara menahan, mempertahankan embrio, mengontrol invasi trophoblast, memproduksi zat dan faktor pertumbuhan, stroma merespons protein dan hormon dari ovarium dan embrio

Untuk mendapatkan keberhasilan implantasi ini pada manusia dibutuhkan interaksi dari dua faktor yaitu perkembangan embrio dan diferensiasi endometrium. Sinkronisasi keduanya sangatlah penting dalam menghasilkan suatu periode

perantara implantasi yang dikenal sebagai nidasi atau jendela implantasi. Pada jendela implantasi diantara endometrium dan embrio terjadi ekspresi molekul perlekatan sel yang berkontribusi terhadap proses menempelnya blastosis kedalam struktur endometrium (Boomsma dkk,2009). Molekul-molekul tersebut terdiri atas integrin, cadherin, selektin, immunoglobulin dan musin. Selain itu sitokin sebagai kumpulan molekul protein berperan penting dalam mengatur berbagai fungsi sel lain seperti proliferasi dan diferensiasi sel. Sitokin mempunyai peran reparasi dan proses seperti inflamasi yang sangat berpengaruh pada endometrium *remodeling* dalam siklus haid wanita. Hal ini berhubungan langsung dengan kapasitas endometrium dalam proses implantasi. Dimana untuk mengetahui kondisi tersebut adalah salah satunya dengan cara mengukur dan mengevaluasi kadar biokemikal seperti sitokin (leukemia inhibitory factor, colony stimulatory factor, dan interleukin-1), integrin (glycodelin dan MUCI). Diketahui adanya lima gen yang menunjukkan peningkatan ekspresi yang signifikan diatas 15 kali termasuk didalamnya Leukemia Inhibitory factor (LIF), Glutathione peroxidase 3 (GPX3), Progesterone-associated endometrial protein (PAEP), Cartilage oligomeric matrix protein (COMP), Solute carrier family 1 (SLC1A1).(Yelian dkk,1995)

II.4. Kisspeptin

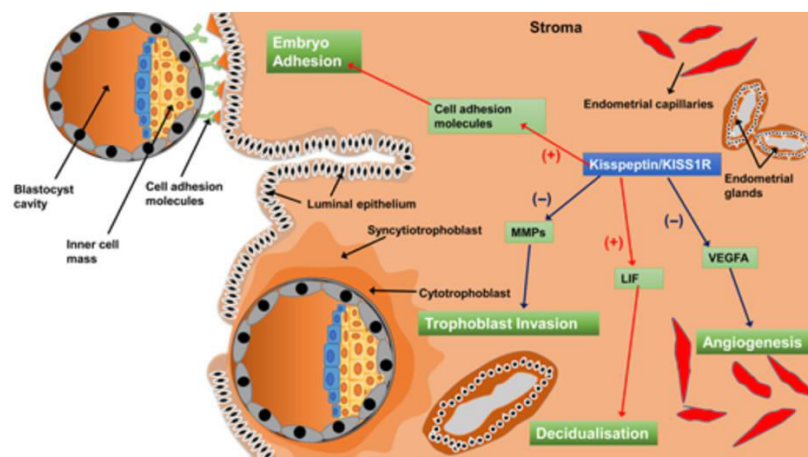
Kisspeptin terdiri dari 145 asam amino polypeptide dan mengkode gen KISS1 dan awalnya diidentifikasi sebagai gen supresor metastasis pada manusia dari keganasan melanoma di Hershey, Pennsylvania USA.(Lee dkk,1996). Pada manusia, gen KISS1 yang mengkode Kisspeptin berlokasi pada lengan panjang kromosom 1 pada q32 dan kemudian membelah kedalam 4 biologi peptide aktif dengan jumlah asam amino mereka, yaitu Kisspeptin-10,13,14 dan 54 (52 pada tikus). Namun Kisspeptin yang terbesar produksi proteolitiknya yaitu yang terdiri dari 52 asam amino yaitu Kisspeptin 54 dan yang terpendek peptidanya adalah Kisspeptin 10, yang mengindikasikan bahwa bagian terminal C dari peptide ini berkontribusi terhadap ikatan afinitas yang tinggi dengan aktivasi dari KISS1R. (Kotan dkk,2001)

Kisspeptin menghambat aktivitas matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) dan MMP-2 dengan memblokir translokasi nucleus dari faktor nukleus κ B (NF- κ B), juga menghambat VEGF dengan mendorong pengeluaran sekresi hormone dan apoptosis dan menghambat metastasis, migrasi, angiogenesis dan proliferasi. (Yan dkk,2001,Gao dkk,2007, Lee dkk,2012, Cho dkk,2009). Dari 4 Kisspeptin, hanya Kisspeptin-10 yang menghasilkan peningkatan Ca^{2+} intraseluler pada sel trophoblast pada awal plasentasi dan kemudian menghambat migrasi trophoblast tetapi tidak proliferasi, mengindikasikan bahwa kiss-10 adalah aktivator fisiologi dari KISS1R pada plasenta manusia. Studi yang sama juga menggambarkan bahwa Kisspeptin-10 menstimulasi penurunan aktivitas kolagenase dan mengurangi aktivitas MMP-2 yang menghasilkan pengurangan migrasi trophoblast (Bilban dkk,2004)

Studi sebelumnya ekspresi sistem Kisspeptin/KISS1R di sel ovarium dipengaruhi oleh kadar siklus menstruasi, sedangkan ekspresinya di endometrium berubah-ubah tergantung dari spesies. Pada endometrium manusia *immunostaining* dari peptida Kisspeptin dan KISS 1R sangat kuat dan terbatas pada sel epitel dan tidak terdeteksi pada stroma sel (Cejudo dkk,2012), studi lain menyatakan ekspresi Kisspeptin dan KISS R1 terdapat pada sel epitel dengan ekspresi yang lemah dan mendekati absen pada stroma sel endometrium selama fase proliferasi dan sekresi awal. Namun ekspresi Kisspeptin sangat menonjol di stroma sel endometrium pada fase sekresi akhir, mengindikasikan bahwa Kisspeptin mempunyai fungsi pada desidualisasi endometrium dalam persiapan plasentasi yang adekwat. (Baba dkk,2015). Namun pada binatang sel endometrium menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna perubahan ekspresi peptide Kisspeptin dan KISS 1R pada perubahan siklus ovarium. (Tanyapanyachon dkk,2018)

LIF adalah sitokin yang diperlukan untuk implantasi, dimana diproduksi pada epitel glanduler diuterus yang memulai komunikasi embrio dan uterus yang menyebabkan embrio menempel dan terjadi desidualisasi stroma (Shuya dkk,2011). Pada percobaan murine yang dihilangkan Kisspeptin 1(kiss1), LIF sangat lemah diekspresikan pada keejar uterus pada hari implantasi dan pemberian LIF eksogen pada yang dihilangkan KISS 1 dapat menyelamatkan faktor implantasi pada tikus model (Calder dkk, 2014). Berdasarkan data diatas Kisspeptin adalah regulator hulu

dari LIF, mekanisme dimana Kisspeptin mempengaruhi proses implantasi dengan mengatur kadar LIF, selanjutnya estradiol secara cepat akan mengatur ekspresi LIF, lebih jauh menggambarkan bahwa suplementasi LIF akan menyelamatkan desidualisasi dan implantasi pada uterus yang dilakukan ablasi reseptor estradiol pada tikus (Curtis dkk,2002), sehingga disimpulkan bahwa kiss 1 bersama dengan E2 akan menstimulasi ekspresi LIF. Beberapa Studi mengindikasikan bahwa alur E2-Kisspeptin-LIF akan mengatur proses implantasi, sehingga studi klinis bahwa defisiensi Kisspeptin plasma pada hari hCG akan menurunkan kemungkinan implantasi setelah ICSI (Jamil dkk, 2017). Gambar 2.6 menjelaskan sistem regulasi Kisspeptin dan LIF (Kai-Lun Hu dkk, 2019)



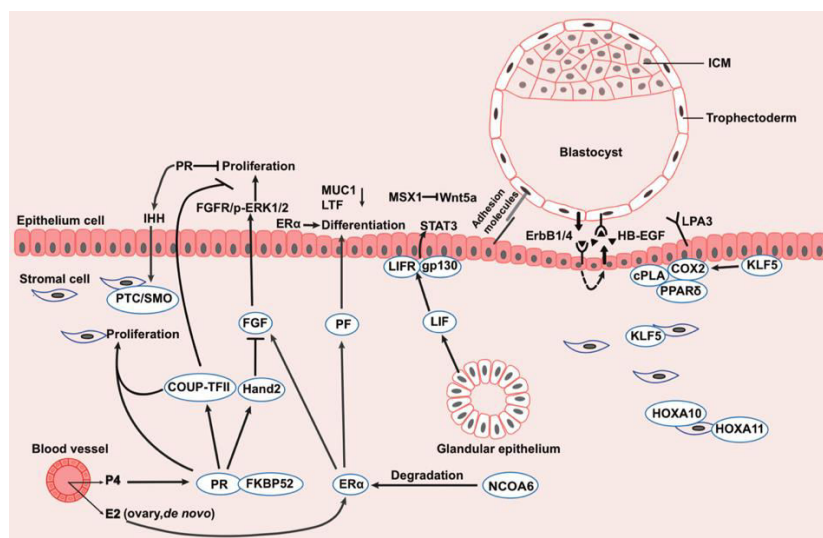
Gambar 2.6 Menunjukkan bagaimana sistem regulasi Kisspeptin/KISS 1R mengatur proses implantasi dan plasentasi

Sumber “ telah diolah kembali” (Kai-Lun Hu dkk, 2019)

II.5. Leukemia Inhibitory Factor (LIF)

Sitokin LIF adalah pleiotrophic glycoprotein yang merupakan keluarga interleukin 6. LIF pertama kali ditemukan di mencit sebagai faktor yang menghambat proliferasi sel myeloid leukemia dan merangsang diferensiasi sel menjadi makrofag. LIF mempunyai berbagai aktifitas biologis pada beberapa tipe sel yang berbeda (Fitzgerald dkk,2008), khususnya diendometrium LIF berperan penting dalam menentukan reseptivitas uterus melalui promosi proliferasi, invasi,

dan diferensiasi sel (Laird dkk,1997). Kemampuan protein ini identik dengan karakter lingkungan mikro di endometrium yang diperlukan untuk proses implantasi blastosis. Ekspresi LIF ditemukan di sel endometrium baik di epitel kelenjar maupun luminal yang meningkat aktivitasnya pada jendela implantasi. Peningkatan ekspresi LIF pada endometrium ini kemungkinan diregulasi oleh hormon progesteron yang meningkat pada fase luteal dalam siklus haid. Efek pleiotropik sitokin ini baru terjadi saat terjadinya ikatan antara LIF dan reseptor LIF (LIF-R) yang mempunyai dua protein transmembrane yaitu LIFR-B dan gp 130. Ikatan ini diakomodasi oleh interleukin 6 signal transducer (IL6ST) sebagai koreseptor. Sementara itu supresor sitokin signalling 3 (SOCS3) dapat menghambat signal LIF dan sebagai regulator negatif dari aksi kerja LIF yang berkompetisi dengan LIF-R. Keberadaan ekspresi LIF-R yang ditemukan pada blastosis juga memberikan bukti adanya hubungan komunikasi protein secara langsung antara embrio dan jaringan maternal. Sesaat setelah implantasi blastosis pada trophoblast terjadi peningkatan ekspresi LIF dan LIF-R, gambar 2.7 (Kraclickova dkk,2005)



Gambar 2.7 Dasar hormonal dan molekuler reseptivitas uterus

Sumber “ telah diolah kembali” (Kraclickova dkk,2005)

LIFR akan mengaktifkan beberapa jalar sinyal tipe sel yang termasuk didalam JAK/STAT (*Janus kinase-signal transducer and activator of*

transcription), MAPK (Mitogen activated protein kinase) dan P12-kinase.(Duval dkk,2000) Pada wanita yang fertile LIF mRNA hanya diekspresikan pada hari ke 18-28 siklus menstruasi. mRNA dan protein LIF pada manusia terlokalisasi kebanyakan diepitel glandular dan luminal diuterus manusia. Sebagian imunoreaktif LIF juga ditemukan di stroma endometrium. Pada fase midsekresi mRNA LIF ditemukan terbatas hanya diepitel glandular dan luminal. Ekspresi mRNA LIF banyak ditemukan dilekosit desidua terutama didaerah implantasi. Hal ini memberikan kesan bahwa LIF kemungkinan menjadi mediator dari lekosit desidua maternal dan sitotrofoblas. Tapi beberapa faktor lokal lainnya seperti HB-EGF dan TGF- β 1, dalam penelitian *invitro* juga menunjukkan peran yang penting dalam hal sekresi LIF endometrium. Laird menunjukkan bahwa kadar protein LIF sangat meningkat pada fase sekresi yang berhubungan dengan fase implantasi. LIF juga terlihat berperan dari sisi embrio dimana Charnock-Jones mengidentifikasi banyaknya ekspresi LIFR diblastosis pada saat preimplantasi.(Charnock dkk,1994)

Secara studi bahwa LIF terlibat dalam kejadian selama proses implantasi yang termasuk transformasi endometrium kedalam fase reseptif, interaksi embrio dan endometrium, invasi trofoblas, pertumbuhan dan perkembangan blastosis, infiltrasi lekosit uterus, berperan dalam regulasi sintesis prostaglandin yang penting sebagai mediator implantasi dan desidualisasi. Sebagai bukti LIF berperan penting dalam proses implantasi di endometrium maka pada hewan mencit yang dilakukan mutasi terhadap gen LIF, tidak terjadi implantasi sama sekali. Perlu diketahui bahwa penambahan LIF eksogen akan meningkatkan viabilitas dan kemampuan meretas pada beberapa spesies, tetapi walaupun terjadi implantasi maka embrio yang tidak mempunyai LIFR dan gp 130 akan mengalami kegagalan perkembangan kehamilan. IL-6 dan IL-11 juga merupakan sitokin yang penting sebagai pendukung dari proses implantasi. Berbeda dengan LIF maka gangguan terhadap defek IL-11 diendometrium terjadi pada paska implantasi.(Ware dkk,1995). Beberapa *growth factor* seperti Heparin binding epidermal growth factor (HBEGF), TGF β , Fibroblast growth factor (FGF), Insulin like growth factor (IGF), terlihat terjadi peningkatan ekspresi pada fase sekresi. Tetapi secara khusus belum terlihat

satupun yang menonjol karena pada mencit yang dihilangkan kemampuan ekspresi *growth factor* ini tidak terlihat adanya gangguan implantasi.

Pengukuran LIF manusia dan murine dalam cairan biologis dilakukan oleh bioassay, dengan tingkat LIF yang dapat dideteksi sebesar 2 ng / mL. Peningkatan sensitivitas dicapai dengan RIA, yang mendeteksi 1 ng / mL manusia. Baru-baru ini, metode assay immunosorbent terkait enzim telah dikembangkan dengan tingkat hLIF yang dapat dideteksi bervariasi dari 1–150 pg / mL menggunakan antibodi monoklonal atau poliklonal. Untuk menentukan kemaknaan sirkulasi LIF dan regulasi LIF dalam kondisi fisiologis dan patologis, kami menetapkan LIF RIA yang spesifik, sensitif, tepat, dan lancar dalam mengukur LIF dalam cairan biologis. (Ren dkk,1998, Nicos dkk,1962)

Pada endometrium mencit dengan ekspresi gen LIF yang rendah, walaupun siklus ovulasi terjadi secara rutin, tetapi terjadi kegagalan proses implantasi blastosis berulang. Sementara pada populasi wanita infertile didapatkan peningkatan prevalensi kondisi ekspresi gen LIF diendometrium yang rendah pada fase midluteal. hal ini menunjukkan pentingnya peran LIF dalam proses implantasi. Implikasi akan adanya perubahan dalam lingkungan artifisial seperti pada program FIV telah dipelajari dalam beberapa penelitian. Tetapi belum ada hasil yang bisa memperkirakan perubahan yang terjadi pada endometrium karena kondisi pengaruh estradiol yang cukup tinggi. Griemlich mempelajari LIF pada serum darah yang menunjukkan adanya perbedaan LIF diantara luaran kehamilan dengan kehamilan kimiawi/ keguguran trimester pertama pada program FIV (AUC =0,70, 95% CI 0,55-0,85, p=0,031).(Griemlich dkk,2012)

Karena kadar LIF darah tidak memberikan korelasi terhadap ekspresi gen dan reseptornya, sampel pemeriksaan yang ideal adalah langsung dari kavum uteri. Sampel yang paling akurat untuk mendapatkan informasi tersebut adalah dengan menggunakan analisis histokimia molekuler yaitu dengan pengambilan jaringan dari endometrium. Pemeriksaan komersial assay LIF menggunakan metode ELISA mempunyai limit deteksi 0,7 pg/ml (Thermos Fisher Scientific, US). Metode noninvasif ini akan membantu analisis kuantifikasi ekspresi gen seperti LIF pada

endometrium yang akan membuka celah untuk mengetahui informasi genomik pada proses implantasi dan dapat dilakukan secara cepat. Tawfeek (tabel 2.2) menunjukkan bahwa LIF menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,001$) pada sampel bilasan endometrium dimana pasien yang fertile kadar LIF 18-120 pg/ml (mean $48,8 \pm 28,9$) dan yang infertile 0,5-35 pg/ml (mean $3,9 \pm 7,5$), sedangkan pada sampel endometrium semua pasien fertile (100%) menunjukkan ekspresi LIF mRNA dan pasien infertile hanya 12 % yang menunjukkan ekspresi LIF mRNA. Adapun Analisa varian gp 130 pada endometrium menunjukkan ekspresi yang sangat lemah pada keduanya baik pasien infertile dan fertile dengan tidak berbeda bermakna ($P > 0,05$) (Tawfeek dkk,2012). Dengan perubahan biomolekuler pada proses stimulasi secara suprafisiologis dalam program FIV, informasi akan ekspresi LIF pada endometrium penting untuk dianalisis terutama akibat pengaruh tinggi rendahnya hormone steroid pada jendela implantasi.

Tabel 2.2 Perbandingan plasma hormon, reseptor progesterone endometrium dan ekspresi LIF dan gp 130 dalam endometrium dan bilasan uterus dari wanita fertile dan infertile

	Fertile	Infertile	Significance, P
Age (mean \pm SD)	30.7 \pm 6.5	31.1 \pm 4.2	>0.05
Prolactin (mean \pm SD)	13.1 \pm 5.6	11.7 \pm 4.4	>0.05
FSH in Serum	5.6 \pm 1.8	6.9 \pm 1.4	>0.05
LH in serum	9.3 \pm 4.0	8.1 \pm 5.1	>0.05
Estradiol in serum	9.1 \pm 3.3	10.5 \pm 4.0	>0.05
Progesterone receptor in endometrium	Expressed in 100%	Expressed in 100%	>0.05
LIF			
In uterine flushing	48.8 \pm 28.9	3.9 \pm 7.5	<0.001*
In endometrium	Expressed in 100%	Expressed in 12%	<0.001*
gp130			
In uterine flushing	182 \pm 77	51.5 \pm 27.5	<0.001*
In endometrium	Expressed in 70%	Expressed in 76%	>0.05

* denotes statistical significance.

Sumber “ telah diolah kembali” (Tawfeek dkk,2012)

II.6. Teknologi Reproduksi Berbantu

Definisi TRB adalah Suatu Teknologi reproduksi yang membantu pasangan suami istri untuk mendapatkan keturunan dengan cara mempertemukan sel sperma dan sel telur secara *invitro* dan dikembalikan lagi kedalam rahim

setelah membentuk embrio. Adapun indikasi untuk dilakukan FIV yang dirangkum dalam konsensus POGI 2013 adalah sebagai berikut: (Hestiantoro dkk,2013)

1. Faktor sperma yang tidak dapat dikoreksi dengan pembedahan atau obat
2. Oklusi tuba bilateral yang tidak dapat dikoreksi
3. Tidak hamil pasca inseminasi tiga kali
4. Enam bulan pasca koreksi tuba tetapi tidak terdapat kehamilan
5. Endometriosis derajat sedang-berat (derajat minimal- ringan pasca inseminasi intrauterine tidak terdapat kehamilan
6. Infertilitas idiopatik dimana setelah tiga tahun terapi tidak hamil
7. Gangguan ovulasi dan penurunan cadangan telur

II.6.1. Tahapan-tahapan proses FIV

II.6.1.1. Stimulasi ovarium

Prinsip dasar proses FIV adalah upaya untuk mempertemukan oosit secara *invitro* dengan sperma yang diharapkan akan menjadi embrio sebagai hasil konsepsi yang mempunyai potensi implantasi yang tinggi. Secara alami pada siklus haid akan terjadi proses seleksi terhadap sekelompok antral folikel yang akan terpilih melalui konsep dasar *two cell theory*. Sementara pada program FIV melalui upaya stimulasi yang dilakukan menggunakan gonadotrophin eksogen, diharapkan rekrutmen terhadap multifolikel dapat terjadi sehingga didapatkan sejumlah oosit yang diharapkan mempunyai kompetensi yang baik. Konsekuensi akan pemberian gonadotrophin dosis tinggi adalah terakumulasinya hormon estradiol yang cukup tinggi diatas batas fisiologis. Dalam proses ini sekitar 19% kasus akan mengalami peningkatan dini hormon progesterone pada fase folikularis yang secara klinis berkaitan dengan berkurangnya kemungkinan implantasi. (Bosch dkk,2010)

II.6.1.2. Supresi ovulasi

Terbentuknya FSH-R dan LH-R akan menentukan produksi sex steroid yang akan memberikan umpan balik ke hipotalamus dan hipofisa dalam proses lonjakan produksi LH sebagai awal dari proses stimulasi ovulasi. Penanganan ovulasi menjadi penting dimana beberapa protokol telah diterapkan dengan

mempertimbangkan efikasi dan kemudahan dalam proses bagi pasien dan dokter. Saat ini supresi ovulasi dapat dilakukan dengan dua acara yaitu:

II.6.1.2.1 Protokol agonist

GnRH agonist diberikan sebagai modalitas pada midluteal pramenstruasi dengan tujuan membuat *down regulation* yang kemudian dilanjutkan dengan proses stimulasi ovarium dengan gonadotrophin dosis tinggi.

II.6.1.2.2 Protokol antagonist

Proses stimulasi ovarium dimulai dengan pemberian gonadotrophin dosis tinggi yang dilanjutkan dengan pemberian GnRH antagonist pada fase mid folikularis. Memerlukan waktu sekitar dua minggu untuk sampai tercapainya proses stimulasi ovarium. Protokol ini lebih banyak dipakai karena lebih mudah dan risiko *ovarian Hyperstimulation Syndrome* (OHSS) lebih rendah.(Devroy dkk, 2009, Eshre 2011)

II.6.1.3. Pemicu Ovulasi

Dalam memasuki fase akhir maturasi oosit dan proses ovulasi, secara artificial lonjakan LH digantikan dengan HCG eksogen sebagai substitusi. Dalam beberapa penelitian terakhir penggunaan GnRH agonist dapat diperikan sebagai alternative untuk pemicu (*trigger*) ovulasi. Devroy menunjukkan angka OHSS yang lebih rendah dengan menggunakan agonist GnRH sebagai *trigger*. (Devroy dkk,2009)

II.6.1.4. Tindakan Petik telur (Ovum Pick Up)

Sekitar 36 jam setelah mendapatkan suntikan pemicu ovulasi maka akan dijadwalkan tindakan petik telur, tindakan ini adalah suatu proses aspirasi sel telur melalui vagina dengan menggunakan jarum khusus yang dipandu dengan menggunakan usg transvaginal. Tindakan ini dilakukan dengan menggunakan anestesi ringan baik melalui medikamentosa sedatif atau anestesi lokal.

II.6.1.5. Kultur embrio

Pembuahan sel telur oleh sperma biasanya dilakukan dalam 3 jam paska petik telur dan dalam 24 jam sudah dapat diliat apakah proses pembuahan sudah

terjadi. Perkembangan teknologi kultur embrio *in vitro* telah mencapai kemajuan yang sangat pesat. Dengan sistem kultur yang tersedia secara komersial saat ini kemampuan euploid blastosis untuk implantasi pada pasangan infertile mencapai 56,8%. Penilaian kemampuan pembelahan embrio ini diamati mulai dari hari fertilisasi (hari ke-0) sampai dengan blastosis (hari ke-5), penilaian ini dilakukan berdasarkan morfologi embrio yang masih merupakan standard emas dalam penentuan kriteria embrio. Konsensus Alpha mengeluarkan kriteria morfologi dengan tujuan untuk menyamakan persepsi tentang bagaimana sistem skoring yang dipakai dalam penentuan kualitas embrio.(Eshre,2011)

II.6.1.6. Transfer embrio

Adalah metode memasukan embrio kedalam rahim wanita dengan menggunakan kateter khusus yang dipandu usg transabdominal dengan cara memenuhi kandung kencing dan proses ini tanpa memerlukan anestesi. Penentuan untuk melakukan transfer satu, dua atau bahkan lebih dari dua embrio adalah sesuai dengan protokol medis di setiap klinik yang berbeda beda. Dengan metodologi penilaian secara morfologi yang tepat dan penentuan kondisi endometrium yang reseptif akan membantu upaya untuk mengurangi jumlah embrio yang ditanamkan dan akhirnya akan membantu upaya untuk peningkatan luaran perinatal dari hasil program FIV, hal ini mengingat kehamilan ganda pada program FIV mempunyai 53% risiko kematian perinatal yang lebih tinggi.(Sullivan dkk,2012)

II.6.1.7. Pemberian obat penunjang fase luteal

Karena proses terapi FIV ini maka akan terjadi kondisi defek fase luteal sehingga perlu diberikan obat penunjang fase luteal seperti progesterone intravaginal selama masa menunggu tes kehamilan.

II.6.1.8. Pemeriksaan konfirmasi kehamilan

Konfirmasi kehamilan adalah dengan menggunakan tes beta HCG darah enam belas hari setelah proses petik telur. Konfirmasi kehamilan secara klinis dilakukan melalui usg transvaginal empat minggu paska petik telur atau enam minggu usia gestasi dengan terlihatnya berapa jumlah kantong kehamilan dan fetus yang tampak.

II.6.2. Pengaruh Hiperstimulasi ovarium terkontrol

FIV adalah suatu proses suprafisiologis yang terjadi dengan penggunaan hormon gonadotrophin eksogen. Dalam hal ini perubahan yang terjadi secara signifikan adalah meningkatnya kadar estradiol yang tinggi pada fase proliferasi seiring dengan tumbuhnya multi folikel dalam proses hiperstimulasi ovarium terkontrol. Hal ini menyebabkan terjadinya perubahan pertumbuhan endometrium yang potensial mempunyai gangguan terhadap proses implantasi. (Bosch dkk,2010; Devroy dkk,2009; Eshre,2011; Sullivan dkk,2012). Perubahan terhadap endometrium pada siklus dengan stimulasi pada FIV menunjukkan perubahan proses sekresi pada fase paska ovulasi dan fase luteal awal yang dilanjutkan dengan disinkronisasi diferensiasi glanduler dan stroma pada fase midluteal. Walaupun bukti juga menunjukkan adanya perubahan terhadap pengaturan reseptor estradiol dan progesterone yang disertai dengan ekspresi premature terhadap pembentukan pinopoda dan integrins, pada proses stimulasi FIV ini belum mempunyai korelasi secara klinis yang jelas. Rendahnya kadar plasma LIF pada hari transfer embrio dalam program FIV meningkatkan risiko gagal implantasi dan keguguran pada awal kehamilan.(Griemlich dkk,2012), hal ini menunjukkan pentingnya perubahan ekspresi gen yang terjadi pada proses hiperstimulasi ovarium terkontrol yang berkaitan dengan luaran klinis program FIV. Pengaruh peningkatan estradiol yang berlebihan akan menyebabkan efek samping seperti sindroma hiperstimulasi ovarium yang akan berpengaruh negatif terhadap proses implantasi dan kondisi pasien. Banyak penelitian yang dilakukan untuk menentukan kadar estradiol yang aman untuk menghindari terjadinya sindroma tersebut, tapi dari kebanyakan studi memilih kadar estradiol diatas 3000 pg/ml dapat dipakai sebagai dasar untuk memprediksi terjadinya sindroma hiperstimulasi ovarium sehingga dipertimbangkan untuk dilakukan pembekuan embrio terlebih dahulu.(A. Benadiva dkk,1997)

II.6.3. Vitrifikasi

Teknik vitrifikasi telah meningkatkan utilisasi embrio beku dibandingkan dengan *slow freezing*. Beberapa penelitian menunjukkan adanya perbedaan yang

signifikan baik dari angka bertahan hidup paska pengenceran embrio dan angka kehamilan klinis. Data terkinipun tidak menunjukkan perbedaan bermakna antara luaran klinis program FIV embrio segar dan program embrio beku. karena itu suatu pertimbangan untuk dilakukan pembekuan embrio dan dilakukan transfer pada siklus alami adalah untuk mengurangi risiko terjadinya sindroma hiperstimulasi ovarium dan memberikan luaran perinatal yang baik.

Shapiro menunjukkan perbedaan bermakna dalam uji klinik acak bahwa angka kehamilan klinis pada program FIV beku dan segar adalah 84% dan 54,7%, dengan angka implantasi 70,8 % dan 50,9%. Demikian pula Zhu juga menunjukkan angka keberhasilan kehamilan yang lebih tinggi pada program FIV beku. Walaupun demikian penemuan ini masih banyak diperdebatkan pada uji klinik lain yang tidak mendukung adanya perbedaan bermakna. Seperti Levi yang mencoba mempelajari perbedaan reseptivitas endometrium dan implantasi embrio pada program FIV otologus dan program donor telur dan tidak menemukan adanya perbedaan reseptivitas endometrium maupun kemungkinan kehamilan.(Shapiro dkk,2011, Horcajadas dkk,2005, Zhu dkk,2011