

Eksresi Mmp-9 di Endometrium Mioma Uteri Intra Mural yang Mengalami *Heavy Mestrual Bleeding* dan *Non Heavy Mestrual Bleeding*

K. Yusuf Effendi^{1*}

¹Subdivisi Fertilitas Endokrin dan Reproduksi Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Indonesia

*E-mail:dr.yusufspog@gmail.com

Abstrak

Perdarahan yang terjadi pada mioma uteri intramural sampai saat ini mekanismenya belum terungkap jelas. Diduga pada saat menjelang menstruasi terjadi penurunan kadar progesteron dan estrogen (*progesterone withdrawal*) akan menurunkan TIMP yang berperan menghambat produksi dan pelepasan MMP. Penurunan TIMP kemudian akan menyebabkan ekspresi MMP meningkat. Penelitian ini bertujuan menganalisis ekspresi MMP-9 pada mioma uteri intramural. Disain *cross sectional* menggunakan kelompok kasus dan kontrol (wanita mioma uteri intramural tanpa *heavy menstrual bleeding*[HMB]), kedua kelompok dilakukan biopsi endometrium untuk kemudian dilakukan pemeriksaan imunohistokimia untuk menilai ekspresi MMP-9. Setelah dilakukan analisis t-test pada kelompok kasus didapatkan variabel MMP-9 signifikan mempengaruhi perdarahan ($p = 0,003$) dengan estimasi rasio prevalensi sebesar 1,47 (1,016 – 1,079) yang artinya MMP-9 meningkatkan risiko terjadinya perdarahan 1,047 kali. Kesimpulan penelitian ini adalah MMP-9 signifikan mempengaruhi perdarahan pada penderita mioma uteri intramural.

Abstract

Bleeding that occurs in intramural myoma to date have not revealed the clear mechanism. Presumably, the decrease of progesteron and estrogen by the time of menstruation occurs (progesterone withdrawal) will decrease the TIMP which inhibit the production and release of MMP. TIMP reduction will lead escalation of MMP expression. This study aims to analyze the expression of MMP-9 in intramural myoma. Cross sectional study involve two group of study, case and control (intramural uterine myoma women without heavy menstrual bleeding[HMB]), Endometrial biopsy were performed on both group, and the expression of MMP-9 were checked using immunohistochemistry. This study shows t-test analysis was performed on case group and MMP-9 was found to be significantly affecting the bleeding outcome ($p = 0,003$) with pravalence ratio of 1,047 (1,016 – 1,079) which indicate that MMP-9 increase 1,047 the risk of bleeding. Conclusion of this studi is MMP-9 significantly affect bleeding in patients with intramural myoma.

Keywords: Bleeding, Intramural Myoma, MMP-9

1. Pendahuluan

Mioma uteri, dikenal juga dengan nama leiomioma atau fibroid merupakan tumor jinak yang paling sering dijumpai pada uterus, ditemui pada 30-40% wanita usia reproduktif. Tumor ini berasal dari otot uterus dan jaringan ikat fibrosa di sekitarnya. Meskipun tidak memiliki kapsul sejati, tumor ini diselubungi oleh pseudokapsul yang merupakan jaringan ikat longgar yang terdesak akibat pertumbuhan sarang mioma ini.¹

Berdasarkan lokasinya, FIGO membagi mioma uteri dibedakan menjadi 0-8 tipe. Mioma intramural merupakan jenis yang paling sering ditemukan dan biasanya jarang menimbulkan gejala. Namun pada beberapa kasus dapat juga terjadi gangguan menstruasi seperti HMB dan infertilitas. Sampai saat ini mekanisme terjadinya HMB dan infertilitas pada mioma uteri intramural sampai saat ini belum terungkap.²⁻⁶

Penelitian Inaguki dkk (2003)

menjelaskan HMB terjadi diduga akibat sel otot polos mioma melepaskan faktor angiogenik dan faktor pertumbuhan seperti VEGF, FGF, TGF beta dan MMP-9 tetapi mekanismenya belum jelas.⁴ Penelitian terakhir kemudian mengungkapkan bahwa HMB terjadi karena meningkatnya ekspresi VEGF dan MMP-9 pada endometrium.⁷ Berdasarkan latar belakang ini, maka penelitian ditujukan untuk menilai adakah pengaruh MMP-9 pada kasus HMB pada pasien mioma uteri intramural.

2. Metode

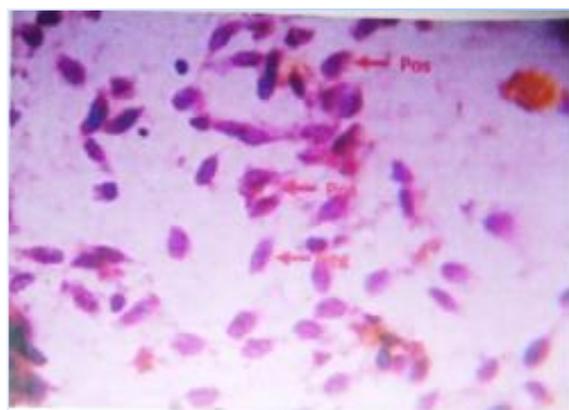
Penelitian ini merupakan studi observasional analitik dengan rancangan *cross sectional* yang melibatkan wanita usia 25-45 tahun, yang memiliki siklus haid teratur, tidak sebagai akseptor kontrasepsi hormon atau obat hormonal selama 3 bulan, dan tidak menderita gangguan pembekuan darah, dan tidak sedang dalam pengobatan antikoagulan. Seluruh subjek yang bersedia ikut penelitian kemudian dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kasus (wanita dengan mioma uteri intramural (MIM) yang mengalami HMB) dan kontrol (wanita dengan MIM yang tidak mengalami HMB).

Kedua kelompok subjek diberi penjelasan tentang prosedur penelitian, subjek yang setuju mengikuti penelitian menandatangani *informed consent*. Subjek yang memenuhi kriteria penelitian dilakukan anamnesis mengenai hari pertama haid terakhir, siklus haid tiga bulan terakhir, siklusnya secara teratur. Dilakukan pemeriksaan fisik meliputi tanda vital, jantung, paru, hati, ginjal dan penimbangan berat badan, dilanjutkan pemeriksaan ginekologik dan USG. Biopsi dilakukan pada akhir fase sekresi pada MIM yang tidak HMB pasien infertil dan biopsi endometrium pada sampel MIM saat HMB berlangsung. Tiap sampel dilakukan biopsi endometrium di RSMH Palembang, biopsi endometrium pada kelompok kasus diambil dengan kuretase pada lokasi dekat mioma dengan kuret hisap pipelle (*Prodimed 60530; Neully-en-Thelle, France*) dan dipandu dengan

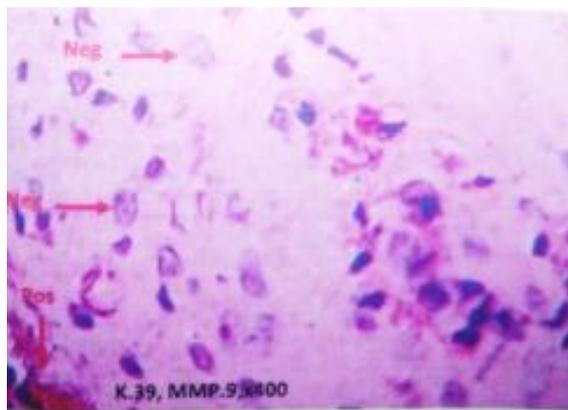
USG, sementara pada kontrol dilakukan biopsi pada dinding lateral saat akhir fase sekresi. Sampel biopsi difiksasi dengan formalin buffer (pH 7,4) selama 15-24 jam. Dilakukan blok paraffin di bagian Patologi Anatomi FK Unsri/RSMH Palembang. Proses selanjutnya dilakukan pemeriksaan imunohistokimia untuk menentukan ekspresi MMP-9 secara *single blind* di laboratorium ITD FK Unair. Hasil pemeriksaan patologi anatomi diklasifikasikan dalam keadaan fase sekresi, apabila hasilnya menunjukkan fase proliferasi akan dikeluarkan (*drop out*). Analisis komparasi ekspresi MMP-9 dilakukan dengan uji t-test untuk variabel interval yang berdistribusi normal (dibuktikan dengan uji normalitas).

3. Hasil

Diperoleh 44 sampel biopsi endometrium yang berasal dari 22 subjek kelompok kasus dan 22 subjek kelompok kontrol. Berdasarkan gambaran histopatologi, diketahui bahwa ekspresi MMP-9 positif pada kelompok kasus (gambar 1), dan negatif pada kelompok kontrol (gambar 2).



Gambar 1. Pemeriksaan imunohistokimia MMP-9 pada MIM berdarah. Hasil pemeriksaan Imunohistokimia tampak ekspresi MMP-9 positif pada MIM berdarah dengan pembesaran 400x mikroskop Olympus



Gambar 2. Pemeriksaan imunohistokimia MMP-9 pada MIM tidak berdarah. Hasil pemeriksaan imunohistokimia tampak ekspresi MMP-9 negatif pada MIM berdarah dengan pembesaran 400x mikroskop Olympus

Tabel 1. Uji Normalitas MMP-9

Kelompok Responden	Kolmogorov-Smirnov	
	Z	Signifikansi
Berdarah (Kasus)	0,430	0,993
Kontrol	0,859	0,451

Berdasarkan uji normalitas dengan Kolmogorov Smirnov (tabel 1) diketahui bahwa sebaran data ekspresi MMP-9 berdistribusi normal.

Tabel 2. Perbandingan MMP-9 pada kasus dan kontrol

Kelompok Responden	Ukuran Statistik		t	P
	Mean	SD		
Kasus	46,41	15,807	-11,215	<0,001
Kontrol	7,59	3,699		
TOTAL	27,00	22,676		

Tabel 2. Menunjukkan bahwa ekspresi MMP-9 pada kelompok kasus lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Dengan menggunakan uji-t tidak berpasangan diperoleh nilai $t = -11,215$ dengan signifikansi $<0,001$. Jika digunakan α sebesar 2,5% (0,025) maka dapat disimpulkan ada perbedaan MMP-9 antara kelompok kasus dan kontrol.

4. Pembahasan

Penelitian ini adalah penelitian *cross sectional* dengan menggunakan kelompok kontrol yang bertujuan untuk mengungkap mekanisme terjadinya perdarahan pada HMB. Beberapa ahli menjelaskan terjadinya HMB pada MIM diduga berhubungan dengan lokasi, ukuran dan jumlah mioma uteri, perluasan endometrium, desakan mioma uteri, venule ektasi, abnormalitas vaskularisasi, gangguan kontraksi, inflamasi, pengaruh *progesteron withdrawal* serta pengaruh *growth factor* dan sitokin di endometrium. Mekanisme terjadinya HMB sampai saat ini masih belum tuntas,¹ sehingga penatalaksanaan HMB pada MIM masih beragam. Langkah kunci keberhasilan penanganan suatu penyakit adalah dengan mengetahui mekanisme dengan jelas. Diharapkan dengan mengungkapkan mekanisme terjadinya HMB pada MIM dapat menatalaksanai kejadian HMB dan MIM.

Adapun hasil analisis ekspresi MMP-9 pada penelitian ini ditemukan perbedaan bermakna $p < 0,025$ antara MMP-9 kelompok kasus dan kontrol. Artinya ekspresi MMP-9 di endometrium kelompok MIM yang mengalami HMB lebih banyak daripada kelompok MIM tanpa HMB.

Inaguki, Otami dkk meneliti MMP-2 dan MMP-9 pada HMB bukan mioma uteri didapatkan peningkatan ekspresi MMP-2 dan MMP-9 di endometrium yang mengalami perdarahan dibandingkan yang tidak mengalami perdarahan.⁴ Salamonsen dkk melakukan penelitian saat menstruasi dan didapatkan peningkatan ekspresi MMP-9 di endometrium.⁸ Zhang dkk pada penelitian saat menstruasi juga mendapatkan peningkatan ekspresi MMP-9 di endometrium dibandingkan fase lain.⁹ Feritas dkk pada penelitiannya mendapatkan ekspresi MMP-9 meningkat pada pembuluh darah endometrium yang mengalami menstruasi. Demikian juga Soini dan Cornet menemukan peningkatan ekspresi MMP-9 di sel epitel dan stroma endometrium yang mengalami perdarahan.^{10,11} Silvester dkk menyebutkan terjadi peningkatan ekspresi MMP-2 dan MMP-9 di endometrium pada HMB, tetapi

mekanismenya belum jelas.¹²

Mekanisme MMP-9 penyebab perdarahan adalah MMP-9 yang diaktifkan oleh makrofag akan menghancurkan kolagen tipe IV yang banyak terdapat pada membran basalis epitel endometrium, stroma endometrium dan lapisan endothel endometrium sehingga terjadi perdarahan. Selain itu kerjanya merusak permukaan reseptor sel dengan melepaskan *apoptotic ligands* (semacam *FAS ligand*), berperan mengaktifasi atau inaktivasi kemokin/sitokin. Peran ini terlihat pada saat proliferasi, migrasi, differensiasi, angiogenesis, apoptosis, dan pertahanan. Finn dkk pada penelitiannya menemukan bahwa modulasi MMP-9, TGF-beta, TNF1-alfa, endothelin dan prostaglandin dipengaruhi oleh progesteron.¹³

MMPs terdiri dari MMP-1 sampai dengan MMP-28. Pembagian fungsi ini dikelompokkan berdasarkan lokasi sel. Secara fungsi dibagi berdasarkan *collagenases*, *stromelysin* dan *membrane type MMPs (MT-MMPs)*. *Collagenases* berperan menghancurkan *triple-helical fibrillar collagens*. Yang banyak terdapat pada tulang dan kartilago. *Gelatinase* sama dengan *type IB collagen* dan gelatin terdapat di endometrium. *Gelatinase* ini adalah MMP-2 dan MMP-9. *Stromelysin* termasuk kelompok MMP-3, MMP-10, dan MMP-11. *Membrane type MMPs* termasuk kelompok MMP-14, MMP-15, MMP-17, MMP-24, dan MMP-25. MMPs berperan dalam *tissue remodeling* baik secara fisiologis maupun patologis seperti morfogenesis, angiogenesis, tissue repair. Semua MMPs disintesa dalam bentuk laten. Disekresi sebagai proenzym dan diaktivasi oleh protease lain. MMPs dihambat oleh *endogenous tissue of metalloproteinases (TIMPs)*, yang terdiri dari TIMP-1, TIMP-2, dan TIMP-4. MMPs berperan menghancurkan ECM pada 2/3 atas lapisan fungsional endometrium yang merupakan faktor utama penyebab perdarahan pada proses menstruasi.^{8,9}

Bedasarkan penelitian ini maupun peneliti-peneliti terdahulu peran MMP-9 menjadikan faktor kunci utama penyebab perdarahan secara fisiologis/saat menstruasi maupun

perdarahan patologis termasuk HMB yang terjadi pada mioma uteri intramural, akan tetapi penelitian MMP-9 pada mioma uteri masih sedikit. MMP-9 merupakan protein yang berfungsi menghancurkan matriks ekstraseluler. Matriks ekstraseluler di endometrium banyak terdapat pada stroma endometrium dan membran dasar epitel serta lapisan endothel. Pengaktifan MMPs dari pro MMPs menjadi MMPs diregulasi oleh makrofag yang berasal dari daerah inflamasi yang disebabkan oleh faktor mekanis. Regulasi MMPs bisa juga dilakukan oleh pengaruh progesteron melalui TGF-beta dan TIMP. MMP-9 menghancurkan kolagen tipe IV di membran basalis dan lapisan endothel di endometrium.

Pada penelitian ini ekspresi MMP-9 di endometrium MIM yang mengalami HMB lebih banyak. Hal ini menunjukkan yang menjadi faktor penyebab peningkatan ekspresi MMP-9 pada penelitian ini bukan berasal dari *progesteron withdrawal* tetapi berasal dari inflamasi akibat faktor desakan mekanis akibat pembesaran pertumbuhan MIM sehingga terjadi HMB. Dengan kata lain mekanisme terjadinya HMB pada MIM bukan disebabkan oleh turunnya progesteron tetapi karena inflamasi akibat desakan mekanis pertumbuhan MIM. Hal ini berbeda dengan penelitian terdahulu, HMB yang terjadi diakibatkan oleh *progesteron withdrawal*.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, diantaranya sulitnya mendapatkan sampel yang memenuhi kriteria inklusi oleh karena kebanyakan penderita mioma uteri yang datang ke Poliklinik Ginekologi adalah mioma uteri submukosa, dan tidak dapat menggunakan sampel menstruasi normal sebagai kelompok kontrol.

5. Simpulan

Mekanisme terjadinya HMB di endometrium pada mioma uteri intramural disebabkan oleh faktor inflamasi akibat desakan pertumbuhan dan pembesaran tumor mioma uteri, bukan disebabkan oleh faktor *progesteron withdrawal*. Ekspresi MMP-9 di endometrium MIM yang mengalami HMB lebih banyak dibandingkan dengan ekspresi MMP-9 di endometrium MIM yang tidak mengalami HMB.

Daftar acuan

1. Baird DT, Cameron ST, Critchley HOD. Prostaglandin and menstruation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1996; 70:15-17.
2. Fraser IS, Hickey M, Song J. A comparison of mechanism underlying disturbances of bleeding caused by spontaneous dysfunctional bleeding or hormonal contraception. *Human Reproduction.* 1996; 11 Suppl 2:165-178.
3. Ichsan. Prevalensi mioma uteri di rumah sakit dr.Mohammad Hoesin Palembang. Tesis. 2006;p36-40.
4. Inagaki N, Ung L, Otani L. Uterine cavity matrix metalloproteinases and cytokines in patients with leiomyoma, adenomyosis or endometrial polyp. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;111:197-203.
5. Chwalisz K, Demanno D, Grag R, et al. Therapeutic potential for the selective progesterone receptor modulator asoprisnil in the treatment of leiomyome. 2004;22:113-9.
6. Manalo, Medverd JR, Dubinsky TJ. Cost analysis model: US versus endometrial biopsy in evaluation of peri and postmenopausal abnormal vaginal bleeding. *Radiology.* 2008;222:619-27.
7. Butram VC, Reiter. Uterine leiomyomata: etiology, symptomatology, and management. *Fertil Steril.* 2005;36:433-45.
8. Salamonsen LA, Zhang J. In vivo evidence for active matrix metalloproteinases in human endometrium supports their role in tissue breakdown at menstruation. *J Clin Endocrinol Metab.* Vol 5. 2002;5:2346-51
9. Zhang J, Salamonsen LA. Expression of hypoxia-inducible factors in human endometrium and suppression of matrix metalloproteinases under hypoxic conditions do not support a major role for hypoxia in regulating tissue breakdown at menstruation. *Human Reproduction,* vol 17. 2002;17:265-74
10. Soini Y, Aralakkola E, Autio-Harmanen H. Expression of messenger RNAs for metalloproteinases 2 and 9, type IV collagen, and laminin in non neoplastic and neoplastic of endometrium. *Hum Pathol.* 1997;28:220-226.
11. Cornet PB, Galant C, Eechout Y, Courtoy PJ, Marbaix E, Henriot P. Regulation of matrix metalloproteinase-9/gelatinase B expression and activation by ovarian steroids and LEFTY-A/endometrial bleeding-associated factor in human endometrium. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:1001-1011.
12. Silvestre JS, Mallat Z, Tamarat R, Duriez M, Tedgui A, Levy BI. Regulation of matrix metalloproteinase activity in ischemic tissue by interleukin-10: role in ischemia-induced angiogenesis. *Circ Res.* 2001;89:259-264.
13. Finn CA. Implantation, menstruation, and inflammation. *Biology Reviews.* 1986;61: 313-328.