

Pengaruh Pembilasan Cairan Endometrioma terhadap Kadar Transforming Growth Factor- β 1 dan Skor Adesi Klinis

Sonia Rahayu¹, Relly Y Primariawan¹, HENDY HENDARTO¹, Lila D Azinar¹, Widjiati²

¹Departemen Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, RSUD Dr. Soetomo

²Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya

ABSTRAK

Endometrioma adalah salah satu jenis kista ovarium yang berisi cairan kecoklatan sebagai akumulasi darah menyerupai perdarahan menstruasi di dalam kista. Pembilasan adalah metode yang umum dikerjakan guna menghilangkan cairan endometrioma. Penelitian ini bertujuan memberikan gambaran efektifitas pembilasan untuk menurunkan resiko perlekatan melalui evaluasi peran TGF- β 1 sebagai mediator utama terjadinya perlekatan pasca pembedahan. Pada penelitian ini dibagi grup *Oryctolagus cuniculus* secara random menjadi empat grup laparoskopik: [1] pembilasan cairan endometrioma manusia, suction; [2] pembilasan cairan endometrioma manusia, pembilasan salin; [3] pembilasan cairan endometrioma manusia, pembilasan salin sebanyak sepuluh kali; [4] hanya laparotomi. Pada hari ke-14 konsentrasi TGF- β 1 jaringan peritoneal dievaluasi menggunakan prosedur ELISA dan skor adhesi menggunakan sistem skoring standar. Konsentrasi TGF- β 1 dianalisa menggunakan ANOVA dan uji tes Mann-Whitney untuk skor adhesi klinis. Berdasarkan hasil statistik, Group 1 memiliki konsentrasi TGF- β 1 jaringan peritoneal yang signifikan lebih tinggi ($p = 0,001$) dan skor adhesi klinis ($p = 0,021$) dibandingkan dengan kelompok 3. Pada group 2 konsentrasi TGF- β 1 jaringan peritoneal signifikan lebih tinggi dibanding grup 3 ($p = 0,004$), akan tetapi skor adhesi klinis tidak signifikan secara statistik dibandingkan dengan grup 3 ($p = 0,328$) dan 1 ($p = 0,195$). Kesimpulan, pada pembedahan laparoskopik menggunakan model kelinci, efek pembilasan dengan salin sebanyak sepuluh kali bisa mengurangi konsentrasi TGF- β 1 jaringan peritoneal dan mean skor adhesi klinis. (MOG 2013;21:7-15)

Kata kunci: pembilasan, endometrioma, adesi, model kelinci

ABSTRACT

Endometrioma is one type of ovarian cyst containing a brown liquid resembling blood accumulation of menstrual bleeding within the cyst. Flushing is a common method for removing endometrioma fluid. This study aims to provide an overview effectiveness of flushing to reduce the risk of adhesions through evaluation of the role of TGF- β 1 as the primary mediator of post-surgical adhesions. *Oryctolagus cuniculus* were randomized into four laparoscopic groups: [1] instillation of human endometrioma fluid, suction; [2] instillation of human endometrioma fluid, saline lavage one time; [3] instillation of human endometrioma fluid, saline lavage repeated ten times; [4] laparoscopy alone. 14th days TGF- β 1 peritoneal tissue concentrations were evaluated by using ELISA procedure and adhesion scored by using standard scoring system. TGF- β 1 concentrations were analyzed by using ANOVA and Mann-Whitney test for clinical adhesion scores. Group 1 statistically had significant higher TGF- β 1 peritoneal tissue concentration ($p = 0,001$) and mean adhesion clinical scores ($p = 0,021$) than group 3 respectively. Group 2 statistically had significant higher TGF- β 1 concentration than group 3 ($p = 0,004$), however mean clinical adhesion scores was not significant statistically compared with group 3 ($p = 0,328$) and 1 ($p = 0,195$). In conclusions: In this laparoscopic surgery rabbit model, the effect of ten times saline lavage can reduce TGF- β 1 peritoneal tissue concentration and mean clinical adhesion scores. (MOG 2013;21:7-15)

Keywords: lavage, endometrioma, adhesion, rabbit model.

Correspondence: Sonia Rahayu, Divisi Ginekologi Onkologi, Departemen Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, RSUD Dr Soetomo, Surabaya, nia_gung@yahoo.com

PENDAHULUAN

Endometrioma adalah salah satu jenis kista ovarium yang berisi cairan kecoklatan sebagai akumulasi darah menyerupai perdarahan menstruasi di dalam kista yang terjadi selama masa reproduksi.¹ Angka kejadian endometrioma cukup tinggi mencapai 17 – 44% dari seluruh endometriosis.^{2,3} Namun hanya pembedahan yang di-

sinyalir efektif dalam tatalaksana endometrioma. Dilaporkan sekitar 92% penderita endometrioma yang menjalani kistektomi melalui laparotomi menunjukkan ketiadaan bukti endometrioma pada laparotomi *second-look* yang dilakukan dalam 3–6 bulan pasca pembedahan pertama.⁴ Akan tetapi kistektomi seringkali menyebabkan tumpah isi endometrioma ke dalam rongga abdomen yang mendorong operator melakukan pem-

bilasan untuk menghilangkan materi endometrioma yang selama ini disinyalir bersifat adhesiogenik. Cairan endometrioma mengandung kadar besi bebas tinggi, diduga akibat perdarahan berulang saat menstruasi.¹ Besi bebas ini adalah kofaktor pembentuk radikal bebas melalui reaksi Fenton.^{5,6,1} Radikal bebas yang terbentuk disinyalir mampu memodifikasi perilaku mesothel peritoneum dalam regulasi sitokin yang berperan pada adhesiogenesis. Beberapa peneliti menyebutkan bahwa hipoksia menyebabkan aktivasi TGF- β 1 (*Transforming Growth Factor- β 1*) dan reseptornya di fibroblas peritoneum.^{7,8,9,10}

TGF- β 1 merupakan mediator utama respon fibrotik jaringan oleh karena aktifitasnya dalam meregulasi proliferasi fibroblas dan deposisi matriks ekstra seluler.¹¹ Dalam lingkungan radikal bebas tinggi, seperti pembedahan, TGF- β 1 diekspresi berlebih. TGF- β 1 mampu meningkatkan deposisi matrik ekstraseluler dengan cara menghambat apoptosis myofibroblas melewati jalur iNOS.¹² Disamping itu produksi berlebih TGF- β 1 mampu menurunkan aktivitas fibrinolitik dengan cara menghambat PA melalui induksi PAI-1.¹³ Pemberian TGF- β 1 dalam rongga peritoneum menunjukkan peningkatan rerata resiko adhesiogenesis pasca pembedahan. Sitokin ini juga terdeteksi dalam cairan luka sebanyak 85%.¹⁴ Perlekatan pasca pembedahan, khususnya pada operasi kasus endometrioma, merupakan masalah yang hingga kini terus dicari pemecahannya. Karena dampaknya yang menurunkan kualitas hidup penderita di kemudian hari akibat gangguan fungsi organ, penurunan fertilitas, obstruksi usus, penyulit operasi selanjutnya dan nyeri.¹⁵

Hingga kini banyak metode yang digunakan untuk menurunkan terjadinya perlekatan, namun hasilnya masih jauh dari ideal. Beberapa bahan menunjukkan hasil yang baik, tetapi sebagian besar harganya mahal dan tidak siap pakai. Pembilasan adalah metode yang umum dikerjakan guna menghilangkan cairan endometrioma yang tertumpah. Melalui pembilasan, heme sebagai katalisator ion superoksida ($O_2^{\bullet-}$) diharapkan berkurang sehingga ekspresi berlebih TGF- β 1 juga dapat ditekan. Pembilasan diduga mampu menghilangkan fibrin *soluble* yang telah terbentuk. di Zerega (2002) menyebutkan bahwa keterlambatan irigasi menyebabkan fibrin *soluble* yang telah terbentuk menjadi *insoluble* dan terinfiltrasi fibroblas sehingga memicu deposisi matriks ekstraseluler. Fiedler et al. (1996) menemukan bahwa pembilasan efektif menurunkan inflamasi dan skor adhesi pada kelinci model yang terpapar isi kista dermoid. Mashhadi et al. (2008) dalam penelitiannya juga menyebutkan bahwa kelompok yang terpapar salin normal menunjukkan skor adhesi yang lebih rendah.

Namun efektifitas pembilasan untuk menurunkan resiko terjadinya perlekatan pasca pembedahan masih diperdebatkan. Smith et al. (2007) dalam penelitiannya mendapatkan hasil bahwa pembilasan justru meningkatkan skor adhesi klinis. Sama halnya Yao et al. (2005) yang menemukan irigasi meningkatkan produksi sitokin proinflamatori mesotel peritoneum. Adanya perbedaan pendapat mengenai efektifitas pembilasan untuk menurunkan terjadinya perlekatan inilah yang menjadi landasan penelitian ini dikerjakan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran efektifitas pembilasan untuk menurunkan resiko perlekatan melalui evaluasi peran TGF- β 1 sebagai mediator utama terjadinya perlekatan pasca pembedahan.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan desain *randomized experimental post test only*, dengan asumsi bahwa kondisi dasar setiap variabel sebelum perlakuan pada masing-masing kelompok adalah sama. Randomisasi dikerjakan pada saat pembagian kelompok menggunakan tabel random. Populasi penelitian ini yang menjadi adalah kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) strain New Zealand White betina yang diperoleh dari unit hewan coba laboratorium.

Pada penelitian ini yang menjadi sampel adalah kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) strain New Zealand White betina yang diperlakukan sebagai hewan coba model untuk pembedahan laparoskopi kista endometrioma. Kelinci ini akan dibagi menjadi 4 kelompok yaitu (a) kelompok 1 (kontrol positif) adalah kelinci yang dilaparoskopi, instilasi cairan endometrioma dan diaspirasi; (b) kelompok 2 (bilas 1 kali) adalah kelinci yang dilaparoskopi, instilasi cairan endometrioma, dilakukan pembilasan sebanyak 1 kali; (c) kelompok 3 (bilas 10 kali) adalah kelinci yang dilaparoskopi, instilasi cairan endometrioma dan dilakukan pembilasan sebanyak 10 kali dan (d) kelompok 4 (kontrol negatif) adalah kelinci yang hanya dilaparoskopi saja.

Kriteria inklusi adalah kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) betina strain New Zealand White. Berat badan antara 1–2 kg, berumur 4–5 bulan, dara (belum pernah kawin), sehat, ditandai: bulu halus, mata bersinar, tidak pincang, tidak didapatkan bekas luka. Kriteria eksklusi: Kelinci cacat, kelinci yang pernah digunakan untuk penelitian lain, kelinci yang mengalami adhesi saat dilakukan laparoskopi. Kriteria putus uji: Kelinci betina yang mati setelah adaptasi 7 hari di kandang atau setelah diberi perlakuan. Penelitian dilakukan mulai bulan Juli sampai Oktober 2009 di Laboratorium Hewan Percobaan, Departemen Patologi dan Biomolekuler Fakultas Ke-

dokteran Hewan serta Laboratorium Human Genetic Tropical Disease Centre, Universitas Airlangga Surabaya. Data yang diperoleh dicatat dalam formulir pengambilan data yang dirancang khusus untuk penelitian ini. Analisis data menggunakan SPSS 11.0. Kelayakan etik didapatkan dari komisi etik untuk penelitian ilmu dasar/ klinik di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian telah dilakukan pada bulan Juli sampai Oktober 2009 di Fakultas Kedokteran Hewan dan Tropical Disease Center Universitas Airlangga Surabaya. Sampel yang digunakan adalah 32 ekor kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) betina strain New Zealand White yang memenuhi kriteria inklusi dan eklusi. Kelinci kemudian dibagi menjadi 4 kelompok yaitu, (1) kelompok yang dilaparoskopi, mendapat instilasi cairan endometrioma dan diaspirasi (kontrol positif), (2) kelompok yang dilaparoskopi, mendapat instilasi cairan endometrioma dan dibilas 1 kali (bilas 1 kali), (3) kelompok yang dilaparoskopi, mendapat instilasi cairan endometrioma dan dibilas 10 kali (bilas 10 kali) serta (4) kelompok yang hanya dilaparoskopi saja (kontrol negatif). Berat badan kelinci yang dipakai pada percobaan ini berkisar 1350–1850 gram. Tidak didapatkan perbedaan bermakna berat badan kelinci sebelum dan sesudah operasi. Dengan uji Anova satu jalan didapatkan $p = 0,63$ sebelum operasi dan $p = 0,21$ setelah operasi (Tabel 1). Tidak ada kelinci yang mengalami komplikasi maupun mati sebelum dikorbankan. Jaringan adhesi yang terbentuk setelah 14 hari pasca operasi berada di lokasi dimana cairan endometrioma diinstilasikan (abdomen bawah), berupa perlekatan peritoneum dengan buli–buli dan genitalia

interna. Pada penelitian ini digunakan tingkat kemaknaan 0,05. Apabila pada uji statistik didapatkan harga $P \leq 0,05$ dikatakan bermakna dan bila harga $P > 0,05$ tidak bermakna. Data berskala ratio diuji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov satu sampel. Hasil uji normalitas untuk kadar TGF- β 1 peritoneum menunjukkan data terdistribusi normal sehingga digunakan uji statistik parametrik Anova satu jalan. Sedangkan variabel skor adhesi klinis karena terdistribusi tidak normal maka dipakai uji nonparametrik Kruskal-Wallis dilanjutkan Uji Mann-Whitney untuk menganalisis beda antar kelompok.

Pada penelitian ini kadar TGF- β 1 peritoneum diukur berdasarkan regresi linier sesuai kurva standar yang telah ditentukan oleh pembuat kit assay. Didapatkan kadar TGF- β 1 peritoneum berbeda bermakna diantara masing–masing kelompok. Rerata kadar tertinggi terdapat pada kelompok 1 (kontrol positif) yaitu 7169,16 pg/gram jaringan dan terendah kelompok 4 (kontrol negatif) yaitu 4317,51 pg/gram jaringan. Secara statistik perbedaan ini bermakna dengan nilai $p = 0,001$ ($< 0,05$).

Rerata kadar TGF- β 1 peritoneum kelompok 3 (bilas 10 kali) lebih rendah dibanding kontrol positif ($p = 0,001$) dan kelompok 2 (bilas 1 kali) ($p = 0,004$). Meskipun rerata kadar TGF- β peritoneum kelompok bilas 10 kali lebih tinggi dibanding kontrol negatif, tetapi secara statistik perbedaan ini tidak bermakna ($p = 0,857$). Sebaliknya rerata kadar TGF- β 1 peritoneum kelompok bilas 1 kali secara bermakna lebih tinggi dibanding bilas 10 kali ($p = 0,002$) maupun kontrol negatif ($p = 0,004$). Meskipun rerata kadar TGF- β 1 peritoneum kelompok kontrol positif lebih tinggi dibanding bilas 1 kali, tetapi secara statistik tidak bermakna ($p = 0,719$) (Tabel 2).

Tabel 1. Berat badan kelinci sebelum dan sesudah perlakuan

Nomer Sampel	Kelompok Kontrol Positif (gram)		Kelompok Bilas 1 kali (gram)		Kelompok Bilas 10 Kali (gram)		Kelompok Kontrol Negatif (gram)	
	Pra	Pasca	Pra	Pasca	Pra	Pasca	Pra	Pasca
1	1400	1400	1400	1450	1750	1750	1400	1500
2	1350	1300	1450	1500	1500	1500	1400	1400
3	1400	1650	1650	1650	1500	1550	1350	1300
4	1700	1650	1600	1650	1750	1700	1700	1750
5	1400	1450	1550	1550	1650	1850	1600	1650
6	1450	1450	1500	1500	1700	1700	1600	1650
7	1800	1800	1500	1500	1750	1650	1400	1500
8	1800	1850	1600	1650	1600	1650	1450	1400

Tabel 2. Perbandingan rerata kadar TGF- β 1 peritoneum antar kelompok

	Kelompok 1a	Kelompok 2b	Kelompok 3c	Kelompok 4d
Rerata (95% CI)	7169,16 (6186,41 – 8151,91)	6890,95 (3496,5 – 5138,51)	4456,61 (3359,6 – 5553,62)	4317,51 (3496,5 – 5138,51)
Standart error	415,6	816,18	463,92	347,2
Nilai P^e	0,719 (1 vs 2)	0,002 (2 vs 4) 0,004 (2 vs 3)	0,001 (3 vs 1) 0,857 (3 vs 4)	0,001 (4 vs 1)

^a Laparoskopi, instilasi cairan edometrioma, aspirasi (kontrol, positif).
^b Laparoskopi, instilasi cairan edometrioma, pembilasan 1 kali (bilas 1 kali).
^c Laparoskopi, instilasi cairan edometrioma, pembilasan 10 kali (bilas 10 kali).
^d Laparoskopi saja (kontrol negatif).
^e Data diuji dengan Uji Anova satu jalan.

Tabel 3. Perbandingan skor adhesi klinis antar kelompok

	Kelompok 1 ^a	Kelompok 3 ^b	Kelompok 3 ^c	Kelompok 4 ^d
Rerata $\pm$ Std. deviasi	7,91 $\pm$ 3,75	4,7 $\pm$ 4,16	2,45 $\pm$ 3,75	1,58 $\pm$ 2,95
Median (range)	8 (6 – 9,33)	5,83 (0 – 9,67)	0 (0 – 9,33)	0 (0 – 7)
Nilai P^e	0,195 (1 vs 2)	0,161 (2 vs 4) 0,328 (2 vs 3)	0,021 (3 vs 1) 0,645 (3 vs 4)	0,001 (4 vs 1)

^a Laparoskopi, instilasi cairan edometrioma, aspirasi (kontrol, positif).
^b Laparoskopi, instilasi cairan edometrioma, pembilasan 1 kali (bilas 1 kali).
^c Laparoskopi, instilasi cairan edometrioma, pembilasan 10 kali (bilas 10 kali).
^d Laparoskopi saja (kontrol negatif).
^e Data diuji dengan Uji Mann – Whitney.

Skor adhesi klinis tertinggi didapatkan pada kelompok kontrol positif dan terendah kontrol negatif (Tabel 3). Skor adhesi klinis kelompok kontrol positif secara bermakna lebih tinggi dibanding negatif ($p = 0,002$) dan bilas 10 kali lebih rendah dibanding kontrol positif ($p = 0,021$). Didapatkan beda tidak bermakna antara skor adhesi klinis kelompok bilas 10 kali dibanding bilas 1 kali ($p = 0,328$), meskipun rerata skor adhesi klinis bilas 1 kali cenderung lebih tinggi. Skor adhesi klinis kelompok bilas 1 kali cenderung lebih tinggi dibanding kontrol negatif ($p = 0,328$) dan lebih rendah dibanding kontrol positif ($p = 0,195$), meskipun secara statistik perbedaan ini tidak bermakna.

Pada Tabel 3 juga terlihat variasi data terlebar terdapat pada kelompok 2 (bilas 1 kali) yaitu 4,16, sedangkan standart deviasi kelompok yang lain lebih sempit. Tabel 4 menggambarkan analisa tiap kategori yang diukur dalam skor adhesi klinis (luas [*extent*], kekuatan [*tenacity*], tipe dan inflamasi). Skor adhesi klinis kelompok bilas 10 kali menunjukkan nilai lebih rendah dibanding kontrol positif pada semua kategori dan secara statistik bermakna ($p = 0,003$; $p = 0,001$; $p = 0,032$ dan $p = 0,031$). Serupa pola kadar TGF- β 1 peritoneum, didapatkan beda tidak bermakna antara nilai kelompok bilas 10 kali dibanding kontrol negatif

pada semua kategori ($p = 0,699$; $p = 0,702$; $p = 0,523$ dan $p = 0,063$). Demikian halnya tidak didapatkan beda bermakna kelompok bilas 1 kali dibanding bilas 10 kali ($p = 0,216$; $p = 0,237$; $p = 0,432$ dan $p = 0,258$) dan kontrol negatif ($p = 0,142$; $p = 0,117$; $p = 0,104$ dan $p = 0,063$) pada semua kategori. Beda bermakna didapatkan bila kelompok bilas 1 kali dibanding kontrol positif pada kategori kekuatan (*tenacity*) ($p = 0,03$), dimana nilai kelompok bilas 1 kali lebih rendah. Hasil analisa statistik kadar TGF- β 1 dan skor adhesi klinis kelompok bilas terhadap kontrol menunjukkan pola yang serupa. Meskipun skor adhesi klinis kelompok bilas 10 kali dan bilas 1 kali tidak berbeda bermakna, tetapi pola fluktuasi kadar TGF- β 1 peritoneum kedua kelompok ini menunjukkan hasil berbeda bermakna.

Pada kasus tumpah cairan endometrioma dalam rongga abdomen, materi cairan endometrioma yang kaya besi bebas terbukti bersifat adhesiogenik.^{16,17} sehingga eliminasinya penting dilakukan dalam usaha menurunkan pembentukan perlekatan. Penelitian ini dikerjakan sebagai usaha untuk mendapatkan bukti ilmiah peran TGF- β 1 pada patofisiologi terjadinya adhesi peritoneum sekaligus menjawab kontroversi peran pembilasan dalam menurunkan terjadinya adhesi akibat paparan cairan endometrioma pada pembedahan laparoskopi.

Banyak modalitas terapi dipelajari menggunakan model binatang sebagai usaha menurunkan frekuensi dan keparahan adhesi pasca perlakuan peritoneum. Beberapa mekanisme yang diduga dapat menurunkan pembentukan adhesi adalah mengurangi respon inflamasi awal, menghambat koagulasi eksudat, meningkatkan fibrinolisis, penggunaan pelapis mekanik pemisah permukaan jaringan dan inhibisi proliferasi fibroblas.¹⁷ Banyak bahan anti adhesi telah dicobakan pada model binatang, namun hingga kini hasilnya masih jauh dari ideal. Beberapa bahan menunjukkan hasil yang baik, tetapi sebagian besar harganya mahal dan tidak siap pakai. Tujuan penelitian ini adalah mempelajari pengaruh pembilasan yang selama ini rutin dikerjakan dan dilaporkan memiliki peran dalam menurunkan pembentukan adhesi berdasarkan penelitian sebelumnya.

Sampel penelitian ini adalah kelinci betina (*Oryctolagus cuniculus*) strain New Zealand White berumur antara 4 – 5 bulan dengan berat berkisar antara 1350 – 1850 gram. Ras kelinci ini merupakan jenis kelinci albino dan mempunyai keunggulan pertumbuhannya cepat sehingga cocok untuk diternakan sebagai penghasil daging dan kelinci percobaan di laboratorium.¹⁸ Kelinci ditempatkan di kandang baterai mendapat makanan berupa hijauan dan konsentrat serta minuman dalam jumlah yang sama. Sampel dipilih sehomogen mungkin untuk menghindari bias, diantaranya dengan menyamakan berat, umur, dara dan status kesehatan. Lingkungan esterogen merupakan kondisi yang berpengaruh pada terjadinya adhesi. Kondisi hipoesterogen disebabkan oleh pemberian *Gonadotrophin Releasing Hormone* (GnRH) agonis atau oleh nonkompetitif antagonis meferistone telah terbukti menurunkan insiden terjadinya perlekatan pasca pembedahan pada model primata dan tikus.^{19,20} Berat badan sampel tidak berbeda bermakna sebelum dan sesudah perlakuan. Oleh karena berat badan berkaitan dengan asupan makanan, maka berat badan yang stabil menunjukkan bahwa asupan makanan kelinci terjaga. Hal ini juga merupakan salah satu tanda bahwa tidak ada kelinci yang sakit oleh karena kelinci yang sakit biasanya lemas dan tidak mau makan sehingga berat badanya juga menurun.

Desain penelitian ini dirancang serupa metode operasi laparoskopi kasus endometrioma pada manusia yang dimanifestasikan dalam 4 kelompok perlakuan yaitu kelompok pembilasan 10 kali, pembilasan 1 kali, kontrol positif dan kontrol negatif. Pada penelitian ini dibuat 2 jenis kelompok kontrol yaitu positif dan negatif. Sebagai kontrol positif adalah kelompok yang dilaparoskopi, terpapar cairan endometrioma dan di-aspirasi. Adapun sebagai kontrol negatif adalah kelompok yang dilaparoskopi saja. Kelompok kontrol

negatif dibuat sebagai parameter bahwa perlekatan yang terjadi memang akibat paparan cairan endometrioma dan bukan disebabkan oleh tindakan laparoskopi, oleh karena tindakan laparoskopi sendiri berpotensi menimbulkan adhesi. Pada penelitian ini perlekatan yang timbul dinilai dalam berbagai kategori yaitu luas (*extent*), kekuatan (*tenacity*), tipe dan inflamasi. Kedua kelompok kontrol dilakukan laparoskopi, tetapi hanya kelompok kontrol positif yang mendapat instilasi cairan endometrioma. Uji statistik pada kedua kelompok ini menunjukkan beda bermakna ($p = 0,001$). Hal ini membuktikan bahwa perlekatan yang timbul adalah akibat paparan cairan endometrioma dan walaupun ada pengaruh tindakan laparoskopi, tetapi kontribusinya kecil.

Reaksi terhadap benda asing merupakan salah satu mekanisme yang mendasari terjadinya perlekatan pasca pembedahan. Benda asing dalam kaitannya dengan reaksi tubuh dapat bersifat inert (tidak memicu timbulnya reaksi inflamasi) atau bersifat seperti antigen yang akan direspon melalui reaksi inflamasi. Yamaguchi et al.¹ dalam penelitiannya menemukan bahwa cairan endometrioma mengandung besi bebas tinggi dan diduga melalui reaksi fenton akan membentuk radikal bebas yang berakibat destruksi epitel endometrioma. Mekanisme inilah yang diduga menjadi sebab transformasi endometrioma kearah keganasan. Kelinci yang diinstilasi cairan folikel manusia sebagai kontrol antigenisitas tidak menunjukkan ada bukti histologis terjadi inflamasi maupun adhesi pada kelinci yang mendapat paparan cairan folikel manusia tersebut. Kelompok pembilasan dibuat untuk menilai respon jaringan peritoneum yang telah terpapar cairan endometrioma setelah pembilasan dikerjakan. Respon ini dimanifestasikan dengan mengukur kadar TGF- β 1 peritoneum, sebagai sitokin utama adhesiogenesis dan skor adhesi klinis. Sesuai hipotesa penelitian ini, fluktuasi kadar TGF- β 1 peritoneum menunjukkan peran penting sitokin ini terhadap terjadinya adhesi peritoneum pada kasus endometrioma. 6.3. Gambaran TGF- β 1 dan skor adhesi klinis kelompok bilas 1 kali. Penelitian ini dibuat dengan membandingkan kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Melalui perbandingan ini posisi kelompok perlakuan dapat dinilai sesuai orientasinya terhadap kelompok kontrol. Pada penelitian ini baik kadar TGF- β 1 maupun skor adhesi klinis kedua kelompok kontrol berbeda bermakna ($p = 0,001$). Kadar TGF- β 1 kelompok bilas 1 kali secara bermakna lebih tinggi dibanding kelompok kontrol negatif ($p = 0,002$) maupun bilas 10 kali ($p = 0,004$). Meskipun kadar TGF- β 1 kelompok bilas 1 kali lebih rendah dibanding kelompok kontrol positif tetapi secara statistik perbedaan ini tidak bermakna ($p = 0,719$).

Tabel 4. Perbandingan kategori skor adhesi klinis antar kelompok

	Kelompok 1 ^a	Kelompok 2 ^b	Kelompok 3 ^c	Kelompok 4 ^d
Median (range)	1	1 (0 – 1)	0 (0 - 1)	0 (0 - 1)
<i>P^e</i> Luas	0,063 (1 vs 2)	0,216 (2 vs 3) 0,143 (2 vs 4)	0,003 (3 vs 1) 0,699 (3 vs 4)	0,003 (4 vs 1)
Median (range)	3,16 (2,67 – 3,33)	2 (0 – 3,33)	0 (0 – 2, 67)	0 (0 – 3)
<i>P^e</i> Kekuatan	0,03 (1 vs 2)	0,237 (2 vs 3) 0,117 (2 vs 4)	0,001 (3 vs 1) 0,702 (3 vs 4)	0,002 (4 vs 1)
Median (range)	2,5 (1, 67 – 3,67)	1, 83 (0 – 3,33)	0 (0 – 3,67)	0 (0 – 2,33)
<i>P^e</i> Tipe	0,123 (1 vs 2)	0,432 (2 vs 3) 0, 104 (2 vs 4)	0,032 (3 vs 1) 0,523 (3 vs 4)	0,003 (4 vs 1)
Median (range)	1 (0,33 – 2)	1 (0 – 2,33)	0 (0 – 2)	0 (0 – 1)
<i>P^e</i> Inflamasi	0,479 (1 vs 2)	0,258 (2 vs 3) 0,063 (2 vs 4)	0,031 (3 vs 1) 0,063 (3 vs 4)	0,002 (4 vs 1)

^aLaparoskopi, instilasi cairan edometrioma, aspirasi (kontrol, positif).
^bLaparoskopi, instilasi cairan edometrioma, pembilasan 1 kali (bilas 1 kali).
^cLaparoskopi, instilasi cairan edometrioma, pembilasan 10 kali (bilas 10 kali).
^dLaparoskopi saja (kontrol negatif).
^eData diuji dengan Iji Mann – Whiteney.

Tetapi skor adhesi klinis kelompok bilas 1 kali menunjukkan standart deviasi terlebar (4,18) diantara kelompok kontrol positif (3,75), negatif (2,95) maupun bilas 10 kali (3,75). Hal ini menunjukkan tingginya variasi data kelompok ini. Tingginya variasi data berakibat skor adhesi klinis kelompok ini meskipun berbeda tetapi tidak bermakna, baik dengan kelompok kontrol positif ($p = 0,195$), kontrol negatif ($p = 0,161$) dan pembilasan 10 kali ($p = 0,328$). Dalam hal ini pola skor adhesi klinis kelompok bilas 1 kali tidak dapat diprediksikan polanya.

Tingginya variasi data skor adhesi klinis yang terjadi pada kelompok bilas 1 kali kemungkinan dapat terjadi karena tindakan membilas 1 kali menyebabkan cairan endometrioma tersebar tidak merata dalam rongga abdomen. Pada area dimana konsentrasi cairan endometrioma tinggi maka skor adhesi klinis tinggi pula serupa dengan kontrol positif, bila secara kebetulan tersebar merata maka skor adhesi klinisnya menjadi rendah serupa dengan kontrol negatif. Kemungkinan adanya kecenderungan genetik individu untuk terbentuk perlekatan juga tidak dapat dihilangkan.²¹ Tetapi dengan pemilihan secara random dan homogenisasi karakter sampel diharapkan pengaruh kecenderungan genetik ini dapat ditekan.

Disamping itu, peran variabel antara yang tidak memungkinkan untuk diteliti seluruhnya dalam

penelitian ini juga perlu dipertimbangkan, diantaranya faktor fibrinolisis, radikal bebas dan pola apoptosis myofibroblas. Sesuai dengan tingginya variasi data kelompok bilas 1 kali ini, beberapa literatur menunjukkan hasil bervariasi pula mengenai pembilasan dengan salin normal dibanding larutan Ringer laktat serta kristaloid lainnya. Beberapa penelitian menunjukkan pembilasan dengan salin normal tidak menyebabkan inflamasi peritoneum atau perlekatan bila dibandingkan beberapa jenis pembilas lainnya. Tetapi didapatkan bukti pula bahwa pembilasan menyebabkan pembentukan perlekatan peritoneum pada tikus yang dilakukan pembilasan dengan semua larutan yang diujikan termasuk salin normal bila dibandingkan kontrol.²² Sayangnya bila cermati lebih jauh literatur mengenai tatalaksana pembedahan endometrioma pada manusia tidak mencantumkan secara jelas diskripsi atau derajat irigasi yang dilakukan sehingga sulit untuk menentukan perbandingan.^{23,24,4}

Pada penelitian ini waktu panen ditentukan 14 hari pasca laparoskopi. Berdasarkan penelitian Longaker¹⁴ diperlukan waktu sekitar 12-14 hari untuk penyembuhan peritoneum. Hal ini mengimplikasikan bahwa fenotif adhesi dapat diidentifikasi pada hari ke 12 -14 pula, oleh karena adhesi merupakan bentuk *incomplete healing*. Holmdahl¹³ juga menyatakan bahwa waktu optimal untuk penentuan skor adhesi klinis pada tikus dan kelinci adalah pada hari ketujuh atau lebih. Guna

memperkuat data tersebut, telah dilakukan penelitian pendahuluan dan hasilnya pada hari ke-14 telah dapat dinilai skor adhesi klinis kelompok coba.

Kemungkinan lain yang dapat menjelaskan tingginya variasi data pada kelompok bilas 1 kali adalah waktu panen (*harvest time*). Ditinjau dari kategori kekuatan (*tenacity*), rerata skor adhesi klinis kelompok bilas 1 kali secara bermakna lebih rendah dibanding kontrol positif ($p = 0,03$). Data ini menunjukkan bahwa terjadinya fenotif adhesi pada kelompok bilas 1 kali tidak dapat diperkirakan polanya pada 14 hari pasca operasi. Said dan Diamond (2002) menyebutkan hipoksia meningkatkan secara gradual ekspresi TGF- β 1 dan kolagen tipe 1. Said et al. (2000) menemukan bahwa hipoksia secara gradual menurunkan aktifitas TGF- β 1 dalam menghambat aktifitas MMP-9 dalam mendegradasi ekstraseluler matrik. Meskipun skor adhesi klinis kelompok bilas 1 kali tidak berbeda dengan bilas 10 kali ($p = 0,328$) tetapi ada kemungkinan skor adhesi klinis kelompok bilas 1 kali lebih tinggi dibanding bilas setelah 14 hari pasca operasi, bila bercermin pada pola kadar TGF- β 1 dan skor adhesi klinis kelompok kontrol. TGF- β 1 adalah agen kemotaktik poten bagi fibroblas dan sel inflamasi seperti makrofak. TGF- β 1 disintesa dan disekresikan sebagai suatu materi dengan berat molekul tinggi, dalam bentuk inaktif yang berikatan dengan matriks ekstraseluler atau membran sel. TGF- β 1 bentuk laten dapat diaktivasi oleh asam, panas atau secara enzimatis oleh sialidase dan serin proteinase yang disekresikan oleh sel inflamasi yang menginfiltrasi jaringan iskemia, sepsis maupun luka.

Peningkatan perubahan bentuk TGF- β 1 laten menjadi aktif terjadi sampai dengan hari ke-7. Kondisi peritonitis dan inflamasi berhubungan dengan persisten ekspresi TGF- β 1 pada manusia. Hal ini dapat terjadi meskipun pesan telah lama hilang namun adanya stimulus yang persisten menyebabkan TGF- β 1 mampu melakukan self up-regulating. Terbukti pemberian antibodi TGF- β 1 mampu menurunkan pembentukan matriks ekstraseluler dan kolagen pada 4 minggu pasca perlukaan.²⁵ Skor maksimum imunoreaktif TGF- β 1 di jaringan adhesi berada di puncak antara hari ke 5-7. Meskipun pada hari selanjutnya terdapat penurunan namun nilainya persisten tinggi sampai pada hari ke -14. Berdasarkan data ini dapat diartikan bahwa aktifitas TGF- β 1 kemungkinan masih terus berlangsung sampai lebih 14 hari selama sumber inflamasinya masih tetap ada. Besarnya variasi data yang ada pada saat ini kemungkinan karena proses adhesi masih berlangsung. Guna memperkuat hasil ini tentunya masih diperlukan penelitian lanjutan dengan waktu panen yang lebih lama diharapkan pola kelompok bilas 1 kali dapat terlihat sesuai gambaran TGF- β 1-nya.

Rerata kadar TGF- β 1 peritoneum kelompok bilas 10 kali secara bermakna lebih rendah dibanding kontrol positif ($p = 0,01$). Apabila dibanding kontrol negatif, rerata kadar TGF- β 1 peritoneum kelompok bilas 10 kali lebih tinggi, meskipun secara statistik tidak bermakna ($p = 0,857$). Tampaknya pembilasan 10 kali dapat mengurangi materi endometrioma dalam rongga abdomen secara bermakna. Tujuan pembilasan saat operasi adalah mengoptimalkan pembersihan rongga abdomen, dengan cara aspirasi kontaminan dan mengurangi konsentrasi bakteri serta substansi lainnya.²⁶ Walaupun ada sejumlah kecil sisa materi setelah pembilasan, tampaknya tidak cukup kuat meningkatkan kadar TGF- β 1 peritoneum.

Skor adhesi klinis kelompok bilas 10 kali secara bermakna lebih rendah dibanding kelompok kontrol positif ($p = 0,021$) dan sedemikian rendahnya hingga berbeda tidak bermakna dengan kelompok kontrol negatif ($p = 0,645$). Skor adhesi klinis kelompok ini sesuai dengan pola TGF- β 1 nya terhadap kontrol. Mengindikasikan pembilasan menurunkan skor adhesi klinis melalui penurunan kadar TGF- β 1 peritoneum. Sedangkan penurunan kadar TGF- β 1 peritoneum disebabkan oleh penurunan jumlah materi endometrioma sebagai kofaktor radikal bebas. Sesuai dengan penelitian yang dikerjakan oleh Fletcher et al.⁹ inkubasi dengan paparan hipooksigen pada fibroblas yang diisolasi dari peritoneum manusia menunjukkan peningkatan bermakna kadar TGF- β 1 dan ion super-oksida. Pemberian superoksida scavenger disebutkan melindungi sel dari terjadinya fenotip adhesi.

Namun skor adhesi klinis kelompok bilas 10 kali meskipun lebih rendah dibanding bilas 1 kali tetapi secara statistik tidak bermakna ($p = 0,328$). Kemungkinan yang mendasari data ini adalah pembilasan 1 x menyebabkan cairan endometrioma tersebar tidak merata sehingga secara klinis fenotif adhesi yang terjadi sangat bervariasi dan polanya sulit diprediksi. Tentunya bila dilihat dari gambaran TGF- β 1 kelompok bilas 1 kali yang sudah mengalami perubahan, kemungkinan waktu panen menjadi sebab gambaran ini terjadi. Mengindikasikan bila waktu observasi diperpanjang, pola skor adhesi klinis kelompok bilas 1 kali akan lebih jelas.

Hasil penelitian ini berkebalikan dengan hasil penelitian sejenis yang dikerjakan oleh Smith et al.¹⁶ yaitu pembilasan cairan endometrioma meningkatkan skor adhesi klinis diduga pembilasan justru efektif menyebarkan materi endometrioma. Bila ditinjau dari metode yang dipilih, rancangan penelitian ini tidak sepenuhnya mengadopsi desainnya Smith et al.¹⁶ Pada penelitian ini, cairan endometrioma di kelompok kontrol

positif diaspirasi kembali setelah 5 menit diinstilasikan. Disamping itu lama operasi pada setiap kelompok juga diperhitungkan. Berdasarkan penelitian Holmdahl et al.¹³ didapatkan penurunan secara gradual kadar tPA jaringan peritoneum seiring lamanya operasi. Oleh karena gangguan fibrinolisis merupakan predisposisi terjadinya adhesi maka lama operasi pada penelitian ini dirancang sama dengan harapan variabel waktu tidak berpengaruh pada hasil penelitian.

Sama halnya semua penelitian pada hewan coba, hasil yang didapatkan pada penelitian ini tentunya tidak dapat langsung diekstrapolasikan pada manusia, oleh karena endometriosis pada manusia seringkali disertai adhesi bahkan sebelum operasi dikerjakan. Oleh karena itu hasil yang didapat pada penelitian dengan hewan coba perlu dilanjutkan dengan uji klinis sebelum hasilnya dapat diekstrapolasikan pada manusia. Disamping itu perbedaan pola genetis dan imunologi antar spesies mengindikasikan adanya kemungkinan perbedaan respon jaringan meskipun menggunakan metode yang sama.

KESIMPULAN

Pada pembedahan laparoskopik menggunakan model kelinci, efek pembilasan dengan salin sebanyak sepuluh kali bisa mengurangi konsentrasi TGF- β 1 jaringan peritoneal dan mean skor adhesi klinis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yamaguchi K, Mandai M, Toyokuni S, Hamanishi J, Higuchi T, Takakura K, Fujii S. Content of endometriotic cyst, especially high concentration of free iron, are a possible cause of carcinogenesis in the cyst through iron-induced persistent oxidative stress. *Clinical Cancer Research*. 2008; Vol. 4 No.1:32 – 40.
2. Busacca M and Vignali M. Ovarian endometriosis: from pathogenesis to surgical treatment. *Current Opinion Obstetric Gynecology*. 2003; Vol. 15:321 – 6.
3. Rawson JM. Prevalence endometriosis in asymptomatic women. *Journal of Reproductive Medicine*. 1991; Vol. 37:513 – 5.
4. Canis M, Mage G, Wattiez A, Chapron C, Pouly JL, Basil S. Second-look laparoscopy after laparoscopic cystectomy of large ovarian endometriomas. *Fertility Sterility*. 1992; Vol. 58:1176-80.
5. Langendonck AV, Roux FC, Donnez J. Oxidative stress and peritoneal endometriosis. *Fertility and Sterility*. 2002; Vol.77(5):861 – 70.
6. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *Journal of Leucocyte Biology*. 2005; Vol.77:598 – 615.
7. Saed GM, Zhang W, Diamond MP. Molecular characterization of fibroblast isolated from human peritoneum and adhesions. *Fertility and Sterility*. 2001; Vol. 75:763 – 9.
8. Saed GM, Diamond MP. Hypoxia-induced irreversible up-regulation of type I collagen and transforming growth factor-1 in human peritoneal fibroblasts. *Fertility and Sterility*. 2002; Vol. 78:144 – 8.
9. Fletcher NM, Jiang ZL, Diamond MP, Abu-Soud HM, Saed GM. Hypoxiagenerated superoxide induces the development of the adhesion phenotype. *Radical Biology and Medicine*. 2008; Vol. 45:530 – 36.
10. Ksiazek K, Piatek K, Witowski J. Impaired respon to oxidative stress in senescent cells may lead to accumulation of DNA damage in mesothelial cell from ages donor. *Biochemical and Biophysical Research Communication*. 2008; Vol.373:335 – 10.
11. Leask A and Abraham DJ. Transforming Growth Factor signaling and the fibrotic response. *FASEB Journal*. 2004; Vol.18:816 – 27.3
12. Saed GM and Diamond MP. Differential expression of alpha smooth muscle cell actin in human fibroblasts isolated from intraperitoneal adhesions and normal peritoneal tissue. *Fertility and Sterility*. 2004; Vol.82:1188 – 93.
13. Holmdahl L, Kotseos K, Berström M et al. Overproduction of transforming growth factor- 1 (TGF- β 1) is associated with adhesion formation and peritoneal fibrinolytic impairment. 2001; *Surgery* Vol.129:626 – 33.
14. Longaker MT, Whitby DJ, Ferguson MW et al. Adult skin wounds in the fetal environment heal with scar formation. *Annual Surgery*. 1994; Vol.219:65-72.
15. Diamond MP and Freeman ML. Clinical implication of postsurgical adhesion. *Human Reproduction Update*. 2001; Vol.7:567 – 76.
16. Smith LP, Williams CD, Doyle JO. Effect of endometrioma cyst fluid exposure on peritoneal adhesion formation in a rabbit model. *Fertility and Sterility*. 2007; Vol. 87:1174-9.
17. Mashhadi MTR, Shojaian R, Tabatabaee A, Arian AA. Effect of peritoneal exposure to povidone iodine, heparin and saline in post surgical adhesion in rats. *Journal of Research in Medical Science*. 2008; Vol. 13:135 – 41.
18. Sarwono B. Kelinci potong dan hias. PT Agromedia Pustaka. Jakarta. Shavell VI, Saed GM, Diamond MP (2009) Review: Cellular. Metabolism: Contribution to Postoperative Adhesion

- Development. *Reproductive Sciences*. 2009; Vol. 16 No. 7: 627-634.
19. Wright JA and Sharpe-Timms KL. Gonadotropin-releasing hormone agonist therapy reduces post-operative adhesion formation and reformation after adhesiolysis in rat models for adhesion formation and endometriosis. 1995; *Fertil Steril* Vol. 63: 1094-1100.
20. Sharpe-Timms KL, Zimmer RL, Jolliff WJ. Gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-a) therapy alters activity of plasminogen activators, matrix metalloproteinases, and their inhibitors in rat models for adhesion formation and endometriosis: potential GnRH-a-regulated mechanisms reducing adhesion formation. 1998; *Fertil Steril* Vol. 69: 916-923.
21. Rout UK, Saed GM, Diamond MP. Expression pattern and regulation of genes differ between fibroblasts of adhesion and normal human peritoneum. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2005; Vol.3 No.1: 1-14.
22. Van Westreenen M, van den Tol PM, Pronk A, Marquet RL, Jeekel J, Leguit P. Perioperative lavage promotes intraperitoneal adhesion in the rat. *Eur Surg Res*. 1999; Vol. 31:196 –201.
23. Donnez J, Smets M, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J. Laparoscopic management of peritoneal endometriosis, endometriotic cysts, and rectovaginal adenomyosis. *Ann NY Acad Sci*. 2003; Vol.997: 274–81.
24. Fayez JA and Vogel MF. Comparison of different treatment methods of endometriomas by laparoscopy. *Obstet Gynecol*. 1991; Vol.78:660 –5.
25. Fukui N, Tashiro T, Hiraoka H, Oda H, Nakamura K. Adhesion formation can be reduced by the suppression of transforming growth factor-beta1 activity. *J Orthop Res*. 2000; Vol. 18:212–219.
26. Rosman C, Westerveld GJ, Kooi K, et al. Local treatment of generalized peritonitis in rats; effects on bacteria, endotoxin and mortality. *Eur J Surg*. 1999; Vol.165:1072.