

PENGARUH PEMBERIAN AUTOLOGOUS PLATELET-RICH PLASMA (PRP) TERHADAP EKSPRESI ESTROGEN RECEPTOR-ALPHA (ER- α) ENDOMETRIUM TIKUS GALUR WISTAR PADA PROTOKOL ANTAGONIS FERTILISASI *IN VITRO* (FIV)

I Nyoman Ardi Widiatmika^{1)*}, A.A.N. Anantasika²⁾, Anom Suardika²⁾, Putu Doster Mahayasa²⁾, I Made Darmayasa²⁾, Kadek Fajar Marta²⁾, I Nyoman Gede Budiana²⁾

^{1)*} Residen Departemen Obstetri Dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana/RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah Denpasar, Bali

²⁾ Departemen Obstetri Dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana/RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah Denpasar, Bali
e-mail: ardiguytongmail.com

ABSTRAK

Dalam satu dekade terakhir keberhasilan fertilisasi *in vitro* (FIV) masih rendah terutama dalam hal angka implantasi. Reseptivitas endometrium menjadi peran kunci dalam meningkatkan angka implantasi. *Estrogen reseptor-alpha* (ER- α) merupakan salah satu reseptor inti yang memperantarai aksi hormon estrogen untuk merangsang ekspresi gen memproduksi hormon pertumbuhan yang dapat digunakan sebagai marker mengukur reseptivitas endometrium. Stimulasi ovarium disisi lain juga akan mengganggu fungsi endokrin fisiologis yang akan mengakibatkan gangguan regulasi reseptor estrogen dalam stroma dan sel epitel endometrium. *Autologous platelet rich plasma* (PRP) diduga dapat mempengaruhi ER- α . Oleh karena itu, penelitian ini bermaksud untuk mengetahui lebih lanjut pengaruh pemberian *Autologous PRP* terhadap reseptivitas endometrium melalui peran ER- α pada protokol antagonis FIV. Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimental *randomized posttest only controlled group design* memakai binatang coba tikus betina jenis galur Wistar sebanyak 40 ekor yang dibagi ke dalam 2 perlakuan, yakni kelompok perlakuan dengan PRP dan kelompok tanpa PRP dengan randomisasi *simple random sampling*. Prosedur penelitian terdiri atas stimulasi ovarium dengan Cetrotide (GnRH anatagonis), pemeriksaan imunohistokimia ER- α , dan analisis ekspresi ER- α dengan mikroskop. Data kemudian diuji normalitas dan homogenitas dengan uji *Shapiro Wilk* dan *Levene's test*, dan dilanjutkan dengan uji komparasi menggunakan uji *Mann whittney* dan *Chi Square*. Didapatkan rata-rata *H-score* ER- α pada kelompok perlakuan sebesar 2,50 dan kelompok kontrol sebesar 1,54 dengan $P < 0,001$. Pada kelompok perlakuan, 18 tikus galur wistar (90%) memiliki ekspresi ER- α kuat dan 2 tikus memiliki ekspresi ER- α lemah sedang (10%). Sebaliknya, pada kelompok kontrol, 18 tikus galur wistar (90%) memiliki ekspresi ER- α lemah sedang dan hanya 2 tikus galur wistar (10%) yang memiliki ekspresi kuat ($P < 0,001$). Pemberian *Autologous Platelet Rich Plasma* (PRP) pada protokol antagonis FIV menyebabkan ekspresi ER- α lebih tinggi pada endometrium tikus galur Wistar.

Kata kunci : ER- α ., Protokol Antagonis FIV., PRP Autologus

ABSTRACT

In the last decade, the success of in vitro fertilization (IVF) is still low, especially in terms of implantation rates. Endometrial receptivity plays a key role in increasing the implantation rate. Estrogen receptor-alpha (ER- α) is one of the core receptors that mediates the action of the estrogen to stimulate gene expression to produce growth hormone which can be used as a marker to measure endometrial receptivity. On the other hand, ovarian stimulation will also disrupt physiological endocrine functions which will result in disruption of the regulation of estrogen receptors in the stroma and endometrial epithelial cells. Autologous PRP is thought to affect ER- α . Therefore, this study intends to further investigate the effect of autologous PRP administration on endometrial receptivity through the role of ER- α in the IVF antagonist protocol. The randomized posttest only controlled group experimental design was used in this study. Forty Wistar female rats were divided into 2 treatments, the treatment group with PRP and the control group without PRP with simple random sampling. The research procedure consisted of ovarian stimulation with Cetrotide (GnRH antagonist), ER- α immunohistochemical examination, and ER- α expression analysis using a microscope. Data were then tested for normality and homogeneity with the Shapiro-Wilk and Levene's tests, and continued with comparative tests using the Mann-

Whitney and Chi-Square tests. The average ER- α H-score was 2.50 in the treatment group and 1.54 in the control group with $P < 0.001$. In the treatment group, 18 Wistar rats (90%) had strong ER- α expression and 2 rats had moderately weak ER- α expression (10%). In contrast, 18 Wistar rats (90%) had moderately weak ER- α expression and only 2 Wistar rats (10%) had strong expression in the control group ($P < 0.001$). Administration of autologous platelet-rich plasma (PRP) in the antagonist protocol of in vitro fertilization (IVF) resulted in higher ER- α expression in the endometrium of Wistar rats.

Keywords : Autologous PRP., IVF Antagonist., Integrin $\beta 3$

PENDAHULUAN

Infertilitas terjadi pada sekitar 13% pasangan di seluruh dunia. Di Indonesia, angka kejadian infertilitas berkisar 10-15% atau 4-6 juta pasangan dari 39,8 juta pasangan usia subur. *Assisted reproductive technology* (ART) merupakan salah satu pengobatan yang digunakan pada pasien infertilitas untuk mencapai kehamilan pada pasangan infertil. Teknologi reproduksi berbantuan terdiri dari berbagai macam teknik. Fertilisasi In Vitro (FIV) merupakan salah satu teknik reproduksi berbantuan untuk mengatasi infertilitas ketika metode reproduksi lain gagal. Metode FIV mencakup langkah-langkah yang sangat terkoordinasi, dimulai dengan stimulasi ovarium terkontrol dengan gonadotropin eksogen, pengambilan oosit dan sperma, pembuahan, kemudian transfer embrio ke dalam rahim.^{1,2}

Dalam satu dekade terakhir, keberhasilan *Intracytoplasmic Sperm Injection* (ICSI) masih rendah terutama dalam hal *implantation rate* (IR).³ Di Indonesia, rata-rata IR program FIV di 23 pusat layanan bayi tabung adalah 13,88%. Protokol antagonis lebih disukai oleh dokter karena lebih murah, lebih mudah dilakukan, dan memerlukan waktu lebih singkat sehingga lebih nyaman bagi pasien dibandingkan protokol agonis.⁴ Beberapa siklus program FIV (*frozen embryo transfer*) ditunda karena kondisi tersebut dari endometrium yang tipis dan dikhawatirkan dapat mengganggu implantasi embrio dimana tidak ada protokol konvensional untuk kondisi ini.^{5,6} Berbagai upaya telah dilakukan untuk memperbaiki penerimaan endometrium, seperti dengan memperpanjang pemberian estrogen, terapi gonadotropin, pemberian *hormon chorionic gonadotropin* (hCG) dosis rendah, akupunktur, terapi sel induk atau meningkatkan perfusi endometrium dengan aspirin dan sildenafil dosis rendah, namun hasilnya belum memuaskan.^{6,7,8} Reseptivitas endometrium memainkan peran penting dalam meningkatkan tingkat IR selain kualitas embrio.⁴

Selama siklus menstruasi, penerimaan endometrium diatur oleh sekresi steroid ovarium. Proliferasi endometrium diinduksi oleh estrogen selama fase praovulasi, sedangkan progesteron menyebabkan perubahan sekretorik di endometrium.⁹ Reseptor intraseluler spesifik ligan yang terletak di sel stroma dan epitel endometrium memediasi kerja estrogen dan progesteron. *Estrogen receptor- α* (ER- α) meningkat selama fase proliferasi sebagai respons terhadap estrogen dan menurun selama masa implantasi sebagai respons terhadap progesteron. Penurunan ER- α bertepatan dengan ekspresi gen endometrium pada fase pertengahan luteal, dan merupakan peristiwa penting dalam pembentukan reseptivitas endometrium. Tingkat ER- α yang tinggi selama implantasi diamati pada wanita dengan sindrom ovarium polikistik (PCOS) dan endometriosis.³

Autologous platelet-rich plasma (PRP) merupakan alternatif yang dikenal keamanannya. PRP adalah produk darah autologus yang membawa produk kaya trombosit tiga hingga lima kali lipat jumlah normalnya.⁸ PRP mengandung faktor pertumbuhan, kemokin, sitokin, hormon nutrisi, protein penstabil, seperti albumin dan produk lain yang dapat berfungsi untuk pertumbuhan sel dan homeostasis.⁷ Di dalam membran sel, PRP mengandung banyak α -*granules* yang berperan penting dalam menyimpan faktor pertumbuhan intraseluler, seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor* (TGF- β) dan *insulin-like growth factor* (IGF-1).^{10,11} Berdasarkan latar belakang di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian PRP terhadap peran ER- α dalam protokol antagonis fertilisasi in vitro.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *randomized posttest only controlled group design*. Penelitian dilakukan terhadap 40 ekor tikus yang dibagi menjadi 2 kelompok yaitu 20 ekor sebagai kelompok perlakuan dan 20 ekor sebagai kontrol. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Udayana Denpasar pada bulan April 2022 hingga Juli 2022. Tikus dengan siklus estrus teratur selama 4 hari, berumur 8 – 12 minggu digunakan sebagai populasi target penelitian. Kriteria inklusi penelitian ini adalah tikus galur Wistar betina, belum kawin, dengan berat badan 200 – 230 gram. Tikus dengan siklus estrus tidak teratur dikeluarkan dari penelitian. Penentuan sampel dilakukan melalui teknik *simple random sampling* dengan menggunakan tabel angka acak pada Microsoft Excel for Windows. Selanjutnya tikus pada kolom A diberikan penomoran 1-20, kemudian dimasukkan ke dalam kelompok perlakuan dengan pemberian stimulasi protokol antagonis (gonadotropin, antagonis GnRH, hCG) + pemberian *platelet-rich plasma* (PRP), dan tikus pada kolom B bernomor 21-40 dimasukkan ke dalam kelompok kontrol (tanpa pemberian PRP).

Tikus galur Wistar dirawat sesuai instruksi dari *Animal Care and Use Committee* (ACUC). Tikus dipelihara dalam kandang yang disesuaikan dengan siklus 12 jam terang dan 12 jam gelap, suhu $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$ dan kelembaban 50-60%. Protokol antagonis dilakukan dengan stimulasi ovarium pada tikus yang diawali dengan injeksi antagonis GnRH (Cetrotide; Serono) intra peritoneal (i.p) dengan dosis $4,5 \mu\text{g}/100 \text{ gBB}$ mulai hari ke-3 estrus hingga hari ke-9. HMG (Menopur) disuntik (i.p.) dengan dosis 40 U/100 gBB pada pukul 09.00 hari ke-9, dilanjutkan dengan penyuntikan (i.p.) HCG (pregnyl) dengan dosis 100 U/100 gBB, 28 jam setelahnya injeksi HMG. PRP disempatkan

ke dalam rongga rahim melalui vagina dengan dosis 0,25 mL pada hari ke-8 dan hari ke-10 menggunakan spuit 1 mL menggunakan jarum 30G. Ekspresi ER- α dilakukan dengan menilai intensitas ER- α pada endometrium mencit yang ditunjukkan dengan nilai perhitungan *H-score* hasil penilaian *slide* preparat setelah pemeriksaan imunohistokimia dan dikategorikan sebagai berikut: (a) Ekspresi Lemah (*H-score* ≤ 1), (b) ekspresi sedang (*H-score* = 1,1-2), (c) ekspresi kuat (*H-score* = 2,1-3), (d) ekspresi sangat kuat (*H-score* = 3,1-4). Pengamatan hasil ekspresi ER- α dilakukan dengan menggunakan metode analisis digital. Preparat diperiksa dengan perbesaran 400 kali menggunakan mikroskop Olympus CX4.

Uji statistik deskriptif dilakukan untuk mendeskripsikan karakteristik dasar masing-masing kelompok dan distribusi frekuensi berbagai variabel berupa data umur, berat badan, data hasil pemeriksaan histologis dan imunohistokimia sediaan endometrium tikus wistar berupa hasil *H-score* ER- α . Selain itu juga ditunjukkan proporsi *H-score* ER- α pada kelompok yang menerima terapi PRP dan tanpa PRP. Uji normalitas dilakukan terhadap umur tikus, berat badan awal dan akhir, serta *H-score* ekspresi ER- α endometrium menggunakan uji Shapiro Wilk. Kemudian dilakukan uji homogenitas data umur tikus, berat badan awal dan akhir penelitian dengan menggunakan *Levene's test*. Kemudian dilakukan uji perbandingan terhadap data karakteristik subjek penelitian (umur, berat badan awal dan akhir) dengan uji *Independent t-Test*. Sedangkan uji perbandingan *H-score* ER- α apabila data tidak berdistribusi normal maka digunakan uji Mann Whitney. Untuk uji perbandingan ekspresi ER- α digunakan uji Chi Square. Hasil dinyatakan signifikan jika nilai $p < 0,05$. Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan program SPSS for Windows versi 17. Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Unit Laboratorium Biomedik Terpadu dengan surat persetujuan pelaksanaan penelitian No: 1205/UN.14.2.2.VII.6/LT/2022, serta persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian (KEP) Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah Denpasar tanggal 23 Februari 2022, berupa Surat Pernyataan *Ethical Clearance* Nomor: 323/UN14.2.2.VII.14/LT/2022.

HASIL

Pada penelitian ini, rerata umur tikus saat penelitian pada kelompok perlakuan adalah $62,95 \pm 1,31$ hari, sedangkan pada kelompok kontrol adalah $62,45 \pm 1,60$ hari (Tabel 1). Tidak ada perbedaan yang signifikan dalam rerata usia antara tikus kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada awal penelitian. Pada uji t diperoleh $p = 0,288$.

Tabel 1. Karakteristik Demografis Kelompok Perlakuan Dan Kelompok Kontrol

Karakteristik	Kelompok Perlakuan (N = 20)		Kelompok Kontrol (N = 20)		p*
	Rerata	SD	Rerata	SD	
Umur (hari)	62,95	1,31	62,45	1,60	0,288
Berat Badan Awal (gram)	211,24	1,73	211,85	1,61	0,257

Berat Badan Akhir (gram)	227,69	1,36	228,30	1,26	0,152
--------------------------	--------	------	--------	------	-------

*Uji t-Test

Rerata berat badan tikus kelompok perlakuan pada saat penelitian dimulai adalah $211,24 \pm 1,73$ gram, sedangkan rata-rata berat badan tikus kelompok kontrol adalah $211,85 \pm 1,61$ gram. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara berat badan tikus kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada awal penelitian ($p = 0,257$).

Pada akhir penelitian, rata-rata berat badan kelompok perlakuan adalah $227,69 \pm 1,36$ gram, sedangkan rata-rata berat badan kelompok kontrol adalah $228,30 \pm 1,26$ gram. Sama halnya pada awal penelitian, pada akhir penelitian juga tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara rata-rata berat badan tikus kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Uji *t-Test* diperoleh nilai $p = 0,152$.

Pada penelitian ini diperiksa ekspresi ER- α pada endometrium tikus galur Wistar dari kedua kelompok penelitian dengan menggunakan teknik imunohistokimia. Berdasarkan uji normalitas data (uji Kolmogorov-Smirnov) diketahui bahwa data ER- α *H-score* kelompok perlakuan dan kontrol tidak berdistribusi normal ($p = 0,000$), sehingga uji yang digunakan untuk pembandingan data adalah uji Mann Whitney.

Berdasarkan pemeriksaan imunohistokimia jaringan endometrium tikus Wistar, rata-rata ekspresi ER- α (*H-score*) epitel endometrium pada kelompok perlakuan adalah $2,50 \pm 0,35$, sedangkan pada kelompok kontrol rata-rata *H-score* ER- α adalah $1,54 \pm 0,25$. Rata-rata skor H pada kelompok perlakuan secara signifikan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Uji Mann Whitney memperoleh nilai $p < 0,001$ (Tabel 2).

Tabel 2. Rerata Distribusi *H-score* ER- α Pada Kelompok Perlakuan Dan Kelompok Kontrol

Parameter	Kelompok Perlakuan (N = 20)		Kelompok Kontrol (N = 20)		p*
	Rerata	SD	Rerata	SD	
<i>H-score</i> ER- α	2,50	0,355	1,54	0,25	<0,001

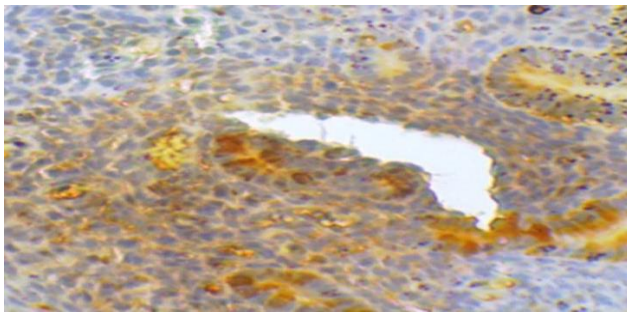
*Mann Whitney Test

Pada kelompok perlakuan, 18 ekor tikus Wistar (90%) memiliki ekspresi ER- α yang kuat dan 2 ekor tikus memiliki ekspresi ER- α yang lemah-sedang (10%). Sebaliknya, pada kelompok kontrol, 18 tikus Wistar (90%) memiliki ekspresi ER- α yang lemah-sedang dan hanya 2 tikus Wistar (10%) yang memiliki ekspresi ER- α yang kuat. Dengan uji Chi Square diperoleh nilai $\chi^2 = 25,6$ dan nilai $p < 0,001$ (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada ekspresi ER- α antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Penambahan PRP autologus pada FIV protokol antagonis dapat menyebabkan ekspresi ER- α menjadi lebih kuat pada epitel endometrium tikus galur Wistar yang dirusak oleh kadar suprafisiologis hormon estrogen.

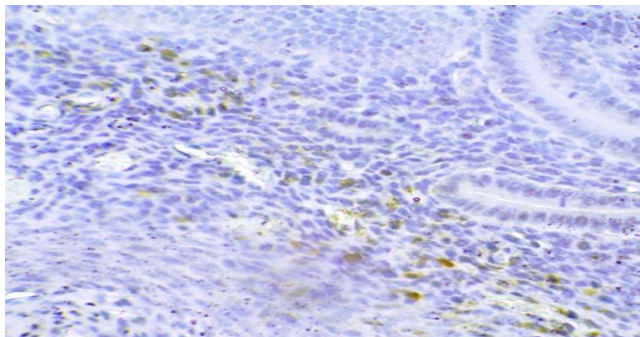
Tabel 3. Perbedaan Ekspresi ER- α Pada Kelompok Perlakuan Dan Kelompok Kontrol

Kelompok	Ekspresi ER- α		χ^2	p
	Lemah	Kuat		
Perlakuan	2	18	2,6	<0,001
Kontrol	18	2		

Gambar 1 dan 2 menunjukkan hasil imunohistokimia ER- α pada epitel endometrium tikus. Intensitas pewarnaan ER- α ditunjukkan dengan warna coklat pada epitel endometrium. Gradasi intensitas pewarnaan dinyatakan dengan 0 = tidak terwarnai/negatif, 1 = intensitas lemah, 2 = intensitas sedang, dan 3 = intensitas kuat.



Gambar 1. Ekspresi ER- α Pada Kelompok Perlakuan (Sampel Nomor 12). *H-score* = 2,98; Ekspresi Kuat; Dari 346 sel epitel endometrium, 118 sel memiliki pewarnaan dengan intensitas kuat, 133 sel memiliki pewarnaan dengan intensitas sedang, 64 sel memiliki pewarnaan dengan intensitas lemah,



dan 31 sel tidak terwarnai.

Gambar 2. Ekspresi ER- α Pada Kelompok Kontrol (Sampel Nomor 25). *H-score* = 1,37; Ekspresi Lemah-Sedang; Dari 345 sel epitel endometrium, 7 sel memiliki pewarnaan dengan intensitas kuat, 12 sel memiliki pewarnaan dengan intensitas sedang, 82 sel memiliki pewarnaan dengan intensitas lemah, dan 244 sel tidak terwarnai.

DISKUSI

Penelitian ini melakukan siklus 12 jam terang dan 12 jam gelap pada tikus betina yang belum pernah kawin dan dalam keadaan sehat. Fase aklimatisasi dilakukan dengan tujuan untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan, termasuk siklus terang-gelap, tikus mempunyai kemampuan untuk mengembangkan mekanisme biologis melalui penyesuaian perilaku dan fisiologis. Kemampuan ini diatur oleh *cell-intrinsic molecular circadian pacemaker* yang terletak di *suprachiasmatic nuclei* (SCN) di hipotalamus. SCN akan menghasilkan kisspeptin, yang pada waktunya akan meregulasi pelepasan GnRH setiap hari. Hal ini akan menyebabkan siklus estrus yang teratur melalui denyut FSH dan LH dari hipofisis.¹² Tikus yang telah mengalami adaptasi memiliki durasi siklus estrus 4 hari, kemudian dimasukkan ke dalam kelompok perlakuan yang mendapat terapi PRP serta kelompok kontrol.

Rata-rata umur tikus betina saat penelitian dimulai pada kelompok perlakuan adalah $62,95 \pm 1,31$ hari, sedangkan pada kelompok kontrol adalah $62,45 \pm 1,60$ hari (Tabel 1). Subjek penelitian dari kedua kelompok tersebut telah memasuki masa kematangan reproduksi. Masa kematangan reproduksi hewan pengerat (*Rodentia*) dimulai pada umur 28 – 42 hari, di mana yang berumur lebih dari 60 hari tergolong dalam stadium dewasa di mana pertumbuhan dan perkembangan organ reproduksinya sudah lengkap.^{13,14} Usia tikus yang dianjurkan untuk kawin adalah 8-10 minggu.¹³

Rerata berat badan tikus kelompok perlakuan dan kelompok kontrol meningkat dari awal penelitian hingga akhir penelitian, meskipun tidak terdapat perbedaan yang bermakna (Tabel 1). Berat badan tikus dipengaruhi oleh umur, jenis kelamin dan pola makan.^{14,15} Laju pertumbuhan mencerminkan kesehatan tikus secara umum, di mana laju pertumbuhan itu sendiri dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kepadatan kandang, makanan, dan keasaman air.¹⁶ Peningkatan rerata berat badan kedua kelompok pada penelitian ini dari awal penelitian hingga akhir penelitian mencerminkan kondisi kesehatan subjek penelitian yang baik.

Pengaruh Pemberian *Autologous Platelet-Rich Plasma* (PRP) Terhadap Ekspresi ER- α Pada Endometrium Tikus Galur Wistar

Proliferasi endometrium diinduksi oleh estrogen selama fase praovulasi, sedangkan progesteron menyebabkan perubahan sekresi pada endometrium yang dipicu oleh estrogen. Reseptor estrogen (ER) adalah anggota reseptor nuklir yang memediasi kerja hormon estrogen dalam tubuh. *estrogen receptor- α* (ER- α) adalah anggota superfamili steroid/reseptor nuklir yang mencakup lebih dari 150 anggota. Anggota-anggota ini mempunyai struktur dan mekanisme umum yang memengaruhi transkripsi berbagai gen target yang mengkode sinyal fisiologis dan patologis tertentu. *Estrogen receptor- α* memainkan peran penting selama fase proliferasi di mana ekspresinya meningkat untuk memungkinkan pengikatan koaktivator estrogen dan mengaktifkan faktor transkripsi. Aktivasi transkripsi gen akan mengarahkan sintesis protein tertentu yang kemudian memengaruhi fungsi sel.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fuentes dkk., ER- α berhubungan dengan penerimaan endometrium. ER- α meningkat selama fase proliferasi sebagai respons terhadap estrogen dan mengalami penurunan regulasi selama periode implantasi sebagai respons terhadap progesteron. Setiap perubahan keseimbangan antara estrogen dan progesteron dapat mengganggu waktu penurunan regulasi ER- α pada fase pertengahan luteal.¹⁷

Stimulasi ovarium akan meningkatkan produksi dan sekresi hormon steroid (estradiol dan progesteron), sebagai cerminan dari pertumbuhan folikel. Semua stimulasi ovarium akan mengubah pola dan komposisi rasio kadar hormon steroid, terutama estradiol dan progesteron, baik dalam sirkulasi maupun dalam cairan folikuler.⁹ Bourgain & Devroey mengevaluasi indeks proliferasi endometrium dan menemukan bahwa pada fase luteal awal terdapat efek antiproliferasi yang berat baik pada kelenjar endometrium dan sel stroma dalam siklus yang distimulasi dibandingkan dengan siklus alami.¹⁸

Dalam penelitian ini, pemberian *platelet-rich plasma* (PRP) intrauterin memiliki efek signifikan terhadap peningkatan ekspresi ER- α selama stimulasi ovarium dalam protokol fertilisasi in vitro antagonis. Ekspresi ER- α berdasarkan pemeriksaan imunohistokimia jaringan endometrium tikus diklasifikasikan menjadi ekspresi lemah, sedang, kuat dan sangat kuat untuk masing-masing kelompok perlakuan dan kontrol. Terdapat perbedaan ekspresi ER- α yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Ekspresi ER- α yang lebih tinggi terdapat pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol dengan nilai $p < 0,001$. Dengan menggunakan uji Mann Whitney, ditemukan bahwa pemberian PRP berhubungan dengan peningkatan ekspresi ER- α . Pemberian terapi PRP pada tikus yang terkena sindrom ovarium polikistik (PCOS) dilakukan oleh Anvari dkk. (2019), dan menunjukkan hal serupa. Pemberian terapi PRP pada kelompok perlakuan menyebabkan peningkatan ekspresi ER- α dibandingkan kelompok kontrol dengan nilai $p < 0,01$. Terapi PRP menimbulkan modulasi hormonal dengan menurunkan kadar testosteron, androstenedion, *follicle-stimulating hormone* (FSH), dan *luteinizing hormone* (LH) serta meningkatkan produksi estrogen dan progesteron untuk mengatasi gangguan hormonal pada PCOS. Pada penelitian tersebut kelompok perlakuan juga menunjukkan modulasi regulasi antioksidan (peningkatan ekspresi antioksidan dalam sel yaitu TAC (*total antioxidant capacity*), SOD (*superoxide dismutase*), dan GSH-px (*glutathione peroxidase*)).¹⁹

Penelitian yang dilakukan Marini dkk. (2016) juga menunjukkan hal serupa dengan hasil penelitian ini. Di mana pemberian PRP 5% secara in vitro pada endometrium sapi yang mengalami peradangan menimbulkan Ekspresi ER- α meningkat 9 kali lipat pada biopsi endometrium dari sapi yang menerima terapi infus PRP dengan nilai $p < 0,001$. Pada penelitian ini pemberian PRP menyebabkan peningkatan proliferasi endometrium yang diduga disebabkan oleh adanya *platelet-derived growth factor* (PDGF) yang terkandung dalam PRP. PRP juga mempunyai efek antiinflamasi dengan cara memodulasi atau menghambat *nuclear factor kappa B* (NF- κ B) yang berperan dalam proses inflamasi. Hasil ini mendorong penulis untuk menyarankan pengobatan endometritis sapi dengan PRP yang

memiliki potensi lebih besar secara *in vivo*.²⁰ Hal ini didukung oleh Lee dkk. (2017) yang menyatakan bahwa terdapat efek proliferasi dan antifibrotik pada endometrium yang rusak di mana pemberian PRP juga dapat memicu angiogenesis dan migrasi sel yang berhubungan dengan peningkatan ketebalan endometrium.²¹

Hingga saat ini, mekanisme molekuler yang mendasari efek PRP dalam meningkatkan reseptivitas endometrium belum sepenuhnya diketahui. Tinjauan sistematis dan meta-analisis oleh Maleki-Hajiagha dkk. (2020) menunjukkan bahwa pemberian PRP autologus kepada pasien yang menjalani transfer embrio beku-cair meningkatkan angka kehamilan. Dari tujuh penelitian, terdapat dua penelitian yang menilai ketebalan endometrium setelah pemberian PRP autologus dengan hasil peningkatan ketebalan endometrium yang signifikan dengan rata-rata perbedaan ketebalan 0,94 mm ($p < 0,001$). Hasil serupa diperoleh pada *implantation rate* (IR), di mana terdapat peningkatan IR yang signifikan pada pasien yang menerima PRP dibandingkan dengan kontrol.²²

Penelitian di Korea oleh Lee dkk. (2017) telah dilakukan untuk menentukan apakah terapi PRP autologus dapat meningkatkan regenerasi kerusakan endometrium dalam model eksperimental yang diinduksi etanol. Enam puluh ekor tikus Sprague-Dawley dibagi menjadi kelompok kontrol, kelompok etanol dan kelompok perlakuan PRP. Hasil analisis pewarnaan *hematoxylin-eosin* (H&E) dan *Masson trichrome* (MT) mengonfirmasi penurunan fibrosis dan peningkatan proliferasi sel yang signifikan pada kelompok yang diobati dengan PRP, dibandingkan dengan kelompok lain. Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian PRP mempunyai efek proliferasi dan antifibrotik pada endometrium yang rusak.²¹

Platelet-rich plasma (PRP) diketahui mengandung beberapa faktor pertumbuhan dan sitokin yang dapat membantu mempercepat proliferasi sel, angiogenesis dan migrasi sel, sehingga menghasilkan penyembuhan dan regenerasi jaringan yang cepat.²¹ PRP mengandung banyak α -*granules* yang berperan penting dalam menyimpan faktor pertumbuhan intraseluler seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor beta* (TGF- β), dan *insulin-like growth factor 1* (IGF-1) yang berfungsi dalam penyembuhan luka. Ketika α -*granules* diaktifkan, butiran ini akan menempel pada membran sel trombosit dan mengaktifkan sejumlah protein. Protein ini akan berikatan dengan reseptor transmembran pada sel target seperti sel epidermis dan sel induk mesenkim. Faktor pertumbuhan juga dapat mengaktifkan fibroblas untuk kemudian menginduksi jalur transduksi internal, seperti ekspresi gen dalam sel yang berfungsi untuk proliferasi sel, sintesis kolagen, antiapoptosis dan lain-lain.²³

SIMPULAN DAN SARAN

Pemberian *Autologous Platelet-Rich Plasma* (PRP) pada protokol antagonis fertilisasi in vitro (FIV) menghasilkan ekspresi *estrogen receptor- α* (ER- α) yang lebih kuat pada endometrium tikus Wistar dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak mendapat PRP autologus. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai biomarker reseptivitas endometrium lainnya. Melalui

bukti dalam penelitian lebih lanjut, penggunaan PRP autologous di bidang reproduksi dapat digunakan sebagai protokol stimulasi adjuvan untuk mengatasi efek samping kadar estrogen suprafisiologis terhadap reseptivitas endometrium.

UCAPAN TERIMA KASIH

Segenap penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penelitian ini, mulai dari penyusunan proposal, penyusunan dan pelaksanaan penelitian, serta analisis data hingga penulisan makalah penelitian ini. Segala biaya yang dikeluarkan dalam penelitian ini ditanggung secara pribadi oleh semua penulis. Penulis menyatakan bahwa semua penulis tidak mempunyai konflik kepentingan. Semua penulis dibagi untuk melakukan proporsi pekerjaan yang sama, mulai dari konseptualisasi, penyelidikan, metodologi, dan sumber daya, hingga penulisan penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

1. Aghajanova L, Houshdaran S, Balayan S, Manvelyan E, Irwin JC, Huddleston HG, Giudice LC. In vitro evidence that platelet-rich plasma stimulates cellular processes involved in endometrial regeneration. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2018 May;35:757-70.
2. Harzif AK, Santawi VP, Wijaya S. Discrepancy in perception of infertility and attitude towards treatment options: Indonesian urban and rural area. *Reproductive health*. 2019 Dec;16:1-7.
3. Dorostghoal M, Moramezi F, Keikhah N. Overexpression of endometrial estrogen receptor-alpha in the window of implantation in women with unexplained infertility. *International journal of fertility & sterility*. 2018 Apr;12(1):37.
4. Anantasika AAN, Suwiyoga K, Bakta IM, Astawa IN. Higher endometrial receptivity caused by Letrozole in antagonist protocol-stimulated mouse uterus. *Bali Medical Journal*. 2018 Aug 5;7(2):369-78.
5. Nazari L, Salehpour S, Hoseini S, Zadehmodarres S, Azargashb E. Effects of autologous platelet-rich plasma on endometrial expansion in patients undergoing frozen-thawed embryo transfer: A double-blind RCT. *International Journal of Reproductive BioMedicine*. 2019 Jun;17(6):443.
6. Eftekhari M, Neghab N, Naghshineh E, Khani P. Can autologous platelet rich plasma expand endometrial thickness and improve pregnancy rate during frozen-thawed embryo transfer cycle? A randomized clinical trial. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2018 Dec 1;57(6):810-3.
7. Zadehmodarres S, Salehpour S, Saharkhiz N, Nazari L. Treatment of thin endometrium with autologous platelet-rich plasma: a pilot study. *JBRA assisted reproduction*. 2017 Jan;21(1):54.
8. Kim H, Shin JE, Koo HS, Kwon H, Choi DH, Kim JH. Effect of autologous platelet-rich plasma treatment on refractory thin endometrium during the frozen embryo transfer cycle: a pilot study. *Frontiers in endocrinology*. 2019 Feb 14;10:61.
9. Fritz MA, Speroff L, editors. *Clinical gynecologic endocrinology and infertility*. lippincott Williams & wilkins; 2011.
10. Dhurat R, Suresh M. Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: a review and author's perspective. *Journal of cutaneous and aesthetic surgery*. 2014 Oct;7(4):189.
11. Molina A, Sánchez J, Sánchez W, Vielma V. Platelet-rich plasma as an adjuvant in the endometrial preparation of patients with refractory endometrium. *JBRA assisted reproduction*. 2018 Jan;22(1):42.
12. Miller PB, Parnell BA, Bushnell G, Tallman N, Forstein DA, Higdon III HL, Kitawaki J, Lessey BA. Endometrial receptivity defects during IVF cycles with and without letrozole. *Human Reproduction*. 2012 Mar 1;27(3):881-8.
13. Marcel PG. Tips for successfully breeding your mice [Internet]. 2015 [cited 2017 Jul.16]. Available from: URL: http://research.utsa.edu/wp-content/uploads/2015/02/tips_for_successfully_breeding_your_mice.pdf.
14. Ghasemi A, Jeddi S, Kashfi K. The laboratory rat: Age and body weight matter. *EXCLI journal*. 2021;20:1431.
15. Yang Y, Smith Jr DL, Keating KD, Allison DB, Nagy TR. Variations in body weight, food intake and body composition after long-term high-fat diet feeding in C57BL/6J mice. *Obesity*. 2014 Oct;22(10):2147-55.
16. Peters A, Festing M. Population density and growth rate in laboratory mice. *Laboratory animals*. 1990 Jul 1;24(3):273-9.
17. Fuentes N, Silveyra P. Estrogen receptor signaling mechanisms. *Advances in protein chemistry and structural biology*. 2019 Jan 1;116:135-70.
18. Bourgain C, Devroey P. The endometrium in stimulated cycles for IVF. *Human reproduction update*. 2003 Nov 1;9(6):515-22.
19. Anvari SS, Dehghan G, Razi M. Preliminary findings of platelet-rich plasma-induced ameliorative effect on polycystic ovarian syndrome. *Cell Journal (Yakhteh)*. 2019;21(3):243.
20. Marini MG, Perrini C, Esposti P, Corradetti B, Bizzaro D, Riccaboni P, Fantinato E, Urbani G, Gelati G, Cremonesi F, Lange-Consiglio A. Effects of platelet-rich plasma in a model of bovine endometrial inflammation in vitro. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2016 Dec;14:1-7.
21. Lee BH, Yang JH, Kim HS, Suk KS, Lee HM, Park JO, Moon SH, Cho HW, Suh JS, Park JO, Kim HS. Effects of autologous platelet-rich plasma on regeneration of damaged endometrium in female rats. *Yonsei medical journal*. 2017 Nov 1;58(6):1195-203.

22. Maleki-Hajiagha A, Razavi M, Rouholamin S, Rezaeinejad M, Maroufizadeh S, Sepidarkish M. Intrauterine infusion of autologous platelet-rich plasma in women undergoing assisted reproduction: A systematic review and meta-analysis. *Journal of reproductive immunology*. 2020 Feb 1;137:103078.
23. Chang NJ, Erdenekhuyag Y, Chou PH, Chu CJ, Lin CC, Shie MY. Therapeutic effects of the addition of platelet-rich plasma to bioimplants and early rehabilitation exercise on articular cartilage repair. *The American Journal of Sports Medicine*. 2018 Jul;46(9):2232-41.

