Pemberian Kombinasi Estrogen, Progesteron, dan Testosteron Lebih Meningkatkan Integritas Struktural Vagina Dibandingkan dengan Kombinasi Estrogen dan Progesteron pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina Dewasa Post Ovariectomi

Putu Cynthia Devi Irmayanti

Program Magister Ilmu Biomedik Universitas Udayana
cynthiadevi91@yahoo.co.id

Diterima: 21 Juni 2016. Disetujui: 27 Juni 2016. Diterbitkan: Agustus 2016

ABSTRAK

Atrofi vagina ditandai dengan vagina yang pucat, memendek dan menyempit yang diikuti dengan hilangnya lipatan-lipatan (*rugae*) pada vagina, terlebih lagi terjadi penurunan lubrikasi dan elastisitas vagina. Salah satu penatalaksanaan atrofi vagina pada wanita menopause adalah mengatasi penurunan hormon reproduksi dengan terapi sulih hormon. Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan bahwa pemberian kombinasi estrogen, progesteron dan testosteron lebih meningkatkan integritas struktural vagina dibandingkan dengan kombinasi estrogen dan progesteron pada tikus putih betina dewasa post ovariectomi. Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian *True Experimental Design – Post Test Only Control Group Design* yaitu rancangan yang digunakan untuk mengukur efek setelah pemberian kombinasi hormon pada integritas struktural vagina ketiga kelompok perlakuan. Tiga kelompok tersebut adalah kelompok kontrol (P0) yang hanya diberikan akuades, kelompok P1 yang diberikan kombinasi estrogen dan progesteron, sedangkan kelompok P2 diberikan kombinasi hormon estrogen, progesteron dan testosteron. Perlakuan diberikan peroral selama 30 hari dan pada hari ke 31 dilakukan terminasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa : (1) rerata ketebalan epitel ketiga kelompok perlakuan berbeda secara signifikan ($p = 0,000$). Ketebalan epitel yang paling tinggi dimiliki oleh kelompok kombinasi estrogen dan progesteron, sedangkan ketebalan epitel yang paling rendah pada kelompok kontrol; (2) rerata luas area muskularis ketiga kelompok perlakuan berbeda secara signifikan ($p = 0,000$). Luas area muskularis yang paling tinggi dimiliki oleh kelompok kombinasi estrogen, progesteron dan testosteron, sedangkan luas area muskularis yang paling rendah pada kelompok kontrol; (3) rerata jumlah vaskular ketiga kelompok perlakuan berbeda secara signifikan ($p = 0,000$). Jumlah vaskular yang paling tinggi dimiliki oleh kelompok kombinasi estrogen, progesteron dan testosteron, sedangkan jumlah vaskular yang paling rendah pada kelompok kontrol. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian kombinasi estrogen, progesteron dan testosteron lebih meningkatkan integritas struktural vagina dibandingkan dengan kombinasi estrogen dan progesteron pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina dewasa post ovariectomi.

Kata kunci: Kombinasi estrogen dan progesteron, kombinasi estrogen, progesteron dan testosteron, integritas struktural vagina.

ABSTRACT

A decline in estrogen, progesterone and testosterone during menopause cause vaginal atrophy. Symptoms of vaginal atrophy includes pale vaginal tissue, shortened and narrowed vaginal wall which is followed by a decrease of vaginal folds (*rugae*). Further, the symptom is also characterized by a decrease in lubrication and vaginal elasticity. Hormone replacement therapy is one of vaginal atrophy treatment in menopause to overcome hormone reproduction decline. The design of this research was *True Experimental Design – Post Test Only Control Group Design*. It was used to measure the effect of hormone combination on vaginal structural integrity in three treatment groups. The three treatment groups were control group (P0) which was only given aquades, P1 group which was given the combination of estrogen and progesterone, and P2 group which was given the combination of estrogen, progesterone and testosterone. Those treatment was given orally for 30 days and termination was conducted on day 31. The results of this research showed

that: (1) There was a significant difference in the mean of epithelial thickness among three treatment groups ($p = 0,000$). The group with combination of estrogen and progesterone has the highest level of thickness, meanwhile the control group has the lowest level of thickness; (2) There was a significant difference in the mean of width of muscularis area among three treatment groups ($p = 0,000$). The group with combination of estrogen, progesterone and testosterone has the highest level of width, meanwhile the control group has the lowest level of width; (3) There was a significant difference in the mean of vascular numbers among three treatment groups ($p = 0,000$). The group with combination of estrogen, progesterone and testosterone has the highest number of vascular, meanwhile the control group has the lowest number of vascular. The results of this research indicated that administrating the combination of estrogen, progesterone and testosterone increased vaginal structural integrity more than combination of estrogen and progesterone in post ovariectomy adult female rats.

Keywords: Combination of estrogen and progesterone, combination of estrogen, progesterone and testosterone, vaginal structural integrity.

PENDAHULUAN

Menopause merupakan salah satu fase kehidupan wanita yang ditandai dengan berhentinya siklus menstruasi. Berdasarkan penyebabnya, terdapat dua tipe menopause yaitu menopause fisiologis dan artifisial menopause. Menopause fisiologis terjadi secara alami karena penurunan aktivitas ovarium yang diikuti dengan penurunan produksi hormon reproduksi, sedangkan artifisial menopause terjadi karena proses pembedahan seperti ovariectomi (*oophorectomy bilateral*). Menopause fisiologis dan artifisial menopause akan menunjukkan tanda dan gejala klinis yang sama, sebagai akibat dari penurunan hormon estrogen, progesteron, dan testosteron.¹

Vagina merupakan salah satu organ wanita yang sangat tergantung hormon reproduksi sampai usia dewasa. Vagina terbentuk dari jaringan epitelium, muskularis dan vaskular.² Pada vagina, hormon estrogen berperan dalam proliferasi sel epitel, peningkatan aliran darah dan vasodilatasi vaskular, serta menghambat jejas vaskular. Progesteron berperan dalam stratifikasi jaringan epitelium dan menghambat proliferasi sel yang diinduksi oleh estrogen. Hormon testosteron berfungsi untuk stimulasi proliferasi jaringan muskularis, induksi relaksasi vaskular, sintesis dan pelepasan *nitric oxide*, serta angiogenesis melalui mekanisme pelepasan *vascular endothelial growth factor*.³

Penurunan fungsi ovarium pada wanita menopause akan menyebabkan penurunan kadar hormon estrogen, progesteron dan testosteron yang drastis di dalam darah karena ovarium adalah organ utama pembentuknya. Salah satu efek dari penurunan produksi hormon reproduksi adalah atrofi vagina. Gejala vaginal pada wanita dengan atrofi vagina berupa vagina kering, dispareunia,

perdarahan bercak atau *spotting*, pruritus, nyeri, atau adanya *discharge* yang berbau tak sedap. Gejala-gejala ini bisa memiliki dampak yang signifikan terhadap kualitas hidup dan gairah seksual. Pada pemeriksaan genital akan didapatkan hasil berupa jaringan epitelium yang pucat, halus, dan tipis yang sangat rapuh. Lubrikasi vagina akan menurun, mukosa vagina akan terlihat datar dan pucat, karena tidak adanya rugae normal, lipatan, dan lekukan vagina. Jaringan vagina akan kehilangan kelenturannya, elastisitas, dan kemampuan untuk memanjang.

Saat wanita menopause mengalami gejala atrofi vagina, salah satu pilihan penatalaksanaannya adalah terapi hormonal sistemik. Terapi hormonal yang sudah sering digunakan pada saat ini adalah kombinasi estrogen dan progesteron. Selain hormon estrogen dan progesteron, hormon testosteron juga memiliki peran yang sangat penting dalam fungsi seksual wanita khususnya pemeliharaan integritas vagina. Pemberian kombinasi hormon estrogen, progesteron dan testosteron diharapkan dapat lebih meningkatkan integritas struktural vagina dibandingkan dengan kombinasi estrogen dan progesteron pada masa menopause. Kombinasi estrogen, progesteron dan testosteron dapat memperbaiki jaringan epitelium, muskularis dan vaskular sehingga dapat mencegah terjadinya atrofi vagina pada menopause.

BAHAN DAN METODE

Sampel Penelitian

Subyek penelitian yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) betina dewasa post ovariectomi, galur wistar, umur 140 – 168 hari, berat badan 200 – 250 gram dan sehat. Besar sampel yang digunakan sebanyak 30 ekor tikus

yang dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan yaitu kontrol yang diberikan akuades, kelompok P1 diberikan kombinasi estrogen dan progesteron, sedangkan kelompok P2 diberikan kombinasi estrogen, progesteron dan testosteron. Perlakuan diberikan peroral selama 30 hari dan pada hari ke 31 dilakukan terminasi untuk mengambil spesimen vagina. Vagina dipotong pada bagian 2/3 posterior kemudian dilakukan pewarnaan *Hematoxylin Eosin*. Pada proses pembacaan spesimen diamati integritas struktural vagina yang terdiri dari ketebalan epitelium, luas area muskularis dan jumlah vaskular dengan menggunakan aplikasi *Image Raster J*.

ANALISIS DATA

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis secara deskriptif untuk memberikan gambaran tentang karakteristik data yang didapatkan dari hasil penelitian berupa *mean* (rata-rata) dan standar deviasi umur tikus, berat badan tikus, ketebalan epitelium, luas area jaringan muskularis dan jumlah vaskular. Analisis normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Data berdistribusi normal dengan nilai $p > 0,05$. Uji homogenitas data menggunakan uji *Levene's test*. Analisis yang digunakan untuk menguji perbedaan rerata ketebalan jaringan epitelium dan luas area jaringan muskularis pada 3 kelompok perlakuan adalah uji *One-way Anova* dengan tingkat kemaknaan 5% ($p < 0,05$). Data jumlah vaskular diuji dengan analisis nonparametrik yaitu *Kruskal Wallis* karena data tidak berdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji analisis *Least Significant Difference*.

HASIL PENELITIAN

Gambar 1.

Perbedaan Ketebalan Epitelium Vagina

Gambar 1 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan ketebalan epitel antar kelompok

perlakuan yang signifikan. Ketebalan epitel yang paling tinggi dimiliki oleh kelompok kombinasi estrogen dan progesteron, sedangkan ketebalan epitel yang paling rendah pada kelompok kontrol.

Gambar 2.

Perbedaan Luas Area Muskularis Vagina.

Gambar 2 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan luas area muskularis antar kelompok perlakuan yang signifikan. Luas area muskularis yang paling tinggi dimiliki oleh kelompok kombinasi estrogen, progesteron dan testosteron, sedangkan luas area muskularis yang paling rendah pada kelompok kontrol.

Gambar 3.

Perbedaan Jumlah Vaskular Vagina

Gambar 3 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah vaskular antar kelompok perlakuan yang signifikan. Jumlah vaskular yang paling tinggi dimiliki oleh kelompok kombinasi estrogen, progesteron dan testosteron, sedangkan jumlah vaskular yang paling rendah pada kelompok kontrol.

DISKUSI

Kombinasi Estrogen Progesteron Lebih Meningkatkan Ketebalan Epitelium Vagina dibandingkan Kombinasi Estrogen, Progesteron dan Testosteron

Pemeliharaan integritas jaringan epitelium vagina sangat tergantung estrogen. Data menunjukkan bahwa pada jaringan epitelium vagina, jumlah reseptor yang paling banyak ditemukan adalah reseptor estrogen α (ER α) dibandingkan dengan reseptor progesteron (PR) dan reseptor androgen (AR).³ Penurunan kadar estrogen pada jaringan epitelium akan mengakibatkan gangguan replikasi dan kemampuan perbaikan pada sel dan jaringan. Setelah 4 minggu post ovariectomi, jaringan epitelium vagina pada tikus akan mengalami penipisan yang sangat signifikan karena kehilangan satu hingga dua lapisan sel. Epitelium vagina berubah dari epitel skuamosa berlapis menjadi epitel kuboidal selapis. Atrofi jaringan epitelium akan menyebabkan vagina menjadi pucat dan kehilangan lipatan-lipatan (*rugae*). Mekanisme atrofi pada jaringan epitelium akibat defisiensi hormon estrogen merupakan kombinasi antara sintesa protein yang menurun dan degradasi protein dalam sel. Sintesa protein menurun karena aktivitas metabolit menurun. Degradasi protein sel terutama terjadi melalui jalur *ubiquitin* – *proteasome*. Defisiensi nutrisi akan mengaktifkan ligase *ubiquitin*, yang akan menggabungkan beberapa peptida *ubiquitin* kecil dengan protein sel agar terjadi degradasi dalam proteasomes. Selain itu, atrofi juga diiringi dengan peningkatan *autofagia* yang meningkatkan *vakuol autofagia*. *Autofagia* merupakan proses yaitu sel yang kelaparan akan memakan komponennya sendiri dalam usaha untuk bertahan hidup.⁴

Pemberian kombinasi estrogen dan progesteron menyebabkan perubahan yang besar pada jaringan epitelium vagina tikus yang diovarektomi. Jaringan epitelium mengalami proliferasi sehingga terjadi peningkatan ketebalan epitel. Studi sebelumnya yang dilakukan oleh Kim *et al.* (2004), menunjukkan bahwa reseptor estrogen mengalami peningkatan regulasi pada vagina hewan coba yang diovarektomi dan peningkatan ekspresi reseptor estrogen merupakan suatu mekanisme kompensasi yang dipertahankan pada hewan coba yang diovarektomi agar dapat mengikat estradiol dosis subfisiologis. Peningkatan ekspresi reseptor dengan pemberian hormon eksogen mungkin bertanggung jawab terhadap peningkatan efek proliferasi estradiol.

Progesteron berperan untuk menginduksi stratifikasi parsial pada jaringan epitelium.³

Pemberian progesteron yang dikombinasikan dengan estrogen akan mengurangi efek proliferasi yang diinduksi oleh estrogen melalui mekanisme penipisan reseptor estrogen untuk mencegah terjadinya hiperplasia.

Pada kelompok yang diberikan kombinasi hormon estrogen, progesteron dan testosteron terjadi peningkatan ketebalan epitel vagina yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol, namun lebih tipis jika dibandingkan dengan kelompok kombinasi estrogen progesteron. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Pessina *et al.* (2006), pemberian testosteron tunggal pada hewan coba yang diovarektomi tidak memperlihatkan perubahan yang signifikan pada area jaringan epitelium dan muskularis vagina. Selain itu, testosteron yang diberikan bersama dengan estrogen berperan dalam menurunkan kemampuan estrogen untuk menginduksi proliferasi sel melalui mekanisme yang dimediasi reseptor androgen.³

Kombinasi Estrogen Progesteron dan Testosteron Lebih Meningkatkan Luas Area Muskularis Vagina Dibandingkan dengan Kombinasi Estrogen Progesteron

Pemeliharaan jaringan muskularis vagina dipengaruhi oleh hormon estrogen dan testosteron. Empat minggu setelah ovariectomi, terdapat penurunan area muskularis, dan terdapat jaringan ikat halus yang lebih banyak diantara bundel otot pada kelompok tikus kontrol. Hasil ini juga didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Pessina *et al.* (2006), bahwa pada tikus yang diovarektomi akan terjadi penurunan volume otot polos vagina, terutama pada vagina bagian atas. Mekanisme penurunan luas area muskularis vagina disebabkan oleh gangguan replikasi dan kemampuan perbaikan pada sel dan jaringan karena penurunan kadar hormon estrogen dan testosteron.

Pada kelompok yang diberikan kombinasi estrogen, progesteron dan testosteron ditemukan adanya peningkatan area muskularis yang signifikan, dimana serat otot lebih besar dan lebih sedikit jaringan ikat diantara bundel otot dibandingkan dengan kelompok kontrol. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Pessina *et al.* (2006), menunjukkan bahwa reseptor androgen (AR) menunjukkan peningkatan ekspresi yang paling signifikan pada area muskularis vagina setelah diberikan terapi hormonal.

Pemberian hormon testosteron akan meningkatkan kadar hormon testosteron di dalam darah. Hormon testosteron dalam jumlah besar akan terikat dengan albumin atau SHBG, dan

hanya 2% yang bersirkulasi di dalam darah secara bebas. Testosteron bebas akan berikatan dengan reseptor androgen pada sel target yang terdapat di sitoplasma sel. Efek hormon testosteron pada proliferasi otot polos melalui mekanisme peningkatan sintesis protein dan menghambat *protein breakdown*. Pada tikus post ovariectomy yang diberikan testosteron akan menyebabkan peningkatan densitas reseptor androgen pada jaringan muskularis. Selain itu, androgen juga berperan dalam memfasilitasi relaksasi otot polos vagina.⁶

Pada kelompok tikus post ovariectomy yang diberikan kombinasi estrogen dan progesteron menunjukkan peningkatan luas area muskularis yang bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pemberian kombinasi estrogen dan progesteron meningkatkan ekspresi estrogen reseptor α (ER α) pada jaringan muskularis dibandingkan dengan kelompok kontrol. Namun, reseptor androgen (AR) pada jaringan muskularis tidak mengalami peningkatan yang bermakna pada kelompok tikus yang diberikan kombinasi estrogen progesteron dibandingkan dengan kelompok kontrol.³ Hal ini menunjukkan bahwa estrogen juga memiliki peran dalam proliferasi sel otot polos vagina.

Kombinasi Estrogen Progesteron dan Testosteron Lebih Meningkatkan Jumlah Vaskular Vagina Dibandingkan dengan Kombinasi Estrogen Progesteron

Pada kelompok tikus post ovariectomy yang diberikan kombinasi estrogen dan progesteron terjadi peningkatan jumlah vaskular dibandingkan dengan kelompok kontrol, diameter vaskular mengalami peningkatan dan endotel terlihat lebih tebal. Jumlah vaskular mengalami peningkatan yang paling besar pada kombinasi estrogen, progesteron dan testosteron, diameter vaskular dan ketebalan endotel juga mengalami peningkatan.

Pembuluh darah merupakan struktur yang kompleks, dengan dinding yang mengandung sel otot polos dan sel endotelial. Sel otot polos dan endotelial vaskular mengikat estrogen dengan afinitas yang tinggi, dan reseptor estrogen α (ER α) telah diidentifikasi terdapat pada pembuluh darah baik wanita maupun pria. Estrogen meningkatkan vasodilatasi dan menghambat respon pembuluh darah terhadap jejas atau aterosklerosis. Efek ini dimediasi oleh aksi langsung pada sel endotelial vaskuler dan sel otot polos. Efek jangka pendek estrogen pada pembuluh darah dipercaya terjadi tanpa perubahan apapun pada ekspresi gen (efek non genomik) dan efek jangka panjang estrogen

melibatkan perubahan ekspresi gen (efek genomik) yang dimediasi oleh reseptor estrogen.⁷ Selain estrogen, hormon testosteron juga sangat berperan untuk pemeliharaan integritas vaskular. Beberapa studi menunjukkan bahwa testosteron menginduksi relaksasi vaskular. Secara umum, banyak studi menyatakan bahwa relaksasi yang diinduksi oleh testosteron melibatkan mekanisme *endothelium-independent*, *potassium channel-opening actions*, dan efek antagonistik kalsium. Testosteron dan juga hormon seks steroid lainnya (misalnya estrogen) memodulasi pelepasan NO. Konsentrasi fisiologis testosteron dan DHT telah menunjukkan peningkatan sintesis NO endotelial melalui aktivasi kaskade *extracellular-signal-regulated-kinase* (ERK) dan *phosphatidylinositol 3-OH kinase* (PI3K).⁸ Testosteron juga secara signifikan meningkatkan sintesis DNA yang mengindikasikan bahwa androgen memodulasi pertumbuhan sel endotelial vaskular. Sel endotel yang terpapar testosteron khususnya DHT akan memproduksi *vascular endothelial growth factor* (VEGF), yaitu faktor kunci yang berperan dalam angiogenesis.⁹ Terlebih lagi, testosteron pada kadar fisiologis dan melalui aktivasi reseptor androgen dapat menginduksi aktivitas proliferasi, migrasi, dan koloni ECPs yang dapat memodulasi fungsi endotelial.¹⁰

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian kombinasi estrogen dan progesteron lebih meningkatkan ketebalan epitel vagina dibandingkan dengan kombinasi estrogen, progesteron dan testosteron. Pemberian kombinasi estrogen, progesteron dan testosteron lebih meningkatkan luas area muskularis vagina dibandingkan dengan kombinasi estrogen dan progesteron. Pemberian kombinasi estrogen, progesteron dan testosteron lebih meningkatkan jumlah vaskular vagina dibandingkan dengan kombinasi estrogen dan progesteron.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nirmala. *Hidup Sehat dengan Menopause*. Jakarta: Buku Populer Nirmala. 2003.p. 12 – 36.
2. Goldstein, I., Dicks, B., Kim, N., Hartzell, R. Multidisciplinary Overview of Vaginal Atrophy and Associated Genitourinary Symptoms in Postmenopausal Women. USA: *Journal of Sexual Medicine*. 2013. p. 1 – 10.
3. Pessina, A., Hoyt, F., Goldstein, I., Traish, M. *Differential Effects of Estradiol, Progesterone, and Testosterone on Vaginal Structural Integrity*. Boston: Massachusetts Medical Society. 2006. p. 61 – 69.

4. Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Singapore : Elsevier. Vol IX. 2015. p. 4-5
5. Kim, NN., Min, K., Pessina, MA., Munarriz, R., Goldstein, I., Traish, AM. Effects of ovariectomy and steroid hormones on vaginal smooth muscle contractility. USA: *Journal of Sexual Medicine*. 2004. p. 43 – 50.
6. Kim, S. W., Kim, N.N., Jeong, S., Munarriz, R., Goldstein, I., Traish, M. *Modulation of rat vaginal blood flow and estrogen receptor by estradiol*. J Urol 172. 2004. p.1538 -1543.
7. Novella, S., Heras, M., Hermenegildo, C., Dantas, A. P. *Effects of Estrogen on Vascular Inflammation*. Spain : American Heart Association Inc. 2012. p.2035 – 2042.
8. Lopes, A.M., Neves, B., Carneiro, S., Tostes, C. *Testosterone and Vascular Function in Aging*. Sao Paulo : Department of Pharmacology, Medical School of Ribeirao Preto.Vol III. 2012. p.1 – 9.
9. Sieveking, D. P., Buckle, A., Celemajer, D. S. Strikingly different angiogenic properties of endothelial progenitor cell sub populations. *Journal of Am Coll Cardiol*. 2010. p. 660 – 668.
10. Song, D., Arikawa, E., Galipeau, D., Battell, M., McNeill, J. *Androgen are Necessary for the Development of Fructose-Induced Hypertension*. Japan. 2010. p. 98 – 104.

This work is licensed under
 a Creative Commons Attribution