

KADAR MDA DAN HSP 70 PADA PLASENTA PENDERITA PREEKLAMPSIA

Sri Bekti Subakir^{1*}, Dewi Irawati Soeria Santosa¹, Arleni²

1. Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta 10310, Indonesia
2. Makmal Terpadu Endokrinologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta 10310, Indonesia

^{*}E-mail: sribektisubakir@yahoo.com

Abstrak

Objektif. Preeklampsia adalah penyakit pada kehamilan ditandai dengan hipertensi dan proteinuria. Di Indonesia, preeklampsia/eklampsia merupakan penyebab utama mortalitas dan morbiditas ibu dan anak. Stress oksidatif pada plasenta dan sistem sirkulasi menyebabkan disfungsi dan kerusakan sel endotel. Stress oksidatif di plasenta menyebabkan gangguan pertumbuhan janin. HSP70 adalah molekul protein yang sangat penting untuk penyembuhan sel dan menjaga homeostasis. Tujuan penelitian untuk membandingkan kadar MDA dan HSP70 yang diproduksi di plasenta pada kehamilan dengan preeklampsia berat, ringan dan kehamilan normal. Plasenta didonorkan secara sukarela dari ibu2 yang melahirkan dengan preeklampsia ringan (N=10), preeklampsia berat (N=10) dan kehamilan normal (N=10). Plasenta dikultur dengan RPMI dan FBS 20%, pada hari ke 3, supernatant diambil. Diperiksa kadar Malondealdehida (MDA), petanda untuk stres oksidatif dan kadar HSP70. Kadar MDA diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530nm. Kadar HSP 70 diukur dengan metoda *enzyme-linked immunosorbent assay*. Kadar rata2 MDA pada preeklampsia berat (7,13+5,36 nmol/ml), preeklampsia ringan (4,82+2,47 nmol/ml) dan hamil normal (4,87+2,4 nmol/ml). Kadar MDA pada preeklampsia berat paling tinggi, tetapi perbedaan tersebut tidak berbeda bermakna. Kadar rata2 HSP70 pada preeklampsia ringan tertinggi (10,15+12,39 nmo/ml) dibandingkan dengan kadarnya pada preeklampsia berat (3,78 +3,07 nmol/ml) dan kehamilan normal (3,76+4,65nmol/ml), namun perbedaan ini tidak berbeda bermakna. Walaupun demikian, kadar HSP sangat tinggi pada preeklampsia ringan menunjukkan respons homeostasis relatif tinggi. Hal ini tidak ditunjukkan pada preeklampsia berat. Kadar rata2 MDA dan HSP70 pada preeklampsia berat, ringan maupun hamil normal tidak berbeda bermakna. Kadar HSP yang sangat tinggi pada preeklampsia ringan menunjukkan respons homeostasis masih tinggi.

Abstract

The MDA and HSP70 Concentration in Preeclamptic Patient Placenta's. Objective: Preeclampsia is a disease in pregnancy and characterized by hypertension and proteinuria. Preeclampsia and eclampsia are the most causes of maternal and fetal mortality and morbidity in Indonesia. Placental and systemic oxidative stress caused endothelial cell dysfunction and injury. Placental oxidative stress also linked to fetal growth restriction. HSP70 is essential for cellular recovery, survival and maintenance of homeostasis. The purpose of this study was to compare the MDA, a marker for oxidative stress and HSP70 production in placental of severe preeclampsia, mild preeclampsia and normotensive pregnant women. Placenta were collected after delivery from normotensive pregnancies (N=10), severe preeclampsia (N=10) and mild preeclampsia (N=10). Placenta was cultured in RPMI and 20% FBS, and supernatant were collected in day 3. MDA was measured using spectrophotometer and absorbance read in 530nm. HSP70 was measured using enzyme-linked immunosorbent assay. The mean MDA concentration did not differ significantly between patients with severe preeclampsia (7.13+5.36 nmol/ml) and mild preeclampsia (4.82+2.47 nmol/ml) when compared with normotensive pregnancies (4.57+2.4 nmol/ml). The mean HSP70 concentration in mild preeclampsia is highest (10.15+12.39 nmo/ml) when compared with severe preeclampsia (3.78 +3.07 nmol/ml) and normotensive pregnant women (3.76+4.65nmol/ml), but the difference was not significant. Although the difference was not significant, it indicates homeostasis response in mild preclampsia women is relative good. This response was abated in severe preeclamptic women. Although MDA and HSP70 concentration did not differ significantly between groups, however the high HSP70 concentration is indicates homeostasis response relatively good in mild preeclamptic women.

Keywords: HSP70, MDA, placenta, preeclampsia, stress oxidative

1. Pendahuluan

Preeklampsia merupakan penyakit dalam kehamilan yang ditandai dengan gejala hipertensi dan proteinuria. Preeklampsia/ eklampsia merupakan penyebab utama mortalitas dan morbiditas ibu dan bayinya. Insidens preeklampsia adalah 7-10% dari kehamilan dan merupakan penyebab kematian ibu nomor dua di Indonesia. Preeklampsia juga dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan janin dan kematian janin dalam kandungan^{1,2}.

Awal terjadinya gangguan penyakit ini terjadi pada pembentukan plasenta. Terjadi gangguan invasi trofoblas ke arteria spiralis sehingga terjadi penurunan aliran darah utero-plasenta. Hal ini menyebabkan hipoksia plasenta yang kemudian meningkatkan produksi radikal bebas. Stres oksidatif pada plasenta akhirnya menimbulkan gangguan fungsi endotel baik lokal atau sistemik³. *Senyawa radikal bebas* adalah faktor utama yang menyebabkan kematian sel oleh karena efek kerja protein toksik.

Stres oksidatif dapat menginduksi peningkatan produksi HSP 70 di dalam sel. HSP (*Heat Shock Protein*) adalah molekul protein yang berperan mempertahankan homeostasis struktur dan fungsi sel keadaan normal maupun pada situasi stres⁴. HSP mempunyai efek antiapoptosis, memperbaiki sel yang rusak agar bisa normal kembali. Peningkatan kadar HSP berfungsi untuk mengimbangi keadaan iskemia dan peningkatan produksi ROS⁵. Dilaporkan kadar HSP 70 meningkat pada serum penderita preeklampsia^{6,7}. Peningkatan kadar HSP 70 lebih nyata pada perkembangan dini gejala preeklampsia yang menjurus ke preeklampsia berat. Pemeriksaan imunohistokimia pada plasenta penderita preeklampsia terhadap ekspresi HSP dan HNE (*4-hidroksi-2-nonenal*, marker untuk lipid peroksida) menunjukkan hasil positif pada seluruh jaringan plasenta, dan intensitas lebih tinggi pada endotel pembuluh darah plasenta⁸.

Tujuan penelitian ini untuk membandingkan kadar MDA dan HSP 70 yang diproduksi di plasenta pada penderita preeklampsia berat, ringan dan kehamilan normal.

2. Metode Penelitian

Subyek. Plasenta diperoleh dari ibu yang melahirkan di RS Budi Kemuliaan, Jakarta secara sukarela dan menandatangani *informed consent*. Subjek berusia 20-40 thn, umur kehamilan 30-40 minggu, bersedia berpartisipasi dalam penelitian ini dan menandatangani *informed consent*.

Preeklampsia didiagnosa bila tekanan darah $\geq 140/90$ mmHg atau bila tekanan diastolik meningkat lebih dari 15 mmHg, tekanan sistolik meningkat lebih dari 30 mmHg dibandingkan tekanannya pada awal kehamilan, disertai protein uria $\geq 2+$. Preeklampsia ringan didiagnosa bila tekan darah dibawah 160/110 mmHg dan preeklampsia berat bila tekanan darah $\geq 160/110$ mmHg. Sebagai kontrol adalah ibu hamil normal dan melahirkan bayi sehat dan normal. Subjek dibagi dalam 3 grup, yaitu ibu dengan preeklampsia berat (n=10), preeklampsia ringan (n=10) dan ibu dengan tekanan darah normal sebagai kontrol (n=10).

Kultur plasenta. Plasenta yang dilahirkan segera diambil (± 5 gram) dan dimasukan ke dalam tempat steril yang berisi RPMI. Plasenta dipotong-potong dengan ukuran 0,5 mm³, dicuci dengan PBS dan diputar 600 g selama 5 menit. Kemudian supernatan dibuang, pellet dibubuhi oleh trypsin 0,025%, taruh dalam inkubator 20 menit. Jaringan plasenta dipecah-pecah lagi dalam pipet, putar lagi 600 g selama 3 menit. Pelet plasenta disuspensikan kembali dengan PBS dan dibubuhi pelisis eritrosit, ditaruh dalam inkubator 10 menit dan di putar kembali. Pelet yang terbentuk diharapkan telah bersih dari darah yang dapat mengganggu hasil pemeriksaan. Plasenta dikultur dalam tabung⁹ media yang digunakan ialah RPMI, FBS 20%, antibiotik dan anti jamur. Pertumbuhan plasenta diobservasi. Cairan kultur pada hari ke 3 dikumpulkan dan disimpan pada -20° C sampai digunakan untuk pemeriksaan kadar MDA dan HSP70.

Pemeriksaan MDA. Asam Thiobarbiturat (TBA) digunakan untuk mengukur degradasi produk peroksidasi lipid yaitu malonaldehida (MDA). Kadar MDA ini diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm.

Pemeriksaan kadar HSP 70. Kadar HSP pada supernatan kultur sel-sel trofoblast plasenta diukur dengan kit EKS-700 Stressgen, Victoria, BC, Canada dengan metoda enzyme-linked immunosorbent assay (EIA). Absorban dibaca pada 405 nm. Kadar HSP dihitung dengan curva absorban yang dibandingkan dengan kurva log standart.

Analisis statistik: Perbedaan kadar rata2 MDA dan HSP 70 antar grup di analisa dengan anova dengan $p < 0,05$.

3. Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini semua ibu hamil normal melahirkan bayi dengan berat normal. Enam bayi (33%) dari ibu hamil dengan preeklampsia lahir dengan berat bayi rendah atau prematur.

Tabel 1. Kadar Rerata MDA dan HSP70 pada Plasenta Wanita Hamil Normal, Preeklampsia Berat dan Ringan

	Kadar MDA nmol/ml	Kadar HSP 70 nmol/ml
Hamil normal	4,87±2,40	3,76±4,65
PER	4,82±2,47	10,15±12,39
PEB	7,13±5,36	3,78±3,07

- Kadar MDA, dan HSP70 pada hamil normal, PER dan PEB tidak berbeda bermakna.
- Kadar HSP pada PER paling tinggi, tetapi tidak berbeda bermakna

Kadar MDA pada ibu hamil normal pada penelitian ini jauh lebih tinggi dari penelitian kami terdahulu ($< 1,0$ vs $4,87$ mIU/ml) walaupun metoda yang digunakan sama¹⁰. Hal ini mungkin karena efek polusi atau hal-hal lain yang menyebabkan pembentukan senyawa radikal bebas meningkat. Kadar HSP70 pada plasenta kehamilan normal masih dapat menjaga homeostasis fungsi sel dan tekanan darah tetap normal. Hal ini karena tidak ada kelainan pembentukan pembuluh darah plasenta pada awal kehamilan sehingga, plasenta feialis tidak konstiksi, sehingga aliran darah ke plasenta cukup.

Walaupun tidak ada perbedaan bermakna antara kadar HSP70 pada plasenta dari wanita hamil normal dengan preeklampsia ringan atau preeklampsia berat, kadar HSP70 pada PER sangat tinggi ($10,15 \pm 12,39$ nmol/ml). Peneliti lain mengukur kadar HSP pada serum penderita preeklampsia dan memperoleh kadar yang jauh lebih rendah⁷. Kadar MDA mempunyai korelasi negatif dengan kadar HSP 70, tetapi tidak bermakna. Pada PER, kadar MDA lebih rendah dibandingkan dengan kadarnya pada PEB, namun kadar HSP 70 lebih tinggi dibandingkan pada PEB. Ini menandakan bahwa respons untuk mempertahankan homeostasis di plasenta wanita hamil dengan PER masih tinggi. Fungsi HSP seperti anti apoptosis, meredam senyawa radikal dan mengatur homeostasis fungsi sel2 trofoblast plasenta tidak begitu buruk. Hal ini tidak tampak pada PEB dan kadar HSP70 tetap rendah ($3,78 \pm 3,07$ nmol/ml). Mungkin hal ini yang menyebabkan pada PEB, fungsi plasenta lebih terganggu.

Menarik pula untuk disimak, pada bayi yang cukup bulan yang lahir dengan berat normal dan dengan bayi lahir rendah (BBLR) serta bayi yang lahir prematur. Bayi prematur mempunyai kadar HSP plasenta yang paling rendah dibandingkan kadarnya pada bayi yang lahir dengan berat normal atau bayi cukup bulan dengan BBLR. Kiranya HSP 70 yang rendah tidak dapat

mempertahankan fungsi plasenta agar bayi dapat lahir pada waktunya, sehingga terjadi kelahiran dini. Hal ini mempunyai efek yang cukup besar bagi bayi tersebut

4. Kesimpulan

Semua bayi yang dilahirkan oleh ibu hamil normal mempunyai berat lahir normal. Enam bayi (33%) dari ibu hamil dengan preeklampsia lahir dengan berat bayi rendah atau prematur. Kadar MDA dan HSP 70 pada hamil normal, PER dan PEB tidak berbeda bermakna. Kadar HSP70 yang tinggi pada PER cenderung menandakan respons homeostasis yang tinggi, yang tidak ditunjukkan pada PEB

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai peran HSP 70 pada wanita hamil yang diduga pertama kali akan menderita preeklampsia. Pemberian antioksidan dan melakukan senam untuk wanita hamil yang baik dan benar, yang sesuai dengan umur kehamilan, tipe dan durasinya, mungkin dapat meningkatkan kadar HSP 70. Diharapkan hal ini akan memperkecil beratnya gejala preeklampsia dan menurunkan angka kesakitan dan kematian pada ibu dan bayinya.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini dibiayai oleh Dana RUUI DRPM UI tahun Anggaran 2007.

Daftar Acuan

1. Roberts JM, Pearson G, Cutler J, Lindheimer M. Summary of the NHLBI group on research on hypertension during pregnancy. *Hypertension* 2003; 41: 437-45.
2. Wiknyosastro GH. *Diagnosis dan pencegahan preeklampsia*. Seminar konsep mutakhir preeklampsia, Jakarta: Sub bagian Fetomaternal Bagian Obstetri Ginekologi FKUI, April 2001.
3. Hubel CA. Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *PESBM* 1999; 222: 222-35.
4. Snoeck LHEH, Cornelussen RN, Van Nieuwenhoven FA, Reneman RS, Van der Vusse AGJ. Heat Shock Protein and Cardiovascular Pathophysiology. *Physiological Rev.* 2001; 81(4): 1461-85.
5. Christians ES, Liang-Jun Y, Benjamin IJ. Heat shock factor 1 and heat shock proteins: Critical partners in protection against acute cell injury. *Critical Care Medicine* 2002; 30(1): S43-S50.
6. Christians ES, Liang-Jun Y, Benjamin IJ. Heat shock factor 1 and heat shock proteins: Critical partners in protection against acute cell injury. *Critical Care Medicine* 2002; 30(1): S43-S50.
7. Molvarec A, Probaszka Z, Nagy B, Szalay J, et al. Association of elevated serum heat-shock protein

- 70 cobcentration with transient hypertension of pregnancy, preeclampsia and superimposed preeclampsia: a case control study. *J. Hum Hypertension* 2006; 20: 780-86.
8. Hnat MD, Meadows JW, Brockman DE et al. Heat shock protein-70 and 4-hydroxy-2 nonenal adducts in human placental villous tissue of normotensive, preeclampsic and intrauterine growth restricted pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193(3): 836-40.
9. Rand JH, Wu X-X, Guller S, et al. Antiphospholipid immunoglobulin G antibodies reduce annexin-V levels on syncytiotrophoblast apical membranes and in culture media of placental villi. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 918-23.
10. Parta. *Kadar Peroksida Lipid dan Nitric Oxide pada Kultur Jaringan Plasenta Penderita Preeklampsia*. Thesis Magister. Departemen Biomedik, Kekhususan Ilmu Faal, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia. Indonesia, 2004.