

# Peran F2-Isoprostan dan Nitrik Oksida Sebagai Penanda Stres Oksidatif dan Disfungsi Endotel Pada Penderita Preeklamsi

*Slamet Santosa<sup>1</sup>, Ellya Rosa Delima<sup>1</sup>, Sijani Prahastuti<sup>1</sup>, Fen Tih<sup>1</sup>,  
Aloysius Suryawan<sup>2</sup>, Ucke Sugeng Sastrawinata<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha Bandung

<sup>2</sup> Bagian Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha

## Abstract

The objective of this research was to know the role of F2-Isoprostane and nitric oxide in pathophysiology of preeclampsia. This research was a descriptive-observational study and the subject divided into 2 groups and inclusion criteria was full-filled (group I : 18 preeclampsia women – IA:9 mild preeclampsia/PER and IB:9 severe preeclampsia /PEB ; group II : 33 normal pregnant women). All subjects were measured the concentration of serum F2-Isoprostane by a competitive ELISA technique and the concentration of serum nitric oxide (NO) by non-enzymatic colorimetric assay. The datas analyzed statistically by calculating mean value and standard deviation of F2-Isoprostane and NO in 2 groups. Significancy level was tested with Student-t test in 95% CI. The mean value and SD of F2-Isoprostane in preeclampsia was  $0,803 \pm 0,521$  ng/ml (PER :  $0,707 \pm 0,45$  ; PEB :  $0,899 \pm 0,594$ ), and in normal pregnancy was  $0,557 \pm 0,458$  ( $p < 0,001$ ). The mean value and SD of NO in preeclampsia was  $22,62 \pm 3,79$   $\mu\text{M/L}$  (PER :  $22,76 \pm 3,89$  ; PEB :  $22,5 \pm 3,91$ ), and in normal pregnancy was  $28,25 \pm 12,49$  ( $p < 0,001$ ). There is a significant difference in the level of oxidative stress and endothelial dysfunction, while in preeclampsia is higher than in normal pregnancy.

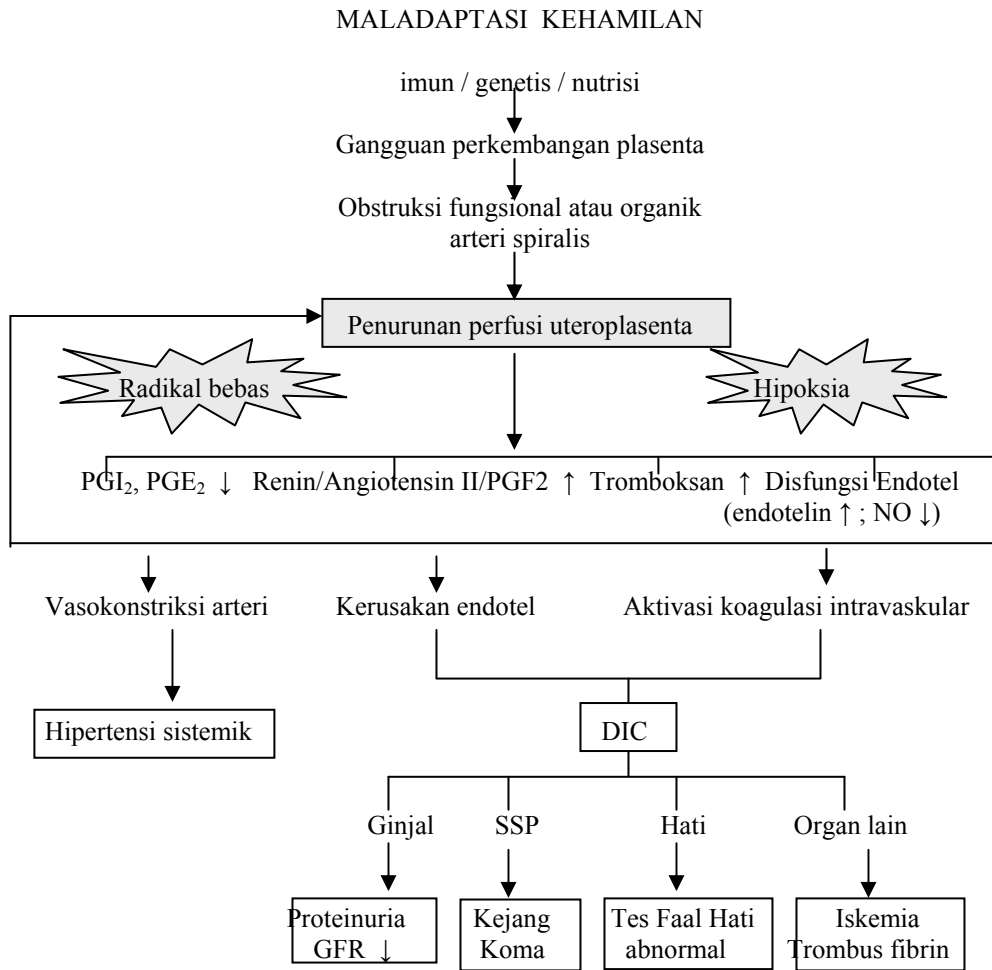
Keywords : preeclampsia, normal pregnancy, F2-Isoprostane, nitric oxide.

## Pendahuluan

Keadaan stres oksidatif akhir-akhir ini makin banyak diteliti karena dapat menimbulkan berbagai macam penyakit, antara lain preeklamsi pada ibu hamil. Preeklamsi dan eklamsi merupakan penyakit pada ibu hamil yang ditandai oleh *trias* gejala yaitu hipertensi, proteinuri, dan edem, serta akan sembuh dengan sendirinya setelah dilahirkannya janin dan plasenta. Keadaan ini merupakan salah satu penyulit kehamilan dengan insidensi antara 7 - 10 % kehamilan, serta tetap

menjadi salah satu penyebab utama tingginya morbiditas dan mortalitas maternal di negara berkembang, selain perdarahan dan infeksi.<sup>1,2,3</sup>

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengungkapkan etiologi dan patofisiologi preeklamsi, namun sampai saat ini masih tetap belum lengkap dan jelas benar. Meskipun demikian, ada kesepakatan bahwa preeklamsi ditandai dengan terjadinya vasospasme yang bersifat menyeluruh akibat jejas atau trauma pada endotel.

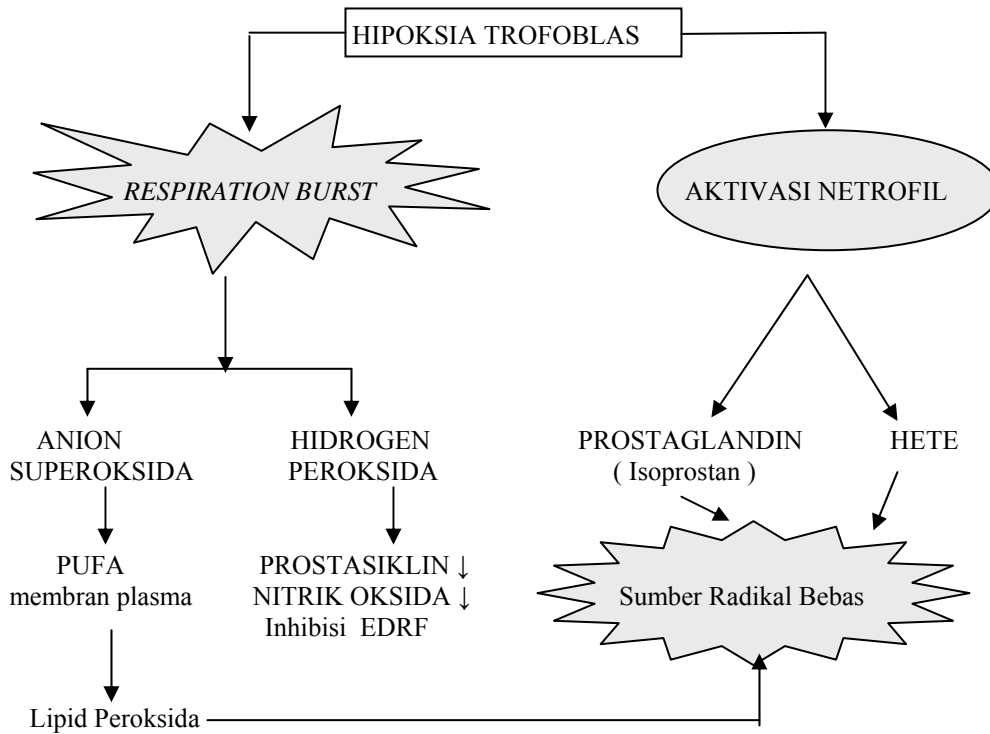


Gambar 1. Sebuah hipotesis patofisiologi preeklamsi<sup>4</sup>  
 Keterangan : PGI<sub>2</sub> : prostasiklin ; PGE<sub>2</sub> : prostaglandin E<sub>2</sub> ; NO : nitrik oksida  
 PGF<sub>2</sub> : prostaglandin F<sub>2</sub>  
 DIC : *disseminated intravascular coagulation*  
 SSP : susunan saraf pusat ; GFR : *glomerular filtration rate*

Ditinjau dari sudut pandang radikal bebas, jejas pada endotel tersebut disebabkan oleh keadaan hipoksia akibat kegagalan invasi trofoblas pada awal kehamilan yang diduga disebabkan oleh faktor imun, genetik, dan nutrisi (Gambar 1).

Keadaan hipoksia ini menimbulkan stres oksidatif akibat terjadinya *respiration burst* dan aktivasi netrofil yang menyebabkan dihasilkannya sejumlah besar radikal bebas sehingga terjadilah ketidakseimbangan antara zat yang

bersifat prooksidan dan antioksidan (Gambar 2).



Gambar 2. Hubungan antara hipoksia trofoblas dan radikal bebas pada patofisiologi preeklamsi

Keterangan : PUFA : *polyunsaturated fatty acid* ; HETE : *hydroxyeicosa tetraenoic acid* EDRF : *endothelial derived relaxing factor*

Hal ini akan menimbulkan kerusakan sel-sel endotel. Bila tidak segera diatasi, proses ini akan berlanjut terus dan menjadi suatu 'lingkaran setan' yang makin memperberat preeklamsi.<sup>4,5</sup>

Pada penelitian ini akan diperiksa dua buah parameter biokimiawi sebagai penanda keadaan stres oksidatif dan disfungsi endotel yang diduga berhubungan dengan patofisiologi preeklamsi, yaitu F2-Isoprostan dan nitrik oksida (NO). F2-

Isoprostan adalah salah satu metabolit hasil oksidasi asam arakhidonat membran plasma oleh radikal bebas yang menyerupai prostaglandin-F<sub>2</sub>

Isoprostan bersifat vasokonstriktor, serta dapat digunakan sebagai penanda keadaan stres oksidatif tersebut karena sifatnya yang stabil.<sup>5,6</sup> Isoprostan diduga meningkat jumlahnya dalam darah penderita preeklamsi.<sup>5-9</sup> Sedangkan nitrik oksida dihasilkan oleh sel endotel, bersifat vasodilator, dan diduga berkurang produksinya pada

penderita preeklamsi akibat kerusakan sel endotel tersebut.<sup>10-12</sup> Berkurangnya jumlah NO disertai bertambahnya jumlah isoprostan akan menyebabkan vasokonstriksi, sehingga timbullah salah satu manifestasi klinis pada preeklamsi, yaitu meningkatnya tekanan darah. Bila keadaan ini tidak diatasi, maka dapat memperburuk preeklamsi sehingga penderita dapat jatuh dalam preeklamsi berat, eklamsi, bahkan kematian.

Maksud dari penelitian ini adalah untuk mempelajari salah satu patofisiologi preeklamsi, yaitu dalam hubungan dengan teori radikal bebas. Sedangkan tujuannya adalah untuk mengetahui tingkat stres oksidatif dan disfungsi endotel pada berbagai keadaan preeklamsi, yaitu dalam hal :

- 1) Meningkatnya tingkat stres oksidatif pada sel endotel wanita hamil dengan preeklamsi, yang diukur melalui pemeriksaan kadar F2-Isoprostan dalam darah.
- 2) Meningkatnya disfungsi endotel pada wanita hamil dengan preeklamsi, yang diukur melalui pemeriksaan kadar nitrik oksida dalam darah.

Diharapkan dengan diketahuinya peran F2-Isoprostan dan nitrik oksida pada patogenesis preeklamsi, maka kedua penanda biokimiawi tersebut dapat digunakan bagi kepentingan klinis, yaitu guna memrediksikan beratnya preeklamsi sehingga penanganan yang adekuat dapat dilakukan sedini mungkin.

### Bahan dan Cara

Pada penelitian observasional deskriptif ini diperiksa kadar F2-Isoprostan dan nitrik oksida (NO) dari kelompok penderita preeklamsi ringan

(PER), preeklamsi berat (PEB) dan kelompok wanita hamil normal.

Populasi penelitian ini adalah wanita hamil yang datang untuk memeriksakan kehamilannya di Poli Kandungan Rumah Sakit Immanuel Bandung, dan memenuhi kriteria penelitian sebagai berikut :

#### - Kriteria inklusi :

1. Penderita dengan diagnosis preeklamsi (PER dan PEB) berdasarkan pemeriksaan klinis dan laboratoris (tekanan darah , edema, proteinuri)
2. Primigravida, usia kehamilan 32-36 minggu
3. Sukarela ikut serta dan telah memberi *informed consent*

#### - Kriteria eksklusi :

1. Febris (suhu axilla > 37,5°C)
2. Sedang mengkonsumsi obat antioksidan, nitroglicerol, antitrombotik
3. Menderita : hipertensi kronis, diabetes melitus, gangguan ginjal, gangguan jantung

Dengan menggunakan selang kepercayaan (CI) sebesar 95 % dan kuasa uji (*power test*) 95%, maka ukuran besar sampel penelitian dihitung dengan menggunakan rumus :

$$n = \left\{ \frac{2(Za+Zb) \times SD^2}{d1 - d2} \right\} = 17,9 \rightarrow 18$$

Za : batas kepercayaan 95% ( $\alpha = 0.05$ ), yaitu sebesar 1.96

Zb : kuasa uji 95% ( $\beta = 0.05$ ), yaitu sebesar 1.645

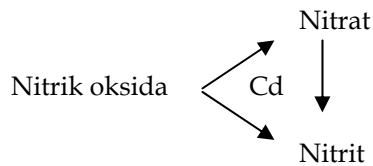
SD : standar deviasi kadar NO, yaitu 2,35  $\mu\text{M/L}$

d1 : kadar NO yang dianggap abnormal, yaitu 23  $\mu\text{M/L}$  atau kurang

d2 : kadar NO yang masih dianggap normal, yaitu 27  $\mu\text{M/L}$

Bahan pemeriksaan (darah) diambil dari vena cubiti sebanyak 15 ml. Kadar nitrik oksida (NO) diukur secara *Colorimetric Non-enzymatic Nitric Oxide*

Assay dan menggunakan kit dari *Oxford Biomedical Research product no.NB88*, dengan prinsip kerja yaitu mengukur kadar nitrit yang merupakan hasil degradasi nitrik oksida (NO) yang bersifat stabil secara spektrofotometri pada panjang gelombang 540 nm. Nitrat yang juga merupakan hasil degradasi NO akan diubah terlebih dahulu menjadi Nitrit dengan bantuan logam kadmium (Cd).



Sedangkan kadar F2-Isoprostan diukur dengan menggunakan kit dari *Oxford Biomedical Research product no.EA84*, dengan prinsip kerja suatu kompetitif *enzyme-linked immunoassay (ELISA)*, di mana isoprostan dalam bahan uji akan berkompetisi dengan isoprostan yang terkonjugasi pada *horseradish peroxidase*

(HRP) untuk melekat pada antibodi poliklonal yang spesifik untuk isoprostan. Aktivitas HRP terlihat dalam gradasi warna dengan intensitas setara dengan jumlah isoprostan yang terikat dan dibaca pada panjang gelombang 450 nm.

Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik untuk menghitung nilai rerata (*mean*) dan standar deviasi (SD) dari kadar NO dan F2-Isoprostan pada setiap kelompok. Uji beda dilakukan dengan menggunakan uji t.

### Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan besar ukuran sampel minimal, maka direkrut secara *consecutive by admission* sebanyak 18 subjek penelitian (SP) penderita preeklamsi, terdiri dari 9 SP dengan preeklamsi ringan (PER) dan 9 SP dengan preeklamsi berat (PEB) serta 36 SP wanita hamil normal dengan karakteristik seperti terlihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian**

	Usia Ibu (tahun)	p	TD Sistolik (mmHg)	TD Diastolik (mmHg)	Proteinuria
<b>Hamil normal</b>					
(n = 36)					
X ± SD	9,5 ± 5,9	0,69	113,9 ± 7,5	62,4 ± 5	(-)
Rentang	22 - 43		100 - 130	60 - 80	
<b>Preeklamsi Ringan (PER)</b>					
(n = 9)					
X ± SD	28,1 ± 3,1		144,2 ± 6,7	90,6 ± 2	
Rentang	23 - 32		140 - 158	90 - 96	(±) - (1+)
<b>Preeklamsi Berat (PEB)</b>					
(n = 9)					
X ± SD	28,1 ± 8,2	164,4 ± 7,3	107,8 ± 4,4		
Rentang	18 - 40		160 - 180	100 - 110	(2+) - (3+)

TD : tekanan darah ; X : mean ; SD : standar deviasi ; p : kemaknaan



**Tabel 2. Kadar F2-Isoprostan dan nitrik oksida (NO) serum**

	F2 Isoprostan (ng/ml)	p	Nitrik Oksida (NO) ( $\mu$ M/L)	p
<b>Hamil normal</b>				
(n = 36)				
X $\pm$ SD	0,557 $\pm$ 0,458	<0,001	28,25 $\pm$ 12,49	<0,001
Rentang	0,166 - 1,864		14,4 - 44,6	
<b>Preeklamsi (PER &amp; PEB)</b>				
(n = 18)				
X $\pm$ SD	0,803 $\pm$ 0,521		22,62 $\pm$ 3,79	
Rentang	0,35 - 1,884		13,9 - 29,4	
<b>Preeklamsi Ringan (PER)</b>				
(n = 9)				
X $\pm$ SD	0,707 $\pm$ 0,450		22,76 $\pm$ 3,89	
Rentang	0,372 - 1,807		14,8 - 29,4	
<b>Preeklamsi Berat (PEB)</b>				
(n = 9)				
X $\pm$ SD	0,899 $\pm$ 0,594		22,5 $\pm$ 3,91	
Rentang	0,35 - 1,884		13,9 - 26,9	

n : ukuran sampel ; X : mean ; SD : standar deviasi ; p : kemaknaan

Karakteristik subjek penelitian (SP) memperlihatkan adanya homogenitas dari segi usia ibu dan sesuai dengan kriteria setiap kelompok penelitian (preeklamsi ringan, preeklamsi berat, dan hamil normal) ditinjau dari tekanan darah dan derajat proteinuria.

Kadar F2-Isoprostan dan nitrik oksida (NO) serum dari setiap kelompok penelitian dapat dilihat pada tabel 2.

Pada tabel 2 terlihat adanya perbedaan yang bermakna dari rata-rata kadar F2-Isoprostan darah antara kelompok hamil normal dan kelompok preeklamsi, dimana pada kelompok preeklamsi didapatkan kadar F2-Isoprostan yang lebih tinggi. Demikian juga pada kelompok preeklamsi berat didapatkan kadar F2-Isoprostan yang lebih tinggi daripada kelompok preeklamsi ringan. Hal ini sesuai dengan teori yang menyebutkan bahwa semakin tinggi stres oksidatif (ditandai dengan

meningkatnya kadar F2-Isoprostan), maka akan menyebabkan bertambah beratnya preeklamsi (ditandai dengan meningkatnya tekanan darah). Keadaan ini disebabkan karena sifat F2-Isoprostan sebagai senyawa vasokonstriktor.<sup>5-9</sup>

Dari hasil penelitian juga didapatkan adanya perbedaan rata-rata kadar nitrik oksida (NO) darah antara kelompok hamil normal dan kelompok preeklamsi, di mana pada kelompok preeklamsi didapatkan kadar NO yang lebih rendah. Demikian juga pada kelompok preeklamsi berat didapatkan kadar NO yang lebih rendah daripada kelompok preeklamsi ringan. Hal ini sesuai teori yang menyebutkan bahwa semakin rendah kadar nitrik oksida (NO) darah, semakin tinggi pula tekanan darah sistolik dan diastolik, karena NO merupakan senyawa yang bersifat vasodilator. Semakin parah kerusakan endotel akibat stres oksidatif yang berlebihan, maka produksi NO

akan semakin rendah, tekanan darah meninggi dan preeklamsi bertambah berat.<sup>10-12</sup>

### Simpulan

1. Didapatkan adanya perbedaan yang bermakna dari kadar F2- Isoprostan darah antara ibu hamil normal dengan preeklamsi, dan antara preeklamsi ringan dengan preeklamsi berat, yaitu kadar F2-Isoprostan darah semakin tinggi pada preeklamsi berat.
2. Didapatkan adanya perbedaan yang tidak bermakna dari kadar nitrik oksida (NO) darah antara ibu hamil normal dengan preeklamsi, dan antara preeklamsi ringan dengan preeklamsi berat, yaitu kadar nitrik oksida (NO) darah semakin rendah pada preeklamsi berat.
3. Tingkat stres oksidatif penderita preeklamsi lebih tinggi dibandingkan wanita hamil normal, yang ditandai dengan lebih tingginya kadar F2-Isoprostan darah penderita preeklamsi.
4. Tingkat disfungsi endotel penderita preeklamsi lebih tinggi dibandingkan wanita hamil normal, yang ditandai dengan lebih rendahnya kadar nitrik oksida darah penderita preeklamsi.

### Saran

1. Dapat diusulkan suatu uji korelasi antara F2-Isoprostan dan Nitrik oksida (NO) dengan tekanan darah, derajat proteinuria, dan beratnya edema antara wanita hamil normal dengan preeklamsi.
2. Pemeriksaan kadar F2-Isoprostan dan nitrik oksida dapat digunakan sebagai salah satu parameter biokimiawi untuk memrediksikan beratnya preeklamsi.

### Daftar Pustaka

1. Gumilar E, Aditiawarman. Aspek biomolekular pada preeklampsia. Dalam: Suhartono Taat Putra, penyunting. Biologi molekular kedokteran. Surabaya, 1997 ; 53 - 8
2. Kaplan NM. Hypertension with pregnancy and the pill. In : Kaplan NM, editor. Clinical hypertension. 6<sup>th</sup> ed. Baltimore : Williams & Wilkins, 1994 ; 343 - 61
3. Cunningham FG. Hypertensive disorders in pregnancy. In : Cunningham FG, Gant NF, Levena KJ, Gilstrap LC, Hauth JC, Wenstrom KD, editors. Williams obstetrics. 21<sup>st</sup> ed Singapore : Mc Graw Hill, 2003 ; 567 - 618
4. Crum CP. The female genital tract. In : Cochran RS, Kumar V, Collins T, editors. Robbins pathologic basis of disease. 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia : WB Saunders, 1999 ; 1082 - 84
5. Hubel CA. Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. USA : Magee-Womens Research Institute and the Department of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Sciences, University of Pittsburgh, 1999.
6. Haschke M, Zhang YL, Kahle C, Klawitter J, Korecka M, Shaw LM, et al. HPLC-Atmospheric pressure chemical ionization MS/MS for quantification of 15-F<sub>2t</sub>-Isoprostane in human urine and plasma. Clinical Chemistry 2007; 53(3) : 1-8
7. Walsh SW, Vaughan JE, Wang Y, Roberts LJ. Placental isoprostane is significantly increased in preeclampsia. FASEB J. 2000; 14 : 1289-96
8. Roberts LJ, Morrow JD. Measurement of F2 isoprostanes as an index of oxidative stress in vivo. Free Radical Bio Med 2000; 28 : 505-13
9. Sircar D, Subbaiah PV. Isoprostanes measurement in plasma and urine by liquid chromatography-mass spectrometry with one-step sample



- preparation. *Clinical Chemistry* 2007 ; 53(2) : 251-8
10. Norris LA, Higgins JR, Darling MRN, Washe JJ, Bonnar J. Nitric oxide in the uteroplacental, fetoplacental, and peripheral circulations in preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1999; 93 : 958-63
11. Mose JC, Meizia D. Effects of garlic (*Allium sativum*) on nitric oxide serum level, platelet count, blood pressure and fetal outcome in mild preeclampsia. *Thai Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2001; 13 (suppl.1): 73
12. Choi JW, Im MW, Pai SH. Nitric oxide production increases during normal pregnancy and decreases in preeclampsia. *Annals of Clinical & Laboratory Science* 2002; 32: 257-63

