



UNIVERSITAS INDONESIA

**PATOMEKANISME PREEKLAMPSIA:
KAJIAN TERHADAP *SYNCYTIAL BRIDGE*,
SEL T REGULATOR, LAKTAT DEHIDROGENASE,
VITAMIN D, DAN SENG**

DISERTASI

**LAKSMI MAHARANI
1206327815**

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA
JAKARTA
AGUSTUS 2020**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PATOMEKANISME PREEKLAMPSIA:
KAJIAN TERHADAP SYNCYTIAL BRIDGE,
SEL T REGULATOR, LAKTAT DEHIDROGENASE,
VITAMIN D, DAN SENG**

DISERTASI

Untuk memperoleh gelar Doktor dalam bidang Ilmu Kedokteran pada
Universitas Indonesia di Jakarta di bawah pimpinan
Rektor Universitas Indonesia Prof. Ari Kuncoro, S.E., MA, PhD
untuk dipertahankan di hadapan Dewan Penguji
pada Hari Senin, 3 Agustus 2020, Pukul 10.00 WIB

**LAKSMI MAHARANI
1206327815**

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA
JAKARTA
AGUSTUS 2020**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Disertasi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Laksmi Maharani

NPM : 1206327815

Tanda Tangan :

Tanggal : 3 Agustus 2020

HALAMAN PENGESAHAN

Disertasi ini diajukan oleh:

Nama : Laksmi Maharani

NPM : 1206327815

Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran

Judul Disertasi : Patomekanisme Preeklamsia: Kajian terhadap Syncytial Bridge, Sel T Regulator, Laktat Dehidrogenase, Vitamin D, dan Seng

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Doktor pada Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Promotor: Prof. Dr. dr. Noroyono Wibowo, Sp. OG(K)

Kopromotor: dr. Nurjati Chairani Siregar, MS, Sp. PA(K), PhD

Tim Penguji:

Prof. Dr. dr. Suhendro, Sp. PD-KPTI

Prof. Dr. dr. Saptawati Bardosono, MSc

dr. Alida Roswita Harahap, DMM, Sp. PK(K), PhD

Dr. dr. Yuditiya Purwosunu, Sp. OG(K), PhD

Dr. dr. Dyah Purnamasari Sulistianingsih, Sp. PD-KEMD

Prof. Dr. dr. Johanes C Mose, Sp. OG(K)

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 3 Agustus 2020

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji syukur saya panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas segala nikmat karunia yang dilimpahkanNya, sehingga saya akhirnya mendapatkan kekuatan, kesabaran dan kemudahan dalam menyelesaikan pendidikan doktoral. Demikian banyak dukungan moril dari berbagai pihak sehingga muncul kembali semangat mengejar ketertinggalan untuk menyelesaikan disertasi ini. Alhamdulillah.

Kepada Rektor Universitas Indonesia, **Prof. Ari Kuncoro, SE. MA. PhD**, saya ucapkan terima kasih atas kesempatan yang diberikan untuk dapat menimba ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Kepada Dekan FKUI, **Prof. Dr. dr. Ari Fahrial Syam, Sp.PD-KGEH, MMB, FINASIM, FACP**, dan Dekan FKUI terdahulu, **Prof. Dr. dr. Ratna Sitompul, Sp.M (K)**, saya ucapkan terima kasih atas kesempatan menjalani pendidikan Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Demikian pula kepada Wakil Dekan Bidang Pendidikan, Penelitian dan Kemahasiswaan **Prof. Dr. dr. Dwiana Ocviyanti, Sp.OG (K), MPH**, saya ucapkan terima kasih atas dukungannya.

Kepada Ketua Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran FKUI, **Prof. Dr. dr. Suhendro, Sp.PD-KPTI**, saya ucapkan banyak terima kasih atas waktu dan sumbang saran untuk perbaikan disertasi ini. Kepada **Prof. Dr. dr. Sarwono Waspadji, Sp.PD-KEMD**, saya ucapkan banyak terima kasih atas bimbingan dan bantuan Prof, mengajarkan ketelitian dan cara penulisan disertasi yang benar. Kepada **Prof. dr. Saleha Sungkar, DAP&E, MS, Sp.ParK**, terima kasih atas waktu dan motivasi yang diberikan. Tegas dan sederhana dalam kata merupakan beberapa hal penting yang saya pelajari dari Prof. Kepada Sekretaris Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran FKUI, **dr. Harrina E. Rahadjo, Sp.U (K), PhD**, saya ucapkan terima kasih atas dukungannya.

Hormat saya kepada **Prof. Dr. dr. Noroyono Wibowo, Sp.OG (K)** sebagai promotor yang selalu memberi dukungan dalam menyelesaikan disertasi ini. Terimakasih tak terhingga atas kesempatan dan kepercayaan yang diberikan kepada saya. Preeklamsia tampaknya selalu menjadi materi bahasan saya dengan Prof, dimulai sejak belum menjadi dokter -- preeklamsia sebagai topik ujian co-ass, topik tesis pendidikan subspecialis fetomaternal, sampai saat ini sebagai materi disertasi doctoral. Terimakasih atas bimbingannya. Semoga dari hasil pemikiran-pemikiran Prof, semakin jelas benang merah patomekanisme sindrom ini.

Kepada kopromotor, **dr. Nurjati Chairani Siregar, MS, Sp.PA (K), PhD**, saya sampaikan hormat dan terima kasih tak terhingga atas saran perbaikan dalam penyempurnaan penulisan naskah, untuk kesabaran dalam memberi bimbingan tentang pemeriksaan *syncytial bridge* dan imunohistokimia sel Treg, sehingga hasilnya dapat mendukung disertasi ini. Terima kasih juga untuk kata-kata penyemangat yang disampaikan sehingga memberi motivasi dan ketenangan dalam menghadapi ujian-ujian selama pendidikan Program Studi Doktor.

Hormat dan terimakasih saya kepada para pembimbing dan penguji. Terimakasih kepada **Prof. Dr. dr. Saptawati Bardosono, MSc**, atas bimbingan ilmu statistik, diskusi nutrisi serta banyak saran dan koreksi dalam menyempurnakan penulisan naskah disertasi. Terima kasih kepada **dr. Alida Roswita Harahap, DMM, Sp.PK (K), PhD**, atas banyak waktu diskusi untuk perbaikan penulisan naskah disertasi, memberi bimbingan dan pengertian tentang protokol-protokol pemeriksaan laboratorium. Terima kasih untuk kesabaran dokter. Terima kasih juga kepada **Dr. dr. Dyah Purnamasari Sulistianingsih, Sp.PD-KEMD**, atas saran dan waktunya, atas pertanyaan yang memicu diskusi dan meningkatkan pemahaman saya terutama yang berkaitan dengan vitamin D. Kepada **Dr. dr. Yuditia Purwosunu, Sp.OG (K), PhD**, terima kasih untuk diskusi yang memberikan pengertian dan pemahaman baru tentang preeklamsia sehingga memberikan tambahan wawasan kepada saya.

Hormat saya, penghargaan dan terimakasih tak terhingga kepada pembimbing dan penguji luar dari Divisi Fetomaternal Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran, Bandung, **Prof. Dr. dr. Johaness C Mose,**

Sp.OG (K), atas kesediaan memberikan bimbingan, saran, mengoreksi dan menguji. Terima kasih untuk dukungan dan selalu mengingatkan saya agar segera menyelesaikan disertasi ini di setiap kesempatan bertemu, sehingga memicu semangat untuk melanjutkan penelitian yang sempat lama terbengkalai.

Hormat dan terimakasih tak terhingga untuk mama **Sriyati** dan papa **Abdul Kadir**, atas semua harapan dan doa terbaik yang dimohonkan untuk ma'mi. Terimakasih untuk pengertian, kesabaran dan kasih sayang mama-papa yang tak berkesudahan. Semoga Allah selalu memberikan kesehatan, menjaga dan melimpahkan keberkahan kepada mama dan papa. Aamiin. Untuk adik-adik tercinta, **Andika Aminullah Murandi** dan **Sinta Paramita Sari**, terimakasih untuk kekompakan, dukungan dan doanya. Dan akhirnya, kepada ananda tercinta **Nadja Haddits Laduni**, terimakasih atas pengertian dan kesabarannya ya nak. Terimakasih sudah menjadi teman dan psikolog gratis untuk mama bahkan sebelum ananda masuk fakultas psikologi. Semoga Allah selalu melindungimu, memudahkan dan memberi rahmat dan keberkahan dalam setiap usahamu untuk berbuat baik. Aamiin.

Kepada Kepala Departemen Obstetri dan Ginekologi FKUI/RSUPN-CM, **Dr. dr. Suskhan, Sp.OG (K)**, serta **Prof. Dr. dr. Budi Iman Santoso, Sp.OG (K), MPH** sebagai Kepala Departemen Obstetri dan Ginekologi FKUI/RSUPN-CM terdahulu, saya ucapkan terima kasih telah memberi kesempatan untuk mengikuti pendidikan Subspesialis dan Doktoral di RSCM. Terima kasih pula kepada **Dr.dr. Fitriyadi Kusuma, Sp.OG (K)** sebagai Koordinator Penelitian dan Pengembangan Departemen Obstetri dan Ginekologi FKUI/RSUPN-CM atas bantuannya dalam pengurusan etik dan ijin penelitian di RSCM.

Terima kasih kepada **Dr. dr. Raditya Wratsangka, Sp.OG (K)**, sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, serta **dr. Hj. Surtiastuti, DAP&E, MS**, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti sebelumnya yang telah memberikan kesempatan dan dukungan pada saya untuk mengikuti pendidikan. Demikian pula kepada Kepala Bagian Obstetri dan Ginekologi terdahulu, **Dr. dr. Bambang Joedomustopo, Sp.OG**, terimakasih telah memberikan dukungan dan semangat di awal rencana melanjutkan pendidikan ini.

Kepada guru-guru saya, **dr. H. Fachruddin, Sp.OG** dan **dr. H. Hasrul D. Biran, Sp.OG**, terima kasih tak terhingga telah menjadi *role model* dalam mengajarkan kesabaran, keikhlasan, kerja keras, serta memberi contoh untuk selalu berusaha memberi manfaat pada sesama dalam tugas sebagai seorang pendidik dan seorang dokter. Semoga Allah memberikan karunia dan keberkahan kepada dokter sekalian.

Kepada para senior dan teman sejawat anggota Densus 101, **Dr. dr. Raditya Wratsangka, Sp.OG (K)**, **dr. Atut Cicih Mayasari, Sp.OG**, **dr. Rully Ayu Nirmalasari H.P, Sp.OG**, **Dr. dr. Assangga Guyansyah, Sp.OG (K)**, **dr. Kirana Anggraeni, MKM**, **dr. Irmia Rachmiyani, Sp.OG**, **Dr. dr. Lily Marliany Surjadi, Sp.OG**, **dr. RM Denny Dhanardono, MPH&TM, Sp.OG (K)**, **dr. David Mayndra Utama, Sp.OG**, dan **dr. Hervi Wiranti, Sp.OG**, terima kasih atas banyak sekali bantuan dan kerjasamanya. Akhirnya kepada **Denny Supriyatna, SH**, terima kasih telah menjadi *alarm* dan *reminder* pada hampir semua kegiatan saya di kampus sejak awal saya menjadi bagian FK Trisakti.

Terima kasih kepada Direktur RSIA Budi Kemuliaan, **dr. Fahrul. W. Arbi, Sp.A, M.A.R.S.** dan **dr. M. Baharuddin, Sp.OG, M.A.R.S.** selaku Direktur RSIA Budi Kemuliaan sebelumnya, para senior dan teman sejawat, **dr. Dwirani Amelia, Sp.OG**, **dr. Hasan Salim Alatas, Sp.OG**, **dr. M. Rifki, Sp.OG**, **dr. Evi Auditiyarini, Sp.OG**, **dr. Huzaimah, Sp.OG**, **dr. Dwiarti Soebarkat, Sp.OG**, **dr. Rahmadina, Sp.OG**, **dr. Boenindro, Sp.OG** yang memberi kesempatan untuk melakukan penelitian, serta bidan **Dian Ariyanti, AMKeb**, ibu **Winarti, AMAK** dan para petugas laboratorium RSIA Budi Kemuliaan yang membantu dalam teknis pengambilan sampel.

Kepada Kepala SMF Obstetri Ginekologi RSUD Koja, **dr. Yanto Kusnawara, Sp.OG (K)**, para senior dan teman sejawat, **dr. Iaman Gantina Barus, Sp.OG (K)**, **dr. Nunki Febriastuti, Sp.OG**, **dr. Bram Pradipta, Sp.OG**, terimakasih saya ucapkan atas kesempatan melakukan penelitian. Terimakasih pula kepada ibu **Sri Mulyani, S.S.T.**, ibu **Maria Pasaribu, S.S.T.**, bidan **Eka Dewi Kartika, AmKeb** serta teman-teman bidan di VK Ponek yang membantu dalam teknis pengambilan sampel.

Terimakasih kepada Staf PT. Prodia, **Miftakh Nur Rahman, S.Si., M.Farm., Fredeswinda Bagaskoro, M.Si., Dr. Miswar Fattah, M.Si., Bena Zaira, S.Si., Debby Rakhmawati, S.Si., Intan W. Masfufa, MSc. Apt.,** serta **Lis Rosmanah, S.Si., M.Si.** dari Pusat Studi Satwa Primata (PSSP) Institut Pertanian Bogor atas bantuan pengelolaan sampel dan pemeriksaan laboratorium.

Kepada **dr. Alviena Bestari Savitri**, teman yang membantu mengumpulkan sampel penelitian dan ikut dalam diskusi-diskusi perbaikan naskah penelitian ini, saya ucapkan banyak terimakasih atas bantuannya. Semoga Alvie diberikan kelancaran dalam usaha menjadi dokter yang makin terampil dan tangguh. Aamiin.

Terimakasih kepada **Utami Susilowati, S.K.M, M.Epid.** untuk waktu diskusi dan kesabarannya membantu menjawab pertanyaan statistik, demikian pula **dr. Ferdian Yunita, M.K.M.** Kepada **Nurul Ivar Faturahmi, S.Hum.,** terimakasih sudah membantu merapikan sitasi naskah. Dan akhirnya, kepada guru **dr. Tjan Hok Goan Richard**, terimakasih telah membantu dalam menerjemahkan naskah penelitian ini.

Terimakasih kepada bapak **MA Syaefuddin, S.Sos. M.M.,** bapak **Yana Maulana Yusuf,** bapak **Anan Jamuraya Jasita,** bapak **Okky Prasetiaji,** bapak **Agung Susanto, S.E.,** bapak **Undi, S.Pd.,** bapak **Ubay Dillah,** bapak **Panov Ambarita, S.Kom. M.M.,** yang telah membantu saya dari awal hingga akhir perjalanan studi doktoral sampai pada penyelenggaraan ujian promosi ini.

Kepada semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu, yang telah memberikan bantuan, doa dan perhatian, menyumbangkan waktu dan tenaga, saya ucapkan banyak terima kasih. Semoga segala kebaikan mendapat balasan dari Allah Subhanahu Wa Ta'ala. Permintaan maaf saya kepada semua pihak bila ada kesalahan/kekurangan yang dilakukan selama menjalani pendidikan ini.

Jakarta,
3 Agustus 2020

Laksmi Maharani

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Laksmi Maharani

NPM : 1206327815

Program Studi : Program Pendidikan S3 Ilmu Kedokteran

Fakultas : Kedokteran

Jenis Karya : Disertasi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Patomekanisme Preeklamsia: Kajian terhadap *Syncytial Bridge*, Sel T Regulator, Laktat Dehidrogenase, Vitamin D, dan Seng.

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : 3 Agustus 2020

Yang menyatakan

(Laksmi Maharani)

ABSTRAK

Nama : Laksmi Maharani
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Judul Disertasi: Patomekanisme Preeklamsia: Kajian terhadap *Syncytial Bridge*,
Sel T Regulator, Laktat Dehidrogenase, Vitamin D, dan Seng.

Preeklamsia merupakan kondisi spesifik pada kehamilan yang menjadi penyebab utama morbiditas dan mortalitas maternal-perinatal. Plasentasi abnormal menyebabkan hipoksia plasenta dan gangguan regulasi respons imun sehingga mengakibatkan perubahan mikroskopik struktur plasenta berupa penurunan *syncytial bridge*. Penelitian ini bertujuan mengetahui toleransi imun dan nekrosis pada preeklamsia berdasarkan gambaran *syncytial bridge*, jumlah sel Treg, konsentrasi LDH serta profil vitamin 1,25(OH)₂D₃ dan seng.

Penelitian potong lintang ini dilakukan pada bulan Februari–Agustus 2019 di RS Budi Kemuliaan dan RSUD Koja, Jakarta. Subjek penelitian adalah ibu hamil normotensi dan preeklamsia yang memenuhi kriteria penerimaan dan tidak memenuhi kriteria penolakan. Subjek dibagi tiga kelompok yaitu normotensi/NT (n = 20), preeklamsia tanpa komplikasi/PE (n = 21), dan preeklamsia dengan komplikasi/PEK (n = 20). Semua subjek dilakukan pengukuran jumlah *syncytial bridge* plasenta (HE), jumlah sel Treg (*flowcytometric* dan IHK), konsentrasi LDH (*enzymatic colorimetric* dan ELISA), vitamin 1,25(OH)₂D₃ (LC-MS/MS) dan seng (ICP-MS) darah maternal dan plasenta. Data diolah menggunakan SPSS versi 20 dan dianalisis dengan uji t test-tidak berpasangan dan Mann-Whitney.

Jumlah *syncytial bridge* pada kelompok PE (10,52/LPB) dan PEK (6,33/LPB) lebih rendah bermakna dibanding NT (14,71/LPB). *Syncytial bridge* PEK lebih rendah bermakna dibanding PE. Jumlah Treg plasenta kelompok PE (2,89/LPB) dan PEK (2,94/LPB) lebih rendah bermakna dibanding NT (4,11/LPB). Konsentrasi LDH maternal pada PEK (418 U/L) lebih tinggi dibanding NT (167,5 U/L) dan PEK lebih tinggi dibanding PE (204 U/L) secara bermakna. Konsentrasi 1,25(OH)₂D₃ maternal kelompok PE (55 pg/mL) dan PEK (41,3 pg/mL) lebih rendah dibanding NT (63,5 pg/mL). Konsentrasi 1,25(OH)₂D₃ maternal PEK lebih rendah bermakna dibanding PE. Tidak ada perbedaan bermakna konsentrasi seng maternal dan plasenta pada ketiga kelompok. Sel Treg plasenta kelompok *syncytial bridge* sangat rendah (SSR) 2,86/LPB dan *syncytial bridge* rendah (SR) 3,09/LPB lebih rendah secara bermakna dibanding *syncytial bridge* normal (SN) 3,87/LPB. Konsentrasi LDH maternal SSR (318 U/L) lebih tinggi bermakna dibanding SR (213 U/L) dan SN (168 U/L). Konsentrasi vitamin 1,25(OH)₂D₃ maternal pada SSR (39 pg/mL) lebih rendah dibandingkan SR (53,85 pg/mL) dan SN (58,10 pg/mL). Peningkatan konsentrasi LDH maternal, penurunan konsentrasi 1,25(OH)₂D₃ maternal dan sel Treg plasenta merupakan faktor risiko berkurangnya jumlah *syncytial bridge*. Disimpulkan berkurangnya jumlah *syncytial bridge* menggambarkan beratnya proses nekrosis yang berhubungan dengan penurunan toleransi imun dan konsentrasi 1,25(OH)₂D₃ maternal.

Kata Kunci: preeklamsia, *syncytial bridge*, LDH, sel Treg, 1,25(OH)₂D₃

ABSTRACT

Name : Laksmi Maharani
Program of Study : Doctoral Program of Medical Science
Title : Pathomechanism in Preeclampsia: Focus on the Relationship between Syncytial Bridge, Treg Cell, Lactate Dehydrogenase, Vitamin D, and Zinc.

Preeclampsia is a specific condition in pregnancy as the main cause of maternal-perinatal morbidity and mortality. Abnormal placentation causes placental hypoxia and disturbances in the regulation of the immune response, thereby resulting in the microscopic structure of the placenta in the form of syncytial bridges. The present study aimed to determine the immune tolerance and necrosis in preeclampsia, on the basis of the syncytial bridge characteristic, Treg cell count, LDH concentration and vitamin 1,25(OH)₂D₃, and zinc profiles.

This cross-sectional study was carried out from February to August 2019 at RS Budi Kemuliaan and RSUD Koja, Jakarta. The subjects were pregnant women who met the inclusion criteria and did not meet the exclusion criteria. The subjects were divided into three groups, namely the normotensive (NT) group (n = 20), the uncomplicated preeclampsia (PE) group (n = 21), and the complicated preeclampsia (PEC) group (n = 20). All subjects underwent the following examinations: placental syncytial bridge count (HE), Treg cell count (flowcytometric and IHC), LDH (enzymatic colorimetric and ELISA), 1,25(OH)₂D₃ (LC-MS/MS) and zinc (ICP-MS) concentration in maternal blood and placenta. The data were processed using SPSS version 20 and analyzed by means of the unpaired t and Mann-Whitney tests.

The syncytial bridge count in groups PE (10.52/HPF) and PEC (6.33/HPF) was significantly lower compared with NT (14.71/HPF). PEC syncytial bridge count was significantly lower than PE. Placental Treg count in groups PE (2.89/HPF) and PEC (2.94/HPF) were significantly lower than that of the NT (4.11/HPF). Maternal LDH concentration in PEC (418 U/L) was significantly higher than in NT (167.5 U/L) and PE (204 U/L). Maternal 1,25(OH)₂D₃ concentration in groups PE (55 pg/mL) and PEC (41.3 pg/mL) was lower compared with NT (63.5 pg/mL). Maternal 1,25(OH)₂D₃ concentration in group PEC was significantly lower than in PE. There were no significant differences in maternal blood and placental zinc concentration in the three groups. Placental Treg cell counts in the very low syncytial bridge count (VLSB) group (2.86/HPF) and the low syncytial bridge count (LSB) (3.09/HPF) were significantly lower than in the normal syncytial bridge count (NSB) (3.87/HPF). Maternal blood LDH in group VLSB (318 U/L) was higher than those in LSB (213 U/L) and NSB (168 U/L). Maternal 1,25(OH)₂D₃ concentration in group VLSB (39 pg/mL) was lower compared with LSB (53.85 pg/mL) and NSB (58.10 pg/mL). Increased maternal LDH concentration, decreased maternal 1,25(OH)₂D₃ concentration and placental Treg cell count were risk factors for decreased syncytial bridge count. It was concluded that the decrease in syncytial bridge count depicts the severity of the necrotic process that is associated with decreased immune tolerance and maternal 1,25(OH)₂D₃ concentration.

Key Words: preeclampsia, syncytial bridge, LDH, Treg cell, 1,25(OH)₂D₃

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	xii
ABSTRAK.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR.....	xix
DAFTAR SINGKATAN	xx
DAFTAR LAMPIRAN	xxi
 BAB 1 PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang Penelitian.....	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Pertanyaan penelitian	5
1.4 Hipotesis Penelitian.....	5
1.5 Tujuan Penelitian	6
1.5.1 Tujuan Umum.....	6
1.5.2 Tujuan Khusus	6
1.6 Manfaat Penelitian	6
1.6.1 Bidang Pelayanan.....	6
1.6.2 Bidang Akademis.....	6
1.6.3 Bidang Penelitian	6
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 7
2.1 Diagnosis dan Faktor Risiko Preeklamsia.....	7
2.2 Pembentukan Vaskular Plasenta	8
2.3 Patogenesis Preeklamsia.....	11
2.3.1 <i>Syncytial Nuclear Aggregates</i> (SNA).....	11
2.3.2 Perubahan Keseimbangan Faktor-faktor Pro-angiogenik dan Anti- angiogenik	14
2.3.3 Hipoksia Plasenta.....	15
2.3.4 <i>Signaling Renin-Aldosterone-Angiotensin System</i>	16
2.3.5 Inflamasi dan Perubahan Imunologi	16
2.3.6 Faktor Genetik	16
2.4 Laktat Dehidrogenase (LDH) sebagai Penanda Nekrosis Sel	17
2.5 Imunologi pada Kehamilan Normal dan Preeklamsia	18
2.5.1 Sistem Imun dan Implantasi Plasenta	18
2.5.2 Profil Sitokin selama Kehamilan	18
2.5.3 Imunologi Preeklamsia.....	19
2.6 Peran Nutrisi pada Preeklamsia dan Pengaruhnya pada Proses Inflamasi dan Nekrosis.....	20
2.6.1 Peran Vitamin 1,25(OH) ₂ D ₃ pada Sistem Imun dan Inflamasi.....	21

2.6.2 Peran Seng pada Sistem Imun dan Proses Destruksi Sel	23
2.7 Kerangka Teori	26
2.8 Kerangka Konsep	27
BAB 3 METODE PENELITIAN	29
3.1 Desain Penelitian.....	29
3.2 Tempat dan Waktu	29
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	29
3.4 Kriteria Pemilihan Subjek Penelitian	29
3.4.1 Kriteria Penerimaan.....	29
3.4.2 Kriteria Penolakan untuk Ketiga Kelompok Subjek Penelitian.....	30
3.4.3 Identifikasi Variabel	30
3.5 Besar Sampel	30
3.6 Perlakuan terhadap Subjek Penelitian dan Alur Penelitian	31
3.7 Cara Kerja Penelitian	32
3.7.1 Pemilihan Subjek Penelitian	32
3.7.2 Pengambilan dan Penyimpanan Spesimen	32
3.7.3 Protokol Pemeriksaan Jaringan Plasenta	34
3.7.4 Teknik Pengukuran Variabel	39
3.8 Pengolahan dan Analisis Data	40
3.9 Etika Penelitian	40
3.10 Batasan Operasional	41
BAB 4 HASIL PENELITIAN	43
4.1 Karakteristik Subjek Penelitian dan Luaran Kehamilan	43
4.2 Jumlah <i>Syncytial Bridge</i> Plasenta, Sel Treg, Konsentrasi LDH, Vitamin 1,25(OH) ₂ D ₃ , Seng Darah Maternal dan Plasenta pada Kelompok NT, PE, dan PEK.....	44
4.3 Jumlah Sel Treg, Konsentrasi LDH, Vitamin 1,25(OH) ₂ D ₃ , Seng Darah Maternal dan Plasenta pada Kelompok <i>Syncytial Bridge</i> Normal (SN), <i>Syncytial Bridge</i> Rendah (SR), dan <i>Syncytial Bridge</i> Sangat Rendah(SSR)..	49
4.4 Hubungan Konsentrasi LDH dan 1,25(OH) ₂ D ₃ Darah Maternal dengan Kelompok <i>Syncytial Bridge</i>	51
BAB 5 PEMBAHASAN	53
5.1 Karakteristik Subjek Penelitian dan Luaran Kehamilan	53
5.2 Jumlah <i>Syncytial Bridge</i> Plasenta, Sel Treg, Konsentrasi LDH, Vitamin 1,25(OH) ₂ D ₃ , Seng Darah Maternal dan Plasenta pada Kelompok NT, PE, dan PEK.....	54
5.2.1 Penurunan Jumlah <i>Syncytial Bridge</i> pada Kelompok Preeklamsia	54
5.2.2 Penurunan Jumlah Sel Treg Foxp3 ⁺ Plasenta pada Kelompok Preeklamsia.....	56
5.2.3 Peningkatan Konsentrasi Laktat Dehidrogenase Darah Maternal pada Kelompok Preeklamsia	57
5.2.4 Penurunan Konsentrasi Vitamin 1,25(OH) ₂ D ₃ Darah Maternal pada Kelompok Preeklamsia	59
5.2.5 Konsentrasi Seng di Darah Maternal dan Plasenta	60

5.3 Jumlah Sel Treg, Konsentrasi LDH, Vitamin 1,25(OH) ₂ D ₃ , Seng Darah Maternal dan Plasenta pada Kelompok <i>Syncytial Bridge</i> Normal, <i>Syncytial Bridge</i> Rendah, dan <i>Syncytial Bridge</i> Sangat Rendah	62
5.4 Hubungan Konsentrasi LDH dan Vitamin 1,25(OH) ₂ D ₃ Darah Maternal dengan Kelompok <i>Syncytial Bridge</i>	66
5.5 Keterbatasan Penelitian	68
5.6 Patomekanisme Pengaruh Sel Treg, LDH, Vitamin 1,25(OH) ₂ D ₃ dan Seng terhadap Jumlah <i>Syncytial Bridge</i>	68
BAB 6 SIMPULAN DAN SARAN	73
6.1 Simpulan.....	73
6.2 Saran.....	74
RINGKASAN.....	75
SUMMARY	83
DAFTAR PUSTAKA.....	91
LAMPIRAN	105
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	115

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Perhitungan Besar Sampel	31
Tabel 3.2. Batasan Operasional	41
Tabel 4.1. Karakteristik Subjek Penelitian Berdasarkan Luaran Kehamilan	44
Tabel 4.2. Jumlah <i>Syncytial Bridge</i> Plasenta, Sel Treg, Konsentrasi LDH, vitamin 1,25(OH) ₂ D ₃ , Seng Darah Maternal dan Plasenta pada Kelompok NT, PE dan PEK.....	45
Tabel 4.3. Jumlah Sel Treg, Konsentrasi LDH, Vitamin 1,25(OH) ₂ D ₃ , Seng Darah Maternal dan Plasenta pada Kelompok SN, SR, dan SSR	49
Tabel 4.4. Titik Potong LDH dan 1,25(OH) ₂ D ₃ pada Kelompok SN dan SR.....	50
Tabel 4.5. Titik Potong LDH dan 1,25(OH) ₂ D ₃ pada Kelompok SN dan SSR ...	50
Tabel 4.6. Titik Potong LDH dan 1,25(OH) ₂ D ₃ pada Kelompok SR dan SSR....	50
Tabel 4.7. Hubungan Konsentrasi LDH dan 1,25(OH) ₂ D ₃ Darah Maternal Kelompok SR-SSR dan SN.....	51
Tabel 4.8. Hubungan Konsentrasi LDH dan 1,25(OH) ₂ D ₃ Darah Maternal Kelompok SSR-SR, SR-SN, dan SSR-SN.....	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Perbedaan Plasenta Normal dan Plasenta Preeklamsia.....	9
Gambar 2.2. Plasentasi Abnormal pada Preeklamsia.	10
Gambar 2.3. Ilustrasi Material Trofoblas yang Masuk ke Sirkulasi Maternal.....	12
Gambar 2.4. Gambaran <i>Syncytial Bridges</i> dengan <i>Transmission Electron Micrograph</i>	14
Gambar 2.5. Kerangka Teori Patogenesis Preeklamsia	26
Gambar 2.6. Kerangka Konsep Penelitian	27
Gambar 3.1. Alur Penetapan Subjek Penelitian dan Pengambilan Sampel	32
Gambar 3.2. Skema Pengambilan Sampel Plasenta.....	33
Gambar 4.1. Alur Partisipasi Subjek Penelitian	43
Gambar 4.2. Sel Treg Foxp3 ⁺ Plasenta Pewarnaan IHK pada Ketiga Kelompok.	46
Gambar 4.3. <i>Syncytial Bridge</i> Pewarnaan HE pada Ketiga Kelompok	47
Gambar 4.4. Nilai Titik Potong <i>Syncytial Bridge</i> Kelompok NT dan PE	48
Gambar 4.5. Nilai Titik Potong <i>Syncytial Bridge</i> Kelompok PE dan PEK	48
Gambar 5.1. Patomekanisme Pengaruh Sel Treg, LDH, Vitamin 1,25(OH) ₂ D ₃ dan Seng terhadap Jumlah <i>Syncytial Bridge</i>	70

DAFTAR SINGKATAN

AT1-AA	: Angiotensin II type I receptor agonistic autoantibodies
CD	: <i>Cluster of differentiation</i>
CYP27B1	: <i>Cytochrome P450 Family 27 Subfamily B Member 1</i>
DAMP	: <i>Damage-associated molecule pattern</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
EDTA	: <i>Ethylenediamine tetracetic acid</i>
EVT	: <i>Extravillous trophoblast</i>
Foxp3	: <i>Forkhead box p3</i>
HE	: Hematoksilin-eosin
HELLP	: <i>Hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count</i>
HIF-1 α	: <i>Hypoxia inducible transcription factor</i>
HLA-G	: <i>Human leukocyte antigen-G</i>
ICAM-1	: <i>Intercellular adhesion molecule-1</i>
IFN- γ	: <i>Interferon-gamma</i>
IHK	: Immunohistokimia
IL	: Interleukin
IMT	: Indeks massa tubuh
LDH	: Laktat dehidrogenase
LPB	: Lapang pandang besar
LSAB	: <i>Labeled streptavidin biotin</i>
P38 MAPK	: <i>P38 mitogen-activated protein kinases</i>
MMP	: <i>Matrix metalloproteinase</i>
NK	: <i>Natural killer</i>
NO	: <i>Nitric oxide</i>
PBS	: <i>Phosphate buffered saline</i>
PlGF	: <i>Placental growth factors</i>
RAAS	: <i>The renin – angiotensin – aldosterone system</i>
RNA	: <i>Ribonucleic acid</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
sEng	: <i>Soluble endoglin</i>
sFlt1	: <i>Soluble Fms-like tyrosine kinase</i>
SLE	: <i>Systemic lupus erythematosus</i>
SNA	: <i>Syncytial nuclear aggregates</i>
SNP	: <i>Single nucleotide polymorphisms</i>
sVEGFR1	: <i>Soluble vascular endothelial growth factor receptor 1</i>
Th	: <i>T helper cell</i>
TGF- β	: <i>Transforming growth factor-beta</i>
TLR	: <i>Toll-like receptor</i>
TNF- α	: <i>Tumor necrosis factor-alpha</i>
Treg	: <i>Sel T regulator</i>
TXA2	: <i>Thromboxane A2</i>
VDR	: <i>Vitamine D receptor</i>
VEGF	: <i>Vascular endothelial growth factor</i>
ZIP	: <i>Zeta-interacting protein</i>
ZnT	: <i>Zinc transporter</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Status Penelitian.....	105
Lampiran 2. <i>Informed Consent</i>	109
Lampiran 3. Surat Keterangan Lolos Kaji Etik.....	112
Lampiran 4. Amandemen Protokol Penelitian	113

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Preeklamsia merupakan kondisi spesifik pada kehamilan yang menjadi salah satu penyebab utama mortalitas dan morbiditas maternal-perinatal. Angka kejadian di dunia berkisar 6–18%^{1, 2} dan secara nasional sekitar 7–10%. Berdasarkan Survei Demografi dan Kesehatan Indonesia (SDKI) 2012, preeklamsia memberi kontribusi besar sebagai penyebab langsung kematian ibu dalam kehamilan, bersama dengan perdarahan dan infeksi.³

Preeklamsia dibagi dua yaitu preeklamsia tanpa gambaran berat dan dengan gambaran berat. Pada preeklamsia tanpa gambaran berat hanya terjadi peningkatan tekanan darah maternal setelah kehamilan 20 minggu dan tidak terdapat komplikasi yang melibatkan organ, sehingga masuk kelompok preeklamsia tanpa komplikasi. Pada preeklamsia dengan gambaran berat dapat timbul komplikasi di banyak organ seperti eklamsia, sindrom *haemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count (HELLP)*, gagal ginjal akut, solusio plasentae, edema paru dan gangguan saraf pusat atau penglihatan dan termasuk pada kelompok preeklamsia dengan komplikasi.^{4, 5}

Proses plasentasi abnormal menjadi salah satu penyebab terjadinya disfungsi sel endotel yang akhirnya mengakibatkan vasokonstriksi, aktivasi hemostasis dan perubahan sistem kardiovaskular maternal.^{2, 6} Selain itu, maladaptasi imun⁷ dan faktor genetik⁸ diketahui pula mempunyai andil di dalam patogenesisnya. Salah satu proses patologis yang diduga menjadi penyebab preeklamsia dan saat ini mulai diteliti kembali adalah faktor plasenta berupa debris trofoblas yang dapat memicu terjadinya disfungsi atau aktivasi sel endotel maternal. Debris trofoblas sudah ditemukan mulai usia gestasi 6 minggu,^{6, 9, 10} berasal dari lapisan sinsitiotrofoblas, dan merupakan permukaan plasenta yang langsung bersinggungan dengan darah maternal. Debris trofoblas mempunyai bentuk dan ukuran bervariasi, mulai dari yang terbesar yaitu struktur multinuklear disebut *syncytial nuclear aggregates (SNA)*, struktur mononuklear, mikropartikel, dan nanopartikel, yang dapat masuk ke dalam aliran darah maternal.^{11, 12}

Pada kehamilan normal terdapat struktur SNA berupa *syncytial sprout* yang berasal dari proliferasi sel trofoblas. Struktur tersebut berbentuk kumpulan nukleus di lapisan sinsitiotrofoblas yang akan tumbuh menjadi *syncytial bridge* dan menghubungkan vili-vili yang berdekatan.¹³ Beberapa molekul adhesi seperti integrin dan kaderin di membran vili memfasilitasi proses pembentukan *syncytial bridge*.¹⁴ *Syncytial sprout* adalah material nukleus yang berasal dari proses apoptosis, bentuk bertangkai dan mudah patah sehingga dapat dilepaskan ke sirkulasi maternal. Setelah masuk ke sirkulasi maternal, sel imun akan memfagositosis *syncytial sprout* dan menghasilkan toleransi respons imun terhadap sel plasenta tersebut tanpa mengaktivasi sel endotel. Jika terjadi kerusakan plasenta maka terbentuk sel-sel nekrotik yang apabila masuk ke sirkulasi maternal akan menyebabkan respons inflamasi. Efek inflamasi yang diinduksi oleh fagositosis sel trofoblas nekrotik tergantung pada banyaknya debris nekrotik yang dihasilkan sinsitiotrofoblas.¹⁵ Akibatnya terjadi peningkatan molekul adhesi sel endotel seperti *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1)^{12, 15} yang merupakan penanda aktivasi endotel. Selain itu terjadi peningkatan sekresi sitokin proinflamasi antara lain interleukin-6 (IL-6).⁹

Pada kehamilan yang mengalami komplikasi seperti preeklamsia, inflamasi dapat menyebabkan perubahan mikroskopik struktur plasenta dan pembentukan SNA lebih banyak dibandingkan kehamilan normal.^{16, 17} Terjadi peningkatan *syncytial knot*, *syncytial sprout*,^{13, 18} dan penambahan percabangan SNA yang disebut *sectioning artefacts*.¹⁹ Gambaran tersebut memperlihatkan adanya perubahan pola percabangan vili pada kehamilan patologis.^{17, 18} Vasokonstriksi A. spiralis dapat menyebabkan aliran darah bertekanan tinggi di ruang intervilar dan merusak *syncytial sprout* serta menghambat pembentukan *bridging* atau merusak *syncytial bridges*. *Syncytial bridges* ikut berperan dalam menjaga stabilitas plasenta dari kerusakan akibat perubahan aliran darah di lingkungan vili.^{16, 17} Pada preeklamsia dapat terjadi disregulasi *syncytial sprout* akibat iskemia plasenta sehingga pembentukan *syncytial bridges* berkurang.¹⁷

Vasokonstriksi A. spiralis juga menyebabkan iskemia plasenta sehingga meningkatkan *syncytial knot* (terbentuk dari nukleus inaktif) dan berhubungan dengan banyaknya sel nekrosis yang ditandai peningkatan konsentrasi laktat

dehidrogenase (LDH) di sirkulasi darah. Laktat dehidrogenase merupakan enzim intraselular yang konsentrasinya akan meningkat pada hampir semua keadaan patologis terkait destruksi sel.²⁰ Peningkatan konsentrasi LDH berhubungan dengan luaran ibu dan neonatal yang buruk pada preeklamsia.²¹ Tingginya konsentrasi LDH serum juga berkorelasi dengan peningkatan tekanan darah maternal.^{21, 22} Belum diketahui apakah peningkatan LDH berhubungan dengan gambaran *syncytial bridge* pada preeklamsia.

Ditinjau dari aspek imunologi, preeklamsia ditandai dengan respons inflamasi sistemik maternal yang meningkat dan terjadinya aktivasi baik sistem imun *innate* maupun adaptif.^{23, 24} Aktivasi neutrofil, monosit, sel NK (*natural killer cells*) dan sel T memulai inflamasi yang awalnya diinduksi disfungsi endotel. Pergeseran sel *T helper* 2 (Th2) menjadi sel *T helper* 1 (Th1) menyebabkan terbentuknya sitokin proinflamasi dan *reactive oxygen species* (ROS).²⁵ Penemuan sel *T helper* lainnya yaitu Th17 dan sel T regulator (Treg) mengarah pada perubahan konsep patogenesis preeklamsia dari ketidakseimbangan Th1/Th2 menjadi konsep empat sub tipe *T helper* yang saling berinteraksi.^{23, 25} Ketidakseimbangan sel Th17 dan sel Treg juga mempermudah terjadinya inflamasi sistemik maternal.^{26, 27}

Sel Treg merupakan bagian dari sel T yang mampu menyupresi respons imun dan inflamasi²⁸ serta memerlukan ekspresi *forkhead family transcription factor*, *forkhead box p3* (Foxp3). Ekspresi gen Foxp3 yang tinggi pada sel Treg akan meningkatkan kemampuan supresi sel.^{24, 27} Steinborn dkk.²⁸ menyatakan pada preeklamsia terjadi penurunan persentase sel Treg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ dan berkurangnya aktivitas supresif sel. Penurunan ekspresi gen Foxp3 mengakibatkan penurunan fungsi Treg, ketidakseimbangan sistem imun dan berkurangnya toleransi imun maternal terhadap fetus serta meningkatkan inflamasi.²⁷⁻²⁹ Belum diketahui apakah terdapat hubungan antara jumlah sel Treg di plasenta dan darah maternal dengan jumlah *syncytial bridge*.

Dari aspek nutrisi, banyak penelitian yang telah dilakukan untuk mengetahui hubungan preeklamsia dengan defisiensi faktor nutrisi. Vitamin D dan seng berhubungan dengan proses adaptasi imun, inflamasi, dan nekrosis sel. Konsentrasi metabolit aktif vitamin D, yaitu 1,25(OH)₂D₃ yang rendah dalam serum penderita

preeklamsia mempermudah disfungsi imun, implantasi plasenta abnormal, inflamasi berlebihan, angiogenesis abnormal, dan hipertensi.³⁰ Proses aterogenik yang merusak endotel pembuluh darah juga diketahui berhubungan dengan defisiensi vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sehingga pemberian vitamin tersebut menjadi salah satu faktor penting dalam pencegahan kelainan vaskular.³¹⁻³³ Karena perubahan vaskular juga terjadi pada preeklamsia, maka perlu diteliti peran vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dan hubungannya dengan inflamasi masif yang menyebabkan kerusakan sel. Defisiensi vitamin D juga diketahui meningkatkan risiko preeklamsia.³⁰ Belum diketahui apakah konsentrasi vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ berhubungan dengan gambaran/jumlah *syncytial bridges* di plasenta dan dapat digunakan untuk menilai derajat keparahan preeklamsia.

Seng telah lama diketahui sebagai substrat penting dalam apoptosis. Ketidakseimbangan dan defisiensi seng mengganggu kerja enzim dan sintesis protein, mempermudah nekrosis sel termasuk sel imun,^{34, 35} mengganggu proses transkripsi serta pertumbuhan sel.^{36, 37} Penurunan seng intraselular di bawah ambang kritis akan memicu jalur yang mengaktivasi enzim kaspase dan mempermudah destruksi sel.³⁸ Preeklamsia merupakan kondisi yang berhubungan dengan banyaknya sel nekrosis namun masih banyak perbedaan hasil penelitian mengenai hubungan seng dan preeklamsia. Bahadoran dkk.³⁹ menyatakan penurunan konsentrasi seng serum kelompok preeklamsia dibandingkan kelompok kehamilan normal tidak berbeda bermakna. Sebaliknya Atamer⁴⁰ dan Adam⁴¹ melaporkan konsentrasi seng serum preeklamsia lebih rendah dibandingkan kehamilan normal. Pada hewan coba, defisiensi seng juga menyebabkan perubahan mikrostruktur dan berkurangnya berat plasenta; mengindikasikan seng berhubungan dengan gangguan perkembangan plasenta.⁴² Belum diketahui adakah hubungan antara konsentrasi seng di sirkulasi dan plasenta dengan gambaran mikroskopik plasenta, dalam hal ini *syncytial bridge*.

1.2 Perumusan Masalah

Preeklamsia merupakan sindrom akibat disfungsi endotel sistemik maternal dengan gambaran klinis bervariasi. Maladaptasi imun dan plasentasi abnormal mengarah pada terjadinya gangguan toleransi respons imun dan hipoksia plasenta yang

menyebabkan perubahan mikroskopik struktur plasenta, salah satu kemungkinan adalah *syncytial bridge*. Pada keadaan tersebut terjadi penurunan jumlah sel Treg, peningkatan sitokin proinflamasi dan debris nekrotik, sehingga berakibat peningkatan konsentrasi LDH di sirkulasi. Vitamin D dan seng yang berperan sebagai regulator sistem imun, antiinflamasi dan menjaga struktur membran sel juga dapat menginduksi kerusakan sel apabila terjadi defisiensi. Belum diketahui sepenuhnya apakah perubahan jumlah sel Treg, konsentrasi LDH, vitamin D dan seng berpengaruh pada patomekanisme perubahan jumlah *syncytial bridge* pada kondisi kehamilan preeklamsia tanpa komplikasi (PE) dan preeklamsia dengan komplikasi (PEK) dibandingkan dengan normotensi (NT).

1.3 Pertanyaan penelitian

1. Apakah terdapat perbedaan bermakna jumlah *syncytial bridge*, sel Treg, konsentrasi LDH, vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, seng darah maternal dan plasenta pada kelompok NT, PE, dan PEK?
2. Apakah terdapat perbedaan bermakna jumlah sel Treg, konsentrasi LDH, vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, seng darah maternal dan plasenta berdasarkan jumlah *syncytial bridge*?
3. Apakah sel Treg, konsentrasi LDH, vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, dan seng darah maternal merupakan faktor risiko terjadinya perubahan jumlah *syncytial bridge*?

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Terdapat perbedaan bermakna jumlah *syncytial bridge*, sel Treg, konsentrasi LDH, vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, seng darah maternal dan plasenta pada kelompok NT, PE, dan PEK.
2. Terdapat perbedaan bermakna jumlah sel Treg, konsentrasi LDH, vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, seng darah maternal dan plasenta berdasarkan jumlah *syncytial bridge*.
3. Jumlah sel Treg, konsentrasi LDH, vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, dan seng darah maternal merupakan faktor risiko terjadinya perubahan jumlah *syncytial bridge*.

1.5 Tujuan Penelitian

1.5.1 Tujuan Umum

Mengetahui toleransi imun dan nekrosis pada preeklamsia berdasarkan gambaran *syncytial bridge*, jumlah sel Treg, konsentrasi LDH serta vitamin 1,25(OH)₂D₃, dan seng.

1.5.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis jumlah *syncytial bridge*, sel Treg, konsentrasi LDH, vitamin 1,25(OH)₂D₃, seng darah maternal dan plasenta kelompok NT, PE, dan PEK.
2. Menganalisis jumlah sel Treg, konsentrasi LDH, vitamin 1,25(OH)₂D₃, seng darah maternal dan plasenta berdasarkan jumlah *syncytial bridge*.
3. Menganalisis jumlah sel Treg, konsentrasi LDH, vitamin 1,25(OH)₂D₃, dan seng darah maternal sebagai faktor risiko perubahan jumlah *syncytial bridge*.

1.6 Manfaat Penelitian

1.6.1 Bidang Pelayanan

Bila terbukti konsentrasi vitamin D dan seng berhubungan dengan patomekanisme preeklamsia, dapat dianjurkan perbaikan nutrisi prakonsepsi.

1.6.2 Bidang Akademis

Menambah pengetahuan gambaran debris plasenta yang berhubungan dengan derajat keparahan preeklamsia serta memberikan gambaran manfaat nutrisi terutama vitamin D dan seng.

1.6.3 Bidang Penelitian

Dapat digunakan sebagai acuan penelitian selanjutnya tentang gambaran debris plasenta yang berhubungan dengan proses toleransi imun, nekrosis, pemberian nutrisi dan pengaruhnya pada preeklamsia.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diagnosis dan Faktor Risiko Preeklamsia

Preeklamsia merupakan kondisi spesifik pada kehamilan manusia yang ditandai dengan peningkatan tekanan darah maternal setelah kehamilan 20 minggu.^{6, 9} Sindrom tersebut menjadi penyebab utama prematuritas yang meningkatkan mortalitas perinatal. Preeklamsia juga meningkatkan morbiditas jangka panjang baik bagi ibu maupun janin. Pada ibu dapat terjadi komplikasi kardiovaskular sedangkan pada janin, terutama yang mengalami pertumbuhan terhambat berisiko mengalami aterosklerosis lebih awal.^{43, 44} Preeklamsia menjadi penyebab tertinggi kematian ibu, diikuti dengan perdarahan dan infeksi.^{3, 45}

Penegakan diagnosis preeklamsia mengalami evolusi karena berkembangnya pengetahuan terhadap kondisi tersebut. Pada tahun 70-an, dikenal gestosis EPH yang hanya terjadi pada kehamilan dengan gambaran klinis edema, proteinuria dan hipertensi.⁴⁶ Kemudian kriteria diagnosis berkembang tahun 90-an dengan membagi preeklamsia menjadi ringan dan berat. Preeklamsia ringan jika tekanan darah $> 140/90$ mmHg dan proteinuria $> 0,3$ g/24 jam, sedangkan preeklamsia berat adalah tekanan darah $> 160/110$ mmHg, proteinuria > 5 g/24 jam dengan tambahan gangguan sistem saraf pusat dan *hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count syndrome* (HELLP syndrome).⁴⁷

Sejak tahun 2013, terjadi perubahan kriteria diagnosis preeklamsia oleh *ACOG task force on hypertension in pregnancy*. Preeklamsia dinyatakan sebagai hipertensi (tekanan darah $\geq 140/90$ mmHg pada 2 kali pengukuran berjarak 4 jam, yang terjadi pada usia kehamilan 20 minggu) dan proteinuria (≥ 300 mg/24 jam, protein/kreatinin ratio $\geq 0,3$ /hari atau protein urin *dipstick* 1+) pada pasien yang sebelumnya normotensi.⁴³ Preeklamsia dengan gambaran berat adalah bila terdapat preeklamsia dengan minimal satu gejala ini, yaitu tekanan darah $\geq 160/110$ mmHg pada 2 kali pengukuran berjarak 4 jam pada keadaan istirahat, trombositopenia ($< 100.000/\mu\text{L}$). Selain itu, terdapat kenaikan enzim hepar atau nyeri epigastrium dan kuadran kanan atas yang tidak hilang dengan pemberian obat, insufisiensi renal (kreatinin $> 1,1$ mg/dL atau kenaikan kreatinin 2 kali nilai normal dengan tidak

adanya kelainan ginjal sebelumnya), edema paru dan gangguan saraf pusat atau penglihatan. Proteinuria masif (> 5 g/hari) dan pertumbuhan janin terhambat dikeluarkan dari definisi preeklamsia berat karena proteinuria dianggap tidak dapat digunakan sebagai faktor prediksi morbiditas, sedangkan pertumbuhan janin terhambat dapat terjadi tanpa preeklamsia.⁴³

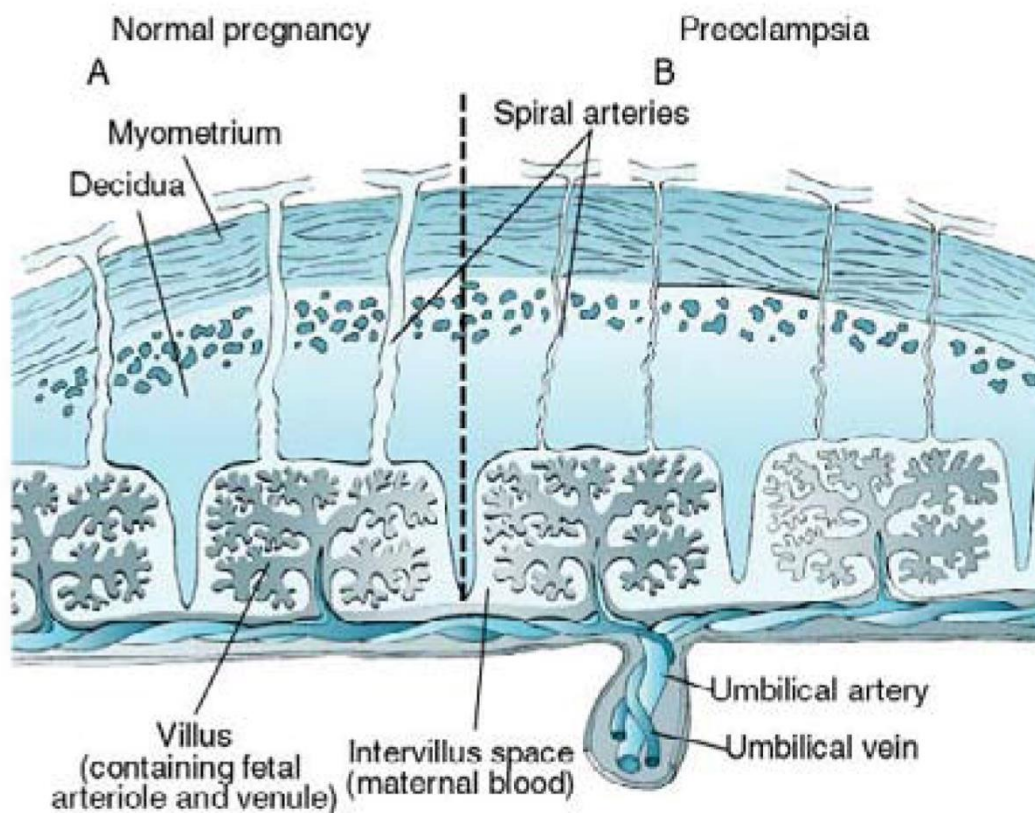
Pada kelompok preeklamsia tidak didapatkan komplikasi yang melibatkan kelainan organ, sedangkan preeklamsia dengan gambaran berat selain perubahan hasil laboratorium, secara klinis dapat pula mengalami komplikasi seperti eklamsia, sindrom HELLP, *acute renal failure*, solusio plasentae dan edema paru.^{4,5}

Perjalanan penyakit preeklamsia pada awalnya tidak memberikan gejala dan tanda namun dapat memburuk dengan cepat.⁴⁸ Penyebab pasti preeklamsia yang belum jelas diketahui mengakibatkan tindakan pencegahan sulit dilakukan. Diperlukan serangkaian pemeriksaan yang kompleks untuk meramalkan kejadian preeklamsia. Praktisi kesehatan diharapkan dapat mengidentifikasi faktor risiko dan mengontrolnya sehingga dapat dilakukan pencegahan primer. Duckitt dkk.⁵⁰ melaporkan peningkatan risiko preeklamsia pada nulipara 3 kali lipat dan kenaikan 2 kali lipat pada ibu hamil berusia 40 tahun atau lebih serta peningkatan tujuh kali lipat risiko preeklamsia pada ibu hamil yang memiliki riwayat preeklamsia. Kehamilan pertama oleh pasangan baru dianggap sebagai faktor risiko walaupun bukan nulipara karena risiko meningkat pada perempuan dengan pajanan rendah terhadap sperma.⁵¹⁻⁵³ Kehamilan setelah inseminasi donor sperma, donor oosit atau donor embrio juga faktor risiko walaupun mekanisme dibalik efek protektif pajanan sperma masih belum diketahui.⁵⁴ Riwayat keluarga dengan preeklamsia terutama dari pihak ibu meningkatkan risiko kejadian preeklamsia berulang sampai 35%. Kehamilan mola dan trisomi 13, kehamilan ganda, serta keadaan atau penyakit ibu seperti diabetes melitus, *systemic lupus erythematosus* (SLE), obesitas, hipertensi kronik ataupun kelainan ginjal juga meningkatkan risiko preeklamsia.⁵²

2.2 Pembentukan Vaskular Plasenta

Plasenta dipastikan sebagai organ yang paling terkait dengan kejadian preeklamsia pada suatu kehamilan. Preeklamsia hanya terjadi pada keadaan terdapat plasenta dan akan mengalami remisi saat plasenta dilahirkan. Plasenta merupakan bagian

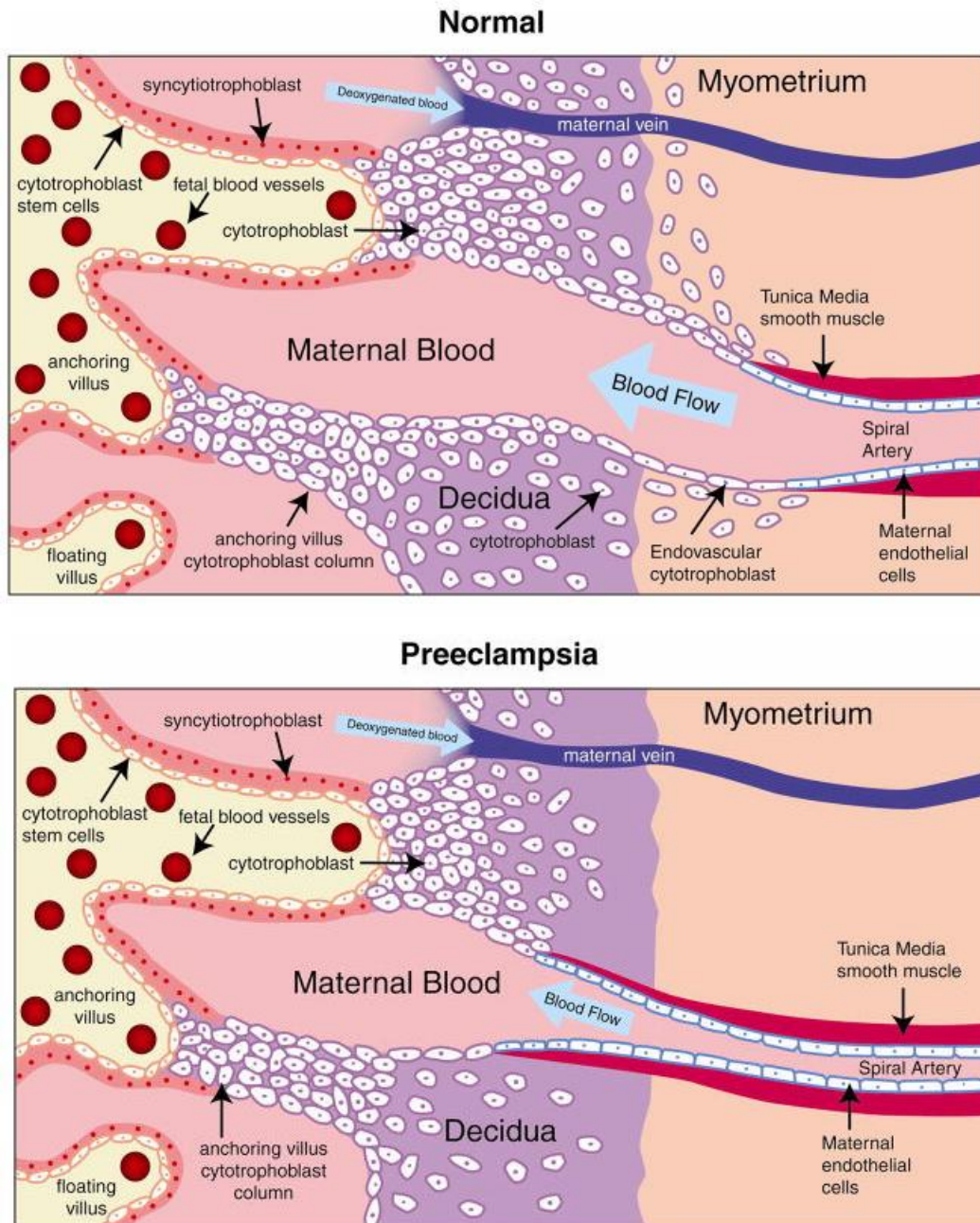
janin dengan dua sirkulasi, sirkulasi janin melalui pembuluh darah umbilikal dan sirkulasi maternal melalui arteri spiral yang pendarahannya disuplai oleh arteri uterina. Arteri spiralis mengalirkan darah ke ruang intervilar sehingga menghasilkan *shunt* arteri-venous untuk mencukupi perfusi janin.⁵⁵ Volume darah yang cukup dapat dijaga oleh proses *remodeling* arteri spiralis yang telah terjadi sejak usia kehamilan 8–18 minggu, saat sitotrofoblas yang berasal dari janin menginvasi arteri spiral di daerah desidua sampai miometrium dan menyebabkan pembuluh darah melebar (Gambar 2.1.).⁵⁶



Gambar 2.1. Perbedaan Plasenta Normal dan Plasenta Preeklamsia.⁵⁶

Pada proses plasentasi normal, A. spiralis diinvasi oleh ekstravilus trofoblas sehingga lapisan endotel otot polos arteri spiralis maternal bertransformasi dari pembuluh darah yang kecil dengan resistensi tinggi menjadi pembuluh darah dengan kapasitas aliran lebih besar. Hal tersebut mengubah kualitas aliran darah maternal ke ruang intervilar menjadi bertekanan rendah, *non-pulsatile* serta menghasilkan perfusi plasenta adekuat untuk memelihara janin.⁵⁶ Pada preeklamsia, proses remodeling tidak berjalan sempurna. Invasi ekstravilus

trofoblas terbatas di lapisan desidua sehingga bagian arteri spiralis di miometrium tetap sempit dan aliran darah menjadi bertekanan tinggi serta merusak vili plasenta (Gambar 2.2.).^{7, 55, 57, 58}



Gambar 2.2. Plasentasi Abnormal pada Preeklamsia.⁵⁷

Perfusi darah arteri dengan pulsasi intermiten dapat pula menyebabkan pasokan oksigen yang fluktuatif sehingga cenderung terjadi keadaan iskemik pada plasenta, menimbulkan stres oksidatif dan berakibat pada kerusakan jaringan. Hal tersebut

menghasilkan faktor-faktor pro-inflamasi yang berakibat kerusakan organ maternal dan berkurangnya perfusi janin.^{7, 58}

2.3 Patogenesis Preeklamsia

Demikian banyak mekanisme yang berkontribusi pada patogenesis preeklamsia, namun sampai saat ini belum diketahui apakah mekanisme tersebut saling terkait dan memberi efek sinergistik atau bekerja sendiri menyebabkan preeklamsia. Invasi trofoblas abnormal pada awal kehamilan menyebabkan respons vaskular abnormal. Terjadi disfungsi endotel yang disebabkan oleh banyak faktor seperti inflamasi, hipoksia, faktor imunologi dan ketidakseimbangan faktor proangiogenik-antiangiogenik, yang semuanya hampir pasti berkontribusi pada gambaran klinis preeklamsia yang heterogen.⁵⁶

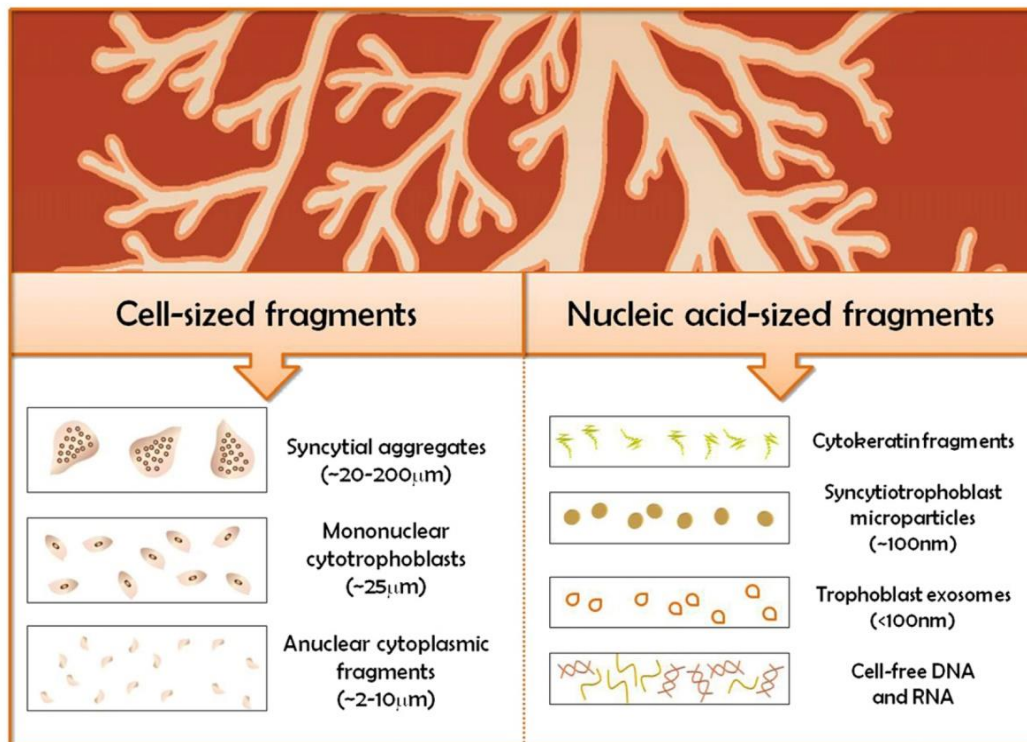
2.3.1 *Syncytial Nuclear Aggregates (SNA)*

Mekanisme preeklamsia yang saat ini diteliti kembali adalah substrat plasenta yang diduga sebagai pemicu preeklamsia. Salah satu faktor plasenta yang terlibat adalah debris trofoblas, yang diperkirakan mengirimkan sinyal patogen dari plasenta ke sel endotel maternal dan menyebabkan disfungsi atau aktivasi sel endotel.⁹

Debris trofoblas berasal dari lapisan sinsitiotrofoblas yang merupakan permukaan feto-maternal pada plasenta dan langsung bersinggungan dengan darah maternal. Debris trofoblas mempunyai bentuk dan ukuran bervariasi, dari yang terbesar yaitu struktur multinuklear yang disebut *syncytial nuclear aggregates* (SNA), struktur mononuklear, mikropartikel sampai dengan nanopartikel.^{11, 12} Selain itu terdapat pula sel-sel janin yang ikut masuk ke dalam sirkulasi maternal seperti limfosit, eritroblas, sel NK, neutrofil, *cell-free* DNA dan *cell-free* RNA (Gambar 2.3.).¹¹

Syncytial nuclear aggregates sebagai debris dengan ukuran yang paling besar menyebabkannya mudah terperangkap di endotel kapiler paru maternal. Ikle dkk.⁵⁹ menyatakan sekitar seratus ribu SNA yang masuk ke sirkulasi maternal setiap hari. Meskipun demikian, debris tersebut tidak tampak memprovokasi respons imun maternal dan akan hilang dalam 3–4 hari kemudian.^{12, 60} Karena tidak ada respons penolakan dari sistem imun maternal maka merupakan bukti bahwa pada kehamilan normal, SNA dilepaskan sebagai hasil proses apoptosis. Fagositosis sel atau debris

yang berasal dari proses apoptosis menghasilkan respons imun yang toleran terhadap plasenta/janin dan mencegah aktivasi sel endotel.¹⁵



Gambar 2.3. Ilustrasi Material Trofoblas yang Masuk ke Sirkulasi Maternal.¹¹

Fagositosis debris trofoblas dari proses nekrotik menyebabkan respons inflamasi. Fagositosis debris nekrotik meningkatkan penanda aktivasi sel endotel, beberapa di antaranya adalah ekspresi *endothelial intercellular adhesion molecule 1* (ICAM-1) dan monosit. Pada preeklamsia, perfusi plasenta yang buruk menyebabkan banyak dihasilkan debris nekrotik. Chen dkk.¹⁵ menyatakan debris nekrotik dalam jumlah besar dapat mengaktivasi sel endotel dan aktivasi tersebut hanya terjadi jika ambang batas debris nekrotik terpenuhi di sirkulasi maternal. Debris trofoblas nekrotik dalam jumlah sedikit seperti pada kehamilan normal tidak menimbulkan respons inflamasi.

Inflamasi pada preeklamsia mengubah struktur mikroskopik plasenta. Terdapat perubahan formasi *syncytial sprout*, *syncytial knot* dan *syncytial bridges* yang diinduksi oleh keadaan hipoksia.^{13,61} Tenney dkk.¹⁶ melaporkan *syncytial knot* tampak pada 10–50% vili terminalis pada kehamilan aterm normal dan makin meningkat meliputi hampir semua vili terminalis pada preeklamsia. Kehamilan dengan komplikasi memperlihatkan bahwa SNA terbentuk lebih awal dengan

diikuti peningkatan jumlah jika dibandingkan dengan kehamilan normal.¹⁷ Analisis ultrastruktural memperlihatkan *syncytial sprout* sebagai gambaran kumpulan nukleus yang berhubungan dengan proliferasi vili dan formasi vili baru.¹³ *Syncytial knots* memperlihatkan nukleus dengan gambaran degeneratif seperti piknosis, kondensasi kromatin dan perlekatan membran sel, sama halnya seperti sel yang mengalami apoptosis. Nukleus tampak inaktif dan tidak dapat melakukan replikasi. Proses tersebut menggambarkan perkembangan sel epitel normal yaitu saat terdapat keseimbangan proliferasi dan kematian sel.^{62, 63}

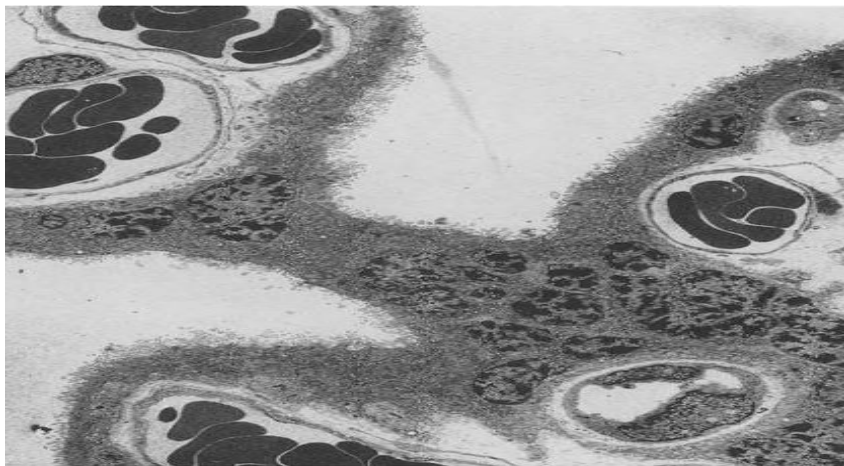
2.3.1.1 Syncytial Bridges sebagai Penyangga Plasenta

Kehamilan dengan komplikasi mempunyai gambaran fenotip atau sub tipe SNA yang berbeda-beda. Pada preeklamsia, SNA mencakup *syncytial knot*, *syncytial sprout*, *syncytial bridges* yang melekat atau menghubungkan dua vili, dan *sectioning artifact* dengan gambaran SNA yang bercabang. *Syncytial sprout* berisi material nukleus aktif yang dikeluarkan dari lapisan sel trofoblas kemudian bergabung membentuk *syncytial bridges*.^{13, 17}

Syncytial bridges awalnya merupakan struktur *syncytioplasm* yang mengandung banyak nukleus. Struktur tersebut dapat terbentuk dari *syncytial sprout*, berasal dari vili yang berdekatan dan akhirnya menyatu serta saling berhubungan.^{14, 64} Kehadiran berbagai molekul adhesi seperti integrin dan *cadherin* yang ditemukan pada daerah membran vili cenderung memfasilitasi terjadinya proses ini.¹⁴ Penelitian Burton^{19, 64} dengan mikroskop elektron mengonfirmasi “*true syncytial bridges*” yang dapat terlihat dalam tiga bentuk, paling banyak adalah gabungan permukaan dua vili (72%) dengan ketebalan 10–15 µm, *syncytial bridges* bentuk silindris dengan nukleus tebal bertumpuk dan menghubungkan 2 vili berdekatan (24%), serta *syncytial bridges* tipis tanpa struktur nukleus (*syncytioplasm*) 4%.¹⁹

Syncytial bridges pertama kali dideskripsikan oleh Langhans (1870), kemudian dilanjutkan pelaporannya oleh Stieve (1936, 1941), Peter (1943, 1951), Schiebler-Kaufman (1969), Boyd-Hamilton (1970), Kaufman-Stegner (1972) dan Jones-Fox (1977). Penelitian selanjutnya yang dilakukan oleh Burton dan Cantle⁶⁵ dengan menggunakan *transmission electron micrograph* dan *scanning electron micrograph* memperlihatkan adanya struktur *syncytial bridges* yang menyatukan

vili (Gambar 2.4.).¹⁹ Terdapat penelitian yang menyatakan fungsi *syncytial bridges* sebagai penyangga mekanis plasenta. Struktur plasenta yang ditopang formasi *syncytial bridges* yang baik diperkirakan akan membuat pajanan perfusi oksigen adekuat sehingga terhindar dari pembentukan *reactive oxygen species*.¹⁶ Jones dkk.¹⁸ menyatakan *syncytial bridges* kemungkinan mempunyai fungsi mekanik untuk menjaga stabilitas plasenta. Penelitian Calvert dkk.¹⁷ memperlihatkan gambaran *syncytial bridges* yang jauh berkurang pada plasenta pasien preeklamsia. Berdasarkan gambaran ini dapat diasumsikan bahwa terdapat hubungan penurunan jumlah *syncytial bridges* dengan derajat keparahan preeklamsia. Diperkirakan terdapat disregulasi pembentukan *syncytial bridges* akibat perubahan proses apoptosis sel trofoblas menjadi proses nekrosis.



Gambar 2.4. Gambaran *Syncytial Bridges* dengan *Transmission Electron Micrograph*.¹⁹

2.3.2 Perubahan Keseimbangan Faktor Pro-angiogenik dan Anti-angiogenik

Gambaran klinis preeklamsia menunjukkan keadaan yang disebabkan disfungsi endotel sistemik dan mikroangiopati, dengan kemungkinan target organ otak (eklamsia), hepar (sindrom HELLP), ginjal (endoteliosis dan proteinuria). Manifestasi klinis tersebut disebabkan ketidakseimbangan faktor pro-angiogenik dan anti-angiogenik di sirkulasi maternal. Dua faktor anti-angiogenik yang berasal dari plasenta adalah *soluble vascular endothelial growth factor receptor1* (sVEGFR1) atau *soluble fms-like tyrosine kinase* (sFlt1) dan *soluble endoglin* (sEng), yang kadarnya meningkat pada preeklamsia. Faktor pro-angiogenik adalah *vascular endothelial growth factors* (VEGF) dan *placental growth factors* (PlGF) yang kadar keduanya menurun pada preeklamsia.⁴⁵

sFlt1 adalah protein anti-angiogenik yang bekerja dengan berikatan pada protein pro-angiogenik yaitu VEGF dan PlGF di sirkulasi maternal sehingga menghambat efek angiogenik protein tersebut. Pada keadaan hipoksia, plasenta akan menyekresikan sFlt1 dan akan terakumulasi dalam jumlah besar di sirkulasi maternal yang akhirnya menetralkan VEGF di organ sehingga meningkatkan konsekuensi terjadinya preeklamsia. sEng merupakan protein anti-angiogenik yang bekerja dengan cara menghambat *transforming growth factor- β* (TGF β) di pembuluh darah. Ekspresi berlebihan sFlt1 dan sEng pada percobaan mencit menginduksi terjadinya hipertensi, proteinuria, endoteliosis glomerular, trombositopenia dan pertumbuhan janin terhambat.⁶⁶ Penelitian lain menggambarkan vasospasme, peningkatan permeabilitas vaskular dan edema serebral yang menyerupai gambaran ensefalopati reversibel pada pasien eklamsia.^{56, 67} Nitrit oxide (NO) sebagai vasodilator endotel yang kuat bekerja sebagai mediator VEGF, PlGF dan TGF- β untuk menurunkan resistensi vaskular perifer sehingga tekanan darah menurun, proteinuria menurun dan memperbaiki aliran darah ke glomerulus ginjal.^{56, 66, 68}

Perubahan sFlt1, sEng dan PlGF pada preeklamsia juga berhubungan dengan disfungsi vaskular maternal yang dapat diukur dengan indeks pulsatiliti arteri uterina. Rasio peningkatan sFlt1 dan rendahnya PlGF dapat memperkirakan kejadian preeklamsia sekitar lima minggu sebelum timbul gejala penyakit tersebut.⁶⁹

2.3.3 Hipoksia Plasenta

Preeklamsia muncul pada keadaan terdapat plasenta dan mengalami remisi saat plasenta dilahirkan. Invasi trofoblas abnormal mengakibatkan perfusi utero-plasenta menurun sehingga terjadi hipoksia plasenta. Plasenta menghasilkan faktor anti-angiogenik seperti sFlt-1 yang menginduksi disfungsi endotel pembuluh darah maternal dan menghasilkan gambaran klinis preeklamsia. sFlt-1 bekerja sebagai antagonis faktor pro-angiogenik seperti VEGF dan PlGF, dan peningkatan produksi sFlt-1 pada preeklamsia memperburuk keadaan hipoksia di plasenta.⁷⁰ Efek hipoksia terhadap setiap sel mungkin bersifat spesifik. Pada trofoblas, hipoksia meningkatkan produksi sFlt-1 yang mengakibatkan defisiensi VEGF dan keadaan anti-angiogenik.⁷¹

2.3.4 Signaling Renin-Aldosterone-Angiotensin System

Pada kehamilan normal, kadar renin, aldosteron dan angiotensin akan meningkat. Ibu hamil dengan preeklamsia memiliki kadar renin dan aldosteron plasma yang rendah serta sensitivitas vaskular meningkat terhadap angiotensin II dan vasokonstriktor lain. Angiotensin II yang telah berikatan dengan reseptornya akan menjadi mediator yang meningkatkan tekanan darah melalui vasokonstriksi arteri. Sensitivitas terhadap angiotensin menyebabkan pembentukan autoantibodi yang menurunkan invasi sel trofoblas. Zhou dkk.⁷² menyatakan AT1-AA menginduksi kerusakan plasenta dan meningkatkan sintesis sFlt1 sehingga dianggap sebagai protein yang berkontribusi terhadap invasi trofoblas yang abnormal.

2.3.5 Inflamasi dan Perubahan Immunologi

Maladaptasi imun merupakan mekanisme yang juga berkontribusi terhadap invasi trofoblas yang abnormal. Trofoblas akan bersinggungan dengan sel-sel imun pada daerah implantasi plasenta. Ekspresi *human leukocyte antigen* (HLA) pada trofoblas penting untuk adaptasi maternal terhadap janin yang bersifat semi-alogenik. Pada kehamilan, sel NK, sel terbanyak pada endometrium, bersama dengan makrofag dan sel dendritik merupakan mediator imunitas *innate*. Sel tersebut memfasilitasi respons imun yang toleran sehingga mencegah terjadinya penolakan terhadap embrio.⁷ Pada preeklamsia, terdapat peningkatan respons inflamasi. Sibai dkk.^{7, 56} menyatakan bahwa pengeluaran mediator inflamasi dari plasenta bertanggungjawab atas kerusakan endotel maternal, yaitu terjadi disfungsi koagulasi, vasokonstriksi dan redistribusi cairan intravaskular. Faktor paternal sebagai penyebab preeklamsia juga berhubungan dengan maladaptasi imun. Interval antar kehamilan yang cukup lama dan pemakaian kontrasepsi *barrier* yang mengurangi paparan terhadap sperma akan meningkatkan kejadian preeklamsia. Ibu hamil dengan metode *intracytoplasmic sperm injection* mempunyai risiko tiga kali lebih mudah terkena preeklamsia dibandingkan yang spermanya berasal dari ejakulasi.⁷³

2.3.6 Faktor Genetik

Secara epidemiologi, banyak penelitian menunjukkan hubungan antara preeklamsia dan faktor genetik. Hubungan keluarga menjadi faktor predisposisi terjadinya preeklamsia. Suatu studi melaporkan bahwa seorang anak perempuan dari ibu dengan preeklamsia

akan berisiko lima kali lebih besar mengalami preeklamsia. Diketahui pula bahwa preeklamsia yang terjadi pada kerabat dekat akan meningkatkan risiko 2–4 kali seorang ibu hamil mengalami preeklamsia, bahkan setelah mengontrol berat badan, status merokok dan usia.^{8, 73} Goddard dkk.⁸ melaksanakan penelitian tentang hubungan faktor genetik dengan preeklamsia. Studi tersebut mengevaluasi 775 *single nucleotide polymorphisms* (SNP) dalam 190 gen pada 350 ibu hamil preeklamsia dan keturunannya.

2.4 Laktat Dehidrogenase (LDH) sebagai Penanda Nekrosis Sel

Laktat dehidrogenase merupakan enzim intraselular yang terdapat pada hampir semua sel hidup. Kadarnya tinggi terutama pada sel otot jantung, otot rangka, otak, ginjal, hepar dan sel darah merah. LDH mengandung empat subunit berasal dari bentuk H (jantung) dan M (otot), dan berkombinasi menghasilkan lima isoenzim yang diberi nama LDH1 dan LDH2 terdapat di jantung, eritrosit dan otak. LDH3 banyak terdapat pada paru, otak, ginjal, limpa, pankreas, adrenal dan tiroid. LDH4 dan LDH5 terdapat pada hepar, otot rangka, ginjal dan ileum.^{74, 75} Studi Hawkins dkk.⁷⁶ menyatakan bahwa pada miometrium dan desidua terdapat ekspresi gen terutama isozim LDH2, LDH3 dan LDH4.

Kadar dan aktivitas LDH serum diperkirakan meningkat pada hampir semua keadaan patologis. Enzim ini merupakan indikator yang sensitif sebagai penanda kerusakan atau destruksi sel. Apoptosis dan nekrosis merupakan dua bentuk cara kematian sel yang terlihat pada keadaan normal dan patologis. Secara morfologi, nekrosis memperlihatkan gambaran sel yang membengkak dan akhirnya pecah sehingga sitoplasma dan komponen intraselular keluar termasuk enzim LDH. Komponen intraselular dapat menyebabkan respons inflamasi dan pembentukan sitokin proinflamasi meningkat yang memicu lebih banyak sel yang rusak.²⁰

Preeklamsia berhubungan dengan meningkatnya kematian sel yang bersifat nekrosis akibat kerusakan endotel sistemik. LDH sebagai enzim yang berada di dalam sitoplasma akan lebih banyak dikeluarkan seiring dengan banyaknya sel yang pecah. Jaiswar dkk.^{21, 75} menyatakan bahwa konsentrasi LDH meningkat secara bermakna pada ibu hamil dengan preeklamsia dan eklamsia. Selain itu tingginya kadar LDH berkorelasi dengan peningkatan tekanan darah serta luaran ibu dan bayi yang buruk.

2.5 Imunologi pada Kehamilan Normal dan Preeklamsia

2.5.1 Sistem Imun dan Implantasi Plasenta

Sifat fundamental sistem imun adalah melindungi penjamu dari patogen. Fungsi tersebut tergantung pada sistem imun *innate* untuk mengoordinasikan sel-sel imun sehingga dapat mengenali dan merespons mikroorganisme. Pada kehamilan normal, desidua mengandung banyak sel imun seperti makrofag, sel NK dan sel Treg. Selama trimester satu, sel NK, sel dendritik dan makrofag menginfiltrasi desidua dan terakumulasi di sekitar sel trofoblas yang menginvasi arteri spiral. Adanya defisiensi sel-sel imun tersebut dapat mengganggu implantasi, plasentasi, dan formasi desidua.⁷⁷ Hanna dkk.⁷⁸ menyatakan tidak adanya sel NK menyebabkan sel trofoblas tidak dapat mencapai lapisan endometrium sehingga disimpulkan bahwa keberadaan sel NK diperlukan pada saat invasi trofoblas. Sel NK juga merupakan penghasil faktor angiogenik yang menginduksi pertumbuhan vaskular untuk pembentukan desidua. Selain itu berkurangnya sel dendritik juga mencegah terjadinya implantasi blastokista dan memengaruhi proses angiogenik karena menghambat maturasi pembuluh darah.^{79, 80}

2.5.2 Profil Sitokin selama Kehamilan

Pada kenyataannya, kehamilan bukan selalu dalam kondisi tanpa inflamasi karena terdapat pergeseran tipe sitokin selama kehamilan berlangsung. Terdapat tiga fase imunologi berbeda mulai dari implantasi, plasentasi sampai akhir kehamilan. Pada fase pertama, blastokista berimplantasi dengan menginvasi jaringan endometrium diikuti dengan trofoblas menggantikan lapisan endotel dan otot polos arteri spiral untuk menjaga suplai bagi plasenta-janin. Lingkungan proinflamasi dibutuhkan untuk memperbaiki jaringan epitel yang rusak. Fase kedua merupakan fase antiinflamasi saat terjadi pertumbuhan dan perkembangan janin. Pada fase ketiga, kembali terjadi lingkungan proinflamasi karena terjadinya persalinan yang memerlukan sel-sel imun di miometrium untuk mendukung timbulnya kontraksi uterus.⁷⁷

2.5.3 Imunologi Preeklamsia

Pada keadaan normal, kehamilan memerlukan toleransi imun maternal terhadap fetus. Pada preeklamsia terdapat respons inflamasi sistemik maternal yang meningkat. Terjadi aktivasi baik sistem imun *innate* maupun adaptif.^{23, 24} Hipoksia yang berat pada preeklamsia akan meningkatkan pembentukan SNA. *Damage associated molecular pattern* (DAMP) juga dikeluarkan yang semuanya akan berikatan dengan *toll-like receptors* (TLR) dan mengaktivasi neutrofil, monosit, sel NK, sel dendritik yang akhirnya memulai terjadinya inflamasi.^{81, 82}

Paradigma Th1/Th2 sebelumnya digunakan untuk menjelaskan pergeseran sitokin Th1 menjadi Th2 pada permukaan maternal-fetal plasenta. Pada preeklamsia terjadi sebaliknya, sitokin Th1 termasuk IL-1, IL-2, IFN- γ menjadi dominan sedangkan sitokin Th2 seperti IL-5 dan IL-10 menurun. Diketahui pada kehamilan normal, IL-10 melindungi janin dari penolakan melalui aktivasi ekspresi HLA-G pada trofoblas.^{81, 83} Meskipun dominasi sitokin Th1 terjadi pada banyak kasus preeklamsia, terdapat beberapa kasus saat regulasi sistem imun menjadi tidak sesuai. Hal tersebut mungkin disebabkan beberapa mekanisme yang terlibat seperti perubahan jumlah dan fungsi sel T lainnya yaitu Th17 dan Treg. Dengan demikian paradigma Th1/Th2 dimodifikasi menjadi paradigma Th1/Th2/Th17/Tr1/Treg, yang masing-masing berinteraksi dengan sel NK, sel dendritik, makrofag dan sel trofoblas di plasenta.^{24, 26, 81, 84}

Sel Th17 adalah bagian sel *T helper* yang memproduksi IL-17 sebagai sitokin proinflamasi. Sel Th17 sebagai mediator inflamasi berperan dalam patogenesis penyakit autoimun dan inflamasi kronik. Pada invasi mikroorganisme, IL-17 akan menginduksi sintesis protein antimikroba sehingga melindungi penjamu dari infeksi. Diferensiasinya dipengaruhi oleh kondisi inflamasi seperti antigen fetal allogen, inflamasi sistemik dan peningkatan sitokin proinflamasi seperti yang terjadi pada kehamilan. Didapatkan peningkatan jumlah sel Th17 pada darah perifer pasien preeklamsia dibandingkan dengan kehamilan normal.^{25, 81, 85}

Sel Treg merupakan komponen sistem imun yang menekan respons imun sel lain. Sifat immunosupresifnya mencegah reaksi imun berlebihan. Jumlahnya yang rendah di darah perifer berkontribusi pada kejadian inflamasi kronik.^{23, 24, 26, 27} Populasi sel

Treg terbagi dalam 2 subgrup berdasarkan mekanisme supresi dan perannya meregulasi respons inflamasi.⁸⁶ Pertama adalah sel Treg CD4⁺CD25⁺ yang efek supresinya terjadi melalui kontak antar sel. Kedua adalah sel Th3 dan sel Treg tipe1 (Tr1) yang efek supresinya tidak tergantung kontak sel tetapi pengeluaran sitokin seperti IL-10 dan TGF- β .^{28, 85, 87} Sel Treg CD4⁺CD25⁺ dibagi menjadi sel Treg aktif dan dorman berdasarkan ekspresi FoxP3. Kedua sub tipe ini mempunyai sifat supresif tetapi berbeda pada kecepatan respons terhadap inflamasi. Sel Treg yang aktif lebih responsif sedangkan yang dorman mempunyai respons terbatas tetapi dapat berproliferasi dan berubah menjadi sel Treg aktif dengan meningkatkan ekspresi gen FoxP3.⁸⁷ Jadi sel Treg diproduksi dengan meningkatkan ekspresi FoxP3 sehingga terjadi konversi *naïve T cell* menjadi sel Treg. Inaktivasi FoxP3 akan menyebabkan defisiensi sel Treg. FoxP3 merupakan faktor transkripsi untuk pembentukan dan fungsi sel Treg, gennya berada pada lengan pendek kromosom X (Xp11.23).²⁴

Sel Treg yang merupakan supresor poten sistem imun adaptif, dapat menginduksi makrofag untuk membantu mempertahankan homeostasis dan mencegah kerusakan jaringan.²⁹ Beberapa penelitian menunjukkan bahwa preeklamsia berhubungan dengan penurunan persentase sel Treg CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺.²⁸ Penurunan ekspresi gen FoxP3 pada preeklamsia diikuti penurunan jumlah sel Treg dan menyebabkan ketidakseimbangan toleransi imunologi antara maternal-fetal.²⁷⁻²⁹

Ekspresi gen FoxP3 juga menurun di lesi aterosklerosis yang berhubungan dengan proses inflamasi kronik.⁸⁸⁻⁹⁰ Peran FoxP3 dapat mencegah lesi aterosklerosis pembuluh darah, termasuk arteri spiralis pada sirkulasi uteroplasenta.^{90, 91} Produk ini dapat memperbaiki imunitas dan mencegah inflamasi sehingga menurunkan proses aterosklerosis akut arteri spiralis. Proses pembentukan ateroma akibat inflamasi desidual dapat dicegah dan perempuan yang mempunyai risiko penyakit kardiovaskular di kemudian hari dapat diidentifikasi.⁹¹

2.6 Peran Nutrisi pada Preeklamsia dan Pengaruhnya pada Proses Inflamasi dan Nekrosis

Kehamilan merupakan kondisi perubahan anatomi dan fisiologis ibu serta pertumbuhan janin yang memerlukan mikronutrien terdiri atas vitamin dan mineral

untuk menunjang pertumbuhan dan perubahan tersebut. Mikronutrien yang tidak adekuat dapat memberi luaran kehamilan yang buruk.³⁶ Nutrisi berperan pada patogenesis komplikasi kehamilan seperti abortus, persalinan preterm, pertumbuhan janin terhambat, diabetes gestasional dan preeklamsia. Nutrisi adekuat dapat mengontrol inflamasi dengan menghambat mediator inflamasi seperti IL-6, IL-1 β , TNF- α dan PGE2, serta meningkatkan jumlah IL-2, sel NK, dan sel T.^{92, 93} Vitamin D dan seng perlu diteliti lebih lanjut karena berhubungan dengan patogenesis preeklamsia, proses inflamasi, destruksi sel dan banyak lagi aktivitas biologis sel yang memerlukan kedua mikronutrien ini.⁹⁴

2.6.1 Peran Vitamin 1,25(OH)₂D₃ pada Sistem Imun dan Inflamasi

Defisiensi vitamin D maternal merupakan salah satu problem kesehatan masyarakat dengan angka kejadian secara global berkisar antara 29–54%.³⁰ Defisiensi vitamin D selama kehamilan berakibat luaran yang buruk pada maternal-fetal karena berhubungan dengan implantasi plasenta yang abnormal, ketidakseimbangan proses angiogenesis, inflamasi, disfungsi sistem imun dan hipertensi. Bentuk aktif vitamin D, *calcitriol* atau 1,25(OH)₂D₃ merupakan suatu hormon steroid yang meregulasi transkripsi dan fungsi gen yang berhubungan dengan invasi trofoblas, implantasi plasenta dan angiogenesis. Plasenta merupakan jaringan di luar organ ginjal yang dapat menyintesis vitamin 1,25(OH)₂D₃ karena adanya aktivitas 1 α -hidroksilase yang terdapat baik di desidua maupun trofoblas.^{33, 95, 96} Vitamin 1,25(OH)₂D₃ juga berfungsi sebagai imunomodulator sehingga kondisi defisiensi akan mempermudah terjadinya disfungsi sistem imun dan meningkatkan respons inflamasi.^{30, 94}

Vitamin D berasal dari asupan makanan dan disintesis di kulit dengan bantuan pajanan sinar matahari.⁹⁷ Secara biologis vitamin D berbentuk inert dan harus mengalami dua kali proses hidroksilasi agar menjadi bentuk aktif. Proses pertama adalah perubahan vitamin D menjadi 25 hidroksivitamin D (25(OH)D) atau kalsidiol di hepar. Bentuk kedua adalah bentuk aktif 1,25 dihidroksivitamin D₃ (1,25(OH)₂D₃) atau kalsitriol yang berasal dari ginjal. Vitamin D mempermudah absorpsi kalsium di usus sehingga membantu mempertahankan konsentrasi kalsium dan fosfat untuk proses mineralisasi tulang. Selain itu, pertumbuhan dan remodeling tulang juga tergantung pada kecukupan vitamin ini.⁹⁸ Kadar vitamin 25(OH)D serum merupakan

indikator kecukupan vitamin D tetapi tidak mengindikasikan jumlah vitamin yang ada di jaringan. Sebaliknya, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ bukan merupakan indikator vitamin D karena waktu paruhnya yang pendek dan diregulasi oleh hormon paratiroid, kalsium dan fosfat sehingga apabila kita dapatkan kadar yang rendah maka menandakan defisiensi sudah sangat parah.^{99, 100}

Selain tulang, banyak sel dan organ tubuh yang memiliki reseptor vitamin D dan merespons $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ seperti otak, prostat, payudara, kolon, sel-sel imun dan plasenta. Secara langsung maupun tidak langsung, vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mengontrol hampir 200 gen yang berperan dalam banyak aktivitas biologis, seperti regulasi proliferasi dan diferensiasi sel, apoptosis dan angiogenesis.¹⁰⁰ Peran tersebut dimediasi oleh reseptor vitamin D (VDR).¹⁰¹

Pada sistem imun *innate*, jika sel dendritik dan monosit atau makrofag distimulasi oleh lipopolisakarida melalui *toll-like receptor 2* (TLR2) maka aktivitas VDR dan 25 hidroksivitamin D1 α -hidroksilase (1-OHase) akan meningkat. Dengan kadar 25(OH)D 30 ng/mililiter atau lebih maka 1-OHase akan mengubah 25(OH)D menjadi $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Bentuk aktif ini akan masuk ke dalam nukleus dan meningkatkan ekspresi *cathelicidin*, suatu peptida yang dapat meningkatkan imunitas *innate*. Molekul $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ yang diproduksi oleh makrofag atau monosit juga mengaktifasi limfosit T yang meregulasi sintesis sitokin, serta mengaktifasi limfosit B yang meregulasi sintesis imunoglobulin.¹⁰² Vitamin D menghambat produksi sitokin proinflamasi seperti IL6 atau TNF- α di monosit/makrofag melalui inhibisi p38 MAPK,¹⁰³ serta meningkatkan produksi sel Treg dan menghambat aktivitas sel Th17.^{33, 100} Molekul vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dapat memengaruhi respons imun dengan meregulasi ekspresi FoxP3 pada sel Treg melalui ikatan langsung VDR dengan gen FoxP3 sehingga meningkatkan kemampuan supresi sel Treg dan membantu proses toleransi terhadap jaringan plasenta/janin.¹⁰⁴

Proses angiogenik juga diregulasi oleh vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ melalui efek langsung terhadap transkripsi gen VEGF¹⁰⁵ dengan menghambat angiogenesis dan menginduksi apoptosis di organ yang terkena keganasan, misalnya di otak, prostat dan payudara. Setelah vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ menyelesaikan tugasnya mempertahankan diferensiasi dan

proliferasi sel, ia akan menginduksi ekspresi enzim 25 hidroksivitamin D-24 hidroksilase (24-OHase) yang akan meningkatkan katabolisme $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ menjadi *calcitroic acid* yang inert dan tidak akan masuk ke dalam sirkulasi dan tidak memengaruhi metabolisme kalsium.¹⁰⁵ Di organ yang mempunyai aktivitas 1-OHase seperti kelenjar paratiroid, ginjal dan pankreas, produksi vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ membantu sintesis hormon paratiroid yang mengatur kadar kalsium dalam darah, mengatur produksi renin di ginjal dan menstimulasi sekresi insulin dari sel beta pankreas. Vitamin D mempunyai fungsi meregulasi tekanan darah dan glukosa darah, sehingga berperan penting pada kehamilan untuk mencegah komplikasi seperti preeklamsia dan diabetes gestasional.¹⁰⁰

Mempertahankan kadar vitamin D serum juga penting untuk pencegahan penyakit kardiovaskular dan mengontrol tekanan darah. Hal tersebut disebabkan berkurangnya aktivitas sistem renin-angiotensin-aldosteron, sifat anti-inflamasi, antifibrotik dan antitrombotik dari vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.³¹ Diketahui pula bahwa struktur dan fungsi vaskular serta elastisitas intima media lebih baik pada ibu hamil dengan vitamin D yang cukup dan hal tersebut berhubungan dengan penurunan kejadian hipertensi.^{30, 106} Proses aterogenik yang merupakan proses inflamasi dan dapat merusak endotel pembuluh darah juga berhubungan dengan defisiensi vitamin D.³¹ Rendahnya kadar vitamin darah maternal meningkatkan risiko preeklamsia dan suplementasi vitamin D akan menurunkan risiko tersebut.¹⁰⁷

Pada kehamilan normal terdapat peningkatan vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ darah maternal akibat peningkatan aktivitas enzim CYP27B1 di ginjal. Demikian pula ekspresi CYP27B1 dan VDR di desidua dan trofoblas. Hal tersebut menunjukkan bahwa plasenta dapat menyintesis dan merespons vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Adanya kerusakan plasenta seperti pada preeklamsia akan mengganggu fungsi dan perubahan konsentrasi $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.¹⁰⁸

2.6.2 Peran Seng pada Sistem Imun dan Proses Destruksi Sel

Seng diketahui sebagai salah satu mikronutrien penting dalam proses selular karena diperlukan untuk aktivitas enzim, interaksi antar sel, apoptosis (*programmed cell death*) dan transduksi sinyal.^{109, 110} Selain itu seng juga berperan dalam pembentukan sperma, metabolisme tulang, transpor oksigen, menghambat pembentukan radikal bebas dan pembentukan struktur membran sel. Mikronutrien

ini banyak ditemukan pada daging, makanan laut, kacang-kacangan, produk susu dan olahannya. Metabolisme seng menyerupai metabolisme besi. Seng diabsorpsi di duodenum dan diangkut oleh albumin dan transferrin untuk dibawa ke hepar. Di hepar seng disimpan dalam bentuk *metallothionein* dan selebihnya akan dibawa ke pankreas untuk digunakan sebagai bahan pembentuk enzim pencernaan.¹¹¹

Penelitian tentang seng menjadi penting karena memperlihatkan bahwa ketidakseimbangan nutrisi menginduksi kematian sel atau apoptosis. Percobaan pada tikus memperlihatkan defisiensi seng meningkatkan apoptosis sel imun imatur yang memulai kerusakan timus. Hal tersebut mengganggu pembentukan sel-sel limfosit sehingga berkontribusi pada menurunnya imunitas.³⁴ Keen dkk.¹¹² mengevaluasi embrio tikus yang mengalami defisiensi seng memperlihatkan kerusakan sel saraf otak dengan didapati aktivitas kaspase-3 yang mengindikasikan proses apoptosis. Dari penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa kerusakan sel tidak saja dapat terjadi pada sel-sel imun tetapi juga pada sel atau jaringan embrio yang lain. Apabila ketidakseimbangan nutrisi terjadi dalam waktu lama maka bukan tidak mungkin proses nekrosis sel dapat terjadi.^{34, 35}

Preeklamsia merupakan salah satu kondisi yang berhubungan dengan banyaknya sel-sel yang mengalami nekrosis. Sel-sel tersebut akan membengkak dan ruptur, mengeluarkan materi intraselular yang dapat mengaktivasi endotel.^{34, 52, 67} Seng merupakan komponen biomembran dan penting dalam menjaga struktur dan fungsi membran sel.¹¹³ Seng mempunyai efek menstabilkan membran sehingga dapat mengontrol kerusakan sel.¹¹⁴ Implantasi plasenta normal terjadi dengan bantuan enzim *matrix metalloproteinase* (MMP). Enzim ini merupakan bagian enzim *zinc*-endopeptidase yang mendegradasi matriks ekstraselular. MMP-2 dan MMP-9 merupakan enzim yang ikut berperan dalam degradasi stromal sehingga terjadi diferensiasi sel endotel selama proses angiogenesis dan seng merupakan regulator aktivitas MMP ini.^{36, 115}

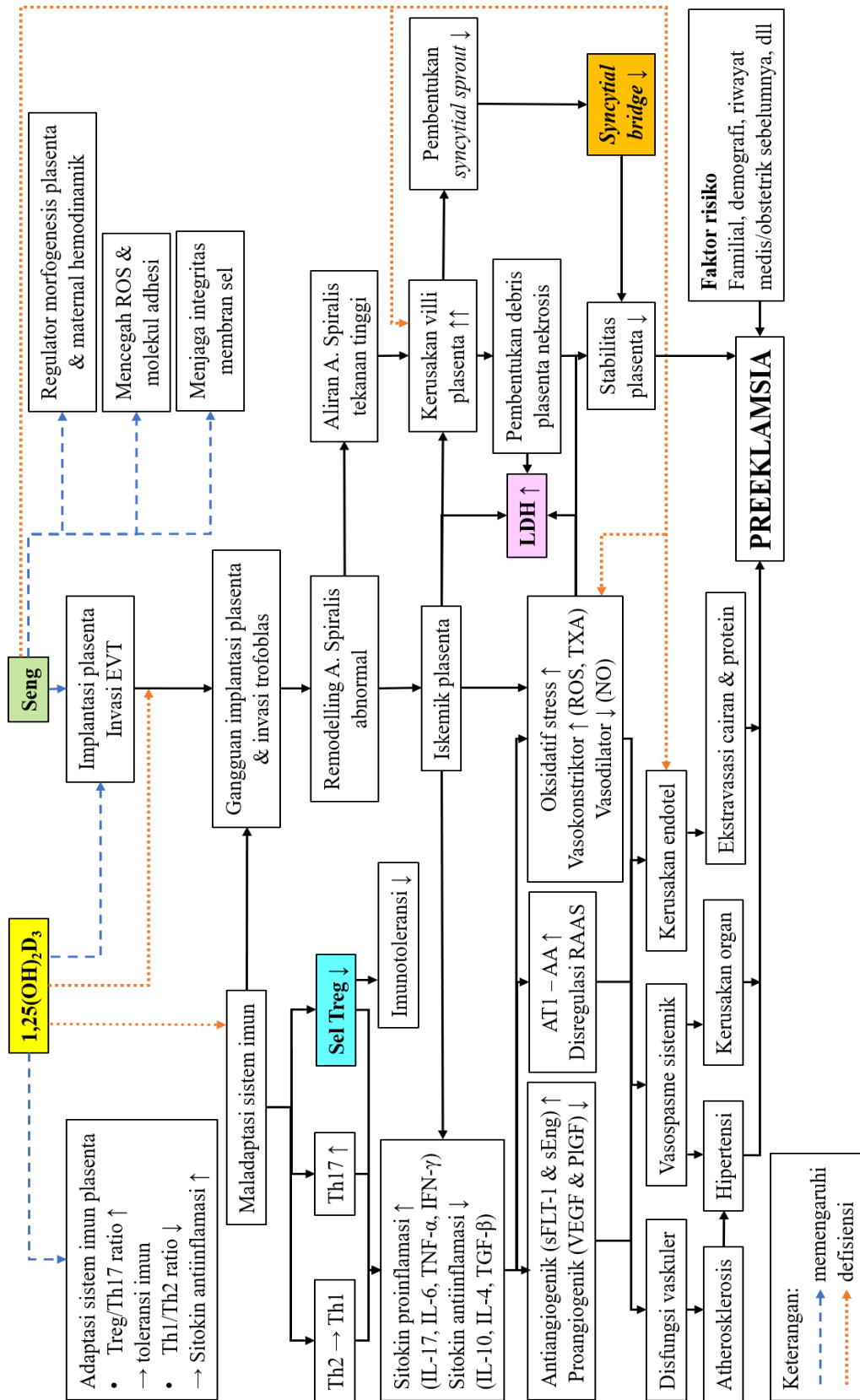
Pada manusia, mekanisme homeostasis dilakukan untuk mempertahankan kadar seng plasma berkisar 10–18 µmol/L. Sel sangat tergantung pada plasma untuk menyuplai seng agar dapat berfungsi dengan baik. Pada keadaan defisiensi seng di dalam sel maka homeostasis akan dipertahankan oleh transporter yaitu ZnT

(SLC30) dan Zip (SLC39), bekerjasama dengan *metallothionein* agar dapat terjadi perpindahan seng dari sirkulasi ke dalam sel. Sitokin dapat meregulasi transporter untuk mempertahankan atau meningkatkan kadar seng intraselular sebagai respons terhadap inflamasi.¹¹⁰

Seng juga merupakan mikronutrien esensial untuk kerja enzim dan faktor transkripsi dalam sintesis protein dan pertumbuhan sel,³⁶ serta mempunyai efek antimikroba dan antivirus.³⁷ Defisiensi seng meningkatkan kadar lipid peroksidasi sehingga hal tersebut dilihat sebagai kemungkinan faktor risiko preeklamsia. Bahadoran dkk.¹¹⁶ menyatakan terdapat hubungan antara kadar seng serum dengan derajat keparahan preeklamsia. Kadar seng dapat dipakai sebagai indeks untuk memprediksi kondisi preeklamsia.

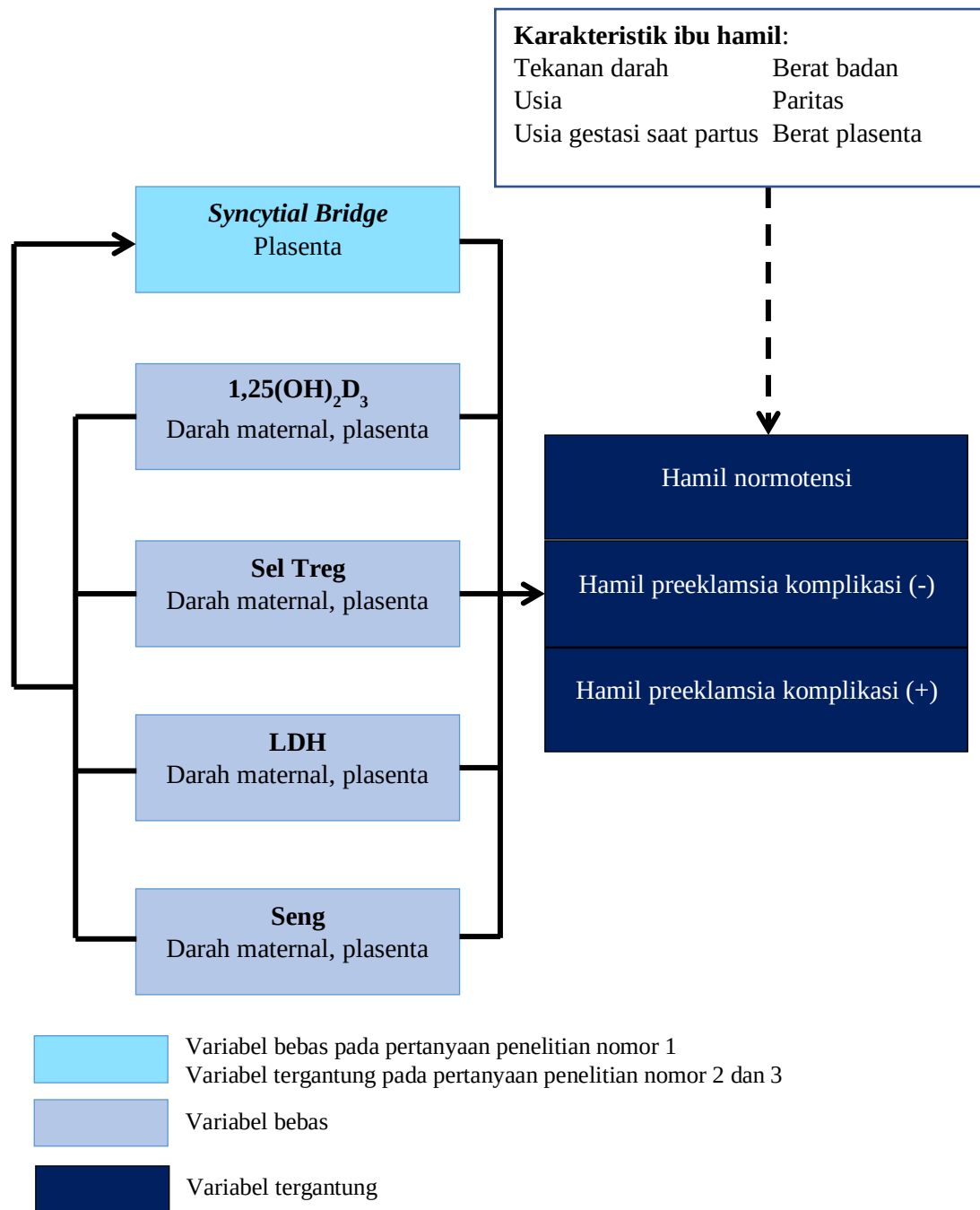
Seng memiliki efek antiinflamasi dengan mengatur sistem imun, dan bersifat sebagai antioksidan, sehingga dapat menurunkan produksi sitokin inflamasi. Defisiensi seng menyebabkan terganggunya respons imun bawaan dan didapat, yang dapat menyebabkan inflamasi sistemik. Imunitas yang didapat (*innate immunity*) adalah mekanisme imunitas nonspesifik untuk melawan patogen dan infeksi, yang melibatkan sel NK, sel mast, eosinofil, basofil, dan sel fagosit seperti makrofag dan neutrofil. Defisiensi seng menurunkan aktivitas sel NK dan kemotaksis neutrofil, serta menghambat aktivasi sel mast.¹⁰⁹

2.7 Kerangka Teori



Gambar 2.5. Kerangka Teori Patogenesis Preeklamsia

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 2.6. Kerangka Konsep Penelitian

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi observasional dalam bentuk studi potong lintang komparatif tiga kelompok untuk mengetahui hubungan jumlah *syncytial bridges* pada plasenta dengan jumlah sel Treg, konsentrasi LDH, vitamin 1,25(OH)₂D₃, dan seng di plasenta dan darah maternal pada perempuan hamil normotensi (NT), preeklamsia tanpa komplikasi (PE) dan dengan komplikasi (PEK).

3.2 Tempat dan Waktu

Pengumpulan data dilakukan di Rumah Sakit (RS) Budi Kemuliaan dan Rumah Sakit Umum Daerah (RUSD) Koja selama periode Februari–Agustus 2019.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi target pada penelitian ini adalah semua ibu hamil normotensi dan preeklamsia yang datang ke rumah sakit. Populasi terjangkau adalah semua ibu hamil normotensi dan preeklamsia yang datang ke RS Budi Kemuliaan dan RSUD Koja selama periode penelitian. Populasi terjangkau yang memenuhi kriteria penelitian diambil sebagai sampel penelitian.

3.4 Kriteria Pemilihan Subjek Penelitian

3.4.1 Kriteria Penerimaan

3.4.1.1 Kriteria Penerimaan Subjek Penelitian tanpa Preeklamsia

1. Usia gestasi > 20 minggu
2. Normotensi
3. Kehamilan tunggal hidup intrauterin
4. Bersedia ikut serta dalam penelitian dengan menandatangani *informed consent*

3.4.1.2 Kriteria Penerimaan Subjek Penelitian Preeklamsia tanpa Komplikasi

1. Ibu hamil yang mengalami preeklamsia tanpa komplikasi berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium
2. Usia gestasi > 20 minggu
3. Kehamilan tunggal hidup intrauterin
4. Bersedia ikut serta dalam penelitian dengan menandatangani *informed consent*

3.4.1.3 Kriteria Penerimaan Subjek Penelitian Preeklamsia dengan Komplikasi

1. Ibu hamil yang mengalami preeklamsia dengan komplikasi berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium
2. Usia gestasi > 20 minggu
3. Kehamilan tunggal hidup intrauterin
4. Bersedia ikut serta dalam penelitian dengan menandatangani *informed consent*

3.4.2 Kriteria Penolakan untuk Ketiga Kelompok Subjek Penelitian

1. Memiliki riwayat penyakit jantung dan pembuluh darah
2. Memiliki riwayat penyakit dan gangguan fungsi ginjal
3. Memiliki riwayat penyakit dan gangguan fungsi hati
4. Memiliki riwayat penyakit hematologi dan kelainan koagulasi
5. Memiliki riwayat penyakit diabetes melitus
6. Memiliki riwayat penyakit hipertensi kronik
7. Memiliki riwayat penyakit autoimun seperti *systemic lupus eritematosus*

3.4.3 Identifikasi Variabel

Untuk pertanyaan nomor 1, variabel bebas adalah jumlah *syncytial bridge*, sel Treg dan konsentrasi LDH, vitamin 1,25(OH)₂D₃, dan seng. Variabel tergantung adalah kelompok NT, PE dan PEK.

Untuk pertanyaan nomor 2 dan 3, variabel bebas adalah jumlah sel Treg dan konsentrasi LDH, vitamin 1,25(OH)₂D₃, dan seng. Variabel tergantung adalah *syncytial bridge*.

3.5 Besar Sampel

Besar sampel dihitung menggunakan rumus perkiraan besar sampel komparatif data numerik tidak berpasangan pada 2 kelompok.

$$n1 = n2 = \left(2 \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)S}{x1 - x2} \right]^2 \right)$$

n = jumlah sampel

Z α = tingkat kemaknaan berdasarkan interval kepercayaan 5% ($\alpha = 1.96$)

Z β = deviasi relatif berdasarkan power 80% ($\beta = 0,842$)

X1- X2 = perbedaan klinis yang diinginkan (*clinical judgement*)

S = simpang baku kedua kelompok (kepastakaan)

Tabel 3.1. Perhitungan Besar Sampel

Variabel	Z α	Z β	X1-X2	S	n
<i>Syncytial bridge</i>	1,96	0,842	14,71–8,48	2,46	3
Sel Treg	1,96	0,842	2,92–4,11	1,25	18
LDH	1,96	0,842	306,34–172,70	31,29	2
Vitamin 1,25(OH) $_2$ D $_3$	1,96	0,842	48,36– 63,53	16,25	19
Seng ⁴⁰	1,96	0,842	1153,33–902,50	67,09	4

LDH: laktat dehidrogenase

Berdasarkan perhitungan di atas, maka jumlah sampel minimal yang diperlukan untuk kelompok kehamilan normotensi, preeklamsia tanpa komplikasi dan dengan komplikasi adalah masing-masing 19 sampel ditambah 10% menjadi 21 sampel, sehingga total sampel penelitian menjadi 63 sampel.

3.6 Perlakuan terhadap Subjek Penelitian dan Alur Penelitian

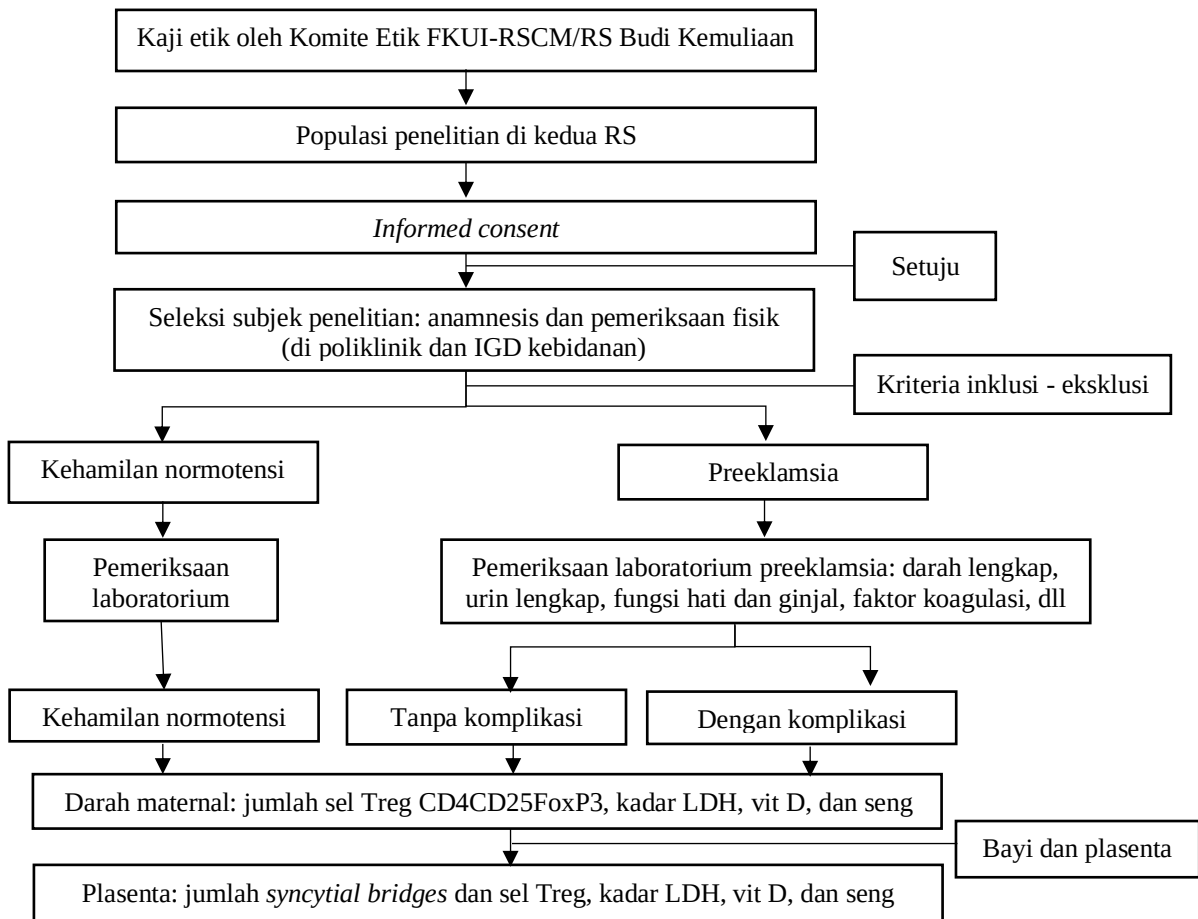
1. Pasien dengan kehamilan > 20 minggu yang datang ke poliklinik atau IGD Kebidanan dan Kandungan dilakukan seleksi melalui anamnesis dan pemeriksaan fisis sesuai kriteria penerimaan dan penolakan.
2. Semua pasien yang memenuhi kriteria diminta kesediaannya untuk diikutsertakan dalam penelitian dan diminta mengisi dan menandatangani lembar persetujuan (*informed consent*).
3. Pasien yang bersedia ikut penelitian akan menjalani prosedur standar untuk menentukan apakah pasien termasuk kelompok normal, kelompok preeklamsia tanpa komplikasi atau dengan komplikasi.
4. Semua subjek dilakukan pengambilan darah vena untuk pemeriksaan jumlah sel Treg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺, konsentrasi LDH, vitamin 1,25(OH) $_2$ D $_3$, dan seng.
5. Setelah bayi lahir dilakukan pengambilan sampel plasenta 4 bagian dari *maternal-fetal interface* ukuran 2 x 2 cm. Satu bagian disimpan dalam cairan paraformaldehid 4% untuk diperiksa di Laboratorium Patologi Anatomi Pusat Studi Satwa Primata (PSSP) Institut Pertanian Bogor, melihat jumlah *syncytial bridges* dengan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE) dan jumlah sel Treg Foxp3⁺ dengan teknik imunohistokimia (IHK). Tiga bagian sampel disimpan dalam cairan *phosphate buffered saline* (PBS) dan dibuat homogenat untuk pemeriksaan konsentrasi LDH, vitamin 1,25(OH) $_2$ D $_3$, dan seng.

3.7 Cara Kerja Penelitian

3.7.1 Pemilihan Subjek Penelitian

Pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan secara *nonprobability sampling* dengan cara *consecutive*. Peneliti mengambil semua subjek yang memenuhi kriteria penelitian untuk masuk sebagai subjek penelitian sampai jumlah sampel minimal terpenuhi. Semua subjek dari tiga kelompok penelitian telah dimintakan kesediaannya untuk ikut serta dan menandatangani lembar persetujuan penelitian (*informed consent*).

Urutan pelaksanaan penetapan subjek penelitian dan pengambilan sampel dapat dilihat pada Gambar 3.1.



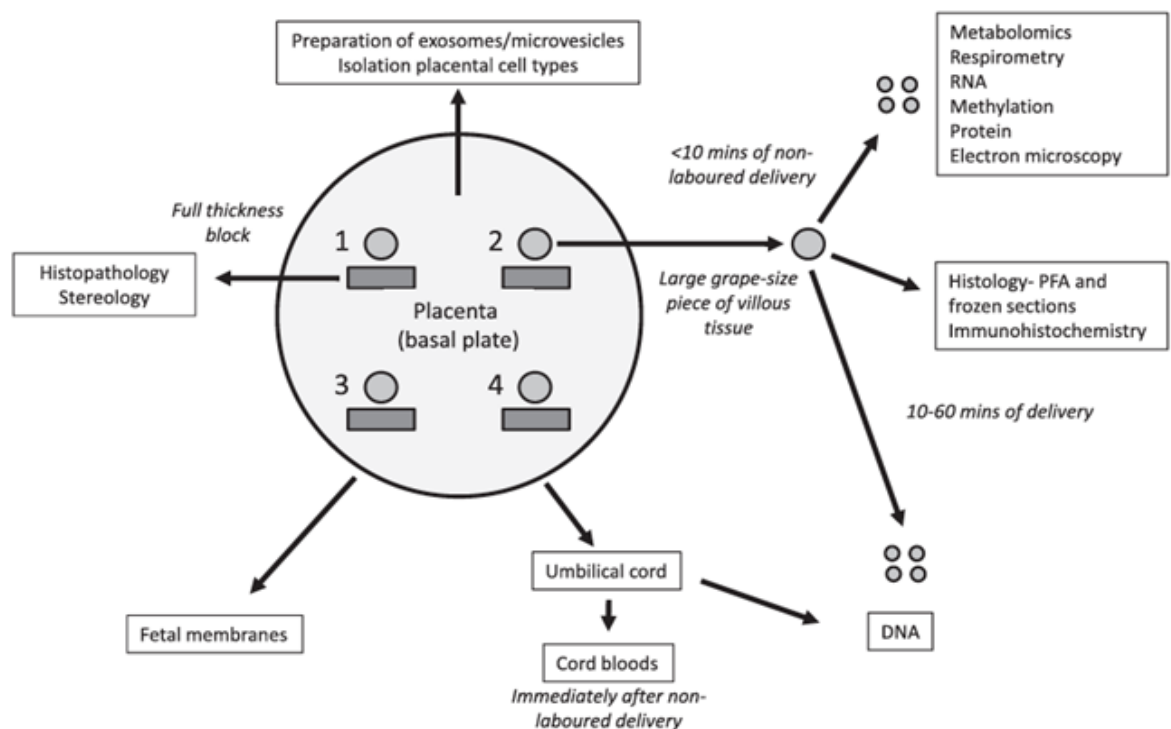
Gambar 3.1. Alur Penetapan Subjek Penelitian dan Pengambilan Sampel

3.7.2 Pengambilan dan Penyimpanan Spesimen

1. Setiap subjek penelitian diambil darah vena sebanyak 10 mL untuk pemeriksaan jumlah sel Treg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺, konsentrasi LDH, vitamin 1,25(OH)₂D₃,

dan seng. Masing-masing sampel dimasukkan ke dalam tabung *ethylenediamine tetracetic acid* (EDTA) sebanyak 3 mL untuk pemeriksaan jumlah sel Treg $CD4^+CD25^+Foxp3^+$, 6 mL darah ke tabung *trace element* untuk pemeriksaan konsentrasi LDH, vitamin $1,25(OH)_2D_3$, dan seng. Dalam waktu satu jam dilakukan sentrifugasi 1500 g selama 15 menit, serum dipisahkan dalam 4 *sampel cup* dan dibekukan $-20^\circ C$.

- Jaringan plasenta diambil empat bagian di daerah *maternal-fetal interface* ukuran 2 x 2 cm (Gambar 3.2.). Satu bagian dimasukkan ke dalam cairan fiksatif paraformaldehid 4% dengan perbandingan volume jaringan dan larutan fiksatif 1 : 10, wadah tertutup rapat dan disimpan dalam suhu $\pm 8^\circ C$. Setelah 2 hari sampel jaringan dipindahkan ke dalam larutan alkohol 70% dan disimpan pada suhu $\pm 8^\circ C$ sampai akan dibuat blok parafin. Blok parafin digunakan untuk pemeriksaan jumlah *syncytial bridges* dengan pewarnaan HE dan pemeriksaan IHK untuk jumlah sel Treg $FoxP3^+$ menggunakan antibodi *mouse monoclonal anti-Foxp3*. Satu bagian sampel lainnya dalam waktu maksimal 8 jam dibuat *single cell suspension*/homogenat untuk pemeriksaan konsentrasi LDH, vitamin $1,25(OH)_2D_3$, dan seng.



Gambar 3.2. Skema Pengambilan Sampel Plasenta.¹¹⁷

3.7.3 Protokol Pemeriksaan Jaringan Plasenta

1. Pembuatan Preparat Histologi untuk Menilai Jumlah *Syncytial Bridge* dengan Pewarnaan HE dan Jumlah Sel Treg Foxp3⁺ dengan IHK

Proses pembuatan preparat histologi diawali dengan penarikan air dari jaringan (dehidrasi) dengan merendam jaringan dalam alkohol dengan konsentrasi bertingkat menaik (70%, 80%, 90%, 95%, dan absolut) masing-masing selama satu jam, dilanjutkan dengan penjernihan (*clearing*) dengan larutan *xylol* sebanyak tiga kali pengulangan, masing-masing selama satu jam. Infiltrasi parafin ke dalam jaringan dilakukan dengan memasukkan jaringan dalam parafin cair sebanyak tiga kali pengulangan, masing-masing selama satu jam, dan dilanjutkan dengan penanaman (*embedding*) dalam parafin cair untuk dicetak menjadi blok parafin (*blocking*). Selanjutnya blok parafin dipotong (*sectioning*) dengan ketebalan 5 µm menggunakan mikrotom dan diletakkan pada gelas objek untuk diwarnai dengan HE. Untuk pewarnaan IHK, blok parafin diletakkan pada gelas objek berperekat 3-aminopropyl triethoxysilane (APTES) 3% dalam metanol.

a. Perwarnaan HE untuk Menilai Jumlah *Syncytial Bridge*

Proses pewarnaan diawali dengan proses deparafinisasi atau penghilangan parafin menggunakan larutan *xylol* sebanyak tiga kali pengulangan masing-masing selama sepuluh menit, dilanjutkan pemasukan kembali air ke dalam jaringan (rehidrasi) dengan merendam jaringan dalam larutan alkohol konsentrasi bertingkat menurun (absolut, 95%, 90%, 80%, 70%), masing-masing selama lima menit. Pembilasan dilakukan dengan mengalirkan air keran pada preparat jaringan selama 10 menit, diikuti pembilasan menggunakan akuades selama 10 menit. Selanjutnya preparat jaringan direndam dalam larutan pewarna hematoksilin selama kurang lebih dua menit dan dibilas kembali menggunakan air keran mengalir (sambil dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop cahaya untuk mengetahui intensitas warna). Selanjutnya jaringan dimasukkan ke dalam larutan eosin selama dua menit dan diikuti proses dehidrasi menggunakan alkohol konsentrasi bertingkat menaik. Proses penjernihan (*clearing*) dilakukan dengan larutan *xylol*, dan diakhiri dengan menutup jaringan menggunakan kaca penutup dan bahan perekat Entellan[®] (proses *mounting*).

Penilaian jumlah *syncytial bridge* dengan menghitung struktur multinuklear padat atau *syncytioplasm* tanpa nukleus yang menghubungkan vili-vili berdekatan pada 15 lapang pandang besar tiap preparat jaringan dengan pembesaran 400x.

b. Pewarnaan IHK Metode *Labeled-Streptavidine Biotin* (LSAB) untuk Menilai Jumlah Sel Treg FoxP3⁺

Pewarnaan IHK menggunakan metode tidak langsung *Labeled-Streptavidin Biotin* (LSAB). Deteksi protein Foxp3 dilakukan menggunakan kit komersial *Starr Trek Universal HRP Detection System* (Biocare Medical®). Pewarnaan diawali proses deparafinisasi dan rehidrasi. Setelah proses rehidrasi, dilakukan pembilasan dengan merendam jaringan dalam akuades kemudian PBS. Untuk menghilangkan peroksidase endogen, jaringan direndam dalam H₂O₂ 10% dengan pelarut metanol, lalu dibilas dengan PBS. Proses *protein blocking* dilakukan dengan merendam jaringan dalam larutan *Background Sniper* (Biocare Medical®) dan serum normal 10% dalam PBS. Jaringan selanjutnya direndam dalam larutan tripsin dengan pelarut CaCl₂ 0,2% untuk tahapan *antigen retrieval* kemudian dibilas dengan PBS. Deteksi FoxP3 dilakukan dengan mengaplikasikan antiFoxp3 (Sigma) dengan konsentrasi 1 : 500 menggunakan pelarut PBS, diinkubasi selama satu malam (*overnight*) pada suhu 4 °C kemudian dibilas dengan PBS.

Antibodi sekunder yang sudah dilabel dengan biotin/*biotinylated secondary antibody* yaitu *Trek Universal Link* (Biocare Medical®), diaplikasikan pada jaringan kemudian inkubasi dilakukan pada suhu 37 °C dan selanjutnya dibilas dengan PBS. Setelah itu streptavidin berlabel peroksidase yaitu *Trekavidin* (Biocare Medical®) diaplikasikan pada suhu 37 °C, dan dibilas dengan PBS. Visualisasi antigen pada jaringan, menggunakan kromogen 3,3'-Diaminobenzidine/DAB (Biocare Medical®); 4 µL DAB ditambahkan ke dalam 1000 µL larutan substrat. Campuran tersebut ditetaskan di atas jaringan yang diwarnai. Setelah itu, jaringan dibilas dengan akuades dan direndam dalam larutan hematoksin sebagai *counterstain* kemudian ditutup dengan kaca penutup dan bahan perekat Entellan® (*mounting*).

Pemeriksaan mikroskopis dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya yang dilengkapi kamera (Nikon Eclipse 80i, DS Fi1, Jepang) untuk menentukan lokasi dan

distribusi Foxp3 pada jaringan. Penghitungan dilakukan pada 40 lapang pandang tiap preparat jaringan dengan pembesaran 400 kali. Analisis preparat jaringan dilakukan secara semi kuantitatif dengan perangkat lunak *ImageJ*. Hasil positif (+) apabila terdapat material coklat gelap di dalam sitoplasma sel (intrasisitoplasmik) dan negatif (-) jika warna coklat tidak terlihat. Setiap preparat dibaca oleh dua orang (peneliti dan ahli patologi IPB). Sebagian dari *slide* yang sudah diinterpretasi, dikonfirmasi oleh ahli patologi anatomi FKUI.

2. Preparasi Homogenat Jaringan Plasenta

Homogenat jaringan plasenta disiapkan untuk pengukuran konsentrasi LDH, vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, dan seng. Sampel plasenta dipotong dan dicuci dengan PBS hingga larutan pencuci tidak berwarna merah; proses pencucian memerlukan tiga kali pembilasan. Jaringan yang telah bersih diletakkan di atas kertas saring hingga tidak ada air yang menetes. Jaringan seberat 2000 mg, dicacah menjadi potongan kecil dan dimasukkan ke dalam tabung Precellys *homogenizer* dengan ditambahkan 1 mL PBS. Tabung berisi jaringan diletakkan di dalam es selama lima menit agar suhu menjadi turun. Selanjutnya homogenisasi dilakukan menggunakan alat Precellys dengan kecepatan 5000 RPM; 2 x 11 detik sambil memperhatikan suhu sampel; sampel segera diletakkan kembali ke dalam es selama sepuluh menit. Homogenat yang diperoleh dibagi ke dalam beberapa tabung, kemudian disimpan pada suhu $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ sampai saat dilakukan pemeriksaan konsentrasi LDH, vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, dan seng.

a. Pemeriksaan Konsentrasi LDH Jaringan Plasenta

Satu vial homogenat jaringan plasenta (2000 mg jaringan/mL PBS = 2 g/mL) yang sudah beku dibiarkan di suhu ruang hingga mencair. Homogenat dimasukkan ke dalam sonikator untuk melisis sel selama 30 menit, kemudian dipindahkan ke dalam tabung polipropilen 5 mL; dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 5000 x g selama 5 menit. Supernatan 400 μL dipindahkan ke dalam *sampel cup*.

Pengukuran konsentrasi LDH dilakukan menggunakan metode ELISA *sandwich* menggunakan kit LSBio nomor katalog LS-F5040. Prinsip pemeriksaan ini adalah LDH di dalam sampel akan diikat oleh antibodi LDH yang telah dilapiskan pada sumur mikrotelat, kemudian ditambahkan antibodi LDH berlabel biotin. Setelah diinkubasi dan

dicuci, ditambahkan avidin berlabel peroksidase. Proses inkubasi dan pencucian diulangi dan ditambahkan substrat TMB sehingga terbentuk warna. Intensitas warna diukur dengan spektrofotometer untuk memperoleh nilai *optical density* (OD). Nilai OD sesuai dengan konsentrasi LDH di dalam sampel, makin tinggi kadar LDH, makin tinggi nilai OD. Dengan menggunakan larutan standar LDH dengan berbagai konsentrasi, dapat dibuat kurva standar. Konsentrasi LDH di dalam sampel diperoleh dengan menginterpolasikan nilai OD masing-masing sampel dengan kurva standar.

Sebanyak 100 μL standar, *blank* atau sampel dimasukkan ke dalam setiap sumur mikropelat dan ditutup dengan *sealer* dan diinkubasi selama satu jam pada suhu 37 °C. Isi sumur dibuang namun tidak dicuci, kemudian ditambahkan 100 μL *detection reagent A* pada setiap sumur, ditutup dengan *plate sealer*, diagitasi perlahan supaya homogen, dan diinkubasi selama satu jam pada suhu 37 °C. Isi tiap sumur dibuang dan dilakukan pencucian sebanyak empat kali menggunakan 350 μL *wash buffer*. Setelah pencucian terakhir, isi sumur dibuang dan plat diketukkan secara terbalik pada kertas penyerap. Sebanyak 100 μL *detection reagent B* ditambahkan pada setiap sumur dan ditutup dengan *plate sealer*, dilanjutkan agitasi perlahan untuk memastikan homogenasi; inkubasi dilakukan selama 30 menit pada 37 °C. Setelah inkubasi dilakukan pencucian seperti di atas.

Pada setiap sumur ditambahkan 90 μL *TMB substrate*, diagitasi secara perlahan untuk memastikan homogenasi kemudian diinkubasi selama 10–20 menit pada 37 °C sampai terlihat perubahan warna (lindungi dari sinar). Kemudian 50 μL *stop solution* ditambahkan pada setiap sumur dan akan terlihat perubahan warna biru segera menjadi kuning. Jika tidak muncul perubahan warna pada semua sumur, goyangkan perlahan untuk memastikan pencampuran reagen. Selanjutnya dilakukan pembacaan pada panjang gelombang 450 nm (panjang gelombang koreksi 540 atau 570 nm) dalam waktu kurang dari 30 menit. Dibuat kurva standar berdasarkan OD dan konsentrasi LDH standar.

Konsentrasi LDH diperoleh dari perhitungan berdasarkan kurva standar dengan satuan ng/mL. Bobot jaringan dalam homogenat yang diukur adalah 2 g/mL. Setiap konsentrasi sampel yang terukur dalam satuan ng/mL dibagi dengan konsentrasi jaringan 2 g/mL sehingga satuan final menjadi ng/g jaringan plasenta.

b. Pemeriksaan Konsentrasi Vitamin 1,25(OH)₂D₃ Jaringan Plasenta

Satu vial homogenat jaringan plasenta (2000 mg jaringan/mL PBS = 2 g/mL) yang sudah beku dibiarkan di suhu ruang hingga mencair. Jaringan homogenat (500 µL) dimasukkan ke dalam sonikator untuk melisis sel selama 30 menit dan ditambahkan PBS sebanyak 500 µL sehingga konsentrasi homogenat menjadi 1000 mg/mL. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 14000 RPM selama 5 menit. Hasil supernatant diambil 500 µL dan dimasukkan ke dalam tabung *immotube* berisi reagen pengekstraksi. Dilakukan homogenasi dengan vorteks selama 15 detik dan diletakkan pada *roller mixer* selama 1 jam dalam suhu ruang, dilanjutkan sentrifugasi dengan kecepatan 550 g selama 1 menit. Cairan yang tertampung pada tabung penampung dibuang, tabung dipasang kembali dan disentrifugasi ulang dengan kecepatan 550 g selama 2 menit. Larutan pencuci ditambahkan 500 µL dan dilakukan setrifugasi dengan kecepatan 550 g selama 2 menit. Prosedur pencucian dilakukan sebanyak 2 kali. Tabung penampung diganti baru kemudian ditambahkan 250 µL larutan elusi dan disentrifugasi dengan kecepatan 550 g selama 2 menit. Eluat yang tertampung dikeringkan dengan aliran nitrogen pada suhu 37 °C hingga kering, direkonstitusi dengan fasa gerak LCMS-MS sebanyak 165 µL.

Konsentrasi 1,25(OH)₂D₃ diperoleh dari perhitungan standar internal dengan satuan pg/mL. Bobot jaringan dalam eluat yang telah dikeringkan adalah 1000 mg dan konsentrasi setelah ditambahkan 165 µL fasa gerak adalah 6,06 g/mL. Setiap konsentrasi sampel yang terukur dalam satuan pg/mL dibagi dengan konsentrasi jaringan 6,06 g/mL sehingga satuan final menjadi pg/g jaringan plasenta.

c. Pemeriksaan Konsentrasi Seng Jaringan Plasenta

Homogenat jaringan plasenta dengan konsentrasi 2000 mg/mL yang sudah beku dibiarkan di suhu ruang hingga mencair. Jaringan homogenat dimasukkan ke dalam sonikator untuk melisis sel selama 30 menit kemudian sebanyak 500 µL dipindahkan ke dalam tabung polipropilen 5 mL. PBS ditambahkan sebanyak 2000 µL (pengenceran 5x) kemudian dihomogenkan dengan vorteks selama 1 menit; disentrifugasi dengan kecepatan 8500 RPM selama 15 menit. Supernatan yang terbentuk dipindahkan sebanyak 400 µL ke dalam vial ICP-MS kemudian tambahkan 3600 µL (pengenceran 10x) diluent basa ICP-MS. Selanjutnya

dimasukkan ke dalam sistem ICP-MS untuk pemeriksaan seng. *MS Analyzer* diatur untuk membaca massa seng. Dilakukan kalibrasi dengan menggunakan perhitungan standar internal dengan tujuh level kalibrasi. Konsentrasi yang diperoleh dari alat dalam satuan $\mu\text{g/L}$ yang kemudian dikoreksi dengan bobot jaringan yang digunakan. Dilakukan pengenceran 50 kali dari konsentrasi jaringan awal 2000 g/L menjadi 40 g/L. Konsentrasi jaringan final di *assay* adalah 40 g/L. Setiap konsentrasi sampel yang terukur dalam satuan $\mu\text{g/L}$ dibagi dengan konsentrasi jaringan 40 g/L sehingga satuan final menjadi $\mu\text{g/g}$ jaringan plasenta.

3.7.4 Teknik Pengukuran Variabel

1. Semua sampel jaringan plasenta untuk pemeriksaan *syncytial bridges* diwarnai dengan hematoksin-eosin (HE) dengan menghitung jumlah *syncytial bridges* pada 15 LPB (pembesaran 400 x) menggunakan mikroskop Nikon tipe eclips e80i.
2. Pemeriksaan jumlah sel Treg Foxp3⁺ plasenta diwarnai dengan metode IHK di Departemen Patologi Anatomi PSSP Institut Pertanian Bogor. Penghitungan jumlah sel Treg FoxP3⁺ dilihat pada 40 LPB (pembesaran 400 x). Perhitungan dilakukan oleh satu orang ahli patologi dan peneliti yang tidak mengetahui nama/kelompok sampel yang diperiksa (*blind*)
3. Konsentrasi LDH sampel darah diperiksa dengan metode *enzymatic colorimetry* dengan satuan U/L. Sampel plasenta dibuat menjadi homogenat untuk pemeriksaan konsentrasi LDH, dengan teknik ELISA *sandwich*, dinyatakan dalam ng/g jaringan.
4. Pemeriksaan konsentrasi vitamin 1,25(OH)₂D₃ sampel darah dan homogenat plasenta dilakukan dengan teknik LC-MS/MS. Untuk sampel darah konsentrasi vitamin 1,25(OH)₂D₃ dilaporkan dalam satuan pg/mL, sedangkan untuk sampel plasenta adalah pg/g jaringan.
5. Pemeriksaan konsentrasi seng dalam darah dan homogenat plasenta dilakukan dengan teknik ICP-MS. Satuan konsentrasi seng dalam darah $\mu\text{g/dL}$, sedangkan dalam homogenat plasenta adalah $\mu\text{g/g}$ jaringan.

3.8 Pengolahan dan Analisis Data

Data penelitian dicatat dalam formulir. Secara keseluruhan data ditabulasi, diverifikasi, diolah dan dianalisis dengan menggunakan program SPSS versi 20. Data dengan sebaran normal dilaporkan dalam bentuk rerata dan simpang baku sedangkan data dengan sebaran tidak normal dilaporkan dalam bentuk median dengan nilai minimum dan maksimum. Untuk menjawab pertanyaan penelitian nomor 1 dilakukan uji one way Anova jika sebaran data normal atau menggunakan uji Kruskal-Wallis jika sebaran data tidak normal. Pertanyaan penelitian nomor 2 dijawab menggunakan uji T tidak berpasangan untuk melihat perbedaan 2 kelompok data berdistribusi normal. Jika distribusi data tidak normal menggunakan uji Mann-Whitney. Titik potong jumlah *syncytial bridge* dicari menggunakan kurva ROC untuk mendapatkan titik potong optimal. Setelah mendapatkan titik potong dilakukan pengategorian dan dilanjutkan analisis menggunakan Chi square untuk bivariat dan regresi logistik untuk multivariat agar dapat menjawab pertanyaan nomor 3. Data dilengkapi dengan interval kepercayaan 95%, dengan batas kemaknaan ditetapkan $p < 0,05$.

3.9 Etika Penelitian

Penelitian ini telah lolos kaji etik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia nomor 0918/UN2.F1/ETIK/2018.

3.10 Batasan Operasional

Tabel 3.2. Batasan Operasional

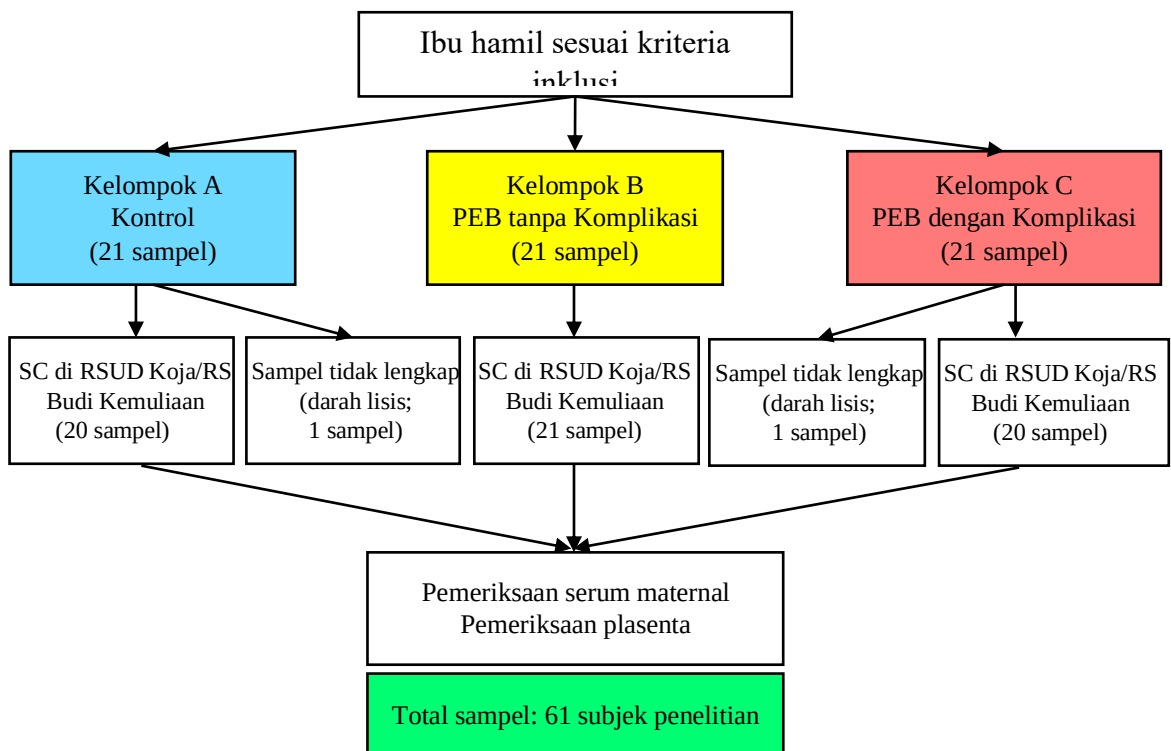
Variabel	Batasan	Alat ukur/alat periksa	Cara pengukuran	Skala ukur	Hasil ukur/satuan
<i>Syncytial Bridges</i>	Kumpulan nukleus pada lapisan sinsitiotrofoblas berasal dari <i>syncytial sprout</i> yang menghubungkan vili—vili berdekatan, berstruktur multinuklear padat atau syncytioplasma tanpa nukleus	Mikroskop cahaya	Pemeriksaan penunjang	Numerik	Plasenta – jumlah SB/lapang pandang besar (LPB)
Sel Treg	Sel yang merupakan bagian dari sel T yang menyupresi respons inflamasi dan fungsi supresi memerlukan ekspresi forkhead family transcription factor box P3). Treg CD4+CD25+Foxp3+ di darah maternal dan Treg Foxp3+ di plasenta	<i>Flowcytometric</i> Mikroskop cahaya	Pemeriksaan penunjang	Numerik	Darah maternal -- sel/ μ L IHK -- jumlah sel /LPB
<i>Lactate dehydrogenase</i>	Enzim intraselular terdapat pada semua sel yang bermetabolisme, dan akan meningkat pada hampir semua keadaan yang disertai kerusakan atau destruksi sel	<i>Enzymatic colorimetry</i>	Pemeriksaan penunjang	Numerik	Darah maternal -- U/L Plasenta -- ng/g
1,25(OH) $_2$ D $_3$	Bentuk aktif vitamin D sebagai hasil hidroksilasi kedua dari vitamin D yang terjadi di ginjal dan plasenta	<i>Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry</i> (LC-MS/MS)	Pemeriksaan penunjang	Numerik	Darah maternal -- pg/mL Plasenta -- pg/g
Seng	Salah satu mikronutrien yang ikut berperan dalam banyak proses selular salah satunya adalah menginduksi apoptosis atau “ <i>programmed cell death</i> ” dari sel-sel imun	<i>Inductively Couple Plasma/Mass Spectrometry</i> (ICP-MS)	Pemeriksaan penunjang	Numerik	Darahmaternal -- μ g/dL Plasenta -- μ g/g
Kehamilan tunggal	kehamilan dengan 1 janin berdasarkan pemeriksaan USG	USG	Pemeriksaan penunjang	Kategorik	
Diabetes Melitus Gestasional (DMG)	Kadar glukosa darah puasa ≥ 92 mg/dL atau ≥ 153 mg/dL 2 jam pasca pembebanan glukosa 75 gram oral berdasarkan kriteria ADA 2016	TTGO	Anamnesis Data sekunder rekam medis	Kategorik	

Tabel 3.2. Batasan Operasional (lanjutan)

Variabel	Batasan	Alat ukur/alat periksa	Cara pengukuran	Skala ukur	Hasil ukur/satuan
Preeklamsia	Preeklamsia tanpa komplikasi (PE) adalah tekanan darah $\geq 140/90$ mmHg pada 2 kali pengukuran berjarak 4 jam, terjadi pada usia gestasi > 20 minggu dan proteinuria (≥ 300 mg/24 jam, rasio protein/kreatinin $\geq 0,3$ g/24 jam atau 1+ pada protein urin <i>dipstick</i>) Preeklamsia dengan komplikasi (PEK) adalah tekanan darah $\geq 160/110$ mmHg pada 2 kali pengukuran berjarak 4 jam, terjadi pada usia kehamilan > 20 minggu disertai proteinuria ≥ 5 g/24 jam atau tanpa proteinuria tetapi terdapat trombositopenia (< 100.000 μL) dan kenaikan enzim hepar (HELLP <i>syndrome</i>) atau nyeri epigastrium dan kuadran kanan atas yang tidak hilang dengan pemberian obat, insufisiensi renal (kreatinin $> 1,1$ mg/dL atau kenaikan kreatinin 2 kali nilai normal dengan tidak adanya kelainan ginjal sebelumnya) dan gangguan syaraf pusat atau penglihatan, edema paru, solusio plasenta, eklamsia	Tensimeter Urin <i>Dipstick</i> Laboratorium darah & urin	Pemeriksaan fisis Pemeriksaan penunjang	Kategorik	
Penyakit jantung	Penyakit pada jantung seperti gagal jantung kongstif, kelainan katup, kelainan jantung bawaan dan lainnya yang sudah terdiagnosis oleh TS yang bersangkutan		Anamnesis Data sekunder rekam medis	Kategorik	
Penyakit autoimun	Penyakit seperti sistemik lupus eritematosus, anemia hemolitik autoimun dan lainnya yang sudah terdiagnosis oleh TS yang bersangkutan		Anamnesis Data sekunder rekam medis	Kategorik	
Kelainan hematologi	Kelainan/gangguan koagulasi, talasemia, keganasan darah, trombositopeni purpura, atau abnormalitas gambaran darah tepi, BT/CT, PT/APTT		Anamnesis Data sekunder rekam medis	Kategorik	
Kelainan fungsi hati	Kelainan /gangguan hati sebelumnya atau adanya abnormalitas fungsi hati tanpa disertai preeklamsia		Anamnesis Data sekunder rekam medis	Kategorik	
Kelainan fungsi ginjal	Kelainan /gangguan ginjal sebelumnya atau adanya abnormalitas fungsi ginjal tanpa disertai preeklamsia		Anamnesis Data sekunder rekam medis	Kategorik	

BAB 4 HASIL PENELITIAN

Pengambilan sampel/subjek penelitian dilakukan di RS Budi Kemuliaan dan RSUD Koja selama periode Februari–Agustus 2019. Sebanyak 61 subjek penelitian terpilih dan dikelompokkan menjadi 20 subjek kelompok kehamilan kontrol/ normotensi (NT), 21 subjek kelompok preeklamsia tanpa komplikasi (PE) dan 20 subjek kelompok preeklamsia dengan komplikasi (PEK) (Gambar 4.1.).



Gambar 4.1. Alur Partisipasi Subjek Penelitian

4.1 Karakteristik Subjek Penelitian dan Luaran Kehamilan

Karakteristik subjek penelitian diidentifikasi menurut karakteristik maternal dan luaran kehamilan sesuai Tabel 4.1. Usia ibu pada ketiga kelompok relatif sama. Paritas subjek penelitian sebagian besar adalah multipara pada ketiga kelompok dan tidak terdapat perbedaan di antara ketiganya ($p = 0,53$). Kenaikan berat badan tampak paling tinggi pada kelompok PE diikuti PEK dan NT namun secara statistik tidak berbeda bermakna ($p = 0,21$). Demikian pula indek massa tubuh (IMT) tertinggi pada kelompok PE diikuti PEK dan NT dengan perbedaan hanya terdapat antara kelompok NT dengan PE ($p < 0,05$).

Tabel 4.1. Karakteristik Subjek Penelitian Berdasarkan Luaran Kehamilan

Luaran Kehamilan	NT (n = 20)	PE (n = 21)	PEK (n = 20)
Usia (tahun) ^a	30,5 (SB 4,1)	32,5 (SB 5,9)	31,5 (SB 6,4)
Paritas, n (%)			
Nulipara	3(15,0)	5 (23,8)	6 (30)
Multipara	17(85,0)	16 (76,2)	14 (70)
Kenaikan BB (kg) ^a	9,8 (SB 3,4)	12,6 (SB 6,7)	10,9 (SB 4,3)
IMT (kg/m ²) ^a	23,9 (SB 3,1)	27,6 (SB 3,6)	25,2 (SB 5,6)
Usia kehamilan (minggu) ^b	38,5 (38–40)	37 (32–40)	35 (29–39) ^{*,**}
Tekanan darah sistolik (mmHg) ^a	112,5 (SB 7,8)	156,5 (SB 13,6)	182,2 (SB 28,1) ^{*,**}
Tekanan darah diastolik (mmHg) ^a	71,2 (SB 5,1)	99,8 (SB 9,5)	109,0 (SB 19,8) ^{*,**}
Berat badan lahir bayi (gram) ^a	3151 (SB 471)	2801 (SB 747)	2048 (SB 751) [*]
Berat plasenta (gram) ^a	610 (SB 141)	579 (SB 19)	431 (SB 137) ^{*,**}

^a Data ditampilkan rerata (SB), analisis menggunakan uji t-tidak berpasangan.

^b Data ditampilkan median (min–maks), analisis menggunakan uji Mann–Whitney.

* Beda bermakna dengan kelompok NT ($p < 0,05$)

**Beda bermakna dengan kelompok PE ($p < 0,05$)

NT: normotensi; PE: preeklamsia tanpa komplikasi; PEK: preeklamsia dengan komplikasi

Usia kehamilan terdapat perbedaan bermakna pada ketiga kelompok ($p < 0,001$). Tekanan darah sistolik dan distolik pada PE dan PEK lebih tinggi dibandingkan NT, tertinggi pada kelompok PEK. Perbedaan tekanan darah sistolik dan diastolik berbeda bermakna pada ketiga kelompok ($p < 0,001$). Berat badan lahir bayi terendah pada kelompok PEK dengan perbedaan bermakna pada kelompok NT dengan PEK ($p < 0,001$) dan PE dengan PEK ($p < 0,001$). Berat plasenta terendah didapatkan pada PEK diikuti PE dan paling besar pada NT dengan perbedaan bermakna antara ketiga kelompok ($p = 0,002$).

4.2 Jumlah Syncytial Bridge Plasenta, Sel Treg, Konsentrasi LDH, Vitamin 1,25(OH)₂D₃, Seng Darah Maternal dan Plasenta pada Kelompok NT, PE, dan PEK

Jumlah syncytial bridge pada kelompok PE ($p < 0,001$) dan PEK ($p < 0,001$) lebih rendah secara bermakna dibanding NT. Jumlah syncytial bridge pada kelompok PEK ($p < 0,001$) lebih rendah secara bermakna dibanding PE. Jumlah sel Treg di plasenta pada kelompok PE ($p = 0,012$) dan PEK ($p = 0,009$) lebih rendah secara bermakna dibandingkan NT.

Tabel 4.2. Jumlah Syncytial Bridge, Sel Treg, Konsentrasi LDH, Vitamin 1,25(OH)₂D₃, Seng Darah Maternal dan Plasenta pada Kelompok NT, PE dan PEK

Parameter Laboratorium	NT (n = 20)	PE (n = 21)	PEK (n = 20)
Syncytial Bridge (sb/lpb) ^a	14,71 (SB 1,85)	10,52 (SB 1,39)*	6,33 (SB 1,13)*,**
Treg			
Darah Maternal (sel/ μ L) ^a	14,11 (SB 6,13)	12,58 (SB 8,38)	10,38 (SB 6,03)
Plasenta (sel/lpb) ^a	4,11 (SB 1,25)	2,89(SB1,65)*	2,94 (SB 1,43)*
LDH			
Darah Maternal (U/L) ^b	167,5 (124–234)	204 (126–311)	418 (157–1435)*,**
Plasenta (ng/g) ^a	31,1 (SB 14,8)	33,1 (SB 12,8)	38,4 (SB 16,9)
1,25(OH)₂D₃			
Darah Maternal (pg/mL)	63,5 (SB 16,2)	55,0 (SB 17,9)*	41,3 (SB 25,4)*,**
Plasenta (pg/g)	2,1 (SB 0,9)	2,7 (SB 1,6)	2,2 (SB 0,6)
Seng			
Darah Maternal (μ g/dL)	57,2 (SB 9,8)	52,5 (SB 6,1)	53,5 (SB 17,1)
Plasenta (μ g/g)	70,7 (SB 17,8)	63,4 (SB 17,4)	74,8 (SB 18,9)

^a Data ditampilkan rerata (SB), analisis menggunakan uji Uji t-tidak berpasangan.

^b Data ditampilkan median (min – maks), analisis menggunakan uji Mann–Whitney.

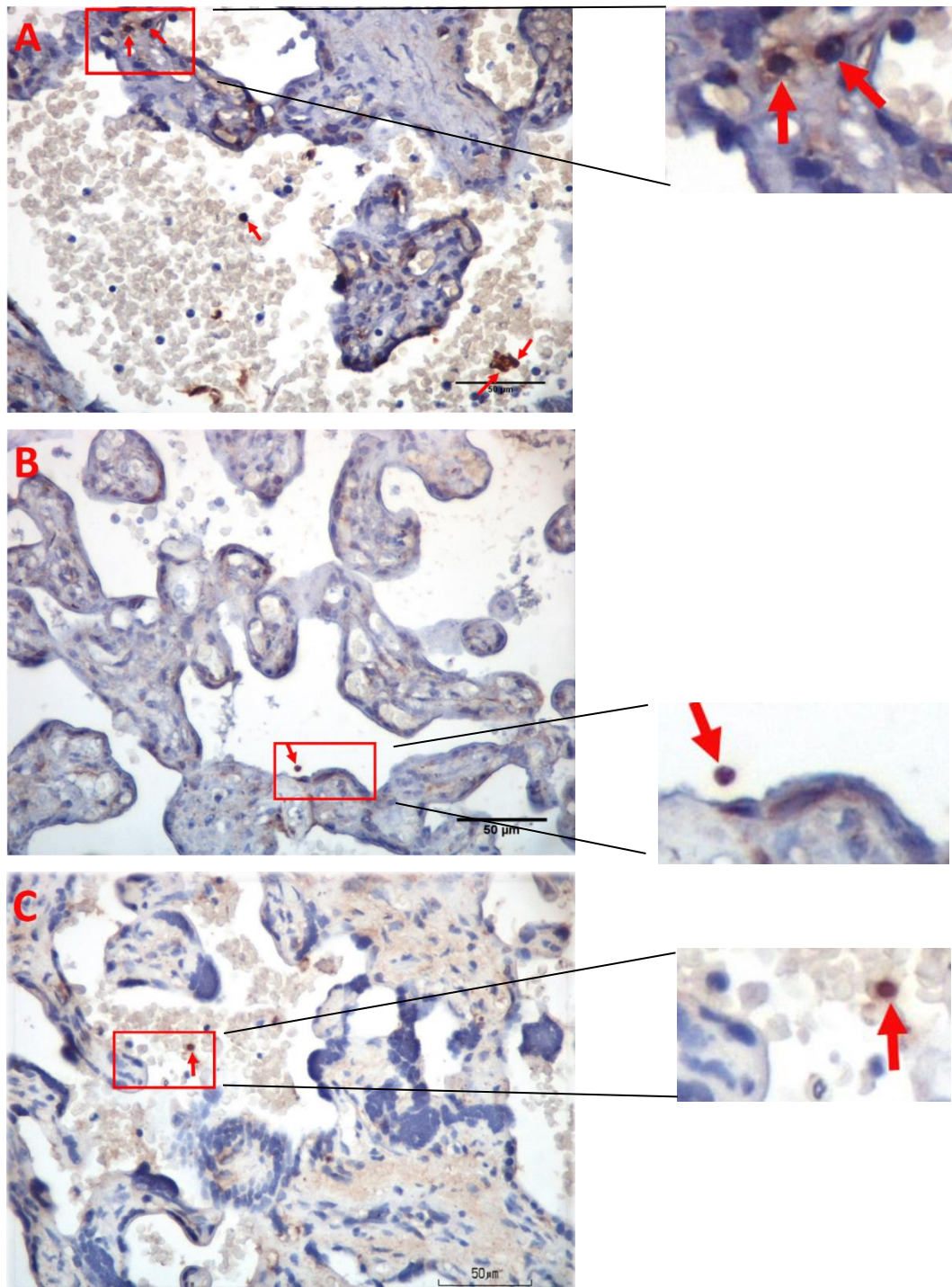
* Beda bermakna dengan kelompok NT ($p < 0,05$)

**Beda bermakna dengan kelompok PE ($p < 0,05$)

NT: normotensi; PE: preeklamsia tanpa komplikasi; PEK: preeklamsia dengan komplikasi

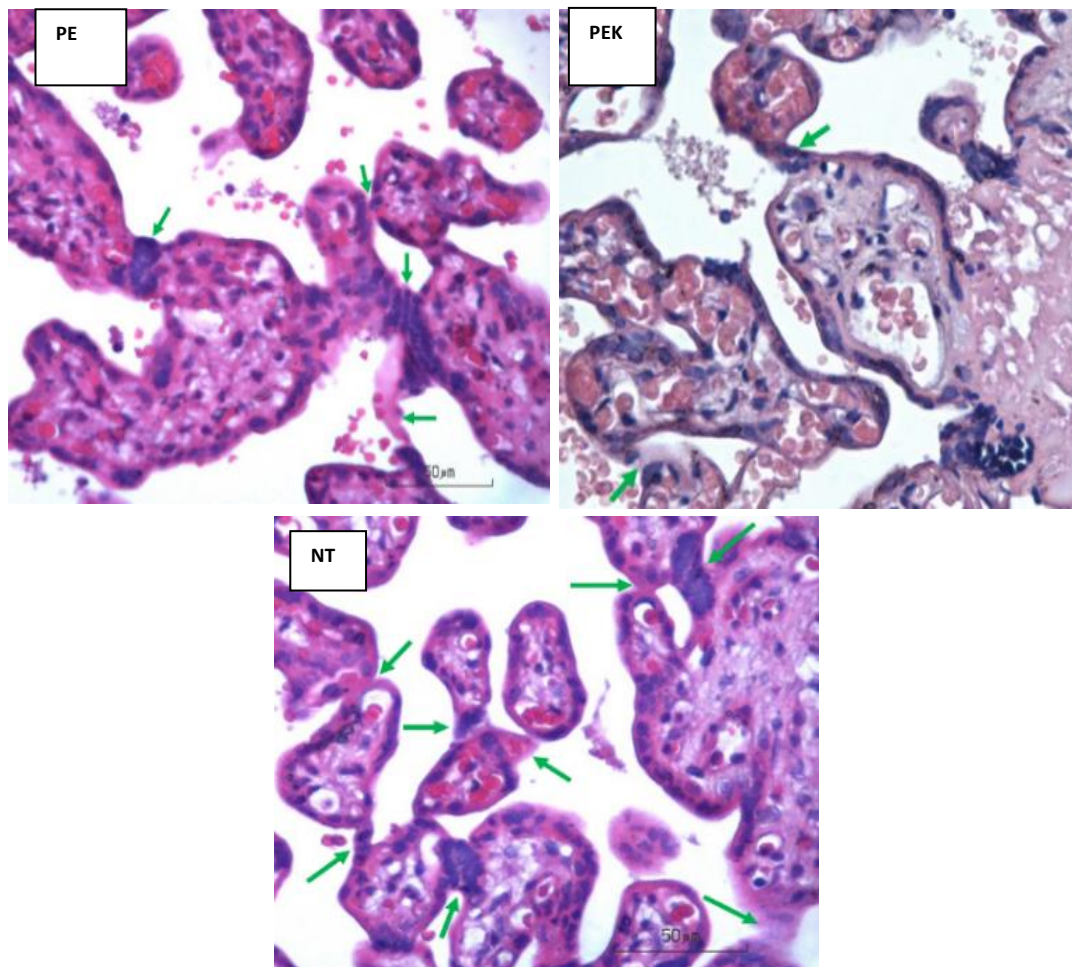
Konsentrasi LDH darah maternal pada kelompok PE ($p < 0,020$) dan PEK ($p < 0,001$) lebih tinggi dibandingkan NT. Konsentrasi LDH darah maternal pada kelompok PEK ($p = 0,001$) lebih tinggi dibandingkan kelompok PE. Konsentrasi vitamin 1,25(OH)₂D₃ darah maternal pada kelompok PE ($p = 0,119$) dan PEK ($p = 0,002$) lebih rendah dibandingkan NT. Konsentrasi vitamin 1,25(OH)₂D₃ darah maternal pada kelompok PEK ($p = 0,035$) lebih rendah dibandingkan kelompok PE. Parameter laboratorium lainnya (sel Treg darah maternal, LDH dan vitamin 1,25(OH)₂D₃ plasenta, seng darah maternal dan plasenta) tidak berbeda bermakna antara ketiga kelompok (Tabel 4.2.).

Perbedaan jumlah sel Treg plasenta dengan pewarnaan IHK dan syncytial bridge plasenta dengan pewarnaan HE pada ketiga kelompok terlihat pada Gambar 4.2 dan Gambar 4.3.



Gambar 4.2. Treg Foxp3⁺ Plasenta Pewarnaan IHK pada Ketiga Kelompok.

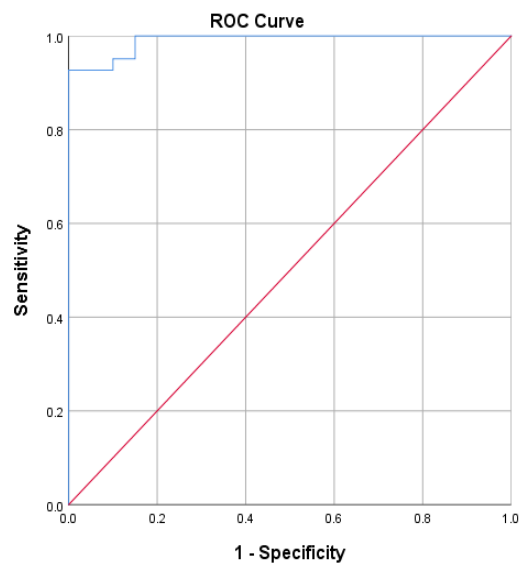
Tanda panah merah (→) menunjukkan Treg Foxp3⁺ plasenta pewarnaan IHK pembesaran 400x. Tampak jumlah Treg Foxp3⁺ plasenta pada NT lebih banyak dibandingkan pada PE dan PEK.



Gambar 4.3. Syncytial bridge Pewarnaan HE pada Ketiga Kelompok

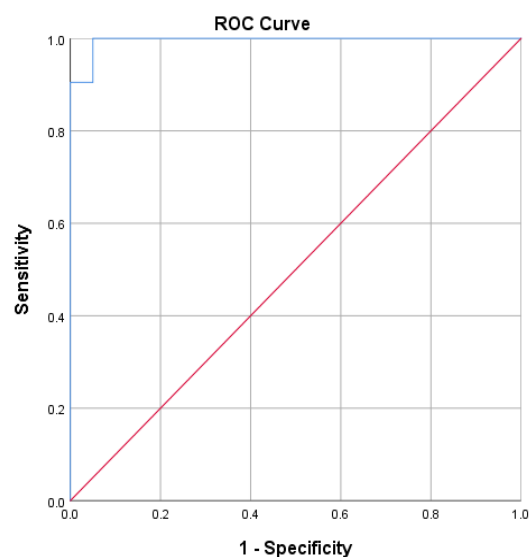
Tanda panah hijau (→) menunjukkan *syncytial bridge* plasenta pewarnaan HE pembesaran 400x. Tampak jumlah *syncytial bridge* pada kelompok NT lebih banyak dibandingkan pada PE dan PEK.

Selanjutnya dicari nilai titik potong jumlah *syncytial bridge* pada kelompok NT, PE dan PEK menggunakan kurva ROC. Didapatkan titik potong kelompok NT dengan PE adalah: $\geq 11,9/\text{lpb}$ dengan sensitivitas 100%, spesifisitas 99,27% dan area di bawah kurva (*Area Under Curve/AUC*): 99% (IK 95% = 97,4–100). Nilai titik potong $\geq 11,9/\text{lpb}$ selanjutnya disebut sebagai kelompok *syncytial bridge* normal (SN) (Gambar 4.4).



Gambar 4.4. Nilai Titik Potong *Syncytial Bridge* Kelompok NT dan PE

Untuk nilai titik potong jumlah *syncytial bridge* antara kelompok PE dan PEK ditetapkan: $< 8,135/\text{lpb}$ dengan sensitivitas 95%, spesifisitas 95% dan area di bawah kurva (*Area Under Curve/AUC*): 99,5% (IK 95% = 98–100) (Gambar 4.5.). Titik potong $< 8,135 / \text{lpb}$ selanjutnya disebut sebagai kelompok *syncytial bridge* sangat rendah (SSR). Berdasarkan perhitungan titik potong di atas maka ditetapkan titik potong untuk $\text{SN} \geq 11,9/\text{lpb}$, $\text{SR} \geq 8,135\text{--}11,89/\text{lpb}$ dan $\text{SSR} < 8,135/\text{lpb}$.



Gambar 4.5. Nilai titik Potong *Syncytial Bridge* kelompok PE dan PEK

4.3 Jumlah Sel Treg, Konsentrasi LDH, Vitamin 1,25(OH)₂D₃, Seng Darah Maternal dan Plasenta pada Kelompok *Syncytial Bridge* Normal (SN), *Syncytial Bridge* Rendah (SR), dan *Syncytial Bridge* Sangat Rendah(SSR)

Jumlah sel Treg plasenta pada kelompok SSR ($p = 0,006$) dan SR ($p = 0,010$) lebih rendah secara bermakna dibanding SN. Konsentrasi LDH darah maternal pada kelompok SSR lebih tinggi dibandingkan SR ($p = 0,001$) dan SN ($p = 0,001$). Konsentrasi vitamin 1,25(OH)₂D₃ darah maternal pada kelompok SSR lebih rendah dibandingkan SR ($p = 0,001$) dan SN ($p < 0,001$). Parameter laboratorium lainnya (sel Treg darah maternal, LDH plasenta, vitamin 1,25(OH)₂D₃ plasenta, seng darah maternal/plasenta) tidak berbeda bermakna antara ketiga kelompok (Tabel 4.3.).

Tabel 4.3. Jumlah Sel Treg, Konsentrasi LDH, Vitamin 1,25(OH)₂D₃, Seng Darah Maternal dan Plasenta pada Kelompok SN, SR, dan SSR

Parameter Laboratorium	SN ($\geq 11,9$) (n = 23)	SR (8,13–11,89) (n = 18)	SSR (< 8,13) (n = 20)
Treg			
Darah Maternal, sel/ μ L ^a	13,47 (SB 6,22)	13,19 (SB 8,67)	10,35 (SB 6,07)
Plasenta, sel/LPB ^a	3,87 (SB 1,37)	3,09 (SB 1,67)*	2,86 (SB 1,47)*
LDH			
Darah Maternal, U/L ^b	168 (124–234)	213 (149–311)	318 (127–1435)*, **
Plasenta, ng/g ^a	30,85 (SB 14,37)	34,26 (SB 12,71)	37,91 (SB 17,14)
1,25(OH)₂D₃			
Darah Maternal, pg/mL ^b	58,10 (32,2–88,1)	53,85 (23,8–118,9)	39 (12,3–71,4)*, **
Plasenta, pg/g ^a	2,01 (SB 0,86)	2,65 (SB 1,27)	2,45 (SB 1,24)
Seng			
Darah Maternal, μ g/dL ^a	56,08 (SB 9,54)	53,22 (SB 6,37)	53,45 (SB 17,07)
Plasenta, μ g/g ^a	69,88 (SB 18,18)	62,93 (SB 17,02)	75,13 (SB 18,83)

^a Data ditampilkan rerata (SB), analisis menggunakan uji t tidak berpasangan.

^b Data ditampilkan median (min – maks), analisis menggunakan uji Mann–Whitney.

* Beda bermakna dengan kelompok SN ($p < 0,05$)

**Beda bermakna dengan kelompok SR ($p < 0,05$)

SN: *syncytial bridge* normal; SR: *syncytial bridge* rendah; SSR: *syncytial bridge* sangat rendah

Berdasarkan Tabel 4.3. dicari nilai titik potong variabel-variabel darah maternal yang bermakna yaitu LDH dan vitamin 1,25(OH)₂D₃. Titik potong konsentrasi LDH dan 1,25(OH)₂D₃ darah maternal kelompok SN dengan SR berturut-turut adalah: $\geq 175,5$ U/L dan $< 56,85$ pg/mL, area di bawah kurva (*Area Under Curve/AUC*): 68,5% dan 65% (nilai diagnostik lemah)

Tabel 4.4. Titik Potong LDH dan 1,25(OH)₂D₃ pada Kelompok SN dan SR

Parameter Laboratorium	AUC (IK 95%)	Titik Potong	Sensitivitas	Spesifisitas
LDH, U/L	0,685 (0,519–0,851)	≥ 175,5	63,2%	46,2%
1,25(OH) ₂ D ₃ , pg/mL	0,650 (0,479–0,821)	< 56,85	63,2%	56,7%

Titik potong LDH darah maternal pada kelompok SN dan SSR adalah ≥ 225 U/L, sedangkan vitamin 1,25(OH)₂D₃ darah maternal adalah < 51,15 pg/mL dengan kekuatan diagnostik sangat baik untuk LDH (AUC: 93%, IK 95%=84,3–100) dan sedang untuk vitamin 1,25(OH)₂D₃ (AUC: 79,2%, IK 95%=64,9–93,5).

Tabel 4.5. Titik Potong LDH dan 1,25(OH)₂D₃ pada Kelompok SN dan SSR

Parameter Laboratorium	AUC (IK 95%)	Titik Potong	Sensitivitas	Spesifisitas
LDH, U/L	0,930 (0,843–1,000)	≥ 225	84,2%	87,0%
1,25(OH) ₂ D ₃ , pg/mL	0,792 (0,649–0,935)	< 51,15	68,4%	73,9%

Nilai titik potong LDH darah maternal pada kelompok SR dan SSR adalah ≥ 237,5 U/L dengan AUC 84,3%, IK 95%=71,7–97 (kekuatan nilai diagnostik baik). Titik potong 1,25(OH)₂D₃ darah maternal adalah < 46,10 pg/mL dengan kekuatan diagnostik lemah (AUC: 65,4%, IK 95%=47,5–83).

Tabel 4.6. Titik Potong LDH dan 1,25(OH)₂D₃ pada Kelompok SR dan SSR

Parameter Laboratorium	AUC (IK 95%)	Titik Potong	Sensitivitas	Spesifisitas
LDH, U/L	0,843 (0,717–0,970)	≥ 237,5	78,9%	73,7%
1,25(OH) ₂ D ₃ , pg/mL	0,654 (0,475–0,830)	< 46,10	52,6%	68,2%

4.4 Hubungan Konsentrasi LDH dan 1,25(OH)₂D₃ Darah Maternal dengan Kelompok Syncytial Bridge

Analisis bivariat dan multivariat konsentrasi LDH dan vitamin 1,25(OH)₂D₃ darah maternal antara kelompok SR-SSR dan SN terlihat pada Tabel 4.7. Pada pembagian 2 kelompok SR-SSR dan SN, peningkatan LDH darah maternal > 237,5 U/L mempunyai risiko 17,2 kali mengalami *syncytial bridge* yang sangat rendah. Hal ini dibuktikan dengan proporsi/kejadian LDH yang tinggi terdapat pada kelompok SR-SRR (95%). Untuk vitamin 1,25(OH)₂D₃ < 46,1 pg/mL juga memengaruhi penurunan *syncytial bridge* dengan risiko 4,3 kali, terbukti dengan proporsi vitamin 1,25(OH)₂D₃ < 46,1 pg/mL didapatkan pada kelompok SR-SSR yaitu 81,8%

Tabel 4.7. Hubungan Konsentrasi LDH dan 1,25(OH)₂D₃ Darah Maternal Kelompok SR-SSR dan SN

Parameter Laboratorium	Syncytial brigde		OR ^a	p	Adjusted OR ^b	p
	SR dan SSR	SN	(IK 95%)		(IK 95%)	
	(n = 38) < 11,9	(n = 23) ≥ 11,9				
LDH						
darah maternal						
≥ 237,5 U/L	19 (95,0)	1(5,0)	22,0*	< 0,001	17,2*	0,010
< 237,5 U/L	19(46,3)	22(53,7)	(2,69–180,10)		(1,97–149,14)	
1,25(OH)₂D₃						
darah maternal						
< 46,10 pg/ml	18(81,8)	4(18,2)	4,3*	0,046	-	
≥ 46,10 pg/mL	20(51,3)	19(48,7)	(1,22–14,95)			

^a Chi Square ^bRegresi Logistik (*P < 0,05)

Pada Tabel 4.8. terlihat konsentrasi LDH dan vitamin 1,25(OH)₂D₃ darah maternal antara kelompok SSR dengan SR, SR dengan SN, SSR dengan SN setelah dilakukan analisis bivariat dan multivariat. Antara kelompok SSR dan SR, LDH > 237,5 U/L mempunyai risiko 28,4 kali untuk mengalami *syncytial bridge* sangat rendah dibuktikan dengan proporsi LDH yang tinggi terdapat pada kelompok SSR sebanyak 84,2%. Vitamin 1,25(OH)₂D₃ terlihat tidak memengaruhi *syncytial bridge* karena analisis bivariat tidak bermakna. Demikian pula antara kelompok SR dan SN tidak ada faktor yang memengaruhi *syncytial bridge*.

Pada kelompok SSR dan SN, LDH > 237,5 U/L mempunyai risiko 97,6 kali untuk mengalami *syncytial bridge* sangat rendah dengan melihat proporsi LDH yang

tinggi terdapat pada kelompok SSR yaitu 94,1%. Vitamin 1,25(OH)₂D₃ juga terlihat tidak memengaruhi *syncytial bridge*.

Tabel 4.8. Hubungan Konsentrasi LDH dan 1,25(OH)₂D₃ Darah Maternal Kelompok SSR-SR, SR-SN, dan SSR-SN

Parameter Laboratorium	Syncytial Bridge										
	SSR (n = 19)	SR (n = 19)	OR ^a (IK 95%)	Adjusted OR ^b (IK 95%)	SR (n = 19)	SN (n = 23)	OR ^a (IK 95%)	SSR (n = 19)	SN (n = 23)	OR ^a (IK 95%)	Adjusted OR ^b (IK 95%)
LDH darah maternal											
≥ 237,5 U/L	16 (84,2)	3 (15,8)	28,44*	28,44*	3 (75,0)	1 (25,0)	4,125	16 (94,1)	1 (5,9)	117,33*	97,59*
< 237,5 U/L	3 (15,8)	16 (84,2)	(4,97– 162,69)	(4,97–162,69)	16 (42,1)	22 (57,9)	(0,392– 43,38)	3 (12,0)	22 (88,0)	(11,16– 1234,01)	(7,39–1289,28)
1,25(OH) ₂ D ₃ darah maternal											
< 46,10 pg/mL	11 (61,1)	7 (38,9)	3,85		7 (63,6)	4 (36,4)	0,361	11 (73,3)	4 (26,7)	0,153	
≥ 46,10 pg/mL	8 (40)	12 (60)	(0,115– 1,562)		12 (38,7)	19 (61,3)	(0,087– 1,501)	8 (29,6)	19 (70,4)	(0,037– 0,628)	

^a Chi Square ^b Regresi Logistik (*P < 0,05)

BAB 5

PEMBAHASAN

5.1 Karakteristik Subjek Penelitian dan Luaran Kehamilan

Pada preeklamsia, usia ibu yang lanjut telah dihubungkan dengan meningkatnya faktor risiko kejadian preeklamsia.¹¹⁸⁻¹²⁰ Penelitian Kumari dkk.¹¹⁸ menyimpulkan ibu hamil dengan usia kurang dari 20 tahun dan lebih dari 35 tahun berisiko lebih tinggi 1,5 kali mengalami preeklamsia dibandingkan kelompok usia 20–35 tahun. Pada penelitian ini, usia ibu hamil kelompok normotensi dan kelompok preeklamsia berada pada rentang usia yang sama disebabkan pengambilan sampel dilakukan secara *consecutive* berdasarkan kriteria penerimaan penelitian dan tidak dikelompokkan berdasarkan perbedaan usia.

Beberapa studi melaporkan bahwa wanita nulipara mempunyai risiko 4–6% lebih mudah mengalami preeklamsia dibandingkan wanita multipara yang hanya sekitar 2%.^{121, 122} Nulipara sangat mungkin menjadi faktor yang mendasari lebih tingginya angka kejadian preeklamsia pada kelompok ibu hamil usia muda. Penelitian Saftlas dkk.¹²³ menyatakan bahwa pajanan antigen paternal cairan seminal untuk waktu yang lama akan menginduksi toleransi ibu terhadap janin dan memfasilitasi keberhasilan implantasi dan plasentasi sehingga risiko preeklamsia menurun secara bermakna dengan meningkatnya pajanan antigen paternal melalui mukosa vagina. Pajanan antigen paternal dapat memfasilitasi toleransi imun maternal. Wanita nulipara diharapkan dapat mengurangi penggunaan metode kontrasepsi penghalang dan meningkatkan hubungan seksual pervaginal sebelum hamil sehingga mengurangi risiko preeklamsia. Redman⁷ mengatakan bahwa pada kehamilan berikutnya terbentuk mekanisme imunologi protektif terhadap antigen paternal yang tidak terjadi pada kehamilan pertama.

Kenaikan berat badan berlebih selama kehamilan dan IMT lebih dari normal pada awal kehamilan diketahui sebagai faktor risiko preeklamsia. Keduanya meningkatkan stres oksidatif dan merangsang respons inflamasi sistemik yang mempermudah terjadinya kerusakan sel endotel vaskular.¹²⁴ Hormon leptin yang meningkat pada individu dengan obesitas berhubungan dengan peningkatan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6 akibat aktivasi *human peripheral blood mononuclear cells* (PBMC). TNF- α mengaktifasi NADPH-oksidase sehingga terbentuk ROS yang menyebabkan

kerusakan endotel.¹²⁵ Beberapa studi dengan populasi berbeda secara konsisten melaporkan hubungan antara IMT yang tinggi dan kenaikan berat badan yang berlebih selama kehamilan dengan kejadian preeklamsia.¹²⁶⁻¹²⁹

Pada penelitian ini usia kehamilan saat terjadi preeklamsia yaitu 34 minggu pada kelompok PEK dan 37 minggu pada kelompok PE. Menilik pada beratnya gejala klinis dan waktu timbulnya komplikasi pada ibu, kelompok PEK mempunyai kesamaan dengan preeklamsia awitan dini yang juga mempunyai luaran maternal dan perinatal yang lebih buruk.^{130, 131} Pada penelitian ini juga didapatkan tekanan darah sistolik dan diastolik yang lebih tinggi pada kelompok PEK dibanding kelompok PE seperti yang telah dilaporkan sebelumnya.¹³²

Berat badan bayi baru lahir pada kelompok PEK lebih rendah dibanding kelompok PE. Berat plasenta juga makin berkurang pada kelompok preeklamsia dibandingkan kelompok normotensi (Tabel 4.1.). Hal tersebut sejalan dengan penelitian Detty dkk.¹³³ yang menyatakan bahwa rerata berat badan bayi baru lahir lebih rendah pada kelompok preeklamsia. Telah diketahui sebelumnya bahwa selama kehamilan plasenta mengalami perubahan struktur. Adanya masalah pada kesehatan ibu hamil dapat mengubah struktur makroskopis maupun mikroskopis plasenta.¹³⁴ Raghavendra dkk.¹³⁵ menyatakan secara makroskopis tampak diameter dan ketebalan yang berkurang disertai jumlah kotiledon yang menurun pada plasenta ibu hamil penderita preeklamsia. Keadaan tersebut disebabkan adanya proses patologis yang menghasilkan lingkungan iskemik dan mengintervensi perkembangan plasenta^{136, 137} serta dapat berujung pada gangguan pertumbuhan janin.¹³⁸

5.2 Jumlah *Syncytial Bridge*, Sel Treg, Konsentrasi LDH, Vitamin 1,25(OH)₂D₃, Seng Darah Maternal dan Plasenta pada Kelompok NT, PE, dan PEK

5.2.1 Penurunan Jumlah *Syncytial Bridge* pada Kelompok Preeklamsia

Pada penelitian ini ditemukan perbedaan bermakna jumlah *syncytial bridge* antara kelompok normotensi dan kelompok preeklamsia. Jumlah *syncytial bridge* kelompok PEK paling rendah dibanding dua kelompok lainnya (Tabel 4.2.). Hasil ini sejalan dengan penelitian Calvert dkk.¹⁷ yang mendapatkan penurunan jumlah *syncytial bridge* pada kelompok preeklamsia. Ia menyimpulkan bahwa *syncytial bridge* berfungsi menstabilkan plasenta dan berkontribusi menyamakan tekanan aliran darah di antara vili.

Syncytial bridge merupakan struktur berbentuk kumpulan nukleus di lapisan sinsitiotrofoblas yang menghubungkan vili-vili berdekatan.¹³ Terbentuknya *syncytial bridge* disebabkan adanya bentukan *syncytial sprout* yang berasal dari proliferasi sel trofoblas. Selain itu, adanya molekul adhesi seperti integrin dan *cadherin* pada daerah membran vili juga cenderung memfasilitasi terjadinya proses fusi kumpulan nukleus tersebut.¹⁴ Jones dkk.¹⁸ menyatakan bahwa struktur *syncytial bridge* yang dibentuk oleh *syncytial sprout* akan menghasilkan sistem penyangga dan memperkuat struktur plasenta. Pembentukannya merupakan suatu upaya plasenta untuk mempertahankan dan melindungi vili dari keadaan stres oksidatif maupun stres mekanik.

Pada preeklamsia, iskemia plasenta yang disebabkan invasi trofoblas abnormal mengakibatkan terbentuknya ROS, ketidakseimbangan sitokin inflamasi yang ditandai dengan peningkatan sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, IL-17, dan menurunnya regulasi sel imun. Inflamasi plasenta yang terjadi dapat menyebabkan kerusakan bahkan kematian sel trofoblas,¹³⁹ sehingga pembentukan *syncytial bridge* yang merupakan hasil proliferasi trofoblas akan menurun. Selain itu, tekanan aliran darah yang tinggi akibat vasokonstriksi A. spiralis pada ruang intervili dapat menyebabkan kerusakan *syncytial bridge*. Vasokonstriksi A. spiralis juga menyebabkan aliran darah maternal berkurang sehingga sel-sel trofoblas mengalami nekrosis akibat iskemia plasenta yang makin berat. Debris trofoblas nekrotik yang terbentuk akan dideportasi ke sirkulasi maternal, mengaktifasi sel endotel vaskular, mengakibatkan disfungsi endotel yang ditandai dengan peningkatan molekul adhesi dan permeabilitas sel endotel.¹³

Penelitian Burton⁶⁴ menggunakan mikroskop elektron mengonfirmasi “*true syncytial bridges*” yang dapat terlihat sebagai struktur bentuk silindris dengan banyak nukleus padat yang bertumpuk atau struktur *syncytioplasm* yang tipis tanpa nukleus.¹⁹ Pada penelitian ini, pemeriksaan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali dengan pewarnaan HE. Penggunaan mikroskop elektron memang dapat melihat struktur nukleus dan organel sel dengan lebih terperinci, tetapi mikroskop cahaya tetap dapat memberikan gambaran jelas struktur kumpulan nukleus yang menghubungkan vili-vili sesuai definisi tentang *syncytial bridge*, dengan hasil didapatkan penurunan jumlah *syncytial bridge* pada preeklamsia.

5.2.2 Penurunan Jumlah Sel Treg Foxp3⁺ Plasenta Kelompok Preeklamsia

Sel Treg merupakan komponen penting untuk mempertahankan kehamilan karena aktivitas immunosupresif.²⁶ Sel ini meregulasi sistem imun agar toleran terhadap janin yang bersifat semi-alogenik. Dalam melakukan fungsinya, sel Treg memerlukan ekspresi gen Foxp3 yang digunakan sebagai penanda dalam setiap pemeriksaan.^{24, 87} Kehamilan normal berhubungan dengan peningkatan jumlah sel Treg, sebaliknya jumlah yang rendah ditemukan pada kehamilan dengan komplikasi seperti preeklamsia, baik di darah maternal maupun plasenta.¹⁴⁰ Berdasarkan hasil analisis Somerset dkk.¹⁴¹ bahwa ditemukan Treg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ pada daerah basal membran dan desidua sejak trimester pertama, menunjukkan usaha untuk menginduksi dan mempertahankan toleransi imun maternal terhadap janin yang sudah terjadi sejak awal kehamilan.

Pada pemeriksaan jaringan plasenta dengan pewarnaan IHK terlihat penurunan jumlah sel Treg Foxp3⁺ pada kelompok preeklamsia dibanding kelompok kontrol dengan nilai $p = 0,015$ (Tabel 4.2.). Penelitian Sasaki dkk.¹⁴² yang memeriksa sel Treg pada jaringan plasenta menyatakan bahwa persentase sel Treg Foxp3⁺ lebih rendah secara bermakna pada kelompok preeklamsia dibandingkan kelompok kehamilan normal. Demikian pula penelitian Chen dkk.²⁴ mendapatkan ekspresi gen Foxp3 di plasenta lebih rendah pada pasien preeklamsia. Ia menyimpulkan bahwa ekspresi gen Foxp3 pada plasenta terlibat dalam mekanisme toleransi imun maternal terhadap antigen janin. Tilburg dkk.¹⁴³ menemukan bahwa pada kehamilan normal, sel Treg lebih banyak pada daerah desidua plasenta dibanding darah perifer. Jumlah sel Treg desidua berkorelasi dengan derajat ketidakcocokan HLA. Sel Treg secara spesifik mengenali HLA-C fetus pada daerah *maternal-fetal interface* dan mencegah respons imun destruktif. Hal tersebut menandakan sel Treg bekerja lokal di jaringan untuk memfasilitasi penerimaan plasenta oleh sistem imun maternal. Tidak terdapatnya perbedaan bermakna sel Treg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ di darah maternal pada penelitian ini mungkin disebabkan sel tersebut bekerja berdasarkan target jaringan. Aktivitasnya diregulasi oleh sitokin-sitokin anti-inflamasi di timus dan jaringan untuk mempertahankan autotoleransi jaringan.¹⁴⁴

Pada penelitian ini, penurunan jumlah sel Treg pada kelompok PE dan PEK hampir tidak berbeda. Studi Cornelius¹⁴⁵ dengan menggunakan model *reduced uterine perfusion pressure* (RUPP) pada mencit menyimpulkan bahwa inflamasi yang

terjadi akibat iskemia plasenta mengganggu imunoregulasi, ditandai dengan penurunan jumlah sel Treg. Sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α dan IL-6 menurunkan ekspresi Foxp3 dan fungsi supresi sel Treg dengan cara menginduksi protein *phosphatase1* dan menurunkan fosforilasi protein Ser418 dari Foxp3. Selain itu, sitokin pro-inflamasi dan *Caspase 8 - mediated pathway* juga meningkatkan degradasi Foxp3.¹⁴⁶ Sel Treg memfasilitasi terjadinya perbaikan dan remodeling jaringan dengan cara menurunkan inflamasi dan meregulasi sel-sel imun. Penurunan jumlah sel Treg dapat meningkatkan apoptosis sel trofoblas dan menyebabkan invasi sel trofoblas yang dangkal pada daerah desidua.¹⁴⁷ Beberapa studi menyimpulkan bahwa sel Treg bekerja di daerah *maternal-fetal interface* meningkatkan toleransi maternal terhadap janin/plasenta, menurunkan inflamasi dan memfasilitasi remodeling jaringan.

Pada penelitian ini tidak terlihat perbedaan bermakna jumlah sel Treg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ darah maternal antara kelompok normotensi dan preeklamsia. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Prins dkk.²⁷ yang menyatakan bahwa terdapat penurunan jumlah sel Treg darah maternal pada kelompok preeklamsia dibandingkan kelompok kontrol walaupun tidak bermakna. Penurunan jumlah sel Treg berhubungan dengan tingkat keparahan preeklamsia dan beratnya proses inflamasi. Hal tersebut terlihat dengan peningkatan produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-6, IL-17 yang sejalan dengan penurunan jumlah sel Treg di sirkulasi maternal.¹³⁹ Walaupun demikian beberapa studi menyatakan bahwa sel Treg lebih dominan bekerja pada jaringan terdampak.^{145, 147, 148}

5.2.3 Peningkatan Konsentrasi Laktat Dehidrogenase Darah Maternal pada Kelompok Preeklamsia

LDH adalah enzim intraselular yang terdapat dalam setiap sel dan berfungsi mempertahankan homeostasis energi karena ikut berperan dalam metabolisme glukosa.⁷⁵ Pada saat suatu sel rusak karena sebab tertentu, sel akan membengkak dan membran sel akan kehilangan integritasnya sehingga organel intraselular termasuk enzim LDH akan keluar ke ruang ekstraselular. Munculnya enzim ini dalam darah menjadi salah satu petanda adanya nekrosis sel.²⁰ Pada preeklamsia, iskemia plasenta akibat vasokonstriksi A. spiralis mempermudah terjadinya kerusakan atau kematian sel yang diikuti dengan peningkatan konsentrasi LDH.⁷⁵

Konsentrasi LDH darah maternal kelompok PEK dan PE pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol dengan nilai $p < 0,001$ Tabel (4.2.). Nilai rujukan normal konsentrasi LDH ditetapkan pada rentang 125–220 U/L. Walaupun rerata konsentrasi LDH pada kelompok PE masih dalam rentang nilai normal tetapi tetap lebih tinggi dari kelompok NT. Hasil konsentrasi LDH pada darah maternal tampak sejalan dengan hasil penelitian Jaiswar dkk.²¹ bahwa konsentrasi LDH meningkat bermakna pada PEK. Beberapa penelitian menyatakan tingginya konsentrasi LDH darah juga berhubungan dengan pertumbuhan janin terhambat, mortalitas perinatal dan morbiditas maternal.^{21, 75, 149, 150} LDH juga meningkat konsentrasinya pada keadaan stress oksidatif. Adanya peningkatan ROS mengganggu integritas membran sel dan meningkatkan aktivitas LDH ekstraseluler.

Konsentrasi LDH plasenta tidak berbeda bermakna antar ketiga kelompok, walaupun tampak konsentrasi pada kelompok preeklamsia cenderung lebih tinggi dibandingkan kelompok normotensi. Hal ini dapat diterangkan berdasarkan studi Tsoi dkk.¹⁵¹ yang menyatakan bahwa keadaan hipoksia akan menginduksi ekspresi protein *hypoxia inducible transcription factor* (HIF-1 α) serta meningkatkan konsentrasi dan aktivitas enzim LDH di sel trofoblas. Aktivitas LDH yang meningkat pada sel-sel trofoblas yang masih utuh, yang jumlahnya sudah sangat menurun pada preeklamsia, dibandingkan dengan kelompok normotensi dengan jumlah sel sehat jauh lebih banyak tetapi dengan konsentrasi dan aktivitas enzim yang normal. Meskipun terjadi peningkatan ekspresi LDH intraselular pada preeklamsia akan tetapi tidak cukup tinggi untuk menimbulkan kemaknaan antar ketiga kelompok. Selain itu, LDH yang terbentuk dari jaringan plasenta pada penelitian ini juga tidak dapat sepenuhnya digunakan sebagai penanda nekrosis jaringan karena proses preparasi homogenat melepaskan LDH intraselular ke dalam larutan homogenat sehingga dapat merancukan hasil pengukuran konsentrasi LDH yang terbentuk akibat preeklamsia. Peningkatan ekspresi LDH intrasel pada preeklamsia disertai dengan peningkatan sel yang mengalami nekrosis akan makin meningkatkan kadar LDH di sirkulasi maternal.

5.2.4 Penurunan Konsentrasi Vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ Darah Maternal pada Kelompok Preeklamsia

Pada penelitian ini didapatkan konsentrasi vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ darah maternal kelompok PEK paling rendah dibandingkan kelompok normotensi dan kelompok PE dengan nilai $p = 0,002$ (Tabel 4.2.). Hal tersebut sejalan dengan penelitian Halhali dkk.¹⁵² dengan konsentrasi vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pada kelompok preeklamsia dibanding kelompok normotensi adalah 43 (SB 9 pg/mL) versus 50 (SB 9 pg/mL), $p < 0,001$. Tamblyn dkk.¹⁵³ juga mendapatkan penurunan konsentrasi vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pada darah maternal kelompok preeklamsia dibanding kelompok kehamilan normotensi.

Absorpsi kalsium melalui usus yang meningkat selama kehamilan memerlukan $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ di dalam prosesnya. Hal tersebut menyebabkan $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ diproduksi lebih banyak dan menjadi salah satu penyebab tingginya konsentrasi $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ di darah maternal pada kehamilan normal.¹⁵⁴ Adanya aktivitas enzim *1 α -hydroxylase* di plasenta juga makin meningkatkan sintesis metabolit aktif vitamin D yang biasanya dominan hanya terjadi di ginjal.¹⁵² Vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dalam melakukan fungsinya akan berikatan dengan *vitamin D receptor* (VDR) yang terekspresi di banyak sel seperti sel imun, sel β -pankreas, sel otak, termasuk sel endotel vaskular. Kerusakan endotel vaskular secara sistemik akan menurunkan VDR, berakibat berkurangnya fungsi $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Selain itu, pemberian TNF- α dan IL-6 akan menurunkan aktivitas enzim CYP27B1 sehingga menurunkan konsentrasi dan mengganggu fungsi $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.¹⁵⁵ Hal tersebut akan makin diperburuk dengan adanya defisiensi vitamin D maternal saat kehamilan. Wibowo dkk. melakukan studi pada 124 perempuan hamil di Jakarta dengan hasil sebanyak 99% subjek mengalami defisiensi vitamin D pada trimester 1.¹⁵⁶

Pada penelitian ini, konsentrasi vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ jaringan plasenta pada kelompok PE lebih tinggi dibanding kelompok normotensi dan kelompok PEK. Berbeda dengan studi Tamblyn dkk.¹⁵³ yang memeriksa vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ plasenta, didapatkan hasil yang rendah pada kelompok preeklamsia, demikian pula penelitian Diaz dkk.¹⁵⁷ Perbedaan ini mungkin disebabkan pembagian kelompok sampel penelitian yang berbeda pada beberapa penelitian tersebut. Adanya peningkatan konsentrasi vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ jaringan plasenta pada kelompok PE

diterangkan berdasarkan studi Ma dkk.¹⁵⁸ yang menyatakan bahwa keadaan hipoksia dan stres oksidatif meningkatkan ekspresi enzim 1α -hidroksilase di sel trofoblas. Hal tersebut yang kemungkinan menjadi penyebab tingginya konsentrasi vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pada tahap awal inflamasi. Pembentukan vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ diperlukan untuk menurunkan ROS pada jaringan plasenta. Jika inflamasi tidak terbandung maka subjek akan jatuh pada keadaan PEK, kerusakan struktur trofoblas dan vili yang makin masif menyebabkan ekspresi komponen metabolit vitamin D pada kedua struktur tersebut berkurang sehingga produksi vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mulai menurun. Hal tersebut juga menyebabkan konsentrasi vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ yang bersirkulasi di darah maternal cenderung rendah akibat gangguan homeostasis metabolisme vitamin D pada plasenta preeklamsia.

5.2.5 Konsentrasi Seng di Darah Maternal dan Plasenta

Konsentrasi seng darah maternal dua kelompok preeklamsia lebih rendah dari pada kelompok kontrol, walaupun tidak ditemukan perbedaan bermakna antara ketiga kelompok. Beberapa penelitian yang membandingkan kelompok normotensi dan preeklamsia juga mendapatkan hasil tidak adanya perbedaan bermakna antara kelompok dengan hasil konsentrasi seng serum yang lebih rendah pada kelompok preeklamsia.³⁹⁻⁴¹ Walau demikian terdapat pula hasil penelitian yang menyatakan bahwa konsentrasi seng serum lebih tinggi pada preeklamsia.^{159, 160} Meta analisis yang dilakukan oleh Ma dkk.¹⁶¹ dengan mengikutsertakan 17 artikel membuat simpulan bahwa konsentrasi seng serum pada preeklamsia rendah secara bermakna dibanding kelompok kontrol.

Seng merupakan mikronutrien yang dibutuhkan untuk sebagian besar proses selular.^{38, 162, 163} Karena semua sel memerlukan seng dalam proses metabolismenya, maka konsekuensi defisiensi nutrisi ini sangat beragam dan non-spesifik. Beberapa di antaranya berhubungan dengan gangguan sistem imun, peningkatan sitokin proinflamasi dan stres oksidatif seperti yang terjadi pada preeklamsia.^{163, 164} Beberapa hal yang dapat menyebabkan rendahnya konsentrasi seng darah maternal kelompok preeklamsia pada penelitian ini adalah defisiensi seng yang mungkin sudah terjadi sejak awal kehamilan dan tidak mendapatkan suplementasi secara optimal. Diketahui sekitar 82% ibu hamil di seluruh dunia kekurangan asupan seng

dalam diet hariannya.¹⁶⁵ Keadaan hipoalbumin dan menurunnya afinitas albumin terhadap seng pada kehamilan juga dapat menurunkan konsentrasi seng.¹⁶⁶ Adanya gangguan peran transporter ZnT (SLC-30) dan ZIP (SLC-39) dalam menjaga homeostasis konsentrasi seng di sel dan sirkulasi juga dapat menjadi penyebab menurunnya konsentrasi seng darah maternal.¹¹⁰

Telah diketahui sebelumnya bahwa faktor defisiensi beberapa nutrisi berperan dalam kejadian preeklamsia. Walau demikian, mekanisme transport nutrisi tersebut belum sepenuhnya diketahui. Pada penelitian ini, tidak didapatkan perbedaan bermakna konsentrasi seng pada kelompok preeklamsia dan normotensi, tetapi tampak konsentrasi seng yang lebih tinggi pada kelompok PEK dibanding dengan kelompok PE dan normotensi. Plasenta secara anatomi memiliki struktur di lapisan trofoblas yang meregulasi pertukaran substrat dari sirkulasi maternal sampai ke janin.¹⁶⁷ Untuk seng, transporter ZnT dan ZIP yang berperan meregulasi homeostasis seng bekerja memelihara konsentrasi seng di sel dan serum. Ekspresi transporter ini spesifik untuk setiap sel dan jaringan serta memiliki respons berbeda terhadap stimulus sitokin dan juga asupan seng.¹⁰⁹ Pada preeklamsia, iskemia plasenta menyebabkan pembentukan sitokin proinflamasi dan ROS yang meningkat. Seng sebagai substrat yang mempunyai fungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi akan banyak dimobilisasi ke jaringan plasenta.⁴² Hal tersebut yang mungkin menyebabkan konsentrasi seng lebih tinggi pada kelompok PEK. Mekanisme kompensasi juga sangat mungkin terjadi untuk mempertahankan fungsi jaringan plasenta. Fungsi seng dalam menjaga integritas membran sel diperlukan mengingat tingginya proses nekrosis sel yang terjadi pada preeklamsia.

Penelitian Vargas dkk.¹⁶⁸ menyatakan bahwa kapasitas penyerapan seng pada plasenta manusia dipengaruhi oleh usia gestasi dan rendahnya kadar seng serum. Pada kehamilan aterm, penyerapan seng plasenta menurun dibandingkan kehamilan preterm. Hal tersebut kemungkinan menyebabkan konsentrasi seng pada kelompok PE rendah karena subjek kelompok ini memiliki usia gestasi mendekati aterm, sehingga kemampuan plasenta untuk melakukan ambilan seng dari sirkulasi memang sudah menurun.

5.3 Jumlah Sel Treg, Konsentrasi LDH, Vitamin 1,25(OH)₂D₃, Seng Darah Maternal dan Plasenta pada Kelompok *Syncytial Bridge* Normal, *Syncytial Bridge* Rendah, dan *Syncytial Bridge* Sangat Rendah

Pada penelitian ini dibuat pembagian kelompok berdasarkan jumlah *syncytial bridge* dengan mencari titik potong pada kelompok NT, PE dan PEK. Berdasarkan perhitungan tersebut, ditetapkan titik potong kelompok *syncytial bridge*, SN $\geq$ 11,9/lpb, SR 8,13–11,89/lpb, SSR $<$ 8,13/lpb (Tabel 4.3.). Parameter laboratorium yang mempunyai perbedaan bermakna antara kelompok adalah jumlah sel Treg Foxp3 plasenta ($p = 0,008$), konsentrasi LDH darah maternal ($p < 0,001$) dan konsentrasi vitamin 1,25(OH)₂D₃ darah maternal ($p = 0,001$).

Jumlah sel Treg Foxp3 plasenta pada kelompok *syncytial bridge* lebih rendah pada kelompok SR dan SSR dibanding SN, dengan perbedaan bermakna antara kelompok SN dengan gabungan SR dan SSR ($p < 0,05$), namun tidak berbeda bermakna di antara kelompok SR dan SSR.

Sel Treg selain mengontrol respons imun dan menjaga homeostasis imun dengan menghambat reaktivitas sel imun lain, juga mampu mengontrol inflamasi. Sel Treg dapat menyekresi beberapa sitokin anti-inflamasi bersifat immunosupresif seperti TGF- β dan IL-10 untuk mengontrol respons imun dan menginduksi makrofag M2 untuk menjaga regenerasi dan perbaikan jaringan. Sel Treg melalui CD39 dan CD73 mengubah ATP menjadi adenosin, mengaktifasi reseptor adenosin A2A dan protein kinase A (PKA) intraselular melalui *second messenger* cAMP untuk menghambat inflamasi. Sel Treg juga meningkatkan ekspresiIDO pada sel dendritik melalui signaling CTLA-4 untuk menghasilkan iTreg. Selain itu, Treg dapat menginduksi sel target untuk mengekspresikan enzim *heme oxygenase 1* (HO-1) untuk mendegradasi heme, yang diketahui berperan sebagai mediator pro-inflamasi melalui aktivasi TLR-4. Bahkan hasil degradasi heme seperti besi dan biliverdin mempunyai efek sitoprotektif dan anti-inflamasi yang melindungi sel endotel dan menunjang proses angiogenesis.¹⁶⁹

Pada penelitian ini, jumlah sel Treg Foxp3⁺ yang rendah terdapat pada kelompok SR dan SSR. Rendahnya sel Treg Foxp3⁺ menyebabkan *syncytial bridge* menurun akibat inflamasi dan berkurangnya kemampuan perbaikan jaringan yang rusak akibat stres mekanik. Inflamasi juga menurunkan ekspresi Foxp3 dan fungsi

supresif sel Treg, meningkatkan pembentukan ROS¹⁷⁰ sehingga memperburuk kerusakan sel-sel trofoblas.

Konsentrasi LDH darah maternal tertinggi pada kelompok SSR. Terdapat perbedaan bermakna konsentrasi LDH di antara kelompok SN dan SSR ($p < 0,001$), serta kelompok SR dan SSR ($p < 0,001$). Konsentrasi LDH di plasenta tampak lebih tinggi pada kelompok SSR dibanding SR dan SN namun tidak menunjukkan perbedaan bermakna.

Pada preeklamsia, hubungan antara invasi trofoblas abnormal dan disfungsi endotel maternal salah satunya melalui lepasnya debris plasenta (SNA) nekrotik dan faktor-faktor antiangiogenik. Faktor-faktor tersebut akan berinteraksi dengan endotel vaskular maternal menimbulkan disfungsi endotel yang dibuktikan dengan meningkatnya biomarker aktivasi endotel dan kerusakan sel.¹⁷¹ Kerusakan sel trofoblas akibat iskemia plasenta menyebabkan kerusakan struktur *syncytial bridge*. Destruksi sel trofoblas tersebut menyebabkan LDH dilepaskan ke jaringan sekitar dan sirkulasi maternal.¹⁷² Peningkatan konsentrasi LDH darah maternal dapat dipakai untuk memberikan gambaran kerusakan jaringan, dalam hal tersebut plasenta yang ditunjukkan dengan menurunnya jumlah *syncytial bridge* sehingga dapat digunakan sebagai penanda dalam pengambilan keputusan klinis untuk mencegah morbiditas fetomaternal lebih lanjut. Penelitian Kay dkk.¹⁷³ menyatakan bahwa keadaan hipoksia plasenta menginduksi aktivitas protein HIF-1 α di sel trofoblas dan meningkatkan transkripsi dan aktivitas LDH, terlihat dengan meningkatnya konsentrasi enzim ini di plasenta maupun darah pasien preeklamsia.

Konsentrasi vitamin 1,25(OH)₂D₃ darah maternal yang terendah terdapat pada kelompok SSR. Terdapat perbedaan bermakna pada dua pasang kelompok yaitu SN dan SSR ($p < 0,01$) serta SR dan SSR ($p < 0,01$). Tidak didapatkan perbedaan bermakna konsentrasi vitamin 1,25(OH)₂D₃ di plasenta.

Vitamin D telah diketahui mempunyai peran dalam perkembangan plasenta pada awal kehamilan melalui efeknya terhadap implantasi dan invasi trofoblas. Bentuk aktif vitamin D, 1,25(OH)₂D₃ di desidua, memengaruhi implantasi secara tidak langsung melalui regulasi sel-sel imun seperti sel NK, sel dendritik, makrofag dan sel T, serta inhibisi sitokin Th1. Perannya pada proses invasi trofoblas terlihat

dengan adanya ekspresi CYP27B1 dan VDR pada desidua, sitotrofoblas dan *extravillous trophoblast* (EVT).¹⁰⁸ Isolasi EVT trimester pertama memperlihatkan 25(OH)D dan 1,25(OH)₂D₃ secara tidak langsung menyupresi MMP melalui peningkatan ekspresi *tissue inhibitor of metalloproteinase-1* (TIMP-1) yang meningkatkan efek invasi EVT. Vitamin 1,25(OH)₂D₃ menstimulasi ekspresi dan sekresi hCG, regulator motilitas dan invasi trofoblas, melalui *cAMP/PKA-mediated signaling pathway*. Hipoksia plasenta akibat implantasi plasenta abnormal meningkatkan inflamasi, menurunkan ekspresi CYP27B1 dan VDR pada sel-sel plasenta diikuti dengan penurunan konsentrasi vitamin 1,25(OH)₂D₃ di plasenta.¹⁰⁸

Sebagai anti-inflamasi, 1,25(OH)₂D₃ menstimulasi pembentukan sel Th2 dengan meningkatkan sintesis IL-4, serta menurunkan ekspresi IL-17 dan interferon gamma (IFN- γ). Vitamin ini menurunkan proliferasi sel CD8⁺ yang menghasilkan sitokin pro-inflamasi seperti IL-6, IL-12, *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α). Secara langsung, 1,25(OH)₂D₃ juga meningkatkan kemampuan sel Treg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ untuk menyupresi respons imun dan memediasi toleransi imun dengan menyekresikan IL-10 untuk menurunkan inflamasi.^{174, 175} Defisiensi vitamin D sejak awal kehamilan terlihat menjadi salah satu pemicu terjadinya inflamasi pada plasenta, dimulai dari turut sertanya pada kejadian invasi trofoblas abnormal dan menurunkan kemampuan sel Treg sebagai imunomodulator dan antiinflamasi.

Konsentrasi vitamin 1,25(OH)₂D₃ darah maternal terendah pada kelompok SSR menunjukkan bahwa rendahnya konsentrasi 1,25(OH)₂D₃ sejalan dengan makin buruknya gambaran mikroskopis plasenta dan gejala klinis yang makin berat. Vitamin 1,25(OH)₂D₃ membantu mempertahankan homeostasis energi di dalam sel dengan mempertahankan fungsi mitokondria, mengontrol proses oksidasi dan reduksi. Hilangnya kontrol terhadap proses ini mengganggu proliferasi sel, mempercepat kerusakan dan kematian sel.¹⁷⁶ *Peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1* (PGC-1) berikatan dengan *mitochondrial deacetylase* (SIRT3) dan protein Nrf2 sebagai kompleks yang menurunkan keadaan stress oksidatif. Proses ini tergantung pada konsentrasi vitamin 1,25(OH)₂D₃ intrasel. Saat terjadi interaksi 1,25(OH)₂D₃ dan VDR, protein Nrf2 akan berpindah dari sitoplasma ke nukleus yang mengekspresikan beberapa gen faktor-faktor

antioksidan. Jika aktivitas Nrf2 menurun, risiko kerusakan sel akibat ROS akan meningkat.^{174, 177}

Pada penelitian ini, **konsentrasi seng di darah maternal dan di plasenta** tidak menunjukkan perbedaan bermakna di antara ketiga kelompok *syncytial bridge*. Seng merupakan salah satu mikronutrien yang penting dalam menjaga fungsi dan integritas struktur membran sel, serta berkontribusi pada banyak proses biologis seperti ekspresi gen, sintesis DNA dan kerja enzim.¹⁶³ Proses selular yang juga diregulasi oleh seng adalah proses kematian sel. Pada kehamilan, seng ikut berfungsi sebagai antioksidan,^{42, 164} pembentukan sel-sel imun,¹⁶⁴ dan mencegah kematian sel.³⁴

Sebagai antioksidan, seng bekerja sebagai inhibitor NADPH-oxidase sehingga mencegah pembentukan radikal superoksid. Seng juga bekerja sebagai ko-faktor enzim superoksid dismutase (SOD) yang mengatalisasi radikal superoksid menjadi molekul oksigen serta dapat menginduksi pembentukan protein *metallothionein* yang mengandung sistein dan berperan menjaga homeostasis seng.^{164, 178} Defisiensi seng menurunkan aktivitas *thymulin* yang berhubungan dengan menurunnya maturasi sel T dan produksi sitokin proinflamasi melalui jalur NF-kB.

Walaupun secara teori seng mempunyai pengaruh terhadap proses regulasi morfologi plasenta melalui peran antioksidan, antiinflamasi dan pencegahan stres oksidatif, tetapi pada penelitian ini tidak tampak perbedaan konsentrasi seng antara tiga kelompok di darah maternal maupun plasenta. Perbedaan hasil tersebut kemungkinan dapat terjadi akibat proses homeostasis seng selular oleh transporter ZnT dan ZIP yang mempunyai respons berbeda terhadap seng yang diperoleh dari asupan dan stimulus yang berasal dari sitokin.¹⁷⁹ Konsentrasi seng di jaringan dan sirkulasi memang diregulasi oleh mekanisme homeostasis yang menjaga konsentrasi seng cenderung konstan meskipun terdapat keadaan patologis. Defisiensi seng yang sudah terjadi sejak awal kehamilan dan tidak tersuplementasi dengan baik, menurunnya konsentrasi albumin sebagai protein transport seng terlihat dapat menyebabkan menurunnya konsentrasi seng pada kehamilan normal. Demikian pula perbedaan metode pemeriksaan seng dan sampel penelitian memberi variasi terhadap hasil penelitian.

5.4 Hubungan Konsentrasi LDH dan Vitamin 1,25(OH)₂D₃ Darah Maternal dengan Kelompok *Syncytial Bridge*

LDH dan 1,25(OH)₂D₃ darah maternal dianalisis hubungannya dengan kelompok SN, SR dan SSR berdasarkan titik potong jumlah *syncytial bridge*. Pada kelompok SN dan SR-SSR, pasien preeklamsia dengan konsentrasi LDH darah maternal $\geq 237,5$ U/L berisiko 17,2 kali mengalami jumlah *syncytial bridge* yang rendah ($< 11,9$ /lpb). Vitamin 1,25(OH)₂D₃ juga mempunyai peran terhadap penurunan jumlah *syncytial bridge*. Konsentrasi vitamin 1,25(OH)₂D₃ $< 46,10$ pg/mL mempunyai risiko 4,3 kali menyebabkan *syncytial bridge* yang menurun (Tabel 4.7.). Beberapa fungsi vitamin 1,25(OH)₂D₃ seperti meregulasi transkripsi gen yang berhubungan dengan invasi trofoblas, imunomodulator, antiinflamasi tampak menjaga kehamilan berkembang dengan baik. Adanya defisiensi atau gangguan pembentukan vitamin D dapat meningkatkan inflamasi dan menurunkan aktivitas sel-sel imun di daerah *maternal-fetal interface*¹⁰⁸ yang secara tidak langsung memengaruhi pembentukan *syncytial bridge* akibat kerusakan sel trofoblas.

Nekrosis sel trofoblas yang disebabkan inflamasi akan meningkatkan LDH di sirkulasi maternal akibat rusaknya membran sel.¹⁸⁰ LDH diketahui berhubungan dengan tingkat keparahan preeklamsia dan luaran maternal perinatal yang buruk.^{21, 181} Pada penelitian ini didapatkan berat badan bayi lahir rendah dan berat plasenta yang menurun terutama pada kelompok PEK. Berkurangnya ekspresi gen *Foxp3*⁺ pada sel Treg plasenta akan menurunkan fungsi sel Treg dan menyebabkan ketidakseimbangan toleransi imun maternal terhadap janin.²⁸ Menurunnya ekspresi gen *Foxp3*⁺ juga berhubungan dengan proses inflamasi kronik pada pembuluh darah sehingga ibu hamil dengan riwayat preeklamsia mempunyai risiko mengalami penyakit kardiovaskular di kemudian hari.⁹¹

Parameter yang berhubungan dengan jumlah *syncytial bridge* pada kelompok SR dan SSR adalah peningkatan LDH darah maternal yang mempunyai faktor risiko 28,4 kali mendapatkan jumlah *syncytial bridge* yang sangat rendah, yaitu $< 8,13$ /lpb (Tabel 4.8.). Preeklamsia merupakan sindrom yang menyebabkan banyak kerusakan organ. Kemampuan memprediksi perburukan preeklamsia saat ini masih sangat terbatas, sehingga identifikasi ibu hamil yang berisiko, diagnosis dini dan tatalaksana yang tepat diharapkan dapat meningkatkan luaran ibu dan bayi.¹⁸¹ Tingginya

konsentrasi LDH darah maternal dapat menggambarkan kerusakan *syncytial bridge* yang menandakan berkurangnya kemampuan plasenta menahan inflamasi, sehingga LDH dapat digunakan sebagai alat pemantauan ibu hamil preeklamsia agar intervensi medis dapat dilakukan lebih awal untuk mencegah komplikasi maternal-fetal.

Pada kelompok SN dan SR, sel Treg Foxp3⁺ plasenta menjadi faktor yang paling berperan. Jumlah sel Treg Foxp3⁺ < 3,31 /lpb memiliki risiko 4,13 untuk mendapatkan *syncytial bridge* yang rendah (Tabel 4.8.). Sel Treg merupakan supresor poten sistem imun adaptif yang salah satu fungsinya menginduksi makrofag untuk membantu mempertahankan homeostasis reaksi imun dan mencegah kerusakan jaringan.²⁹ Kadarnya yang rendah di darah maternal dan plasenta berkontribusi pada kejadian inflamasi kronik.^{23, 142} Hal tersebut menyebabkan berjalannya proses stres oksidatif, menghasilkan debris trofoblas nekrotik yang menginduksi kerusakan endotel maternal dan menghasilkan gambaran klinis preeklamsia.¹⁸²

Parameter yang berhubungan dengan jumlah *syncytial bridge* pada kelompok SN dan SSR adalah peningkatan LDH darah maternal yang berisiko 97,59 kali mendapatkan jumlah *syncytial bridge* yang sangat rendah (< 8,13/lpb) (Tabel 4.8.). Iskemia plasenta akibat remodeling A. spiralis abnormal menginduksi stres oksidatif, menghasilkan NO dan ROS yang berperan dalam regulasi sistem imun dan memperberat inflamasi. Efek NO dalam regulasi imun terjadi melalui beberapa mekanisme seperti interaksi sistem signaling sel seperti cAMP, JAK/STAT atau MAPK *signaling pathway*. NO dalam jumlah besar meningkatkan ekspresi mediator inflamasi, dan bersama ROS memperberat nekrosis sel, menginduksi kebocoran membran plasma akibat proses peroksidase pada membran lipid¹⁸³

Sistem imun *innate* dan adaptif khususnya sel Treg berperan dalam proses perbaikan dan regenerasi jaringan beberapa sistem organ. Interaksi sel Treg dan sel imun *innate* dapat mengontrol inflamasi setelah kerusakan sel/jaringan dan memfasilitasi penyembuhan jaringan.¹⁴⁸ Menurunnya jumlah sel Treg Foxp3⁺ plasenta akan menurunkan proses regenerasi sel sehingga kerusakan sel makin bertambah.

5.5 Keterbatasan Penelitian

Preeklamsia merupakan proses patologis yang sudah dimulai sejak kehamilan trimester pertama. Dapat dipikirkan untuk melakukan studi lanjutan dengan desain penelitian kohort prospektif agar dapat mengikuti perubahan variabel *syncytial bridge*, sel Treg, LDH, vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dan seng di darah maternal dan plasenta, sehingga dampak pada kehamilan akibat perubahan-perubahan tersebut dapat diamati. Hasil tersebut nantinya dapat melengkapi hasil penelitian dengan bentuk studi potong lintang dan pengambilan subjek penelitian pada trimester tiga yang menggambarkan keadaan sesaat tetapi tidak dapat menggambarkan perjalanan penyakit.

Walaupun penurunan konsentrasi vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ tidak secara langsung menjadi faktor risiko penurunan jumlah *syncytial bridge*, tetapi analisis secara tersendiri memperlihatkan pengaruhnya terhadap gambaran *syncytial bridge*. Pemeriksaan metabolit vitamin D selain $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ seperti $25(\text{OH})\text{D}_3$ dan $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ serta faktor-faktor yang memengaruhi metabolisme vitamin D seperti *vitamin D binding protein* (DBP), CYP2R1, CYP27B1, CYP24A1, VDR, tidak dilakukan pada penelitian ini sehingga tidak diketahui pengaruhnya pada *syncytial bridge*.

Pada penelitian ini, pemeriksaan seng bebas sebagai bentuk aktif dan transporter ZnT dan ZIP juga tidak dilakukan sehingga belum dapat diketahui proses homeostasis seng. Pemeriksaan lanjutan sebaiknya tetap dilakukan pada darah maternal dan plasenta sehingga kita memperoleh gambaran hubungan proses transfer nutrisi antara kedua kompartemen.

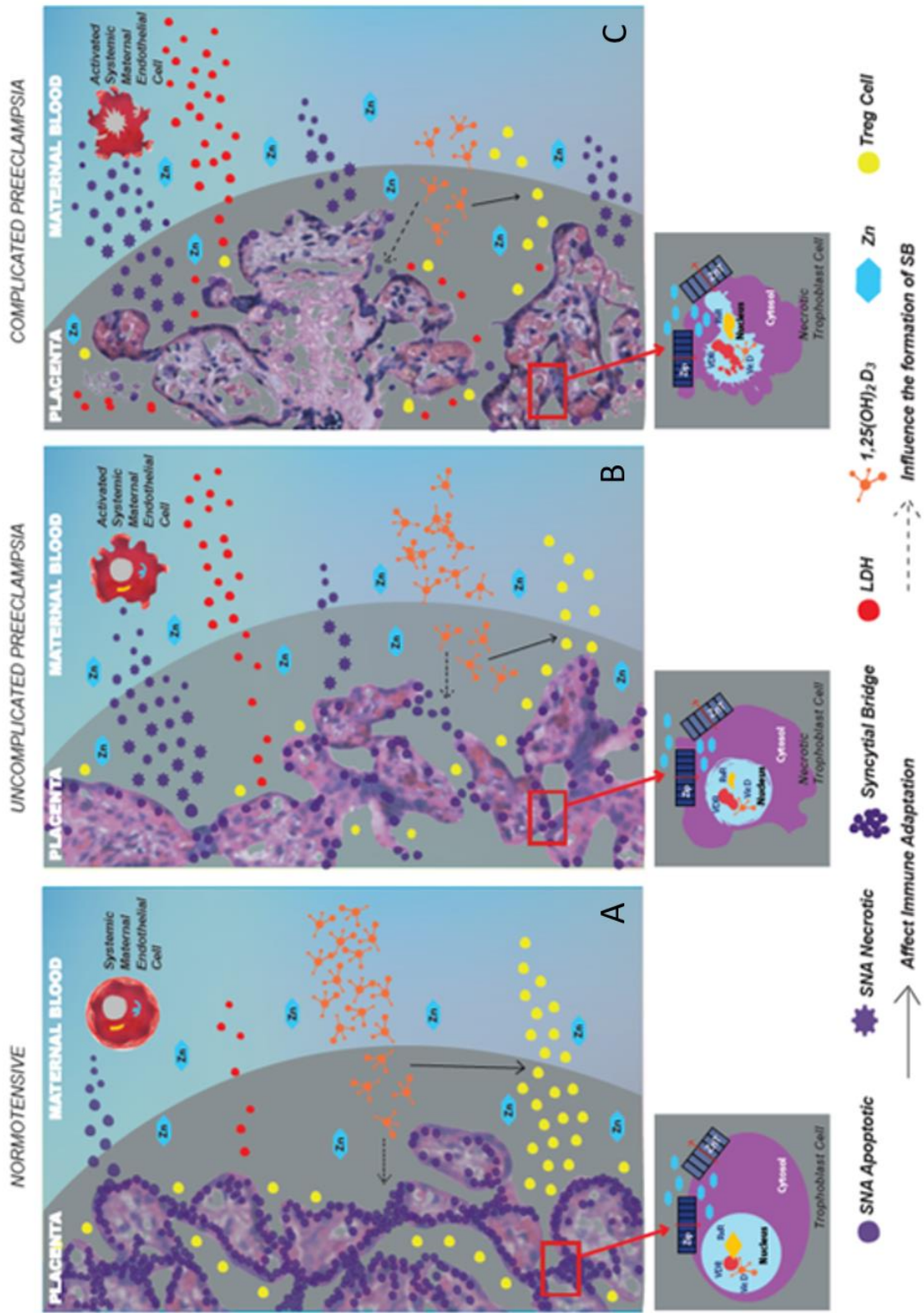
5.6 Patomekanisme Pengaruh Sel Treg, LDH, Vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dan Seng terhadap Jumlah *Syncytial Bridge*

Kehamilan NT memperlihatkan konsentrasi $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ darah maternal yang meningkat akibat peningkatan aktivitas enzim CYP27B1 di ginjal dan ekspresinya di daerah desidua dan trofoblas plasenta. Sintesis $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ di desidua dan trofoblas bersamaan dengan ekspresi VDR di nukleus sel trofoblas berhubungan dengan implantasi plasenta yang normal. Vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ memengaruhi invasi trofoblas melalui perannya sebagai imunomodulator. Regulasi fungsi imun

daerah *maternal-fetal interface* melibatkan sel imun *innate* dan adaptif. Peningkatan sintesis $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ selama kehamilan memengaruhi sel-sel imun termasuk sel Treg dalam mencegah maladaptasi sistem imun. Hal tersebut secara tidak langsung menyebabkan pembentukan *syncytial bridge* yang normal untuk menjaga stabilitas plasenta. Debris trofoblas (SNA) yang terbentuk sebagai hasil proses apoptosis menghasilkan respons imun yang toleran terhadap plasenta/janin dan mencegah aktivasi sel endotel maternal sistemik. Konsentrasi seng di jaringan dan sirkulasi terlihat tidak berbeda, kemungkinan disebabkan regulasi oleh mekanisme homeostasis yang menjaga konsentrasi seng cenderung konstan.

Pada PE, penurunan konsentrasi vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dapat menyebabkan gangguan remodeling A. spiralis dan memengaruhi fungsi sel Treg sehingga terjadi maladaptasi sistem imun. Vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ meregulasi ekspresi gen *Foxp3* pada sel Treg melalui ikatan langsung dengan VDR sehingga meningkatkan kemampuan supresi sel Treg dan membantu proses toleransi/adaptasi terhadap jaringan plasenta/janin. Selain itu, semakin rendah jumlah sel Treg yang berfungsi pada daerah *maternal-fetal interface*, semakin banyak kerusakan plasenta yang ditandai dengan peningkatan LDH. Keadaan iskemia plasenta karena invasi trofoblas abnormal akan menyebabkan kerusakan sel-sel trofoblas dan penurunan jumlah *syncytial bridge*. Iskemia plasenta juga diikuti dengan pembentukan debris trofoblas nekrosis, yang jika masuk ke sirkulasi maternal akan mengaktivasi sel endotel sistemik, mengakibatkan inflamasi kronik dan keadaan stres oksidatif.

Pada PEK, mekanisme yang terjadi serupa dengan PE, tetapi dalam bentuk yang lebih berat. Konsentrasi vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ yang lebih rendah makin memengaruhi fungsi sel Treg untuk mencegah maladaptasi imun di *daerah maternal-fetal interface* dan meningkatkan kerusakan *syncytial bridge*. Makin banyak kerusakan struktur ini, akan makin meningkat pula pembentukan LDH. SNA yang dihasilkan, secara masif akan masuk ke dalam sirkulasi maternal, mengaktivasi sel endotel maternal sistemik dan berujung pada kerusakan organ-organ maternal.



Gambar 5.1.1. Patomekanisme Pengaruh Sel Treg, LDH, Vitamin 1,25(OH)₂D₃ dan Seng terhadap Jumlah Syncytial Bridge

Keterangan Gambar 5.1.

A. Vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sebagai imunomodulator pada *maternal-fetal interface*, meregulasi ekspresi gen Foxp3 pada sel Treg melalui ikatan langsung dengan VDR sehingga meningkatkan kemampuan supresi sel Treg dan membantu proses toleransi jaringan plasenta. Secara tidak langsung juga menjaga struktur plasenta melalui formasi *syncytial bridge* yang baik. Pada kehamilan normal, SNA dilepaskan sebagai hasil proses apoptosis dan tidak mengaktivasi sel endotel maternal. Debris nekrotik dalam jumlah sedikit juga tidak akan menimbulkan respon inflamasi. Seng sebagai komponen biomembran, homeostasisnya tampak terjaga di dalam sel dan sirkulasi. **B.** Pada PE, penurunan konsentrasi $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ menyebabkan iskemia plasenta akibat gangguan remodeling A. spiralis dan memengaruhi fungsi sel Treg sehingga terjadi maladaptasi sistem imun. Semakin rendah jumlah sel Treg yang berfungsi, semakin banyak kerusakan sel trofoblas yang diikuti dengan penurunan jumlah *syncytial bridge* dan peningkatan LDH. **C.** Mekanisme yang terjadi serupa PE dengan keadaan iskemia plasenta yang makin berat. SNA nekrotik secara masif masuk ke sirkulasi maternal dan mengaktivasi sel endotel sistemik dan menyebabkan kerusakan organ-organ. Konsentrasi seng yang tidak berbeda kemungkinan akibat mekanisme homeostasis untuk mempertahankan jaringan plasenta dari proses nekrosis, mengingat fungsi seng dalam menjaga integritas membran sel.

BAB 6 SIMPULAN DAN SARAN

6.1 Simpulan

1. a. Jumlah *syncytial bridges* plasenta kelompok preeklamsia dengan komplikasi (PEK) lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok preeklamsia tanpa komplikasi (PE) dan normotensi (NT). Demikian pula jumlahnya pada kelompok preeklamsia tanpa komplikasi (PE) lebih rendah secara bermakna dibanding normotensi (NT).
b. Jumlah Treg Foxp3⁺ plasenta kelompok preeklamsia lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok normotensi (NT).
c. Konsentrasi LDH darah maternal kelompok preeklamsia dengan komplikasi (PEK) lebih tinggi secara bermakna dibanding kelompok preeklamsia tanpa komplikasi (PE) dan normotensi (NT).
d. Konsentrasi vitamin 1,25(OH)₂D₃ darah maternal kelompok preeklamsia dengan komplikasi (PEK) lebih rendah secara bermakna dibanding preeklamsia tanpa komplikasi (PE) dan normotensi (NT). Demikian pula konsentrasinya pada kelompok preeklamsia tanpa komplikasi (PE) lebih rendah secara bermakna dibanding normotensi (NT).
e. Tidak didapatkan perbedaan bermakna konsentrasi seng pada darah maternal dan plasenta antara ketiga kelompok.
2. a. Jumlah Treg Foxp3⁺ plasenta pada kelompok *syncytial bridge* sangat rendah (SSR) dan *syncytial bridge* rendah (SR) lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok *syncytial bridge* normal (SN).
b. Konsentrasi LDH darah maternal kelompok *syncytial bridge* sangat rendah (SSR) lebih tinggi secara bermakna dibanding kelompok *syncytial bridge* rendah (SR) dan *syncytial bridge* normal (SN).
c. Konsentrasi 1,25(OH)₂D₃ darah maternal kelompok *syncytial bridge* sangat rendah (SSR) lebih rendah secara bermakna dibanding *syncytial bridge* rendah (SR) dan *syncytial bridge* normal (SN).
3. Peningkatan konsentrasi LDH darah maternal dan penurunan konsentrasi vitamin 1,25(OH)₂D₃ darah maternal merupakan faktor risiko berkurangnya jumlah *syncytial bridge*.

6.2 Saran

Pelayanan Masyarakat

Pemberian vitamin D dapat direkomendasikan pada ibu hamil karena ikut memengaruhi perubahan jumlah *syncytial bridge*.

Pemeriksaan LDH dapat digunakan sebagai penanda kerusakan *syncytial bridge* yang berhubungan dengan derajat keparahan preeklamsia.

Akademis

Gambar 5.1. dapat melengkapi bahan ajar tentang peran nutrisi dan gambaran debris plasenta yang berhubungan dengan derajat keparahan preeklamsia.

Penelitian

1. Diperlukan disain penelitian kohort prospektif untuk dapat mengetahui perubahan *syncytial bridge*, sel Treg $CD4^+CD25^+Foxp3^+$, konsentrasi LDH, vitamin $1,25(OH)_2D_3$ dan seng di darah maternal dan plasenta, sehingga efeknya pada kehamilan dapat diamati.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut konsentrasi $25(OH)D_3$, $24,25(OH)_2D_3$, DBP, CYP2R1 CYP27B1, CYP24A1, VDR, untuk memperjelas regulasi vitamin D di sirkulasi maternal dan plasenta. Demikian pula pemeriksaan jumlah seng aktif, transporter ZnT dan ZIP untuk mengetahui proses homeostasis seng pada kedua kompartemen tersebut.

RINGKASAN

Latar Belakang

Preeklamsia merupakan kondisi spesifik pada kehamilan yang menjadi salah satu penyebab utama mortalitas dan morbiditas maternal dan perinatal. Proses plasentasi abnormal dan maladaptasi imun mengganggu regulasi respons imun, menyebabkan hipoksia plasenta dan pelepasan debris trofoblas nekrotik ke sirkulasi maternal. Terjadi perubahan struktur mikroskopik plasenta, salah satunya penurunan *syncytial bridge*, diikuti dengan disfungsi sel endotel maternal. Pada keadaan tersebut terjadi penurunan jumlah sel Treg, peningkatan sitokin proinflamasi dan debris nekrotik, sehingga berakibat peningkatan konsentrasi LDH di sirkulasi.

Vitamin D dan seng, yang mempunyai peran sebagai regulator sistem imun, antiinflamasi, dan berfungsi menjaga struktur membran sel, dalam keadaan defisiensi dapat pula menginduksi kerusakan sel. Belum diketahui sepenuhnya apakah perubahan jumlah sel Treg, konsentrasi LDH, vitamin D dan seng berpengaruh pada patomekanisme perubahan jumlah *syncytial bridge* pada kondisi kehamilan preeklamsia tanpa komplikasi (PE) dan preeklamsia dengan komplikasi (PEK) dibandingkan dengan normotensi (NT). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui toleransi imun dan nekrosis pada preeklamsia berdasarkan gambaran *syncytial bridge*, jumlah sel Treg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺, konsentrasi LDH serta vitamin 1,25(OH)₂D₃ dan seng.

Metode

Penelitian ini menggunakan bentuk studi potong lintang komparatif terhadap tiga kelompok yaitu kelompok NT (n = 20), kelompok PE (n = 21) dan kelompok PEK (n = 20), dengan total 61 subjek. Pengambilan sampel penelitian dilakukan di RS budi Kemuliaan dan RSUD Koja selama periode Februari–Agustus 2019. Berdasarkan pengelompokan klinis preeklamsia, variabel bebas adalah jumlah *syncytial bridge*, sel Treg serta konsentrasi LDH, vitamin 1,25(OH)₂D₃ dan seng. Variabel tergantung adalah kelompok NT, PE dan PEK. Untuk pengelompokan berdasarkan jumlah *syncytial bridge*, struktur ini merupakan variabel tergantung dengan variabel bebas adalah jumlah sel Treg, konsentrasi LDH, vitamin 1,25(OH)₂D₃ dan seng. Semua

subjek dilakukan pengukuran jumlah *syncytial bridge* plasenta (HE), jumlah sel Treg (*flowcytometric* dan IHK), konsentrasi LDH (*enzymatic colorimetric* dan ELISA), vitamin 1,25(OH)₂D₃ (LC-MS/MS) dan seng (ICP-MS) darah maternal dan plasenta. Data diolah menggunakan SPSS versi 20 dan dianalisis dengan uji t test-tidak berpasangan dan Mann-Whitney. Untuk mendapatkan odds ratio digunakan uji statistik Chi Square dan regresi logistik.

Hasil dan Diskusi

Pada karakteristik subjek tidak terdapat perbedaan bermakna pada usia, paritas, kenaikan berat badan selama kehamilan dan IMT pada ketiga kelompok. Pada status obstetri dan luaran kehamilan didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok PEK dengan PE dan NT pada usia kehamilan, tekanan darah sistolik dan diastolik serta berat plasenta. Untuk berat badan lahir bayi, kelompok PEK berbeda bermakna dengan NT.

Pada preeklamsia, ibu hamil dengan usia kurang dari 20 tahun dan lebih dari 35 tahun berisiko lebih tinggi 1,5 kali mengalami preeklamsia dibandingkan kelompok usia 20–35 tahun. Pada penelitian ini, usia ibu hamil ketiga kelompok berada pada rentang usia yang sama disebabkan pengambilan sampel dilakukan secara *consecutive* berdasarkan kriteria penerimaan penelitian dan tidak dikelompokkan berdasarkan perbedaan usia. Wanita nulipara mempunyai kemungkinan untuk mengalami preeklamsia lebih tinggi dibandingkan wanita multipara. Nulipara sangat mungkin menjadi faktor yang mendasari lebih tingginya angka kejadian preeklamsia karena belum terbentuknya mekanisme toleransi protektif akibat kurangnya pajanan antigen paternal cairan seminal. Kenaikan berat badan berlebih selama kehamilan dan IMT lebih dari normal pada awal kehamilan diketahui sebagai faktor risiko preeklamsia. Keduanya meningkatkan stres oksidatif dan merangsang respons inflamasi sistemik yang mempermudah terjadinya kerusakan sel endotel vaskular.

Menilik beratnya gejala klinis dan waktu timbulnya komplikasi pada ibu, kelompok PEK mempunyai kesamaan dengan preeklamsia awitan dini yang juga mempunyai luaran maternal dan perinatal yang lebih buruk. Kelompok preeklamsia ini juga mempunyai tekanan darah sistolik dan diastolik yang lebih tinggi dibanding kelompok PE dan NT.

Adanya masalah pada kesehatan ibu hamil dapat mengubah struktur makroskopis maupun mikroskopis plasenta. Keadaan tersebut disebabkan adanya proses patologi yang menghasilkan lingkungan iskemik dan mengintervensi perkembangan plasenta sehingga dapat berujung pada gangguan pertumbuhan janin.

Berdasarkan jumlah *syncytial bridge* dan sel Treg, konsentrasi LDH, vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dan seng di darah maternal maupun plasenta, didapatkan perbedaan bermakna antara ketiga kelompok pada jumlah *syncytial bridge* dan Treg Foxp3⁺ plasenta serta konsentrasi LDH dan vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ darah maternal.

Jumlah *syncytial bridge* kelompok PEK paling rendah dibanding dua kelompok lainnya. Hal tersebut disebabkan vasokonstriksi A. spiralis menyebabkan tekanan aliran darah yang tinggi pada ruang intervili menyebabkan kerusakan *syncytial bridge* secara mekanik. Selain itu, aliran darah yang intermiten mengakibatkan iskemik plasenta dan meningkatkan nekrosis sel-sel trofoblas.

Pada pemeriksaan jaringan plasenta terlihat penurunan jumlah Treg Foxp3⁺ pada kelompok preeklamsia dibanding kelompok normotensi. Ekspresi gen Foxp3 pada plasenta terlibat dalam mekanisme toleransi imun maternal terhadap antigen janin, yang apabila prosesnya terganggu dapat menyebabkan keadaan patologi pada kehamilan. Beberapa studi menyimpulkan bahwa sel Treg tampaknya bekerja secara lokal pada plasenta. Menurunnya jumlah Treg Foxp3⁺ plasenta menurunkan proses perbaikan dan regenerasi sel sehingga kerusakan yang telah terjadi sebelumnya akan makin bertambah.

Konsentrasi LDH darah maternal kelompok PEK dan PE pada penelitian ini didapatkan lebih tinggi dibandingkan kelompok normotensi. Invasi trofoblas abnormal menyebabkan peningkatan resistensi A. spiralis sehingga aliran darah maternal ke ruang intervilar berkurang. Hal tersebut menyebabkan iskemia plasenta dan mempermudah terjadinya kerusakan sel. Munculnya enzim ini dalam darah menjadi salah satu pertanda adanya nekrosis sel. Konsentrasi LDH plasenta tidak berbeda bermakna antar ketiga kelompok. Keadaan hipoksia akan menginduksi ekspresi protein *hypoxia inducible transcription factor* (HIF-1 α) serta meningkatkan konsentrasi dan aktivitas enzim LDH di sel trofoblas. Pada kelompok preeklamsia, aktivitas LDH meningkat pada sel-sel trofoblas utuh, yang jumlahnya sudah sangat

menurun, sedangkan pada kelompok normotensi aktivitas LDH normal pada sel trofoblas sehat yang jumlahnya jauh lebih banyak. Meskipun terjadi peningkatan ekspresi LDH intraselular pada preeklamsia akan tetapi tidak cukup tinggi untuk menimbulkan kemaknaan antar ketiga kelompok.

Konsentrasi $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ darah maternal kelompok PEK paling rendah dibandingkan kelompok normotensi dan kelompok PE secara bermakna. Diperlukan $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ untuk menurunkan ROS di jaringan plasenta. Pembentukan $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ baik di plasenta dan ginjal akan meningkat dan dimobilisasi ke jaringan terdampak sehingga konsentrasi $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ di sirkulasi maternal cenderung rendah. Pada keadaan hipoksia awal, akan terjadi peningkatan ekspresi 1α -hidroksilase pada plasenta. Hal tersebut menjadi penyebab tingginya konsentrasi $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pada kelompok PE. Pada kelompok PEK, terjadi kerusakan struktur trofoblas dan vili yang lebih masif menyebabkan ekspresi komponen metabolit vitamin D pada kedua struktur tersebut jauh berkurang sehingga produksi vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ makin menurun.

Konsentrasi seng darah maternal dan plasenta tidak berbeda bermakna untuk ketiga kelompok. Rendahnya konsentrasi seng darah maternal kelompok preeklamsia mungkin disebabkan defisiensi seng sudah terjadi sejak awal kehamilan dan tidak mendapatkan suplementasi secara optimal. Keadaan hipoalbumin dan menurunnya afinitas albumin terhadap seng pada kehamilan juga dapat menurunkan konsentrasi seng darah maternal. Selain itu ada kemungkinan gangguan peran transporter ZnT (SLC-30) dan ZIP (SLC-39) dalam menjaga homeostasis konsentrasi seng di sel dan sirkulasi. Pada plasenta kelompok PEK didapatkan konsentrasi seng yang tinggi. Hal ini sangat mungkin terjadi akibat mekanisme kompensasi untuk mempertahankan fungsi jaringan plasenta. Fungsi seng dalam menjaga integritas membran sel diperlukan mengingat tingginya proses nekrosis sel yang terjadi pada preeklamsia.

Selanjutnya dilakukan pengelompokan sesuai jumlah *syncytial bridge*, dan didapatkan tiga kelompok yaitu *syncytial bridge* normal (SN), rendah (SR) dan sangat rendah (SSR). Terdapat 3 variabel yang berbeda bermakna antara kelompok yaitu Treg Foxp3⁺ plasenta, LDH dan vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ darah maternal.

Pada penelitian ini, didapatkan jumlah sel Treg Foxp3⁺ yang menurun pada kelompok SSR. *Syncytial bridge* sebagai struktur yang menggambarkan kemampuan plasenta menahan stres mekanik dan inflamasi tampak menurun pada kelompok preeklamsia. Penurunan jumlah sel Treg akan meningkatkan sitokin proinflamasi dan ROS sehingga meningkatkan kerusakan sel-sel trofoblas, yang terlihat dengan berkurangnya jumlah *syncytial bridge*.

Kerusakan sel trofoblas akibat iskemik plasenta juga menyebabkan terjadinya kerusakan struktur *syncytial bridge* yang sudah ada dan menurunkan pembentukannya. Destruksi sel menyebabkan LDH dilepaskan ke jaringan sekitar atau ke sirkulasi maternal. Peningkatan konsentrasi LDH darah maternal dapat dipakai untuk memberikan gambaran kerusakan plasenta, dapat pula digunakan sebagai penanda dalam pengambilan keputusan klinis untuk mencegah morbiditas fetomaternal lebih lanjut.

Vitamin D diketahui mempunyai banyak peran dalam proses metabolisme tubuh seperti sebagai anti-inflamasi, antioksidan, berperan dalam siklus sel dan ketahanan sel. Bentuk aktif vitamin D, 1,25(OH)₂D₃ membantu mempertahankan homeostasis energi di dalam sel melalui pengaturan respons stress dengan cara meningkatkan respons toleransi sel imun. Merujuk pada fungsi vitamin D tersebut, tampak bahwa vitamin 1,25(OH)₂D₃ yang adekuat diperlukan dalam tatakelola preeklamsia. Rendahnya konsentrasi 1,25(OH)₂D₃ sejalan dengan makin buruknya gambaran mikroskopis plasenta dan gejala klinis yang makin berat.

Konsentrasi seng di darah maternal dan plasenta tidak berbeda bermakna pada tiga kelompok *syncytial bridge*. Walaupun secara teori seng mempunyai pengaruh terhadap proses terjadinya preeklamsia melalui peran antioksidan, antiinflamasi, regulator morfologi plasenta dan mencegah ROS, tetapi pada penelitian ini tampak tidak berpengaruh. Hal tersebut mungkin disebabkan seng memengaruhi proses preeklamsia melalui mekanisme lain yang tidak diteliti pada penelitian ini.

Untuk melihat parameter laboratorium yang menjadi faktor risiko menurunnya *syncytial bridge*, dilakukan uji Chi square dan regresi logistik. Terlihat bahwa LDH darah maternal dan Treg Foxp3⁺ plasenta sebagai parameter yang paling berperan dalam penurunan jumlah *syncytial bridge*.

Nekrosis sel trofoblas plasenta akan menurunkan jumlah *syncytial bridge* dan meningkatkan LDH di sirkulasi maternal. LDH yang meningkat berhubungan dengan tingkat keparahan preeklamsia dan luaran maternal perinatal yang buruk. Tingginya konsentrasi LDH ini juga berhubungan dengan tingginya kerusakan *syncytial bridge* yang menggambarkan berkurangnya kemampuan plasenta menahan stres, sehingga secara klinis LDH dapat digunakan sebagai alat pemantauan ibu hamil preeklamsia agar intervensi medis dapat dilakukan lebih awal untuk mencegah komplikasi maternal-fetal.

Sistem imun adaptif khususnya sel Treg berperan dalam perbaikan dan regenerasi beberapa sistem organ. Interaksi sel Treg dan sel imun *innate* dapat mengontrol inflamasi dan memfasilitasi regenerasi jaringan. Menurunnya jumlah Treg Foxp3⁺ pada plasenta menurunkan pula proses perbaikan dan regenerasi sel sehingga kerusakan jaringan akan meningkat.

Vitamin 1,25(OH)₂D₃ apabila dianalisis secara tersendiri juga mempunyai peran terhadap penurunan jumlah *syncytial bridge*. Beberapa fungsi 1,25(OH)₂D₃ seperti imunomodulator dan antiinflamasi diperlukan untuk menjaga kehamilan berkembang dengan baik. Defisiensi atau gangguan pembentukan vitamin D dapat meningkatkan inflamasi dan menurunkan aktivitas sel-sel imun di daerah *maternal-fetal interface* yang secara tidak langsung memengaruhi *syncytial bridge*.

Simpulan

Jumlah *syncytial bridges* plasenta kelompok PEK lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok PE dan NT. Demikian pula jumlahnya pada kelompok PE lebih rendah secara bermakna dibanding NT.

Jumlah Treg Foxp3⁺ plasenta kelompok preeklamsia lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok NT.

Konsentrasi LDH darah maternal kelompok PEK lebih tinggi secara bermakna dibanding kelompok PE dan NT.

Konsentrasi vitamin 1,25(OH)₂D₃ darah maternal kelompok PEK lebih rendah secara bermakna dibanding PE dan NT. Demikian pula konsentrasinya pada kelompok PE lebih rendah secara bermakna dibanding NT.

Tidak didapatkan perbedaan bermakna konsentrasi seng pada darah maternal dan plasenta antara ketiga kelompok.

Jumlah Treg Foxp3⁺ plasenta pada kelompok SSR dan SR lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok SN.

Konsentrasi LDH darah maternal kelompok SSR lebih tinggi secara bermakna dibanding kelompok SR dan SN.

Konsentrasi 1,25(OH)₂D₃ darah maternal kelompok SSR lebih rendah secara bermakna dibanding SR dan SN.

Peningkatan konsentrasi LDH darah maternal dan penurunan konsentrasi vitamin 1,25(OH)₂D₃ darah maternal merupakan faktor risiko berkurangnya jumlah *syncytial bridge*.

Saran

Pemberian vitamin D dapat direkomendasikan pada ibu hamil karena ikut memengaruhi perubahan jumlah *syncytial bridge*.

Gambar 5.1. dapat melengkapi bahan ajar tentang peran nutrisi dan gambaran debris plasenta yang berhubungan dengan derajat keparahan preeklamsia.

Diperlukan disain penelitian kohort prospektif untuk dapat mengetahui perubahan *syncytial bridge*, sel Treg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺, konsentrasi LDH, vitamin 1,25(OH)₂D₃ dan seng di darah maternal dan plasenta, sehingga efeknya pada kehamilan dapat diamati.

Diperlukan penelitian lebih lanjut konsentrasi 25(OH)D₃, 24,25(OH)₂D₃, DBP, CYP2R1 CYP27B1, CYP24A1, VDR, untuk memperjelas regulasi vitamin D di sirkulasi maternal dan plasenta. Demikian pula pemeriksaan jumlah seng aktif, transporter ZnT dan ZIP untuk mengetahui proses homeostasis seng pada kedua kompartemen tersebut.

SUMMARY

Background

Preeclampsia is a specific condition in pregnancy as one of the main causes of maternal and perinatal mortality and morbidity. The abnormal placentation process and immune maladaptation interferes with the immune response regulation, resulting in placental hypoxia and release of necrotic trophoblastic debris into the maternal circulation. This causing changes in placental microscopic structure, one of them being a decrease in syncytial bridges, followed by dysfunction of maternal endothelial cells. In this condition there is a decrease in the Treg cell count, increase in proinflammatory cytokines and necrotic debris, thus resulting in increased LDH concentrations in the circulation.

Vitamin D and zinc play a role as regulators of the immune system, have anti-inflammatory properties, and function to maintain the cell membrane structure, such that deficiencies of these substances may induce cellular defect. It is not yet completely understood whether the changes in Treg cell count, LDH, vitamin D and zinc concentrations affect the pathologic mechanism of the changes in syncytial bridge count in pregnancies with uncomplicated preeclampsia (PE) and complicated preeclampsia (PEC) compared with normotensive pregnancy (NT). The aim of the present study was to determine immune tolerance and necrosis in preeclampsia based on the picture of syncytial bridge count, $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg cell count, and LDH, vitamin $1,25(OH)_2D_3$, and zinc concentrations.

Methods

This study was of comparative cross-sectional design carried out with three preeclampsia groups, i.e. group NT (n = 20), group PE (n = 21) and group PEC (n = 20), on a total of 61 subjects. Sample collection was carried out in Budi Kemuliaan Hospital and Koja Regional General Hospital from February to August 2019. Based on the clinical preeclampsia groups, the independent variables were syncytial bridge count, Treg cell count and LDH concentration, vitamin $1,25(OH)_2D_3$ concentration and zinc concentration, while the dependent variables were the groups NT, PE and PEC. On the other hand, for the grouping based on syncytial bridge count, the latter became the dependent variable while the independent variables were Treg cell count,

LDH concentration, vitamin 1,25(OH)₂D₃ concentration and zinc concentration. On all subjects the following measurements were performed: placental syncytial bridge count (HE), Treg cell count (flow cytometry and IHC), and placental and maternal blood LDH concentration (enzymatic colorimetric and ELISA), vitamin 1,25(OH)₂D₃ concentration (LC-MS/MS) and zinc concentration (ICP-MS). Data were processed using SPSS version 20 and analyzed with the unpaired t test and Mann-Whitney test. To determine the odds ratio, the Chi Square and logistic regression tests were used.

Results and Discussion

With regard to the subject characteristics there were no significant differences in age, parity, weight gain during pregnancy, and BMI between the three preeclampsia groups. For the obstetric status and outcome of pregnancy there were significant differences between groups PEC, PE and NT in gestational age, systolic and diastolic blood pressure, and placental weight, whereas for infant birth weight, group PEC differed significantly from NT.

In preeclampsia, pregnant women aged under 20 years and over 35 years are at 1.5 times higher risk for suffering from preeclampsia compared with the age group of 20–35 years. In the present study, the pregnant women in the three groups were in the same age range, because recruitment of the sample was performed consecutively based on the inclusion criteria of the study and the sample was not grouped by age. Nulliparous women are at higher risk for preeclampsia than do multiparous women. Nulliparity may most probably be the factor underlying the higher preeclampsia incidence, because no protective tolerance has as yet developed as a result of insufficient exposure to paternal antigens in seminal fluid. Excessive weight gain during pregnancy and above normal BMI in the early stage of pregnancy are known risk factors for preeclampsia. Both of these factors increase oxidative stress and stimulate the systemic inflammatory response, facilitating the occurrence of vascular endothelial cell damage.

From the standpoint of the severity of the clinical symptoms and the emergence of maternal complications, group PEC possessed similarities with early-onset preeclampsia that also have poorer maternal and perinatal outcomes. The PEC group also had higher

systolic and diastolic blood pressures than did the PE and NT groups. The presence of health problems in pregnant women may change the macroscopic as well as the microscopic structure of the placenta. This is caused by a pathologic process producing an ischemic environment and interfering with placental development such that it may ultimately result in abnormal fetal development.

Based on syncytial bridge and Treg cell counts, maternal blood and placental LDH, vitamin 1,25(OH)₂D₃ and zinc concentrations, significant differences were found between the three groups in syncytial bridge count, placental Foxp3⁺ Treg cell count, LDH concentration, and vitamin 1,25(OH)₂D₃ concentration.

The syncytial bridge count was lowest in group PEC compared with the two other groups. This is due to the fact that vasoconstriction of the spiral arteries causes high pressure in the blood flow in the intervillous space, leading to mechanical damage to the syncytial bridges. Additionally, the intermittent blood flow results in an ischemic placenta and increases necrosis of the trophoblasts.

In the examination of the placental tissues there was a decrease in Foxp3⁺ Treg cell count in the preeclampsia group in comparison with the normotensive group. Foxp3 gene expression in the placenta is involved in the maternal immune tolerance mechanism against fetal antigens. Disturbance of the process may cause pathological conditions in pregnancy. Several studies have concluded that Treg cells apparently act locally in the placenta. The decrease in placental Foxp3⁺ Treg cell count decreases the cell repair and regenerative process thereby increasing the pre-existing damage.

The maternal blood LDH concentrations of the groups PEC and PE in the present study were found to be higher than those in the normotensive group. Abnormal trophoblast invasion results in increased resistance of the spiral arteries, thus decreasing the maternal blood flow into the intervillous space. This leads to placental ischemia and facilitates the occurrence of cell damage. The appearance of LDH in the blood constitutes one of the markers of cell necrosis. Placental LDH concentrations were not significantly different between the three groups. Hypoxia will induce the expression of the hypoxia inducible transcription factor (HIF-1 α) protein and increase LDH concentration and activity in the trophoblasts. In the preeclampsia group LDH activity increased in intact trophoblasts that were already considerably decreased in number,

whereas in the normotensive group, the LDH activity and concentration was normal in the healthy trophoblasts, that were in far greater numbers. Although there was an increase in intracellular LDH expression in preeclampsia, it was not sufficiently large to result in significant differences between the three groups.

Maternal blood $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ concentrations in group PEC were significantly lower than in groups NT and PE. Vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ is necessary to reduce ROS in placental tissue. Vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ synthesis increased in the placenta as well as in the kidneys and the vitamin is mobilized into the affected tissues such that the circulatory $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ concentration tends to be low. In the initial hypoxic conditions there is increased expression of 1α -hydroxylase in the placenta, resulted in high $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ concentrations in group PE. In group PEC, there was more massive structural damage of the trophoblasts and villi, causing much lower expression of vitamin D metabolites in both structures, such that vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ production was increasingly reduced.

Maternal blood and placental zinc concentrations were not significantly different for the three groups. The low maternal blood zinc concentrations in the preeclampsia group may have been caused by the occurrence of zinc deficiency since the onset of pregnancy and the lack of optimal zinc supplementation. Hypalbuminemia and the decrease in the affinity of albumin to zinc in pregnancy may also decrease maternal blood zinc concentrations. In addition, there is the possibility of a disturbance in the role of the ZnT (SLC-30) and ZIP (SLC-39) transporters in maintaining homeostasis of the zinc concentrations in the cells and circulation. In the placentas of group PEC high zinc concentrations were found. There may most probably exist compensatory mechanisms for maintaining the functions of placental tissue. The functions of zinc in maintaining the integrity of the cell membrane are necessary in view of the severe cell necrosis occurring in preeclampsia.

Subsequently the subjects were grouped by syncytial bridge count, resulting in three groups, namely the group with normal (NSB), low (LSB) and very low (VLSB) syncytial bridge counts. There were 3 variables that differed significantly between groups, namely placental Foxp3+ Treg, maternal blood LDH and maternal blood vitamin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

In the present study, there was a decreased Foxp3⁺Treg cell count in group VLSB. The syncytial bridges, being structures that describe the capacity of the placenta to resist mechanical stress and inflammation, were seen to be decreased in the preeclampsia group. The decrease in Treg cell count increased proinflammatory cytokines and ROS, thus increasing trophoblast damage, as was evident from the decrease in syncytial bridge count.

Damage to the trophoblasts as a result of placental ischemia also causes damage to the existing syncytial bridge structures and decreases their formation. Destruction to the cells causes LDH to be released into the surrounding tissues or into the maternal circulation. The increase in maternal blood LDH concentrations may be used to describe the placental damage and may also be used as indicator in clinical decision making for preventing additional feto-maternal morbidity.

Vitamin D is known to have many roles in the body metabolism, e.g. as anti-inflammatory agent, as antioxidant, in the cell cycle and in cellular defense. The active form of vitamin D, 1,25(OH)₂D₃, assists in maintaining energy homeostasis in the cell through regulation of the stress response by increasing the immune cell tolerance response. With reference to these functions of vitamin D, it is apparent that adequate amounts of vitamin 1,25(OH)₂D₃ are needed in the management of preeclampsia. The low 1,25(OH)₂D₃ concentrations are in line with the increasingly grave placental microscopic picture and the increasing severity of the clinical symptoms.

Maternal blood and placental zinc concentrations were not significantly different in the three syncytial bridge groups. Although theoretically zinc affects the occurrence of preeclampsia through its roles as antioxidant, anti-inflammatory agent, regulator of placental morphology and in preventing ROS, in the present study it appears to be without effect. This may be due to the fact that zinc affects the process of preeclampsia through other mechanisms that were not investigated in the present study.

To determine the laboratory parameters that constitute risk factors for the decrease in syncytial bridge count, the Chi square and logistic regression tests were done. It was seen that maternal blood LDH and placental Foxp3⁺ Treg cell count were the most influential parameters in decreasing the syncytial bridge count.

Necrosis of the placental trophoblasts decreases the syncytial bridge count and increases LDH concentrations in the maternal circulation. The increase in LDH concentrations is associated with the severity of preeclampsia and the poor perinatal maternal outcomes. The high LDH concentrations are also associated with the severity of the syncytial bridge damage that describes the reduced capacity of the placenta to resist stress. Therefore, the LDH concentration may clinically be used as a tool for monitoring pregnant women with preeclampsia such that medical intervention may be performed earlier in order to prevent maternal-fetal complications.

The adaptive immune system, especially the Treg cell, plays a role in the repair and regeneration of a number of organ systems. Interactions between Treg cells and innate immune cells may control inflammation and facilitate tissue regeneration. A reduced placental Foxp3⁺ Treg cell count also decreases cell repair and regeneration, thus increasing tissue damage.

If analyzed separately, vitamin 1,25(OH)₂D₃ concentration also plays a role in the decrease in syncytial bridge count. A number of vitamin 1,25(OH)₂D₃ functions, such as the immunomodulatory and anti-inflammatory functions, are required to maintain a well-developed pregnancy. Vitamin D deficiency or disturbance in vitamin D synthesis may increase inflammation and decrease the activity of the immune cells in the maternal-fetal interface that indirectly affects the syncytial bridges.

Conclusions

Placental syncytial bridge count in group PEC was significantly lower than in groups PE and NT. Similarly, the count in group PE was significantly lower than in NT.

Placental Foxp3⁺ Treg cell count in the preeclampsia group was significantly lower than in group NT.

Maternal blood LDH concentration in group PEC was significantly higher than in groups PE and NT.

Maternal blood vitamin 1,25(OH)₂D₃ concentration in PEC was significantly lower than in groups PE and NT. Similarly, the concentration in group PE was significantly lower than in group NT.

There were no significant differences in maternal blood zinc concentrations between the three groups.

Placental Foxp3⁺ Treg cell count in groups VLSB and LSB were significantly lower than in group NSB.

Maternal blood LDH concentrations in group VLSB were significantly higher than in groups LSB and NSB.

Maternal blood 1,25(OH)₂D₃ concentrations in group VLSB were significantly lower than in groups LSB and NSB.

The increase in maternal blood LDH concentrations and the decrease in maternal blood vitamin 1,25(OH)₂D₃ concentrations were risk factors for the decrease in syncytial bridge count.

Suggestion

Public Health

Vitamin D supplementation can be recommended in pregnant women because it additionally affects the syncytial bridge count.

Academic

Figure 5.1. can complement study material on the role of nutrition and the placental debris picture associated with the degree of severity of preeclampsia.

Research

1. A prospective cohort study is required to determine the changes in syncytial bridge count, Treg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ cell count, LDH concentration, and maternal blood and placental vitamin 1,25(OH)₂D₃ and zinc concentrations, such that their effects in pregnancy may be observed.
2. Further studies are required on vitamin 25(OH)D₃, vitamin 24,25(OH)₂D₃, DBP, CYP2R1 CYP27B1, CYP24A1, and VDR concentrations, to clarify vitamin D regulation in the maternal circulation and the placenta. Similarly, it is necessary to determine active zinc, transporter ZnT, and ZIP concentrations for the study of zinc homeostasis in these two compartments.

DAFTAR PUSTAKA

1. Turner JA. Diagnosis and Management of Pre-eclampsia: An Update. *Int J Womens Health*. 2010;2:327–37.
2. Koual M, Abbou H, Carbonnel M, Picone O, Ayoubi JM. Short-term Outcome of Patients with Preeclampsia. *Vasc Health Risk Manag*. 2013;9:143–8.
3. BPS. Indonesia Demographic and Health Survey 2012. Jakarta: BPS, BKKBN, Kemenkes, and ICF International; 2013.
4. Nankali A, Malek-Khosravi S, Zangeneh M, Rezaei M, Hemati Z, Kohzadi M. Maternal Complications Associated with Severe Preeclampsia. *J Obstet Gynaecol India*. 2013;63(2):112–5.
5. Bushnell C, Chireau M. Preeclampsia and Stroke: Risks during and after Pregnancy. *Stroke Res Treat*. 2010;2011:1–9.
6. Lau SY, Barrett CJ, Guild SJ, Chamley LW. Necrotic Trophoblast Debris Increases Blood Pressure during Pregnancy. *J Reprod Immunol*. 2013; 97(2):175–82.
7. Redman CW, Sargent IL. Immunology of Pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol*. 2010;63(6):534–43.
8. Valenzuela FJ, Pérez-Sepúlveda A, Torres MJ, Correa P, Repetto GM, Illanes SE. Pathogenesis of Preeclampsia: The Genetic Component. *J Pregnancy*. 2011;2012:1–8.
9. Shen F, Wei J, Snowise S, DeSousa J, Stone P, Viall C, et al. Trophoblast Debris Extruded from Preeclamptic Placentae Activates Endothelial Cells: A Mechanism by which the Placenta Communicates with the Maternal Endothelium. *Placenta*. 2014;35(10):839–47.
10. Huppertz B, Kingdom JC. Apoptosis in the Trophoblast--Role of Apoptosis in Placental Morphogenesis. *J Soc Gynecol Investig*. 2004;11(6):353–62.
11. Askelund KJ, Chamley LW. Trophoblast Deportation Part I: Review of the Evidence Demonstrating Trophoblast Shedding and Deportation during Human Pregnancy. *Placenta*. 2011;32(10):716–23.
12. Chen Q, Guo F, Jin HY, Lau S, Stone P, Chamley L. Phagocytosis of Apoptotic Trophoblastic Debris Protects Endothelial Cells against Activation. *Placenta*. 2012;33(7):548–53.
13. Burton GJ, Jones CJ. Syncytial Knots, Sprouts, Apoptosis, and Trophoblast Deportation from the Human Placenta. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2009; 48(1):28–37.
14. Benirschke K, Burton G, Baergen RN. Pathology of the Human Placenta. 6th ed. Berlin ; London: Springer; 2012. xviii, 941 p.
15. Chen Q, Stone PR, McCowan LM, Chamley LW. Phagocytosis of Necrotic but not Apoptotic Trophoblasts Induces Endothelial Cell Activation. *Hypertension*. 2006;47(1):116–21.

16. Heazell AE, Moll SJ, Jones CJ, Baker PN, Crocker IP. Formation of syncytial knots is increased by hyperoxia, hypoxia and reactive oxygen species. *Placenta*. 2007;28 Suppl A:S33–40.
17. Calvert SJ, Jones CJ, Sibley CP, Aplin JD, Heazell AE. Analysis of syncytial nuclear aggregates in preeclampsia shows increased sectioning artefacts and decreased inter-villous bridges compared to healthy placentas. *Placenta*. 2013;34(12):1251–4.
18. Jones CJ, Fox H. Syncytial knots and intervillous bridges in the human placenta: an ultrastructural study. *J Anat*. 1977;124(Pt 2):275–86.
19. Burton GJ. Scanning electron microscopy of intervillous connections in the mature human placenta. *J Anat*. 1986;147:245–54.
20. Chan FK, Moriwaki K, De Rosa MJ. Detection of necrosis by release of lactate dehydrogenase activity. 2013. In: *Methods in Molecular Biology* [Internet]. [65–70]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23397389>.
21. Jaiswar SP, Gupta A, Sachan R, Natu SN, Shaili M. Lactic dehydrogenase: a biochemical marker for preeclampsia-eclampsia. *J Obstet Gynaecol India*. 2011;61(6):645–8.
22. Umasatyasri Y, Vani I, Shamita P. Role of LDH (Lactate dehydrogenase) in preeclampsia - eclampsia as a prognostic marker: An observational study. *IAIM*. 2015;2(9):88–93.
23. Toldi G, Saito S, Shima T, Halmos A, Veresh Z, Vászárhelyi B, et al. The frequency of peripheral blood CD4⁺ CD25^{high} FoxP3⁺ and CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ regulatory T cells in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol*. 2012;68(2):175–80.
24. Chen X, Gan T, Liao Z, Chen S, Xiao J. Foxp3 (-/ATT) polymorphism contributes to the susceptibility of preeclampsia. *PLoS One*. 2013; 8(4): e59696.
25. Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol*. 2010;63(6):601–10.
26. Saito S. Th17 cells and regulatory T cells: new light on pathophysiology of preeclampsia. *Immunol Cell Biol*. 2010;88(6):615–7.
27. Prins JR, Boelens HM, Heimweg J, Van der Heide S, Dubois AE, Van Oosterhout AJ, et al. Preeclampsia is associated with lower percentages of regulatory T cells in maternal blood. *Hypertens Pregnancy*. 2009;28(3):300–11.
28. Steinborn A, Haensch GM, Mahnke K, Schmitt E, Toerner A, Meuer S, et al. Distinct subsets of regulatory T cells during pregnancy: is the imbalance of these subsets involved in the pathogenesis of preeclampsia? *Clin Immunol*. 2008;129(3):401–12.
29. Tiemessen MM, Jagger AL, Evans HG, van Herwijnen MJ, John S, Taams LS. CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells induce alternative activation of human monocytes/macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(49): 19446–51.

30. Bodnar LM, Catov JM, Simhan HN, Holick MF, Powers RW, Roberts JM. Maternal vitamin D deficiency increases the risk of preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(9):3517–22.
31. Mozos I, Marginean O. Links between Vitamin D Deficiency and Cardiovascular Diseases. *Biomed Res Int*. 2015;2015:109275.
32. Kassi E, Adamopoulos C, Basdra EK, Papavassiliou AG. Role of vitamin D in atherosclerosis. *Circulation*. 2013;128(23):2517–31.
33. Arora CP, Hobel CJ. Vitamin D – a novel role in pregnancy. *Biopolymers and Cell*. 2010;26(2):97–104.
34. Fraker PJ. Roles for cell death in zinc deficiency. *J Nutr*. 2005;135(3):359–62.
35. Jain S, Sharma P, Kulshreshtha S, Mohan G, Singh S. The role of calcium, magnesium, and zinc in pre-eclampsia. *Biol Trace Elem Res*. 2010;133(2):162–70.
36. Thomas J, Shenoy R, Bhat P, Rao P. Pathophysiology of Preeclampsia and Possible Role of Zinc in its Genesis. *Current Women's Health Reviews*. 2014;10(1):38–42.
37. WHO. WHO recommendation on zinc supplementation during pregnancy (November 2016) Geneva: The WHO Reproductive Health Library; 2016 [Available from: <https://extranet.who.int/rhl/topics/preconception-pregnancy-childbirth-and-postpartum-care/antenatal-care/who-recommendation-zinc-supplementation-during-pregnancy>].
38. Truong-Tran AQ, Carter J, Ruffin RE, Zalewski PD. The role of zinc in caspase activation and apoptotic cell death. *Biometals*. 2001;14(3–4):315–30.
39. Bahadoran P, Zendehdel M, Movahedian A, Zahraee RH. The relationship between serum zinc level and preeclampsia. *Iran J Nurs Midwifery Res*. 2010;15(3):120–4.
40. Atamer Y, Koçyigit Y, Yokus B, Atamer A, Erden AC. Lipid peroxidation, antioxidant defense, status of trace metals and leptin levels in preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005;119(1):60–6.
41. Adam B, Malatyalioglu E, Alvur M, Talu C. Magnesium, zinc and iron levels in pre-eclampsia. *J Matern Fetal Med*. 2001;10(4):246–50.
42. Wilson RL, Leemaqz SY, Goh Z, McAninch D, Jankovic-Karasoulos T, Leghi GE, et al. Zinc is a critical regulator of placental morphogenesis and maternal hemodynamics during pregnancy in mice. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 1–14.
43. Lockwood CJ. ACOG task force on hypertension in pregnancy-A step forward in management. *Contemporary OB/GYN* [Internet]. 2013. Available from: <https://www.contemporaryobgyn.net/preexisting-medical-conditions/acog-task-force-hypertension-pregnancy-step-forward-management>.

44. Ramsay JE, Stewart F, Greer IA, Sattar N. Microvascular dysfunction: a link between pre-eclampsia and maternal coronary heart disease. *BJOG*. 2003; 110(11):1029–31.
45. Kemenkes. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI; 2013.
46. Gleicher N, Siegel I. The immunologic concept of EPH-gestosis. *Prog Clin Biol Res*. 1981;70:229–43.
47. Practice ACOG. Practice bulletin #33: diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Obstet Gynecol*. 2002;99(1):159–67.
48. Dekker G, Sibai B. Primary, secondary, and tertiary prevention of pre-eclampsia. *Lancet*. 2001;357(9251):209–15.
49. Wibowo N, Irwinda R, Frisdianty E, Karkata MK, Mose JC, Chalid MT, et al. *Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Diagnosis dan Tatalaksana Pre-Eklampsia*. Jakarta: Perkumpulan Obstetri dan Ginekologi Indonesia, Himpunan Kedokteran Feto Maternal; 2016.
50. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ*. 2005;330(7491):1–7.
51. Dekker G, Robillard PY. The birth interval hypothesis-does it really indicate the end of the primipaternity hypothesis. *J Reprod Immunol*. 2003;59(2):245–51.
52. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet*. 2005; 365(9461): 785–99.
53. Einarsson JJ, Sangi-Haghpeykar H, Gardner MO. Sperm exposure and development of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;188(5):1241–3.
54. Wang JX, Knottnerus AM, Schuit G, Norman RJ, Chan A, Dekker GA. Surgically obtained sperm, and risk of gestational hypertension and pre-eclampsia. *Lancet*. 2002;359(9307):673–4.
55. Redman CW. Preeclampsia: a multi-stress disorder. *Rev Med Interne*. 2011; 32 Suppl 1:S41–4.
56. Jonsson Y. Cytokines and immune balance in preeclampsia: a survey of some immunological variables and methods in the study of preeclampsia. Linköping: Linköping University; 2005.
57. Powe CE, Levine RJ, Karumanchi SA. Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease. *Circulation*. 2011;123(24):2856–69.
58. Burton GJ, Jauniaux E. Placental oxidative stress: from miscarriage to preeclampsia. *J Soc Gynecol Investig*. 2004;11(6):342–52.
59. Ikle FA. Dissemination of syncytial trophoblastic cells in the maternal blood stream during pregnancy. *Bull Schweiz Akad Med Wiss*. 1964;20:62–72.

60. Benirschke K, Willes L. Deportation of trophoblastic emboli to maternal lung: A source of cell-free DNA in maternal blood? *Chimerism*. 2010; 1(1):15–8.
61. Alvarez H, Benedetti WL, Morel RL, Scavarelli M. Trophoblast development gradient and its relationship to placental hemodynamics. *Am J Obstet Gynecol*. 1970;106(3):416–20.
62. Huppertz B, Frank HG, Reister F, Kingdom J, Korr H, Kaufmann P. Apoptosis cascade progresses during turnover of human trophoblast: analysis of villous cytotrophoblast and syncytial fragments in vitro. *Lab Invest*. 1999;79(12):1687–702.
63. Mayhew TM, Leach L, McGee R, Ismail WW, Myklebust R, Lammiman MJ. Proliferation, differentiation and apoptosis in villous trophoblast at 13–41 weeks of gestation (including observations on annulate lamellae and nuclear pore complexes). *Placenta*. 1999;20(5–6):407–22.
64. Burton GJ. Intervillous connections in the mature human placenta: instances of syncytial fusion or section artifacts? *J Anat*. 1986;145:13–23.
65. Kaufmann P, Huppertz B. Tenney-Parker changes and apoptotic versus necrotic shedding of trophoblast in normal pregnancy and pre-eclampsia. In: Lyall F, Belfort M, editors. *Pre-eclampsia: Etiology and Clinical Practice*. Cambridge: Cambridge University Press; 2007. p. 152–63.
66. Yallampalli C, Garfield RE. Inhibition of nitric oxide synthesis in rats during pregnancy produces signs similar to those of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 1993;169(5):1316–20.
67. Naljayan MV, Karumanchi SA. New developments in the pathogenesis of preeclampsia. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2013;20(3):265–70.
68. Sandrim VC, Palei AC, Metzger IF, Gomes VA, Cavalli RC, Tanus-Santos JE. Nitric oxide formation is inversely related to serum levels of antiangiogenic factors soluble fms-like tyrosine kinase-1 and soluble endogline in preeclampsia. *Hypertension*. 2008;52(2):402–7.
69. Noori M, Donald AE, Angelakopoulou A, Hingorani AD, Williams DJ. Prospective study of placental angiogenic factors and maternal vascular function before and after preeclampsia and gestational hypertension. *Circulation*. 2010;122(5):478–87.
70. Karumanchi SA, Bdolah Y. Hypoxia and sFlt-1 in preeclampsia: the "chicken-and-egg" question. *Endo*. 2004;145(11):4835–7.
71. Nagamatsu T, Fujii T, Kusumi M, Zou L, Yamashita T, Osuga Y, et al. Cytotrophoblasts up-regulate soluble fms-like tyrosine kinase-1 expression under reduced oxygen: an implication for the placental vascular development and the pathophysiology of preeclampsia. *Endo*. 2004; 145(11): 4838–45.
72. Zhou CC, Zhang Y, Irani RA, Zhang H, Mi T, Popek EJ, et al. Angiotensin receptor agonistic autoantibodies induce pre-eclampsia in pregnant mice. *Nat Med*. 2008;14(8):855–62.

73. Li DK, Wi S. Changing paternity and the risk of preeclampsia/eclampsia in the subsequent pregnancy. *Am J Epidemiol.* 2000;151(1):57–62.
74. Eventoff W, Rossmann MG, Taylor SS, Torff HJ, Meyer H, Keil W, et al. Structural adaptations of lactate dehydrogenase isozymes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1977;74(7):2677–81.
75. Fazal RS, Chandru S, Biswas M. Evaluation of total LDH and its isoenzymes as markers in preeclampsia. *J Med Biochem.* 2019;38:1–7.
76. Hawkins DF, Whyley GA. The nature of the lactate dehydrogenase isoenzymes in human placenta and related tissues. *Clin Chim Acta.* 1966;13(6):713–9.
77. Mor G, Cardenas I, Abrahams V, Guller S. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site. *Ann N Y Acad Sci.* 2011;1221:80–7.
78. Hanna J, Goldman-Wohl D, Hamani Y, Avraham I, Greenfield C, Natanson-Yaron S, et al. Decidual NK cells regulate key developmental processes at the human fetal-maternal interface. *Nat Med.* 2006;12(9):1065–74.
79. Birnberg T, Plaks V, Berkutski T, Mor G, Neeman M, Dekel N, et al. Dendritic cells are crucial for decidual development during embryo implantation. *Am J Reprod Immunol.* 2007; 57(5):342–3.
80. Plaks V, Birnberg T, Berkutski T, Sela S, BenYashar A, Kalchenko V, et al. Uterine DCs are crucial for decidual formation during embryo implantation in mice. *J Clin Invest.* 2008;118(12):3954–65.
81. Laresgoiti-Servitje E. A leading role for the immune system in the pathophysiology of preeclampsia. *J Leukoc Biol.* 2013; 94(2):247–57.
82. Laresgoiti-Servitje E, Gómez-López N, Olson DM. An immunological insight into the origins of pre-eclampsia. *Hum Reprod Update.* 2010; 16(5):510–24.
83. Raghupathy R. Cytokines as key players in the pathophysiology of preeclampsia. *Med Princ Pract.* 2013; 22(Suppl 1):8–19.
84. Fu B, Tian Z, Wei H. TH17 cells in human recurrent pregnancy loss and pre-eclampsia. *Cell Mol Immunol.* 2014;11(6):564–70.
85. Jonuleit H, Schmitt E. The regulatory T cell family: distinct subsets and their interrelations. *J Immunol.* 2003;171(12):6323–7.
86. Li L, Boussiotis VA. Molecular and functional heterogeneity of T regulatory cells. *Clin Immunol.* 2011;141(3):244–52.
87. Miyara M, Yoshioka Y, Kitoh A, Shima T, Wing K, Niwa A, et al. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4⁺ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity.* 2009;30(6):899–911.
88. Mor A, Planer D, Luboshits G, Afek A, Metzger S, Chajek-Shaul T, et al. Role of naturally occurring CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in experimental atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27(4):893–900.

89. de Boer OJ, van der Meer JJ, Teeling P, van der Loos CM, van der Wal AC. Low numbers of FOXP3 positive regulatory T cells are present in all developmental stages of human atherosclerotic lesions. *PLoS One*. 2007;2(8):e779.
90. Maganto-García E, Bu DX, Tarrio ML, Alcaide P, Newton G, Griffin GK, et al. Foxp3⁺-inducible regulatory T cells suppress endothelial activation and leukocyte recruitment. *J Immunol*. 2011;187(7):3521–9.
91. Staff AC, Dechend R, Redman CW. Review: Preeclampsia, acute atherosclerosis of the spiral arteries and future cardiovascular disease: two new hypotheses. *Placenta*. 2013;34 Suppl:S73–8.
92. Bendich A. Micronutrients in women's health and immune function. *Nutrition*. 2001;17(10):858–67.
93. Ivanov V, Cha J, Ivanova S, Kalinovskiy T, Roomi MW, Rath M, et al. Essential nutrients suppress inflammation by modulating key inflammatory gene expression. *Int J Mol Med*. 2008;22(6):731–41.
94. Rajee MR, Salemi M, Falaha A. The role of nutrition in the prevention of Preeclampsia and related mechanisms-A Review Article. 2015;7(4).
95. Shin JS, Choi MY, Longtine MS, Nelson DM. Vitamin D effects on pregnancy and the placenta. *Placenta*. 2010;31(12):1027–34.
96. Zehnder D, Evans KN, Kilby MD, Bulmer JN, Innes BA, Stewart PM, et al. The ontogeny of 25-hydroxyvitamin D(3) 1 α -hydroxylase expression in human placenta and decidua. *Am J Pathol*. 2002;161(1):105–14.
97. Hoeppli RE, Wu D, Cook L, Levings MK. The environment of regulatory T cell biology: cytokines, metabolites, and the microbiome. *Front Immunol*. 2015;6(6):1–14.
98. IOM. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB, editors. Washington, DC: The National Academies Press (US); 2011.
99. Jones G. Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *Am J Clin Nutr*. 2008;88(2):582S–6S.
100. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007;357(3):266–81.
101. Tse AK, Zhu GY, Wan CK, Shen XL, Yu ZL, Fong WF. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃ inhibits transcriptional potential of nuclear factor kappa B in breast cancer cells. *Mol Immunol*. 2010;47(9):1728–38.
102. Penna G, Roncari A, Amuchastegui S, Daniel KC, Berti E, Colonna M, et al. Expression of the inhibitory receptor ILT3 on dendritic cells is dispensable for induction of CD4⁺Foxp3⁺ regulatory T cells by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Blood*. 2005;106(10):3490–7.
103. Wöbke TK, Sorg BL, Steinhilber D. Vitamin D in inflammatory diseases. *Front Physiol*. 2014; 244(5):1–20.
104. Kang SW, Kim SH, Lee N, Lee WW, Hwang KA, Shin MS, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ promotes FOXP3 expression via binding to vitamin D

- response elements in its conserved noncoding sequence region. *J Immunol.* 2012;188(11):5276–82.
105. Cardús A, Parisi E, Gallego C, Aldea M, Fernández E, Valdivielso JM. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 stimulates vascular smooth muscle cell proliferation through a VEGF-mediated pathway. *Kidney Int.* 2006;69(8):1377–84.
 106. Li YC, Kong J, Wei M, Chen ZF, Liu SQ, Cao LP. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest.* 2002;110(2):229–38.
 107. Hyppönen E, Cavadino A, Williams D, Fraser A, Vereczkey A, Fraser WD, et al. Vitamin D and pre-eclampsia: original data, systematic review and meta-analysis. *Ann Nutr Metab.* 2013;63(4):331–40.
 108. Ganguly A, Tamblyn JA, Finn-Sell S, Chan SY, Westwood M, Gupta J, et al. Vitamin D, the placenta and early pregnancy: effects on trophoblast function. *J Endocrinol.* 2018;236(2):R93–R103.
 109. Wong CP, Ho E. Zinc and its role in age-related inflammation and immune dysfunction. *Mol Nutr Food Res.* 2012;56(1):77–87.
 110. Foster M, Samman S. Zinc and regulation of inflammatory cytokines: implications for cardiometabolic disease. *Nutrients.* 2012;4(7):676–94.
 111. Almatier S. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama; 2002.
 112. Jankowski-Hennig MA, Clegg MS, Daston GP, Rogers JM, Keen CL. Zinc-deficient rat embryos have increased caspase 3-like activity and apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;271(1):250–6.
 113. Wilson M, Hogstrand C, Maret W. Picomolar concentrations of free zinc(II) ions regulate receptor protein-tyrosine phosphatase β activity. *J Biol Chem.* 2012;287(12):9322–6.
 114. Hennig B, Meerarani P, Ramadass P, Toborek M, Malecki A, Slim R, et al. Zinc nutrition and apoptosis of vascular endothelial cells: implications in atherosclerosis. *Nutrition.* 1999;15(10):744–8.
 115. Sela-Passwell N, Rosenblum G, Shoham T, Sagi I. Structural and functional bases for allosteric control of MMP activities: can it pave the path for selective inhibition? *Biochim Biophys Acta.* 2010;1803(1):29–38.
 116. Gupta S, Jain NP, Avasthi K, Wander GS. Plasma and erythrocyte zinc in pre-eclampsia and its correlation with foetal outcome. *J Assoc Physicians India.* 2014;62(4):306–10.
 117. Burton GJ, Sebire NJ, Myatt L, Tannetta D, Wang YL, Sadovsky Y, et al. Optimising sample collection for placental research. *Placenta.* 2014;35(1):9–22.
 118. Kumari N, Dash K, Singh R. Relationship between Maternal Age and Preeclampsia. *IOSR - JDMS.* 2016; 15(12): 55–7.

119. Khalil A, Syngelaki A, Maiz N, Zinevich Y, Nicolaides KH. Maternal age and adverse pregnancy outcome: a cohort study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013;42(6):634–43.
120. Lamminpää R, Vehviläinen-Julkunen K, Gissler M, Heinonen S. Preeclampsia complicated by advanced maternal age: a registry-based study on primiparous women in Finland 1997-2008. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2012;47(12):1–5.
121. Wu CS, Nohr EA, Bech BH, Vestergaard M, Catov JM, Olsen J. Health of children born to mothers who had preeclampsia: a population-based cohort study. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;201(3):269.e1–e10.
122. Hernández-Díaz S, Toh S, Cnattingius S. Risk of pre-eclampsia in first and subsequent pregnancies: prospective cohort study. *BMJ.* 2009;338:b2255.
123. Saftlas AF, Rubenstein L, Prater K, Harland KK, Field E, Triche EW. Cumulative exposure to paternal seminal fluid prior to conception and subsequent risk of preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2014;101-102:104–10.
124. Shao Y, Qiu J, Huang H, Mao B, Dai W, He X, et al. Pre-pregnancy BMI, gestational weight gain and risk of preeclampsia: a birth cohort study in Lanzhou, China. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2017;17(1):400:1–8.
125. Huang CJ, McAllister MJ, Slusher AL, Webb HE, Mock JT, Acevedo EO. Obesity-Related Oxidative Stress: the Impact of Physical Activity and Diet Manipulation. *Sports Med Open.* 2015;32(1):1–12.
126. Wei YM, Yang HX, Zhu WW, Liu XY, Meng WY, Wang YQ, et al. Risk of adverse pregnancy outcomes stratified for pre-pregnancy body mass index. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(13):2205–9.
127. Vinturache A, Moledina N, McDonald S, Slater D, Tough S. Pre-pregnancy Body Mass Index (BMI) and delivery outcomes in a Canadian population. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2014;422(14):1–10.
128. Truong YN, Yee LM, Caughey AB, Cheng YW. Weight gain in pregnancy: does the Institute of Medicine have it right? *Am J Obstet Gynecol.* 2015;212(3):362.e1–8.
129. Flick AA, Brookfield KF, de la Torre L, Tudela CM, Duthely L, González-Quintero VH. Excessive weight gain among obese women and pregnancy outcomes. *Am J Perinatol.* 2010;27(4):333–8.
130. Ogge G, Chaiworapongsa T, Romero R, Hussein Y, Kusanovic JP, Yeo L, et al. Placental lesions associated with maternal underperfusion are more frequent in early-onset than in late-onset preeclampsia. *J Perinat Med.* 2011;39(6):641–52.
131. Huppertz B. Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis. *Hypertension.* 2008;51(4):970–5.
132. Wójtowicz A, Zembala-Szczerba M, Babczyk D, Kołodziejczyk-Pietruszka M, Lewaczyńska O, Huras H. Early- and Late-Onset Preeclampsia: A Comprehensive Cohort Study of Laboratory and Clinical Findings according to the New ISHHP Criteria. *Int J Hypertens.* 2019;2019:4108271.

133. Rahmayanti S, Nurdianti DS. HELLP syndrome in severe preeclampsia: The perinatal outcomes. *Pregnancy Hypertens.* 2017;7:61–2
134. Gore CR, Pandey A, Shetty A, Rao R, Paranjape S. A study on histopathological changes in placenta in pre-eclampsia/eclampsia: A case-control study in tertiary care centre, western India. *IJPO.* 2018;5(3):385–90.
135. Raghavendra AY, Vinay KV, Pai V. A study of placental weight and fetal outcome in different grades of pregnancy induced hypertension. *IJAR.* 2014;2(4):625–29.
136. Kishwara S, Ara S, Rayhan K, Begum M. Morphological Changes of Placenta in Preeclampsia. *BJA.* 2009;7(1):49–4.
137. Wubale Y, Tolera A. Gross morphological study of placenta in preeclampsia. *Anat J Af.* 2017;6(2):977–81.
138. Tiruneh ST. Correlation between gross morphology of the human placenta and birth weight in normotensive and pre-eclamptic pregnancies in Northwest Ethiopia. *J Exp Clin Anat.* 2018;12(1):27–32.
139. Harmon AC, Cornelius DC, Amaral LM, Faulkner JL, Cunningham MW, Jr., Wallace K, et al. The role of inflammation in the pathology of preeclampsia. *Clin Sci (Lond).* 2016;130(6):409–19.
140. Martínez-Varea A, Pellicer B, Perales-Marín A, Pellicer A. Relationship between maternal immunological response during pregnancy and onset of preeclampsia. *J Immunol Res.* 2014;2014:1–15.
141. Somerset DA, Zheng Y, Kilby MD, Sansom DM, Drayson MT. Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25+ CD4+ regulatory T-cell subset. *Immunology.* 2004;112(1):38–43.
142. Sasaki Y, Darmochwal-Kolarz D, Suzuki D, Sakai M, Ito M, Shima T, et al. Proportion of peripheral blood and decidual CD4(+) CD25(bright) regulatory T cells in pre-eclampsia. *Clin Exp Immunol.* 2007;149(1):139–45.
143. Tilburgs T, Roelen DL, van der Mast BJ, de Groot-Swings GM, Kleijburg C, Scherjon SA, et al. Evidence for a selective migration of fetus-specific CD4+CD25bright regulatory T cells from the peripheral blood to the decidua in human pregnancy. *J Immunol.* 2008;180(8):5737–45.
144. Kondelkova K, Vokurková D, Krejsek J, Borska L, Fiala Z, Ctírad A. Regulatory T cells (TREG) and their roles in immune system with respect to immunopathological disorders. *Acta Medica (Hradec Kralove).* 2010;53(2):73–7.
145. Cornelius DC. Preeclampsia: From Inflammation to Immunoregulation. *Clin Med Insights Blood Disord.* 2018;11:1179545X17752325.
146. Nie H, Zheng Y, Li R, Guo TB, He D, Fang L, et al. Phosphorylation of FOXP3 controls regulatory T cell function and is inhibited by TNF- α in rheumatoid arthritis. *Nature medicine.* 2013;19(3):322–28.
147. Munoz-Suano A, Hamilton AB, Betz AG. Gimme shelter: the immune system during pregnancy. *Immunol rev.* 2011;241(1):20–38.

148. Li J, Tan J, Martino MM, Lui KO. Regulatory T-Cells: Potential Regulator of Tissue Repair and Regeneration. *Front Immunol*. 2018;585(9):1–11.
149. Hak J, Nayar-Un-Nisa, Gupta S. LDH Levels in Pregnancy and its Association with Severity of the Disease and Feto-maternal Outcome in Pre-eclampsia and Eclampsia. *JK Science*. 2015;17(3):110–3.
150. Andrews L, Patel N. Correlation of serum lactate dehydrogenase and pregnancy induced hypertension with its adverse outcomes. *IJRMS*. 2016;4(5):1347–50.
151. Tsoi SC, Zheng J, Xu F, Kay HH. Differential expression of lactate dehydrogenase isozymes (LDH) in human placenta with high expression of LDH-A(4) isozyme in the endothelial cells of pre-eclampsia villi. *Placenta*. 2001;22(4):317–22.
152. Halhali A, Díaz L, Avila E, Ariza AC, Garabédian M, Larrea F. Decreased fractional urinary calcium excretion and serum 1,25-dihydroxyvitamin D and IGF-I levels in preeclampsia. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2007;103(3–5):803–6.
153. Tamblyn JA, Susarla R, Jenkinson C, Jeffery LE, Ohizua O, Chun RF, et al. Dysregulation of maternal and placental vitamin D metabolism in pre eclampsia. *Placenta*. 2017;50:70–7.
154. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiol Rev*. 2016;96(1):365–408.
155. Hummel DM, Fetahu IS, Gröschel C, Manhardt T, Kállay E. Role of proinflammatory cytokines on expression of vitamin D metabolism and target genes in colon cancer cells. *J Steroid Biochem*. 2014;144:91–5.
156. Wibowo N, Irwinda R. The effect of multi-micronutrient and protein supplementation on iron and micronutrients status in pregnant women. *Med. J. Indones*. 2015;24(3):168–75.
157. Díaz L, Arranz C, Avila E, Halhali A, Vilchis F, Larrea F. Expression and activity of 25-hydroxyvitamin D-1 α -hydroxylase are restricted in cultures of human syncytiotrophoblast cells from preeclamptic pregnancies. *JCEM*. 2002;87(8):3876–82.
158. Ma R, Gu Y, Zhao S, Sun J, Groome LJ, Wang Y. Expressions of vitamin D metabolic components VDBP, CYP2R1, CYP27B1, CYP24A1, and VDR in placentas from normal and preeclamptic pregnancies. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012;303(7):E928–35.
159. Harma M, Kocyigit A. Correlation between maternal plasma homocysteine and zinc levels in preeclamptic women. *Biol Trace Elem Res*. 2005;104(2):97–105.
160. Katz O, Paz-Tal O, Lazer T, Aricha-Tamir B, Mazor M, Wiznitzer A, et al. Severe pre-eclampsia is associated with abnormal trace elements concentrations in maternal and fetal blood. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012;25(7):1127–30.

161. Ma Y, Shen X, Zhang D. The Relationship between Serum Zinc Level and Preeclampsia: A Meta-Analysis. *Nutrients*. 2015;7(9):7806–20.
162. Hambidge M, Krebs NF. Zinc Metabolism and Requirements. *Food Nutr Bull*. 2001;22(2):126–32.
163. Truong-Tran AQ, Ho LH, Chai F, Zalewski PD. Cellular zinc fluxes and the regulation of apoptosis/gene-directed cell death. *J Nutr*. 2000;130(5S Suppl):1459S–66S.
164. Prasad AS. Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2009;12(6):646–52.
165. Akhtar S, Begum S, Ferdousi S. Calcium And Zinc Deficiency In Preeclamptic Women. *JBSP*. 2011;6(2):94–9.
166. Giroux E, Schechter PJ, Schoun J. Diminished albumin binding of zinc in serum of pregnant women. *Clin Sci Mol Med*. 1976;51(6):545–9.
167. Huang X, Anderle P, Hostettler L, Baumann MU, Surbek DV, Ontsouka EC, et al. Identification of placental nutrient transporters associated with intrauterine growth restriction and pre-eclampsia. *BMC Genomics*. 2018;19(1):173:1–17.
168. Vargas Zapata CL, Trugo NM, Donangelo CM. Zinc uptake by human placental microvillous membrane vesicles: effects of gestational age and maternal serum zinc levels. *Biol Trace Elem Res*. 2000;73(2):127–37.
169. Lei H, Schmidt-Bleek K, Dienelt A, Reinke P, Volk H-D. Regulatory T cell-mediated anti-inflammatory effects promote successful tissue repair in both indirect and direct manners. *Front Pharmacol*. 2015;6:184:1–10.
170. Gao Y, Tang J, Chen W, Li Q, Nie J, Lin F, et al. Inflammation negatively regulates FOXP3 and regulatory T-cell function via DBC1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015;112(25):E3246-E54.
171. Vazquez-Alaniz F, Salas-Pacheco J, Sandoval-Carrillo A, La-llave-Leon O, Hernandez E. Lactate Dehydrogenase in Hypertensive Disorders in Pregnancy: Severity Diagnosis Marker. *J Hypertens Manag*. 2019;5:40: 1–6.
172. Cummings BS, Wills LP, Schnellmann RG. Measurement of cell death in Mammalian cells. *Curr Protoc Pharmacol*. 2012;Chapter 12:Unit 8.
173. Kay HH, Zhu S, Tsoi S. Hypoxia and lactate production in trophoblast cells. *Placenta*. 2007;28(8-9):854–60.
174. Haddad Kashani H, Seyed Hosseini E, Nikzad H, Soleimani A, Soleimani M, Tamadon MR, et al. The effects of vitamin D supplementation on signaling pathway of inflammation and oxidative stress in diabetic hemodialysis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Front Pharmacol* 2018;9:50.
175. Umar M, Sastry KS, Chouchane AI. Role of Vitamin D Beyond the Skeletal Function: A Review of the Molecular and Clinical Studies. *Int J Mol Sci*. 2018;19(6):1–28

176. Chirumbolo S, Bjorklund G, Sboarina A, Vella A. The Role of Vitamin D in the Immune System as a Pro-survival Molecule. *Clin Ther*. 2017;39(5):894–916.
177. Wimalawansa SJ. Vitamin D Deficiency: Effects on Oxidative Stress, Epigenetics, Gene Regulation, and Aging. *Biology (Basel)*. 2019;8(2):1–15.
178. Chababa L, Mukosha M, Sijumbila G, Vwalika B. Relationship between serum zinc levels and preeclampsia at the University Teaching Hospital, Lusaka, Zambia. *Med J Zambia*. 2016;43(3):139–44.
179. Foster M, Samman S. Zinc and regulation of inflammatory cytokines: implications for cardiometabolic disease. *Nutrients*. 2012;4(7):676–94.
180. Chan FK, Moriwaki K, De Rosa MJ. Detection of necrosis by release of lactate dehydrogenase activity. *Methods Mol Biol*. 2013;979:65–70.
181. Andrews L, Patel N. Correlation of serum lactate dehydrogenase and pregnancy induced hypertension with its adverse outcomes. *Int J Res Med Sci*. 2016;4(5):1347–50.
182. Chen Q, Guo F, Jin H, Lau S, Stone P, Chamley L. Phagocytosis of apoptotic trophoblastic debris protects endothelial cells against activation. *Placenta*. 2012;33(7):548–53.
183. Challa S, Chan FK. Going up in flames: necrotic cell injury and inflammatory diseases. *Cell Mol Life Sci*. 2010;67(19):3241–53.

Lampiran 1. Status Penelitian

Status Penelitian

Derajat Regulasi Toleransi Imun dan Nekrosis pada Preeklamsia dengan dan tanpa Komplikasi: Korelasi antara Jumlah *Syncytial Bridges* dengan Jumlah Treg CD4CD25Foxp3, Kadar *Lactate Dehydrogenase* serta Kadar Vitamin D dan Seng

Tanggal:

ID Pasien:

Identitas Pasien

Nama pasien:

Nama suami:

Tempat/Tanggal Lahir:

Usia:

Pekerjaan:

Pendidikan:

Alamat:

Telephone:

Kontak yang dihubungi saat keadaan emergensi:

Hubungan:

Telephone:

Riwayat Obstetri: G__P__A

Menstruasi hari pertama haid terakhir (HPHT):

Siklus teratur: Ya/Tidak

Tahun lahir	Usia kehamilan	Berat lahir	Jenis kelamin	Jenis persalinan	Anestesi	Tempat persalinan	Komplikasi

(lanjutan)

Riwayat Medik

Jenis	Keterangan	Jenis	Keterangan
1. Diabetes		11. Kelainan autoimun	
2. Hipertensi		12. Kelainan hematologi	
3. Kelainan jantung		13. Masalah ginekologi	
4. Kelainan paru		14. Infeksi genital	
5. Kelainan traktus urinarius		15. Infertilitas	
6. Kelainan hepar		16. Alergi/Konsumsi obat	
7. Kelainan tr. gastrointestinal		17. Riwayat transfusi darah	
8. Kelainan psikiatri		18. Riwayat operasi	
9. Kelainan neurologi/epilepsi		19. Riwayat penyakit keluarga	
10. Kelainan tiroid		20. Lain - lain	

Data kehamilan ini

Keluhan saat ini:

☐ Mual muntah☐ Nyeri kepala☐ Kontraksi uterus☐ Pandangan kabur☐ Keluar air-air/perdarahan☐ Nyeri ulu hatiPemeriksaan Fisik

Tanda vital: Tekanan darah: mmHg Nadi: x/menit

Pernapasan: x/menit Suhu: ° C

Berat badan/Tinggi badan: Kg/ cm BB sebelum hamil: Kg

Kenaikan BB selama hamil : Kg

(lanjutan)

Status Obstetri:

a. Tinggi Fundus Uteri : cm Presentasi : Penurunan: TBJ : gram
 DJJ: x/mnt His / kontraksi : x/10 menit ☐ Teratur ☐ Tidak teratur

Pemeriksaan PenunjangKardiotokografi: Kategori I/II/IIUltrasonografi (transabdominal/transvaginal):

Jumlah janin: tunggal/multipel Presentasi: kepala/bokong/lintang

Biometri: DBP mm, HC mm, AC mm, FL mm, HL mm, TBJ g

Usia kehamilan :

Letak plasenta : fundus/korpus (depan/belakang)/previa ICA:

Kesimpulan:**DIAGNOSIS :**

Pemeriksaan Laboratorium Serum dan Plasenta

Laboratorium	Tanggal	Nilai	Keterangan
Hemoglobin (g/dL)			
Hematokrit			
Eritrosit			
MCV			
MCH			
MCHC			
RDW			
Leukosit			
Trombosit			
Retikulosit			
SGOT/SGPT			

(lanjutan)

LDH			
Serum			
Plasenta			
Ureum/Kreatinin			
Asam urat			
PT			
APTT			
Proteiuria			
Treg CD4CD25Foxp3			
Serum			
Plasenta IHK			
Flowcytometri			
Vit 25(OH)D			
Serum			
Plasenta			
Seng Zn^{2+}			
Serum			
Plasenta			
Syncytial Bridges			
HE			

Data Persalinan

Jenis persalinan: Spontan/EV/EF/SC

Tanggal:

Usia kehamilan:

Bayi: L/P Berat lahir: g LP: cm LK: cm Skor Apgar:

Plasenta: ukuran: x x cm berat: g

Panjang tali pusat

Lampiran 2. *Informed Consent*

FORMULIR PERSETUJUAN MENGIKUTI PENELITIAN (FORMULIR INFORMED CONSENT)			
Peneliti Utama		dr.Laksmi Maharani, SpOG (K)	
Peneliti Anggota		Dr. dr. Noroyono Wibowo, SpOG(K)	
Pemberi informasi		dr.Laksmi Maharani, SpOG (K)	
Penerima informasi			
Nama Subyek		:	
Tanggal Lahir (Umur)		:	
Jenis Kelamin		:	
Alamat		:	
No. Telp (HP)		:	
	JENIS INFORMASI	ISI INFORMASI	TANDAI
1.	Judul Penelitian	Derajat Regulasi Toleransi Imun dan Nekrosis Villi Khorialis pada Preeklamsia Dengan dan Tanpa Komplikasi : Korelasi Jumlah <i>Syncytial Bridges</i> dengan Jumlah Treg CD4CD25Foxp3, Kadar <i>Lactat Dehydrogenase</i> serta Kadar Vitamin D dan Seng	
2.	Tujuan Penelitian	Mengetahui derajat inflamasi dan nekrosis berdasarkan gambaran <i>syncytial bridges</i> , jumlah Treg dan kadar LDH, serta profil vitamin 1,25(OH) ₂ D ₃ dan seng pada	
3.	Cara dan Prosedur Penelitian	Yth Ibu, pada kesempatan ini saya meminta ibu untuk berpartisipasi dalam penelitian ini. Jika ibu bersedia, maka ibu diminta untuk mengisi lembar kesediaan ikut serta. Peneliti akan memberikan penjelasan mengenai penelitian ini terhadap ibu hamil dengan persalinan. Pada saat ibu akan melahirkan, akan diambil darah dari lipatan lengan atas sebanyak 20 cc untuk dilakukan pemeriksaan vitamin D, mineral seng dan sel imun.	

		Setelah bayi lahir, kami akan mengambil sedikit ari-ari ibu sebesar diameter 1-2 cm untuk di periksa dengan mikroskop. Pengambilan darah dan plasenta ini untuk melihat seberapa besar kerusakan yang ditimbulkan penyakit preeklamsia pada ibu hamil. Selain itu, keikutsertaan Ibu dalam penelitian bersifat sukarela dan tidak ada paksaan. Ibu berhak untuk menolak apakah akan berpartisipasi atau tidak, dan tidak akan mengurangi dan mengganggu pelayanan yang diberikan oleh rumah sakit.	
4.	Jumlah subjek	87	
5.	Waktu penelitian	Oktober 2018 – Maret 2019	
6.	Manfaat Penelitian termasuk manfaat bagi subyek penelitian	Dengan melihat gambaran plasenta dan pemeriksaan darah ibu hamil dengan preeklamsia maka kita dapat melihat derajat keparahan penyakit Selain itu kita juga dapat melihat adakah kekurangan nutrisi pada ibu hamil terutama vitamin D dan mineral seng sehingga	
7.	Risiko dan Efek samping dalam penelitian	Risiko terutama pada proses pengambilan darah, kemungkinan terdapat nyeri akibat tusukan jarum. Efek samping tidak ada karena tidak diberikan perlakuan pada ibu (ibu tidak diberikan suatu untuk diminum atau dimakan)	
8.	Ketidaknyamanan subyek penelitian	Minimal. Kemungkinan didapatkan lebam pada daerah tusukan jarum	
9.	Kompensasi bila terjadi efek samping	Efek samping akibat prosedur penelitian akan ditanggung oleh peneliti.	
10.	Alternatif penanganan (bila ada)	Tidak ada	
11.	Penjagaan kerahasiaan data	Data yang telah diambil oleh peneliti langsung disimpan di satu folder. Hanya peneliti yang dapat mengakses data tersebut.	
12.	Biaya yang ditanggung oleh subyek	Tidak ada	

13.	Insentif bagi subyek	Tidak ada	
14.	Nama dan alamat peneliti serta nomor telepon yang dapat dihubungi	dr. Laksmi Maharani, SpOG (K) 0811- 9302274	

Setelah mendengarkan penjelasan pada halaman 1 dan 2 mengenai penelitian yang akan dilakukan oleh **dr. Laksmi Maharani, SpOG(K)** dengan judul: **Derajat Regulasi Toleransi Imun dan Nekrosis Villi Khorialis pada Preeklamsia Dengan dan Tanpa Komplikasi : Korelasi Jumlah Syncytial Bridges dengan Jumlah Treg CD4CD25Foxp3, Kadar Lactate Dehydrogenase serta Kadar Vitamin D dan Seng** , informasi tersebut telah saya pahami dengan baik.

Dengan menandatangani formulir ini, saya menyetujui untuk diikutsertakan dalam penelitian di atas dengan suka rela tanpa paksaan dari pihak manapun. Apabila suatu waktu saya merasa dirugikan dalam bentuk apapun, Saya berhak membatalkan persetujuan ini.

Tanda Tangan Subyek atau cap jempol

Tanggal

Nama Subyek

Tanda Tangan Saksi/ Wali

Tanggal

Nama Saksi/ Wali

Ket: Tanda tangan saksi/ wali diperlukan bila subyek tidak bisa baca tulis, penurunan kesadaran, mengalami gangguan jiwa, dan berusia dibawah 18 tahun.

Saya telah menjelaskan kepada subyek secara benar dan jujur mengenai maksud penelitian, manfaat penelitian, prosedur penelitian, serta risiko dan ketidaknyamanan potensial yang mungkin timbul (penjelasan terperinci sesuai dengan hal yang saya tandai di atas). Saya juga telah menjawab pertanyaan-pertanyaan terkait penelitian dengan sebaik-baiknya.

Tanda Tangan Peneliti

Tanggal

dr. Laksmi Maharani, SpOG

Lampiran 3. Surat Keterangan Lolos Kaji Etik



UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN

Gedung Fakultas Kedokteran UI
Jl. Salemba Raya No.6, Jakarta 10430
PO.Box 1358
T. 62.21.3912477, 31930371, 31930373,
3922977, 3927360, 3153236
F. 62.21.3912477, 31930372, 3157288
E. humas@fk.ui.ac.id, office@fk.ui.ac.id
fk.ui.ac.id

Nomor : 001 /UN2.F1/ETIK/2018

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berikut informasi yang diberikan kepada calon subjek yang berjudul:

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the Protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the research protocol including the information given to the potential subjects entitled:

"Derajat Regulasi Toleransi dan Nekrosis Villi Khorialis pada Preeklamsia dengan dan Tanpa Komplikasi: Korelasi Jumlah Syncytial Bridges dengan Jumlah Treg CD4CD25Foxp3, Kadar Lactat Dehydrogenase serta Kadar Vitamin D dan Seng".
No. protokol: 18-07-0763

Peneliti Utama : dr. Laksmi Maharani, SpOG(K)
Principal Investigator

Nama Institusi : Obstetri dan Ginekologi FKUI-RSCM
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol berikut informasi yang diberikan kepada calon subjek.
and approves the above mentioned protocol including the information given to the potential subjects.



03 SEP 2018
Ketua
Chairman

Prof. dr. Rita Sita Sitorus, SpM(K), PhD

* Ethical approval berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan.
** Peneliti berkewajiban

1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian.
2. Memberitahukan status penelitian apabila
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical approval* harus diperpanjang.
 - b. Penelitian berhenti di tengah jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*).
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum protokol penelitian mendapat lolos kaji etik dan sebelum memperoleh *informed consent* dari subyek penelitian.
5. Menyampaikan laporan akhir, bila penelitian sudah selesai.
6. Cantumkan nomor protokol ID pada setiap komunikasi dengan KEPK FKUI-RSCM.

Lampiran 4. Amandemen Protokol Penelitian



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS KEDOKTERAN

Gedung Fakultas Kedokteran UI
Jl. Salemba Raya No.6, Jakarta 10430
PO Box 1358
T. 62.21.3912477, 31930371, 31930373,
3922977, 3927360, 3153236
F. 62.21.3912477, 31930372, 3157288
E. humas@fk.ui.ac.id, office@fk.ui.ac.id
fk.ui.ac.id

Nomor : 0040 /UN2.F1/ETIK/I/2019
Hal : Amandemen Protokol Penelitian

14 Januari 2019

Yth.
dr. Laksmi Maharani, SPOG(K)
Peneliti Utama
Obstetri dan Ginekologi FKUI-RSCM
Jakarta

Sehubungan dengan protokol penelitian berikut:

Judul : "Derajat Regulasi Toleransi dan Nekrosis Villi Khorialis pada Preeklamsia Dengan dan Tanpa Komplikasi: Korelasi Jumlah Syncytial Bridges dengan Jumlah Treg CD4CD25Foxp3, Kadar Lactat Dehydrogenase serta Kadar Vitamin D dan Seng".

No. Protokol Etik : 18-07-0763

Peneliti Utama Awal : dr. Laksmi Maharani, SpOG (K)

No. Surat Lolos Etik : 0918/UN2.F1/ETIK/2018, tanggal 03 September 2018.

Komite Etik Penelitian Kesehatan FKUI RSCM telah menerima dan meninjau surat Sejawat :

Tanggal	No. Surat	Perihal	Dokumen
09 Januari 2019	-	Amandemen Penelitian	1. Protokol Penelitian, 1 kopi. 2. Fotokopi surat keterangan lolos kaji etik, 1 lembar.
Isi Amandemen :			
➢ Perubahan pada proposal penelitian halaman 42-43 pada : "Protokol kerja pemeriksaan <i>flowcytometry</i> Treg CD4CD25FoxP3 plasenta".			

Komite Etik Penelitian Kesehatan FKUI-RSCM menyetujui amandemen penelitian tersebut.

Atas laporan dan kerjasamanya, kami ucapkan terima kasih.



Prof. dr. Rita Sita Sitorus, PhD, SpM(K)
Ketua

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

DATA PRIBADI

1. Nama Lengkap : Laksmi Maharani
2. NIK/NIDN : 2570/0306027408
3. Tempat/tanggal lahir : Plaju, 6 Pebruari 1974
4. Agama : Islam
5. Nama anak : Nadja Haddits Laduni
5. Alamat : Cempakaputih Timur VIII no. 7 RT 03/ RW 07
Kel. Cempakaputih Timur Kec. Cempakaputih
Jakarta Pusat
6. No. Telepon : +62 811 930 2274
+62 8111 200 159
7. Email : lmaharani@gmail.com

RIWAYAT PENDIDIKAN

No.	Nama Institusi	Tahun
1.	SD Pertamina Cilacap, Jawa Tengah	1986
2.	SMPN 77 Cempakaputih, Jakarta Pusat	1989
3.	SMAN 81 Labschool Rawamangun, Jakarta Timur	1992
4.	Pendidikan Dokter Umum Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti	2000
5.	Pendidikan Dokter Spesialis Obstetri Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia	2008
6.	Pendidikan Konsultan Subspesialis Fetomaternal Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia	2017
7.	Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia	2020

RIWAYAT PEKERJAAN

- 2002–sekarang : Staf Bagian Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Trisakti
- 2009–sekarang : Dokter Spesialis Obstetri dan Ginekologi RSIA Brawijaya Duren Tiga

- 2009–sekarang : Dokter Spesialis Obstetri dan Ginekologi RS Pertamina Jaya
- 2010–2012 : Dokter Spesialis Obstetri dan Ginekologi International SOS
- 2017–sekarang : Dokter Spesialis Obstetri dan Ginekologi RS Hermina Podomoro

ORGANISASI

- 2000–sekarang : Ikatan Dokter Indonesia
- 2008–sekarang : Perkumpulan Obstetri dan Ginekologi Indonesia
- 2017–sekarang : Himpunan Kedokteran Fetomaternal

RIWAYAT SEMINAR, PELATIHAN, PEMBICARA, FASILITATOR

- 2008, Balikpapan : Pembicara Poster “Hiperandrogenisme pada Wanita Penderita Adenoma Korteks Adrenal”, PIT XVII POGI Kalimantan Timur
- 2010, Jakarta : Peserta Pelatihan “Basic Gynecologic Laparoscopic Surgery Course”, RSUP Fatmawati, Pokja Endoskopi POGI Jaya
- 2010, Semarang : Peserta Seminar “The Role of Ultrasound in Reducing Maternal & Perinatal Morbidity & Mortality”, ISOUG Approved Course Indonesia
- 2011, Makasar : Peserta Pertemuan Ilmiah Tahunan Fetomaternal XII, Himpunan Kedokteran Fetomaternal
- 2011, Jakarta : Pembicara Seminar “Antibiotic Update in Daily Practice”, Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti
- 2012, Palembang : Peserta Pertemuan Ilmiah Tahunan Fetomaternal XIII, Himpunan Kedokteran Fetomaternal
- 2012, Jakarta : Peserta Seminar “The 44th International Meeting of Gestosis Organization, Himpunan Kedokteran Fetomaternal
- 2013, Solo : Peserta Pertemuan Ilmiah Tahunan Fetomaternal XIV, Himpunan Kedokteran Fetomaternal
- 2013, Jakarta : Peserta Seminar “The 29th International Congress Fetus as a Patient”, Himpunan Kedokteran Fetomaternal
- 2014, Padang : Pembicara Makalah Bebas “Hemokromatosis pada kehamilan”, PIT Fetomaternal XV, Himpunan Kedokteran Fetomaternal

- 2014, Jakarta : Peserta Seminar “The Ultimate Prenatal Care”, ISOUG Approved Course Indonesia
- 2015, Manado : Peserta Pertemuan Ilmiah Tahunan Fetomaternal XVI, Himpunan Kedokteran Fetomaternal
- 2015, Bandung : Peserta Kongres Obstetri dan Ginekologi Indonesia XVI, Perkumpulan Obstetri dan Ginekologi Indonesia
- 2016, Jakarta : Peserta Pelatihan “Ian Donald Ultrasound Update Course-AOFOG”, Himpunan Kedokteran Fetomaternal
- 2016, Jakarta : Fasilitator Pelatihan Tutorial Dosen, Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti
- 2017, Surabaya : Peserta Kursus “Intermediate Ultrasound Course in Obstetrics”, Himpunan Kedokteran Fetomaternal
- 2017, Jakarta : Pembicara Workshop Intra Uterine Device, Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti
- 2017, Jakarta : Pembicara Simposium Annual Medical Practitioner Meeting 2017, Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti
- 2018, Medan : Peserta Pertemuan Ilmiah Tahunan Fetomaternal XIX, Himpunan Kedokteran Fetomaternal
- 2018, Yogyakarta : Peserta Kursus Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan Universitas Gajah Mada
- 2019, Bandung : Peserta Seminar “Maternal & Fetal Heart Disease in Pregnancy”, ISOUG Approved Course Indonesia
- 2019, Jakarta : Peserta Seminar “Manfaat Teknologi Ultrasonografi dan Pro-Kontra di Bidang Obstetri, Sentra Klinik Fatomaternal

PEMBIMBING TUGAS AKHIR

- 2018 : Hubungan Cara Persalinan Dengan Kejadian Baby Blues Pada Ibu Post Partum - Program Pendidikan Sarjana Kedokteran, Universitas Trisakti
- 2019 : Hubungan Kenaikan Berat Badan Ibu Saat Hamil Dengan Waktu Pengeluaran Kolostrum Pada Ibu Paska Bersalin – Program Pendidikan Sarjana Kedokteran, Universitas Trisakti
- 2019 : Hubungan Peningkatan Asam Urat Dengan Kejadian Preeklamsia – Program Pendidikan Sarjana Kedokteran, Universitas Trisakti

KEGIATAN PENGABDIAN KESEHATAN MASYARAKAT

- 2016, Karawang : Bakti Sosial Kesehatan SMA Labschool Jakarta di Desa Mekarbuana, Tegalwaru, Karawang, Jawa Barat
- 2017, Jakarta : Pemeriksaan Inspeksi Visual Asetat dan Penyuluhan Deteksi Dini Kanker Serviks di Kel. Krendang, Kec. Tambora, Jakarta Barat
- 2018, Jakarta : Pemeriksaan Kesehatan dan Penyuluhan Narkoba dan Kesehatan Reproduksi Remaja di Kel. Angke, Kec. Tambora, Jakarta Barat
- 2019, Jakarta : Penyuluhan Lansia Tetap Sehat di Usia Emas (Menopause) di Kel. Meruya Selatan. Kec. Kembangan, Jakarta Barat